

SÜT VE ÜRÜNLERİNDE CO₂ UYGULAMALARI-I : GENEL BİLGİLER

CO₂ APPLICATION ON MILK AND DAIRY PRODUCTS – I: GENERAL INFORMATION

Enes DERTLİ, Nihat AKIN*

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya

Geliş tarihi: 15.05.2007

ÖZET: Dağıtım şeklindeki değişiklikler ve tüketicilerin daha kaliteli ürünlere olan ilgisi; steril olmayan sütçülük ürünlerinin raf ömrünün geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur. Soğutulmuş ürünlerin raf ömrünün uzatılması; bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişme oranının dolayısıyla da ürünün bozulmasının redüksiyonu sonucu meydana gelmektedir. Ürünlerin üretiminde hammaddeden kaynaklanan başlangıç bakteriyel yükün azaltılması, pastörizasyon sisteminin geliştirilmesi ve üretim işlemlerinden önceki kontaminasyonun önlenmesi gibi uygulamalar raf ömrünün uzatılmasında etkilidir. Antimikrobiyal katkıların kullanımı ise mevzuatlar ve toksisite riski gibi nedenlerle tercih edilmemektedir. Karbon dioksit doğal olarak meydana gelen bir süt bileşenidir ve kesin mekanizması henüz anlaşılmasına rağmen, ürünlerde bazı bozulma oluşturan mikroorganizmalara karşı inhibitör etkilidir. Modifiye atmosferde paketlenme ile birlikte CO₂ ilavesi veya direkt enjeksiyonu tüm dünyada ticari anlamda uygulanan ve diğerlerine göre tercih edilen, uygun maliyetli bir raf ömrü uzatma metodudur. Bu çalışmada CO₂ kullanılarak sütçülük ürünlerinin kalitesinin geliştirilmesi konusunda geçmişteki ve günümüzdeki araştırmalar detaylı olarak irdelenmiştir.

Anahtar kelimeler : Karbon dioksit, çiğ süt, raf ömrü, paketlenme

ABSTRACT : Changes in distribution patterns and demand for increased food quality have resulted in a desire to improve the shelf life of nonsterile dairy products. Refrigerated shelf life extension typically requires, at a minimum, reductions in the growth rate of spoilage microorganisms and subsequent product deterioration. Reducing initial bacterial loads, increasing pasteurization regimes and reducing postprocessing contamination have all been employed with measured success. The use of antimicrobial additives has been discouraged primarily due to labeling requirements and perceived toxicity risks. Carbon dioxide (CO₂) is a naturally occurring milk component and inhibitory toward select dairy spoilage microorganisms; however, the precise mechanism is not fully understood. CO₂ addition through modified atmosphere packaging or direct injection as a cost-effective shelf life extension strategy is used commercially worldwide for some dairy products and is being considered for others as well. New CO₂ technologies are being developed for improvements in the shelf life, quality and yield of a diversity of dairy products, including raw and pasteurized milk, cheeses, cottage cheese, yogurt and fermented dairy beverages. Here we present a comprehensive review of past and present research related to quality improvement of such dairy products using CO₂.

Keywords : Carbon dioxide, raw milk, shelf life, packaging

GİRİŞ

Fermente süt ürünleri, bazı yoğurt çeşitleri, Cottage peyniri ve pastörize sütü içeren steril olmayan sütçülük ürünlerinin raf ömürleri; kullanılan katkı maddelerinin kalitesi, işlem koşulları ve işlem sonrası uygulamalar sonucunda genellikle 1–3 hafta arasında kalmaktadır (1, 2). Bozulma esasen pastörizasyon işlemine dirençli

*E-posta : nakin@selcuk.edu.tr

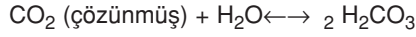
organizmaların gelişimi, işlem sonrası mikrobiyal kontaminasyon ve kullanılan ısı işlem [yüksek sıcaklık kısa süre (HTST)] ile aktivitesi etkisizleştirilemeyen lipolitik ve proteolitik enzimler sonucu meydana gelmektedir (3). ABD de HTST pastörize sütün yaklaşık olarak 10–14 günlük bir raf ömrüne sahip olduğu belirtilmiştir (4,5). Ultra pastörizasyon (UP) raf ömrünü buzdolabı koşullarında 90 güne kadar uzatabilirken, UHT işlemi ile normal koşullarda 3 aydan 1 yıla kadar raf ömrüne sahip bir ürün elde edilebilmektedir (6). Raf ömrünü uzatan materyallerin paketlemede kullanılmasıyla raf ömrü sadece 1 hafta kadar uzatılabilmektedir. Kuzey Amerika da Cottage peynirinin 21–28 günlük bir raf ömrü vardır. Bununla birlikte kalite bu periyot boyunca önemli ölçüde azalmaktadır (7,8). Cottage peyniri ve pastörize süt gibi süt ürünlerinde, nihai raf ömrünü etkileyen günlük kalite değişiklikleri meydana gelmektedir. Bu ve diğer nedenlerden dolayı sütçülük ürünlerindeki kalite değişikliklerinin azaltılması ve raf ömrünün uzatılması ile ilgili çalışmalar son derece yaygındır.

Fermente ürünlerin raf ömrünün uzatılmasına ek olarak çiğ sütteki mikroorganizmaların gelişiminin azaltılması da son derece yararlıdır. Peynir çeşitlerini, dondurma ve yoğurt çeşitlerini, kültüre edilmiş ve ilgili diğer ürünleri içeren süt ve süt ürünlerinin kalitesi ve verimi; çiğ sütün özellikleri ile son derece alakalıdır (9). Çiğ sütün üreticiden alınmasında ve fabrikaya naklinde meydana gelen mikrobiyal gelişim çok önemli değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişikliklerden en zarar verici olanı lipitlerin hidrolizine ve proteinlerin misel yapısına zarar veren proteolitik ve lipolitik enzimlerin serbest kalmasıdır (10, 6). Bu enzimler HTST koşullarında ısı işleme dirençli olabilmekte ve HTST pastörizasyonla tamamen inaktive edilememektedir. Dolayısıyla buzdolabı koşullarında aktifler (3). Bu nedenlerden dolayı son ürünün kalitesi ve veriminin geliştirilmesi ve çiğ sütün bozulmasının yavaşlatılması amacıyla süt, ürünlere işlenmeden önce uygun bir şekilde pastörize edilmelidir. Bu çalışmada çiğ sütün doğal bir bileşeni olarak CO₂ ve süt ürünlerinde CO₂ kullanımı ile ilgili olarak genel bilgiler verilmiştir.

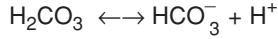
KARBON DİOKSİTİN MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Süt ve süt ürünleri patojenik ve bozulmaya neden olan mikroorganizmalar için mükemmel bir gelişme ortamıdır. Bu nedenle de bu ürünlerdeki bozulmanın ana mekanizmasının direkt veya indirekt olarak mikrobiyolojik olduğu bildirilmiştir (11, 12, 13). Süt ve süt ürünlerinin bileşimi geniş mikroorganizma spektrumuna gelişmek ve çoğalmak için uygun fiziksel ve kimyasal ortam oluşturur. Buzdolabı koşullarında saklanan çiğ ve pastörize süt, Cottage peyniri ve benzer ürünlerin tekstür, tat ve diğer duyu kusurlarla sonuçlanan mikrobiyolojik bozulmasına çoğunlukla psikrotrofik Gram(-) bakteri türlerinin (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Serratia*, *Proteus*, *Aeromonas* ve *Alcaligenes*), küf ve mayaların (*Geotrichum*, *Scopulariopsis*, *Mucor*) gelişmesi neden olur (14, 15, 6, 16). Froom ve Boor (17) tarafından üç ticari firmanın pastörize sütlerinde yapılan bir çalışmada, hakim kusurlara neden olan flora olarak ısı işleme dirençli psikrotrofik Gram (+) *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Microbacterium* türleri izole edilmiştir. Sütle ilgili raf ömrü problemlerinin, % 25'i genellikle *Bacillus* türleri nedeniyle olmak üzere, termodürik psikrotroflardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (14, 18). Bu organizmalar süt proteinlerinin fonksiyonelliğinin azalmasına neden olan ve genellikle meyvemsi tat olarak ifade edilen lezzet kusurlarına yol açan ekstraselüler proteaz ve lipaz üretmektedir. Özellikle laktik ve asetik asit üreten Gram (+) organizmalar da süt ve ürünlerinde bozulmaya neden olabilir. Ancak bu etkinin sağlanabilmesi için Gram (-) bakterilerden daha fazla gelişmeleri gerekir ve ürünlerde meydana getirdikleri değişiklikler daha belirsizdir. Laktik asit üreten, ısı işleme dirençli kokların gelişimi; pastörize sütün pH' sının pıhtılaşmanın meydana geldiği değere düşmesine neden olabilmektedir (15). Son 40 yıldır çoğu araştırmacı ürün atmosferine eklenen CO₂'in gıdaların bozulmasına neden olan patojenik mikroorganizmaların çoğunun gelişimini indirdiğini ifade etmiştir (19, 20, 21, 22). CO₂'in neden olduğu inhibisyon en fazla özellikle *Pseudomonas* türü olmak üzere Gram(-) psikrotroflarda meydana gelirken en düşük inhibisyonda özellikle *Lactobacillus* türü olmak üzere Gram (+) psikrotroflarda meydana gelir (23, 24, 25, 26). Mikroorganizma türü, substrat, CO₂ konsantrasyonu gibi faktörlerin patojen psikrotrofların zarar görmesini etkilediği bildirilmiştir (27).

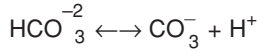
CO₂'in mikroorganizmaları inhibe edici etkisinin mekanizması genel olarak üç şekilde açıklanabilir. Birinci yöntem ve en basit olanı ortamdaki O₂ nin uzaklaştırılmasıdır. İkinci yöntem ise ortamın pH'sının düşmesi veya aşağıdaki şekilde de ifade edildiği gibi gıdanın sıvı fazında CO₂ 'in çözünerek karbonik asidin oluşumudur (28).



$$K_{\text{hyd}} (298 \text{ }^\circ\text{K}, 1 \text{ atm}) = 2.6 \times 10^{-3} = [\text{H}_2\text{CO}_3] / [\text{CO}_2]$$



$$K'_a (298 \text{ }^\circ\text{K}, 1 \text{ atm}) = 4.3 \times 10^{-7} = [\text{H}^+] [\text{HCO}_3^-] / [\text{CO}_2]$$



$$K''_a (298 \text{ }^\circ\text{K}, 1 \text{ atm}) = 5.61 \times 10^{-11} = [\text{H}^+] [\text{CO}_3^{2-}] / [\text{HCO}_3^-]$$

Üçüncü yöntem ise indirekt etkiler olan pH redüksiyonu ve O₂'in uzaklaştırılmasından farklı olarak mikroorganizmaların metabolizmalarına olan direkt etkidir (29).

CO₂'in mikrobiyal gelişim ve direnç üzerine olan etkisi son yıllarda çok popüler bir konu haline gelmiştir. En çok kabul gören deneysel dizayn gelişim ortamının CO₂ ile modifiye edilmesidir. Maalesef ortamda CO₂'in çözünmesi ve karbonik asidin oluşumu ile pH da çok önemli bir düşme meydana gelmemektedir. Dolayısıyla etkinin pH'da ki redüksiyon ile mi yoksa CO₂'in spesifik etkisinden mi kaynaklandığı belirsizdir. Ayrıca bu deneyler O₂'in ve CO₂'in yayılmasına izin veren ve ortamın atmosferik bileşiminin sürekli olarak değiştiği film ceplerde gerçekleştirilmektedir. Mikrobiyal ve/veya meyve, sebze solunumu da atmosferik değişikliklere katkıda bulunmaktadır. Sonuç olarak; gelişimi ve solunumu inhibe eden bu faktörlerin nispi önemleri aynı zamanda meydana gelen diğer değişimlerden dolayı tam net değildir.

Zengin besi ortamında sabit O₂ (%20) ve değişik konsantrasyonlarda CO₂ (% 0-80) veya sabit CO₂ (%20) ve değişik konsantrasyonlarda O₂ (% 0-40) (N₂ dengeli) ile oluşan modifiye CO₂ atmosferinin *Pseudomonas fluorescens* ve *Listeria monocytogenes* gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bakteriyel süspansiyon değişik gaz karışımlarından oluşan sürekli akıcı atmosfer koşulları altında pH'nın, O₂ tüketiminin ve direkt CO₂'in gelişim üzerine nispi etkilerini daha iyi anlamak için 7°C de inkübe edilmiştir (26). Sonuçlar ortamdaki O₂ konsantrasyonunun % 20 de sabit tutulduğunda ve ortamın pH'sında herhangi bir değişiklik meydana gelmediğinde CO₂'in gelişimi durdurduğunu göstermektedir. Bu etkinin yani CO₂'in direkt etkisinin pH ve O₂ uzaklaştırılması gibi indirekt etkilere karşıt olarak süt ürünlerinde mikrobiyal gelişimi inhibe ettiği çoğu araştırmacı tarafından ifade edilmektedir (30). Devliegre ve ark., (21) yaptıkları çalışmada modifiye atmosferde paketlenen temel mikrobiyal gelişim kontrolünün çözünmüş CO₂ konsantrasyonundan kaynaklandığını ifade etmektedir.

Bu çalışmalar CO₂'in direkt olarak belli bazı mikroorganizmaların metabolik proseslerine etki ettiğini göstermektedir. Ancak bu etkinin mekanizması henüz karakterize edilememiştir. CO₂ çözünmesi (31) ile sağlanan membran akışkanlığındaki değişiklikler intraselüler pH'nın redüksiyonu ve DNA replikasyonu ve dekarboksilasyon reaksiyonlarını içeren metabolik yollarla direkt inhibisyonu içeren bu 3 mekanizmayı destekleyen kanıtlar mevcuttur (32, 33).

CO₂, lipitler gibi hidrofobik materyallerde yüksek çözünürlüğe sahip olduğu için bakteriyel membrandaki lipitlerin fizikokimyasal özelliklerinde tahribata neden olarak konsantre olmaktadır. Aynı zamanda CO₂'in lipofilik doğası membrandan geçerek hücre içinde lokalize olmasına dolayısıyla da hücre pH'sının düşmesine izin vermektedir. İntraselüler CO₂ tüm hücrelerde meydana gelen, ATP kaybı ve enerji harcaması gibi etkileri olan karboksilasyon ve dekarboksilasyon gibi boş sıklusları da teşvik edebilmektedir. Son olarak CO₂'in hücrelerde gen yazılımlarını içeren enzimatik proseslere de karışabilmekte olduğu ifade edilmiştir (34, 35) .

CO₂ İŞLEME VE PAKETLEME TEKNOLOJİSİ

MODİFİYE ATMOSFERDE PAKETLEME VE CO₂ NİN DİREKT EKLENMESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Soğutulmuş steril olmayan gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasındaki genel yaklaşımlardan bir tanesi de modifiye atmosferde paketlenme (MAP) teknolojisidir (36). MAP; bir gıdanın tepe boşluğundaki gaz bileşiminin havadan farklı bir gaz karışımı ile yer değiştirmesi şeklinde ifade edilebilir. Bu teknolojinin amacı bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişiminin yavaşlatılması ve/veya meyve ve sebzelerin solunumu ve aşırı olgunlaşmasını önlemektir. MAP, gıda depolama ve dağıtımında çoklukla kullanılan bir teknoloji haline gelmiştir (37). Gıdanın yüzeyindeki gaz kompozisyonunun değişimine ek olarak, modifiye atmosferin tüm pakete yayılmasını engellemek amacıyla bir koruyucu paketlenme materyali kullanılmaktadır. MAP ürünlerin raf ömrü çoğunlukla paketlenme gerecinin koruyucu özellikleri ile korelasyon göstermektedir. Ancak yüksek koruma özellikli materyaller pahalıdır ve maliyet yarar ilişkisi gözlemlenmelidir. Gıdanın atmosferindeki gazın değiştirilmesi gaz su fazında çözündüğü için gıdaya gaz eklenmesinin dolaylı bir yöntemidir. Bu durum, özellikle gıdalarda hızlı bir şekilde çözünen, yüksek nemli gıdaları içeren sert paketlenme materyallerinde vakuma neden olan CO₂ için doğrudur (38). Cottage peyniri, süt gibi ürünleri içeren sütçülük ürünleri için MAP' in, geleneksel paketlenme gereçlerinde önemli değişiklikler yapıldığı takdirde, mikrobiyal gelişimin yavaşlatılmasında etkili olduğu ifade edilmektedir (39, 40). Paketlenmiş sütçülük ürünlerinde bulunan tepe boşluğu aktif gazlar için (örneğin CO₂) yeterli bir depo oluşturmaz ancak yeterli olmayan CO₂'den bile mikrobiyal gelişimi yavaşlatmak için yararlanılabilir. Bazı peynir çeşitlerinde küf gelişimini önlemek amacıyla paketler kapatılmadan önce CO₂ ile yıkanmaktadır. Bununla birlikte süt ve ürünlerinde MAP teknolojisi yeterli bir kontrol sağlamaz ve ürünün raf ömrü tutarsız olabilmektedir (41).

Yüksek koruyucu etkili paketlenme ile 5.68 den 22.7 mM ye kadar CO₂'in direkt ürüne enjeksiyonu sütçülük ürünlerinde istenmeyen mikroorganizmaların yok edilmesi dolayısıyla da raf ömrünün uzatılması amacıyla geliştirilmiş bir yöntemdir (7,8). Erimiş veya sıkıştırılmış CO₂ gazı ürünün akışkan buharına bir gaz serpiştirici sistem yoluyla aktarılmaktadır. Bu sistem tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu proses geleneksel MAP tekniğinden ayrılması amacıyla CO₂'in direkt eklenmesi olarak ifade edilmektedir. Net etkisi MAP ile örtüşmektedir: Gazın eklenmesi ile mikrobiyal aktivitenin engellenmesi ve ürünün raf ömrünün uzatılması. Bu yolla CO₂'in sütçülük ürünlerine eklenmesi ekonomik anlamda uygulanabilir ve CO₂'in ürünle birleşmesi bir üretim sisteminde ürünün normal buharına eklenmesi ile meydana gelmektedir. Ekipmanlar için düşük bir yatırım maliyeti söz konusudur ve CO₂ gazının maliyeti düşüktür; en önemli ve sürekli yinelenen maliyet kalemi koruyucu paketlenme gerecidir.

Çeşitli araştırmacılar raf ömrünün uzatılmasında solunumun ve mikrobiyal sistemlerin engellenmesinden önce ayrılmamış formda atmosferik CO₂'in ürünün sıvı fazında çözünmesi gerektiğini ifade etmektedir (42, 29). Bu nedenle MAP atmosferindeki CO₂ tek başına mikroorganizmaların inhibisyonunda etkin değildir. CO₂'in öncelikle üründe daha sonrada mikrobiyal hücrelerde çözünmesi gerekmektedir. Su fazında çözünen CO₂ miktarı; tepe boşluğundaki CO₂ konsantrasyonu ve tepe boşluğundaki hacim tarafından etkilenen kullanılabilir CO₂'in kısmi basıncı tarafından belirlenmektedir.

Paketlenme gerecinin tepe boşluğu ile ürün arasında bulunması gereken denge ile birlikte CO₂'in sabit ve düşük konsantrasyonda çözünmesi direkt CO₂ eklenmesi ile mikrobiyal kontrolün sağlanması için önerilmektedir (43). Henry kanununa göre sabit sıcaklıkta CO₂'in su fazındaki konsantrasyonu artarken kısmi basıncı da artar. Eğer ürünün sıcaklığı kontrol altında tutulursa sıvı fazdaki CO₂ konsantrasyonu kapalı bir sistem gibi sabit kalacak ve CO₂ de herhangi bir kayıp söz konusu olmayacaktır. Bu proses geleneksel MAP sistemine göre herhangi bir tepe boşluğuna gerek duyulmaması gibi üstünlüklere sahiptir ve çözünen CO₂ miktarı da dikkatli bir şekilde kontrol edilebilmektedir.

Tüm akışkan veya indirgenmiş süt yağı hidrofilik sıvı veya hidrofobik yağ kısımlarının her ikisini de içermektedir. Direkt CO₂ enjeksiyonunun ve sütün yağ içeriğinin etkilendiği sıcaklık derecesinde CO₂ sütün

kaymak tabakasında çözünmektedir. Ma ve Barbano (9) yaptıkları çalışmada değişik yağ içeriklerine sahip 0 ve 40°C de CO₂ enjeksiyonu gerçekleştirilmiş, pH ve donma noktasını incelemişlerdir. Elde ettikleri veriler düşük enjeksiyon sıcaklığında kaymak kısmındaki CO₂ içeriğinin farklı yağ içeriklerinde çok değişken olduğunu göstermektedir. Yine bu veriler düşük enjeksiyon sıcaklığında çözünen gaz miktarının arttığını dolayısıyla da CO₂'in antimikrobiyal etkisinin maksimize edilebileceğini göstermektedir.

PAKETLEME MATERYALLERİNİN ETKİLERİ

Sütçülük ürünlerine direkt olarak CO₂ eklenmesini etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi de paketlenme materyallerindeki bariyer yetersizliğidir. Eğer gazın üründe dağılmasına izin veriliyorsa eklenen CO₂'in çok az yararı vardır. Paketlenme; ürünün orijinal CO₂ konsantrasyonunun korunması prensibi anlamını taşır (41). Depolama sırasında geleneksel polistiren plastiklerde paketlenildiğinde Cottage peyniri örneklerinde CO₂'in çözünürlüğünün hızla azaldığı tespit edilmiştir. Cottage peyniri paketlenmede kullanılan geleneksel gereçler oldukça yüksek CO₂ geçirgenliğine sahiptir ve gazın gereçten uzaklaşmaması için çok az bir direnç gösterir. CO₂, eğer taşıyıcı hava geçirmez değil ise kapak ile paketlenme materyali arasındaki boşluklardan uzaklaşır. Bu problem gereç yüksek koruma etkili folyo ile kaplanarak çözülebilmektedir (43). Diğer çözüm yolu da Cottage peynirinin yüksek CO₂ bariyer etkili film torbalarla paketlenmesidir. Bu aynı zamanda özellikle kurumsal seviyede satışı da kolaylaştırır.

Lee ve Hotchkiss (44) yapmış oldukları çalışmada, modifiye CO₂ atmosferinde yüksek koruyucu polimer materyallerle 2.3 kg olarak paketlenen Cottage peynirindeki mikrobiyal azalmayı göstermişlerdir. Beklendiği gibi yüksek koruyucu etkili materyaller ve ürüne CO₂ eklenmesinin kombine etkisi mikrobiyal gelişimi indirmiş ve sonuçta raf ömrü uzamıştır. 29 günlük depolama boyunca CO₂ seviyesi hiçbir zaman başlangıç seviyelerine düşmemiştir, bu da düşük sıcaklık ve yüksek koruyucu etkili materyallerin CO₂ seviyesini korumada başarılı olduğunun bir göstergesidir.

GÜVENLİK KONULARI

Steril olmayan gıdaların raf ömrünün uzamasına bağlı olarak meydana gelebilecek güvenlik riskleri, üzerinde durulması gereken bir konudur. MAP veya CO₂ ile muamele edilmiş sütçülük ürünlerini içeren soğutulmuş gıdalardaki en önemli risk uzayan raf ömrüne bağlı olarak daha önce gelişmeyen, yavaş gelişen patojenlerin ortaya çıkmasıdır. Diğer önemli risk de raf ömrünün uzamasına bağlı olarak bazı patojenlerin teşvik olabileceklidir. CO₂'in *L. monocytogenes* gibi patojenik psikrotroflar üzerine olan etkilerinin anlaşılması oldukça önemlidir. Bir başka çalışmaya göre de eklenen CO₂'in *Bacillus cereus* ve *Clostridium botulinum* gibi spor oluşturan patojenlerin gelişimine katkı sağladığı ileri sürülmektedir (45).

Bu çalışma da eklenen CO₂'in *B. cereus* ve *C. botulinum* un gelişmesi üzerine etkileri ve sütteki toksigenesis incelenmiştir (46,47). 20 mM den daha düşük seviyelerdeki CO₂'in bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini engellediği ve raf ömrünü de arttırdığı bulunmuştur. CO₂ aynı zamanda sütteki botulizm riskine de etki etmektedir. Daha sonraki bir çalışmada da % 2 yağlı pastörize süt sırasıyla 0, 9.1 ve 18.2 mM CO₂ ile modifiye edilmiş ve de 10¹-10² spor/ mL oluşturacak şekilde proteolitik ve proteolitik olmayan 10 karışık *C. botulinum* suşu ile inoküle edilmiştir (46). Süt yüksek yoğunluklu polietilen kaplarda veya sızdırmaz cam şişelerde 6.1 °C de 60 gün ve 21 °C de 6 gün süreyle depolanmıştır. 21 °C de depolanan süt 2. günün sonunda pıhtılaşmaya ve yoğurdu andıran şekilde kokmaya başlamıştır. 4.günün sonunda da kokuşmuş bir hal almıştır. Botulin 21°C de 6 gün depolanan bütün sütte ve 9.1 mM CO₂ içeren süt örneklerinde 4.gün fark edilmiştir. Toksinin fark edildiği örneklerde bozulma duyuşal açıdan da hissediliyordu. Bununla birlikte diğerleri ile karşılaştırıldığında 9.1 mM CO₂ içeren sütte botulin daha erken ortaya çıkmıştır. Ancak, bozulma fark edilebildiği için tüketim konusunda herhangi bir problemle karşılaşılmasıdır. Herhangi bir muameleye maruz kalmamış ve 6,1 °C de 60 gün depolanan sütte botulin tespit edilememiştir. 6.1 °C de 18.2 mM CO₂ içeren süt en az mikrobiyal yükü içermekle birlikte CO₂ ile muamele edilen sütte mikrobiyal yük sürekli azalmaktadır.

Bu veri buzdolabı sıcaklıklarında depolanan pastörize süte düşük seviyelerde eklenen CO₂'in bozulmayı yavaşlattığını ve bu sütlerdeki botulizm tehlikesini arttırmadığını göstermektedir.

Werner ve Hotchkiss (47) yapmış oldukları çalışmada benzer şekilde steril homojenize süte 10¹-10⁶ spor/mL olacak şekilde inoküle edilen ve 6.1 °C de 35 gün depolanan 11.9 mM CO₂ eklenmiş sütlerdeki *B.cereus* sporlarının gelişimi incelemişlerdir. Sonuçta 35 gün boyunca CO₂ ile muamele edilmiş ve kontrol örneği sütlerde *B.cereus* un azaldığı tespit edilmiştir. Kontrol veya test sütü yüksek sayılar içermesine rağmen herhangi bir yoğunluk kayıtlı edilmemiştir. CO₂'in eklenmesi sütün 6.61 ile 6.31 arasında olan ortalama pH 'sını indirmişdir. Bununla birlikte bu düşüşün diğer ölçülen parametrelerle herhangi bir korelasyonu mevcut değildir. Elde edilen veriler orta seviyede eklenen CO₂'in ne depolama boyunca *B.cereus*'un gelişimini arttırdığını ne de bu organizmadan kaynaklanan gıda kaynaklı hastalık riskini yükselttiğini göstermektedir.

Cottage peynirinde *L. monocytogenes* ve *C. sporogenes* gelişimi üzerine CO₂'in etkisi de incelenmiştir (48). *C. sporogenes* hiçbir örnekte gelişmezken *L. monocytogenes* 4 ve 7°C deki kontrol peynirlerde yavaş bir şekilde gelişmiştir. CO₂'in eklenmesi *L. monocytogenes* gelişiminde küçük bir inhibisyon ile sonuçlanmıştır. Diğer araştırmalarda CO₂'in gelişimi teşvik etmediğini bilakis gelişimde küçük ancak önemli bir inhibisyona neden olduğunu ileri sürmektedir. Örneğin Fedio ve ark., (49) yaptıkları çalışmada CO₂'in Cottage peynirinde *L. monocytogenes* gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

Elde edilen bilgiler ışığında sütçülük ürünlerinin kalitesinin korunması ve uzatılması amacıyla eklenen CO₂'in patojen organizmaların gelişme riskini artırdığı yönünde herhangi bir bilgi mevcut değildir. Hatta bu veriler *L. monocytogenes* gibi gıdalarla taşınan ve insanlarda hastalığa neden olan organizmalara karşı CO₂'in koruyucu olduğunu göstermektedir.

ÇİĞ SÜTÜN DOĞAL BİR BİLEŞENİ OLARAK KARBON DİOKSİT

100 yıldan beri hayvanlardan elde edilen sütün önemli miktarda çözünmüş CO₂ içerdiği bilinmektedir. Bununla birlikte geçmiş teknoloji ve analitik metotlar çözünmüş gazları tespit etmede günümüzdeki kadar güvenilir değildi. Daha önceleri yapılan çalışmalarda araştırmacılar CO₂'in pastörize süt ile çığ sütü ayırt etme (50, 51, 52), donma noktası (53, 54), toplama (55, 56) ve işleme (57) üzerine olan etkileri ile ilgilenmişlerdir.

Van Slyke ve Baker (50) yaptıkları çalışmada CO₂'in üçte birinin sütte karbonik asit şeklinde, üçte ikisinin bikarbonat formunda olduğunu ifade etmektedir. Bununla birlikte modern kimya CO₂, karbonik asit ve bikarbonat miktarlarının çözeltide pH'nın fonksiyonuna bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (58). Sütte pH 6.3-6.5 de CO₂'in yaklaşık olarak % 88 'i çözünmüş CO₂, % 2 si karbonik asit ve geri kalan % 10'uda bikarbonat formunda bulunmaktadır. 15 °C de 0.4 mM den 33.6 mM'e kadar değişik konsantrasyonlarda eklenen CO₂ pH'yı yaklaşık olarak 6.8 den 6.1 e düşmesine neden olmuştur (59). Yine benzer bir çalışmada düşük sıcaklıklarda (4 °C) 0 dan 35 mM ye kadar eklenen CO₂ pH'nın 6.7 den 5.9 a düşmesine neden olmuştur (60). Çığ süt açık havada bekletildiğinde CO₂ içeriği azalırken O₂ ve N₂ içeriğinde artmaktadır (55). CO₂ kaybı düşük oranda CO₂ içeren atmosfer koşullarında hava ve sütün gaz içeriklerinin yavaş yavaş eşitlenmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Jackson (61) yaptığı çalışmada anaerobik koşullarda elde edilen sütün 11.1- 12.5 mM CO₂ içerdiğini ifade etmektedir. Bu süt sağılırken CO₂ kaybı olduğunu ifade eden Frayer (52) tarafından da doğrulanmıştır. Noll ve Supplee (57) da yaptıkları çalışmada çeşitli işlem basamaklarında sütün CO₂ seviyesinin azaldığını ifade etmektedir. Lee (62) tarafından yapılan çalışmada da belirli bir süreden elde edilen çığ süt 3.9 dan 7.5 mM ye kadar değişmekle birlikte ortalama 5,5 mM CO₂ içermektedir.

Pastörizasyon işlemi sırasında sıcaklık ve basınçta meydana gelen değişikliklere bağlı olarak CO₂ kaybı meydana gelmektedir. Smith (56) çığ sütte 1.6 mM olan CO₂ içeriğinin işlenmiş sütte 0.68 mM'e düştüğünü saptamıştır. CO₂ kaybı sütün hermetik olamayan depolanması ve pompalama sırasında sütün havalanması neticesinde de meydana gelmektedir. Moore ve ark. (53) yaptıkları çalışmada pastörizasyonda CO₂'deki kaybın ortalama olarak % 72 olduğunu ifade etmektedir.

Sonuç olarak, günümüzde sütçülük ürünlerinin endüstriyel boyutlarda üretilebilmesi için nispi olarak kısa raf ömrü ve hızlı kalite kaybı gibi problemlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Bu da sütçülük ürünlerinin raf ömrünü arttıracak gelişmelerin takibi ile mümkündür. Önemli araştırmacılar değişik süt ürünlerine veya direkt süte işlenecek toplu depolanmış çiğ süte CO₂ eklenmesinin; ürünün raf ömründe uzama, ürün güvenliğinin artması ve bazı durumlarda da kalitenin yükselmesi gibi etkileri olduğunu belirtmektedir. Bu konuda yapılacak daha detaylı araştırmalar prosesin verimliliğinin artmasını ve CO₂'in biyostatik aktivitesinin esaslarının daha iyi anlaşılabilmesini sağlayabilir

KAYNAKLAR

1. Labuza TP. 1982. Shelf life dating of foods. Westport Ct.: Food and Nutrition Press.500 s.
2. Salvador A ve Fiszman SM. 2004. Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. J. Dairy Sci. 87:4033–41.
3. Gebre-Egziabher A, Humbert ES ve Blankenagel G. 1980. Hydrolysis of milk proteins by microbial enzymes. J. Food Protect. 43:709–12.
4. Cousin MA. 1982. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. J. Food Protect., 45:172–207.
5. Schroder MJA, Cousins CM ve McKinnon CH. 1982. Effect of psychrotrophic post-pasteurization contamination on the keeping quality at 11°C and 5°C of HTST-pasteurized milk in the U.K. J. Dairy Res. 49:619–30.
6. Boor KJ ve Murphy SC. 2002. Microbiology of market milks. In: Robinson, R.K, editor. Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products. 3rd ed. New York: Wiley-Interscience. 13–36s, 91–122 s.
7. Chen JH ve Hotchkiss JH. 1991a. Effect of dissolved carbon dioxide on the growth of psychrotrophic organisms in cottage cheese. J. Dairy Sci. 74:2941–5.
8. Chen JH ve Hotchkiss JH. 1991b. Long shelf-life cottage cheese through dissolved carbon dioxide and high-barrier packaging (abstr). J. Dairy. Sci. 74 (Suppl 1):125.
9. Ma Y ve Barbano DM. 2003a. Effect of temperature of CO₂ injection on the pH and freezing point of milk and creams. J. Dairy Sci. 86:1578–89.
10. Espie WE ve Madden RH. 1997. The carbonation of chilled bulk milk. Milchwissenschaft 52:249–53.
11. Muir DD. 1996a. The shelf-life of dairy products. 1. Factors influencing raw milk and fresh products. J. Soc. Dairy Technol., 49:24–32.
12. Muir DD. 1996b. The shelf-life of dairy products. 2. Raw milk and fresh products. J. Soc. Dairy Technol. 49: 44–8.
13. Muir DD. 1996c. The shelf-life of dairy products. 3. Factors influencing intermediate and long life dairy products. J. Soc. Dairy Technol. 49: 67–72.
14. Ternstrom A, Lindbergi AM ve Molin G. 1993. Classification of the spoilage flora of raw and pasteurized bovine-milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*. J. Appl. Bacteriol. 75:25–34.
15. Jay JM. 2000. Modern food microbiology 6th Ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publish., 679 s.
16. Chambers JV. 2002. The microbiology of raw milk. In: Robinson, RK., Editor. Dairy Microbiology Handbook: The microbiology of milk and milk products, 3rd ed. New York: Wiley Interscience. 39–90s.
17. Fromm HI ve Boor KJ. 2004. Characterization of pasteurized fluid milk shelf-life attributes. J. Food Sci. 69:M207-M214.
18. Sorhaug T ve Stepaniak L. 1997. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. Trends Food Sci. Technol. 8:35–40.
19. Farber JM. 1991. Microbiological aspects of modified atmosphere packaging technology review. J. Food Protect. 54:58–70.
20. Hanlin JH, Evancho GM ve Slade PJ. 1995. Microbiological concerns associated with MAP and sous vide products. In: Faber JM, Dodds KL. editors. Principles of modified atmosphere and sous vide product packaging. Lancaster, Pa: Technomic Publishing. 69–104 s.
21. Devlieghere F, Debevere J ve Van Impe J. 1998. Concentration of carbon dioxide in the waterphase as a parameter to model the effect of modified atmosphere on microorganisms. Int. J. Food Microbiol., 43:105–13.
22. Devlieghere F ve Debevere J. 2000. Influence of carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria. Food Sci. Technol. 33:531–7.

23. King AD ve Nagel CW. 1967. Growth inhibition of a *Pseudomonas* by carbon dioxide. J.Food Sci., 32:575–9.
24. King AD ve Nagel CW. 1975. Influence of carbon dioxide upon the metabolism of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Food Sci. 40:362–6.
25. Molin G. 1983. The resistance to carbon dioxide of some food related bacteria. Euro. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 8:214–7.
26. Hendricks MT ve Hotchkiss JH. 1997. Effect of carbon dioxide on *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria monocytogenes* growth in aerobic atmospheres. J. Food Protect. 60:1548–52.
27. Bennik MHL, Smid EJ, Rombouts FM ve Gorris LGM. 1995. Growth of psychrotrophic foodborne pathogens in a solid surface model system under the influence of carbon dioxide and oxygen. Food Microbiol., 12:509–19.
28. Butler JN. 1982. carbon dioxide equilibria and their applications. Reading, Mass: Addison- Wesley Publishing. 259s.
29. Daniels JA, Krishnamurthi R ve Rizvi SSH. 1985. A review of the effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. J. Food Protect., 48:532–7.
30. King JS ve Mabbitt LA. 1982. Preservation of raw milk by the addition of carbon dioxide. J.Dairy Res. 49:439–47.
31. Sears DF ve Eisenberg RM. 1961. A model representing a physiological role of carbon dioxide at the cell membrane. J. Gen Physiol. 44:869–75.
32. Dixon NM ve Kell DB. 1989. The inhibition by carbon dioxide of the growth and metabolism of microorganisms. J. Appl. Bacteriol. 67:109–36.
33. Hong S ve Pyun Y. 2001. Membrane damage and enzyme inactivation of *Lactobacillus plantarum* by high pressure CO₂ treatment. Int. J. Microbiol. 63:19–28.
34. Stretton S, Marshall KC, Dawes IW ve Goodman AE. 1996. Characterization of carbon dioxideinducible genes of the marine bacterium *Pseudomonas* sp. S91. FEMS Microbiol Lett.
35. Stretton S ve Goodman AE. 1998. Carbon dioxide as a regulator of gene expression in microorganisms. Antonie van Leeuwenhoek 73:79–85.
36. Farber JM ve Dodds KL.1995. Principles of modified atmosphere and sous vide product packaging. Lancaster, Pa: Technomic Publishing. 464 s.
37. Brody AL, Bennik MHL, Smid EJ, Rombouts FM ve Gorris LGM. 1995. Growth of psychrotrophic foodborne pathogens in a solid surface model system under the influence of carbon dioxide and oxygen. Food Microbiol., 12:509–19. perspective on MAP products in North America and Western Europe.
38. Parry RT. 1993. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods. NewYork: Blackie Academic & Professional Publishers.305 s.
39. Kosikowski FV ve Brown DP. 1973. Influence of carbon dioxide and nitrogen on microbial population and shelf-life of cottage cheese and sour cream. J. Dairy Sci. 56:12–8.
40. Mannheim CH ve Soffer T. 1996. Shelf-life extension of cottage cheese by modified atmosphere packaging. Food Sci. Technol. 29:767–71.
41. Moir CJ, Eyles MJ ve Davey JA. 1993. Inhibition of *Pseudomonads* in cottage cheese by packaging in atmospheres containing carbon dioxide. Food Microbiol. 10:345–51.
42. Barnett HJ, Nelson RW, Hunter PJ ve Groninger H. 1971. Studies on the use of carbon dioxide in refrigerated brine for preservation of whole fish. Fish Bull., 69:433–7.
43. Gorski D. 1996. Commitment to cottage cheese. Dairy Foods 97(4):20–3.
44. Lee EYC, Hotchkiss JH. 1997. Microbial changes in cottage cheese packaged in 2.27 kg flexible film pouches and stored at 4 and 7°C (abstr). J. Dairy Sci. 80 (Suppl 1):129. Lloyd MA, Zou J, Farnsworth
45. Dixon NM, Lovitt RW, Morris JG ve Kell DB. 1988. Growth energetics of *Clostridium sporogenes* NCIB 8053: modulation by CO₂. J. Appl. Bacteriol. 65:119–33.
46. Glass KA, Kaufman KM, Smith AL, Johnson EA, Chen JH ve Hotchkiss JH. 1999. Toxin production by *Clostridium botulinum* in pasteurized milk treated with carbon dioxide. J. Food Protect. 62:872-6
47. Werner BG ve Hotchkiss JH. 2002. Effect of carbon dioxide on the growth of *Bacillus cereus* spores in milk during storage. J. Dairy Sci. 85:15–8
48. Chen HH, Hotchkiss JH. 1993. Growth of *Listeria monocytogenes* and *Clostridium sporogenes* in cottage cheese in modified atmosphere packaging. J. Dairy Sci. 76:972–7.
49. Fedio WM, Macleod A, Ozimek L. 1994. The effect of modified atmosphere packaging on the growth of microorganisms in cottage cheese. Milchwissenschaft 49:622–9.

50. Van Slyke LL ve Baker JC. 1919. Carbonic acid and carbonate in cow's milk. NY Agric Exp. Sta. Bull 69:10–25.
51. Van Slyke LL ve Keeler RF. 1920. The carbon dioxide content as a basis for distinguishing heated from unheated milk. N.Y. Agric Exp. Sta. Bull 78:111–9.
52. Frayer JM. 1941. The dissolved gases in milk and dye reduction. Vermont Agric. Exp. Sta. Bull 461.
53. Moore JM, Smith AC ve Gosslee DG. 1961. Effect of carbon dioxide upon freezing point of vacuum treated milk. J. Milk Food Technol., 24:176–80.
54. Smith AC. 1964. The carbon dioxide content of milk during handling, processing and storage and its effect upon the freezing point. J. Milk Food Technol. 27:38–45.
55. Marshall CE. 1902. The aeration of milk. Mich Agric Exp. Sta. Special Bull 16:25–30.
56. Smith AC. 1964. The carbon dioxide content of milk during handling, processing and storage and its effect upon the freezing point. J. Milk Food Technol. 27:38–45.
57. Noll CI ve Supplee GC. 1941. Factors affecting the gas content of milk. J. Dairy Sci. 24:9938.
58. Daniels JA, Krishnamurthi R, Rizvi SSH. 1985. A review of the effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. J. Food Protect. 48:532–7.
59. Martin JD. 2002. Effects of carbon dioxide on common raw milk bacteria using predictive modeling measured by conductivity. [MS thesis]. Ithaca, NY.: Cornell Univ.145 s.
60. Loss CR. 2001. Effect of dissolved carbon dioxide on the thermal resistance of microorganisms in milk. [MSc thesis]. Ithaca, N.Y.: Cornell Univ. 92 s.
61. Jackson CJ. 1936. Technique for obtaining anaerobic milk with some observations on its carbon dioxide content. J. Dairy Res., 7:25–8.
62. Lee EC. 1996. Carbon dioxide gas analysis and application in the determination of the shelflife of modified atmosphere packaged dairy products. [MS thesis]. Ithaca, NY: Cornell Univ.77 s