

İçme Sütünde Bir Parametre : Lipopolisakkarit

Doç. Dr. Gülderen OYSUN

*Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü — İZMİR***GİRİŞ**

Pastörize ve UHT süt üretimine ayrılan çiğ sütde bulunan gram negatif bakterilerinin düzeyinin tesbiti, pratikte ve bilimsel çalışmalarda son yıllarda üzerinde durulması gereken bir konu olmuştur. Gram negatif bakteriler tarafından oluşturulan termostabil karakterli proteolitik ve lipolitik enzimler, negatif bakteri bulgularına karşın sütün dayanabilirliğini etkilemektedirler. Bu nedenle örn: Almanya'da UHT süte işlenecek çiğ sütün 1. kalite sınıfına ait olması zorunluluğu getirilmiştir. UHT-Sütün hijyenik-bakteriyolojik güvenliğini sağlayabilmek, uzun bir dayanabilirlik süresi elde etmek için; ısı işlem sonucunda çiğ süte göre değeri değişmeyen bir parametre bulmak ve bu parametreden çiğ sütün kalitesini belirlemek gereği duyulmuştur. Bu amaçla; saprofit bakterilerin metabolizma ürünleri, laktat ve serbest yağ asitlerinin termostabil olduklarından indikatör olarak dikkate alınabileceği belirtilmiştir (Südi ve Ark., 1981). UHT-Sütde pürivat miktarı üzerinde durulmuşsa da, ısı işlem sırasında miktar yükseldiğinden, çiğ sütün bakteriyolojik niteliğini UHT-sütün pürivat miktarından tesbit etmek hassas bir yöntem olmaktadır.

Son yıllarda; gram negatif bakterilerin stabil hücre zarı bileşenlerini, özellikle lipopolisakkarit (endotoksin) düzeyini tesbit ederek, UHT-süt üretiminde kullanılan çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesini belirleme olanakları üzerinde durulmuştur.

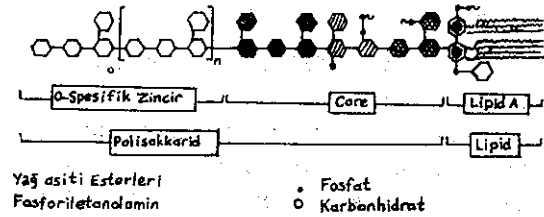
Lipopolisakkarit Nedir?

Lipopolisakkaritler, gram negatif bakterilerin hücre duvarlarının dış membranının bir bileşeni endotoxindir. Pyrogen olarak da isimlendirilir (Schütz, 1990).

Endotoksin; genellikle yaşayan bakteri hücreleri tarafından salınan, eksotoksin; ölen bakteri hücrelerinden çözünen termostabil toksin olarak bilinmekte ise de, endotoksin ifadesi bu konu ile ilgili olarak tesbit edilmiş bulunmaktadır.

Endotoksinler; protein olan eksotoksinin aksine lipopolisakkaritlerdir. (LPS). Bilindiği gibi lipopolisakkarit bir lipid komponenti ile polisakkarit komponentinden oluşmuştur. Termotabilitesi oldukça yüksek olup, 126°C'de 7 saatte, 145°C'de 30 dakikaya kadar stabildir (Jülicher ve Ark. 1989 - a).

Lipopolisakkarit molekülü üzerinde; şekilde görüldüğü gibi, esterleşmiş uzun zincirli yağ asitleri ile iki glukozamindisakkarit ve fosforik asidin meydana getirdiği lipid A; tip spesifik olan oligosakkarit kenar zinciri (o-antigen), bakterinin tümünün antigen determinantlarını içeren endotoksin-core yapıları ayırılmaktadır (Schütz, 1990).



Şekil 1. Lipopolisakkaritin yapısal şeması (Jülicher ve Ark., 1989-a)

Lipopolisakkaritin Tayin Yöntemi

Lipopolisakkaritler, limulus test denilen, gram negatif bakterilerin termostabil hücre duvarı bileşenlerinin tayin edildiği bir yöntem ile tayin edilmektedir. Amöbozit (limulus-kan hücreleri) lisatı (LAL) bu bileşenlerin teşhisinde oldukça spesifik olan bir reagenzdır. Yöntemin prensibi enzimatik reaksiyona dayanmakta olup; endotoksin, amöbozitler ile birleştiğinde pıhtılaştırıcı enzim aktive olmakta ve bir dizi reaksiyonları kataliz ederek kompleks bir jel oluşturmaktadır (Schütz, 1990; Südi ve Ark., 1981; Terplan ve Ark., 1981).

Ancak jel oluşumunun tamsının subjektif oluşu; endotoksin düzeyinin tayininde daha objektif yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmış olup, Mottar (1987) tarafından fotometrik yöntem uygulanmaya konmuştur.

Lipopolisakkaritin Biyolojik ve Patofizyolojik Etkisi

Lipopolisakkaritin biyolojik aktivitesinin asıl taşıyıcısı lipid A yapısı olmakla beraber diğer kısımlar da kısmen biyolojik aktivite taşırlar.

Spesifik belirtileri ile hastalıklara neden olan eksotoksinler gibi, endotoksinlerin etkisi daha zor tesbit edilebilir ve kontrol altına alınabilir. Gram negatif bakterilerle ve endotoksinlerin (LPS) patojenik etkilerinin tesbiti üzerinde geniş kapsamlı çalışmalar devam etmekte olup, belirlenen reaksiyonlarından birkaçı ateş yükselmesi, şok, damarlarda kan pıhtılaşması şeklindedir. Endotoksinin toksik etki edebilmesi için önce kan dolaşımına dahil olması gerektiği belirtilmektedir. Bununla beraber bazı araştırmacılar, lipopolisakkaritler vasıtasıyla hayvanlarda immunolojik reaksiyonların teşvik edildiğini saptamışlardır (Jülicher ve Ark., 1989 - a).

Endotoksinin (LPS) barsak çeperinden emilim mekanizması günümüze kadar tam olarak açıklanamamıştır. Birçok araştırmacı; barsakta bulunan bakteriler tarafından daima belli miktarlarda endotoksin resorbe edildiğini tesbit etmişlerdir. Vücuda alınan endotoksine karşı organizmanın savunma mekanizması değişik şekillerde açıklanmakla beraber, birçok araştırmacının ortak kanıları; karaciğerde oluşturulan ve akut faz proteinleri olarak isimlendirilen bileşiklerin endotoksini nötralize ettiği yönündedir (Jülicher ve Ark. 1989 - a).

Gıda Maddelerinde Lipopolisakkarit Miktarları

Gıda maddelerinde tesbit edilen lipopolisakkarit düzeyi yaşayan ve ölü gram negatif bakterilerin varlığının bir belirtisi olarak görülmektedir. Gram negatif bakterilerin; proteolitik ve lipolitik enzim aktiviteleri ile gıda maddelerinin kalitelerinin düşmesine, bozulmalarına neden oldukları bilinmektedir. Termostatbil olan endotoksinlerin tesbiti de kullanılan hammadde kalitesini belirleme yönünde önemli bir kriter olmaktadır. Çizelge 1'de çeşitli gıda maddelerinde tesbit edilmiş bulunan lipopolisakkarit miktarları verilmiştir.

Çizelge 1. Bazı Gıda Maddelerinin LPS - Miktarları

(Jülicher ve Ark., 1989 - a)	
Gıda Maddeleri (Numune sayısı)	LPS - Miktarları (ng/ml, ng/g)
İçme suyu (18)	1000 - 10000
İçme suyu (25)	1 - 500
Tank sütü (50)	91
İşletmeye getirilen sütler (36)	10000
Pastörize süt	3,4 - 107
Yoğurt	100 - 1000
Yağsız süttozu	100 - 1000
Yumurta tozu (14)	500 - 15800
Yumurta akı tozu (13)	100 - 2100
Pastörize edilmiş yumurta (67)	10 - 50000
Kırma (48)	180 - 10000

Almanya'da pastörize ve UHT -süt ile ilgili yasal düzenlemelerde 31.12.1992'ye kadar 1200 EU (endotoksin ünitesi) / ml, 1.1.1993'den itibaren 400 EU/ml sınır değeri belirlenmiştir (Anonymous, 1990). 1 EU = 0,1 ng LPS'dir (Jülicher ve Ark., 1989 - b).

Lipopolisakkaritlerin Süt Teknolojisinde Önemi

Lipopolisakkaritler özellikle ülkemizde üzerinde durulması gereken bir konu olmalıdır. İçme sütü üreten fabrikalarımızın tamamının modern teknolojiyi uygulayan işletmeler oluşu, bunların çiğ sütü işlenene kadar belli bir süre soğutarak saklayabilmelerine olanak sağlamaktadır. Hijyenik kalitesi düşük olarak üretilmiş sütün soğukta saklanması sırasında mikroorganizma sayısındaki artış tam olarak önlenemekte, ayrıca sütün mikroflorasını oluşturan bakterilerin birbirlerine oranları değişmektedir. Soğutulmuş saklanan sütden gram negatif bakteriler olan psikrotrofların özellikle pseudomonasların asıl florayı oluşturdukları Göncü ve Gahun (1979) tarafından yapılan çok sayıda araştırma sonuçlarına dayanılarak belirtilmiştir. Weber-Frick ve Schmidt-Lorenz (1989) yaptıkları çalışmalarda pseudomonasların ve entero bakterilerin lipopolisakkarit oluşturduklarını tesbit etmişlerdir.

Lipopolisakkarit; çok yüksek derecelerde ısıtma işlem uygulanmasında dahi stabil kalabilmesi nedeniyle pastörize ve UHT - Sütlerde tesbit edilebilmekte ve çiğ sütün kalitesini belirlemede parametre olarak dikkate alınması önerilmektedir (Terplan ve Ark., 1981, Mottar, 1988).

Mottar (1989) düşük derecelerde soğutulmuş sütte endotoksin düzeyi ile gram negatif bakteriler arasında oldukça yüksek pozitif ilişki tesbit etmiştir ($r = 0,97, P < 0,01$).

Schütz (1990), Jüllicher (1989) tarafından yapılan bir araştırmada çiğ sütün lipopolisakkarit düzeyi ile toplam bakteri sayısı arasında $r = 0,725$, koliform bakteri sayısı arasında $r = 0,838$ gibi oldukça yüksek ilişki tesbit edildiğini belirtmiştir.

Russel Bishop ve Bodine (1988) lipopolisakkarit düzeyinin içme sütünün kalitesini belirlemede bir parametre olarak dikkate alınabilirliğini araştırmışlar ve sütün dayanma süresi, tat yoğunluğu ve psikrotrof bakteri sayısı ile lipopolisakkarit düzeyi arasında doğrusal bir ilişki olduğunu saptamışlar; buradan sütün dayanma süresi ile bakteri sayısının her zaman ilişkili olmadığı, bakterilerin metabolizma ürünlerinin önemli rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

Bachmeier (1988), pastörize sütlerin dayanma süresi ile lipopolisakkarit düzeyi ara-

sında $r = -0,73$ gibi korelasyon katsayısı hesaplamıştır.

Schütz (1990) UHT - süt örneklerinde; UHT - süte işlenen çiğ süt örneklerinde lipopolisakkarit düzeyinde $r = 0,860$ ile tesbit edilen oldukça yüksek korelasyon hesaplamıştır. Ancak UHT - sütteki lipopolisakkarit düzeyi üzerine, uygulanan teknolojinin önemli etkisinin olduğunu da tesbit etmiştir.

Çiğ sütte lipopolisakkarit düzeyinin düşürülmesi için baktofugasyon yöntemi denemeleri yapılmaktadır. Baktofuj yardımıyla çiğ sütün mikroorganizma sayısında % 99'a kadar reduksiyon sağlanabildiği belirtilmektedir (Üçüncü, 1984). Baktofuj ile lipopolisakkarit düzeyinin de önemli ölçüde düşürüldüğü ve bu sütün peynir için özellikle uygun olduğu belirtilmekte, ancak içme sütünün dayanabilirliğini uzatacağı henüz kesin olarak yanıtlanmamaktadır (Jüllicher ve Ark., 1989 - b, Schütz ve Ark., 1990).

Sonuç olarak; çiğ süt üretiminde hijyenik koşullara çoğunluk uyulmadığı ülkemizde, soğukta muhafaza edilse dahi psikrotrof bakterilerin çoğalması nedeniyle, bu sütlerden üretilen pastörize ve UHT - sütlerin lipopolisakkarit düzeylerinin saptanması ve dayanabilirliği etkileme durumunun tesbiti, peynir üretiminde ısıtma işlem yerine baktofugasyon uygulanmasının etkileri araştırmalar ile açıklanmalıdır.

KA Y N A K L A R

1. Anonymous, 1990. Deutsche Milchwirtschaft 22, 758.
2. Bachmeier, K. 1988. Milchwissenschaft 43 (2) 117.
3. Gönç, S., Y. Gahun, 1979. Gıda 4, 6, 205 - 212.
4. Jüllicher, B., M. Schütz, H.U. Wiesner, 1989 - a. Archiv für Lebensmittelhygiene 40, 79 - 83.
5. Jüllicher, B., M. Schütz, H.U. Wiesner, 1989 - b. Milchwissenschaft 44 (9) 564 - 568.
6. Mottar, J. 1987. Neth. Milk Dairy J. 41, 137 - 145.
7. Mottar, J. 1988. Milchwissenschaft 43 (3) 191.
8. Mottar, J. 1989. Milchwissenschaft 44 (8) 518.
9. Russell Bishop, J., A.B. Bodine, 1988. Milchwissenschaft 43 (2) 116.
10. Schütz, M. 1990. Deutsche Milchwirtschaft 50, 1722 - 1725.
11. Schütz, M., B. Jüllicher, H.U. Wiesner, 1990. Deutsche Milchwirtschaft 20, 678 - 681.
12. Sudi, J., G. Suhren, W. Heeschen, A. Tolle. 1981. Milchwissenschaft, 36 (4) 193 - 198.
13. Terplan, G., J. Bierl, H - H. Grove, K.J. Zaadhof, 1981. Archiv f. Lebensmittelhygiene 32 (15) 15 - 19.
14. Üçüncü, M. 1984. Ege Üniver. Müh. Fak. Seri: B Gıda Mühendisliği 2, 1, 141 - 148.