

# BEYAZ PEYNİRİN YAPIMI VE OLGUNLAŞMASI SIRASINDA YERSINIA ENTEROCOLITICA'NIN CANLI KALABİLME YETENEĞİNİN İNCELENMESİ

Sadi AKGÜN\*  
Aylin KASIMOĞLU\*

Belgin SARİMEHMETOĞLU\*  
İrfan EROL\*

Halâk ÇELİK\*  
Şerif KAYMAZ\*

## Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and ripening of the white cheese

**Summary:** *In this study, survival of Yersinia enterocolitica 0:9 was investigated during the manufacture and ripening period of white cheese made from raw and pasteurized milk (72°C for 2 min). For this purpose, Y. enterocolitica was inoculated at the level of 10<sup>3</sup> and 10<sup>5</sup> cfu/ml. to raw and pasteurized milk. All cheese samples were ripened for 30 days at 4°C. The samples were taken from milk, curd and the 1., 3., 6., 7. and 10. days of ripening period of cheese and analysed for the number of Y. enterocolitica.*

*During cheese making from pasteurized milk, the number of Y. enterocolitica decreased about 1 log cycle in curd, inoculated with the level of 10<sup>3</sup> and 10<sup>5</sup> cfu/ml. Y. enterocolitica was not detected in cheese samples after 3 days of ripening, depending on the pH degree (pH:4.65-4.67).*

*During cheese making from raw milk, the number of Y. enterocolitica increased about 1 log cycle in curd, inoculated with the level of 10<sup>3</sup> cfu/ml. On the other hand, the number of Y. enterocolitica was not changed in the other curd, inoculated with the level of 10<sup>5</sup> cfu/ml. In the first 10 days of ripening period, the number of Y. enterocolitica decreased slightly, depending on the pH degree (pH:4.74-4.71) and the other antagonistic microorganisms. Y. enterocolitica was not detected in cheese samples after 10 days of ripening period.*

**Özet:** *Bu çalışmada, çiğ süttten ve 72°C'de 2 dakika pastörize edilen süttten yapılan beyaz peynirlerin yapımı ve olgunlaşması sırasında Yersinia enterocolitica 0:9'un canlı kalabilme yeteneği incelenmiştir. Bu amaçla, çiğ ve pastörize süte 10<sup>3</sup> ve 10<sup>5</sup> kob/ml. seviyesinde Y. enterocolitica inokule edilmiştir. Bütün peynir örnekleri +4°C'de 30 gün olgunlaştırılmıştır. Numuneler süttten, pıhtıdan ve olgunlaşmanın 1., 3., 6., 7. ve 10. günlerinde peynirden alınmış ve Y. enterocolitica sayısı yönünden analiz edilmişlerdir.*

*Pastörize süttten peynir yapımı sırasında, hem 10<sup>3</sup> hem de 10<sup>5</sup> kob/ml. seviyelerinde inokülasyondan sonra, pıhtıda Y. enterocolitica sayısı yaklaşık log 1 düzeyinde azalmıştır. Y. enterocolitica, olgunlaşmanın 3. gününden sonra, pH seviyesine (pH:4.65-4.67) bağlı olarak peynirde tespit edilememiştir.*

*Çiğ süttten peynir yapımı sırasında, 10<sup>3</sup> kob/ml. seviyesinde inokülasyondan sonra, pıhtıda Y. enterocolitica sayısı yaklaşık log 1 düzeyinde artmıştır. Fakat 10<sup>5</sup> kob/ml seviyesinde inokule edilen diğer pıhtıda Y. enterocolitica sayısı değişmemiştir. Olgunlaşmanın ilk 10 gününde Y. enterocolitica, pH'ya (pH:4.74-4.71) ve diğer antagonistik mikroorganizmalara bağlı olarak çok az bir düşüş göstermiş ve olgunlaşmanın 10. gününden sonra peynirde tespit edilememiştir.*

## Giriş

Son yıllarda çeşitli Avrupa ülkelerinde *Yersinia enterocolitica*'dan kaynaklanan sporadik enfeksiyonlarda önemli artışlar olduğu bildirilmektedir (9). Enfeksiyonun ortaya çıkışın-

da *Yersinia enterocolitica* ile kontamine hayvansal kaynaklı gıdaların önemli rol oynadığı ve bu nedenle yersiniozisin önemli gıda enfeksiyonlarından biri olduğu kabul edilmektedir. *Y. enterocolitica* İsveç, Macaristan ve Norveç'te salmonella ve campylobacter'den sonra üçüncü derecede sıklıkla izole edilen gıda enfeksiyonu nedenidir. Almanya'da ise gıda maddelerinden salmonella ile aynı sıklıkla izole edildiği bildi-

\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Ankara.

ılmaktadır (3, 9, 24). Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda *Y. enterocolitica* başta çiğ ve pastörize sütler olmak üzere çikolatalı süt, süt tozu, çiğ süttten yapılan peynirler vb. çeşitli gıda maddelerinden izole edilmiştir (4, 5, 6, 7, 8, 12).

*Y. enterocolitica* insanlarda yaşa, cinsiyete, organizmanın direncine ve etkenin virulansına bağlı olarak çok değişik klinik semptomlar oluşturmaktadır. Genelde çocuklarda ve yaşlılarda diare, karın ağrısı, kusma ve ateş ile seyrederek ve en çok bilinen semptom gastroenteritistir. Akut, komplike olmayan enterit en çok yedi yaşın altındaki çocuklarda görülmektedir. Enfeksiyon sağ iliak fossaya yerleşip akut terminal ileitis veya akut mesenterik lenfadenitis yapığundan, semptomlar çoğunlukla apandisit olgularını andırır ve gereksiz apandisit ameliyatları ile sonuçlanmaktadır. Enfeksiyon sonrası özellikle yaşlılarda ve kadınlarda görülen semptomlar arthritıs ve erythema nodosumdur (9, 19).

Son senelerde *Y. enterocolitica* enfeksiyonlarında önemli bir artış olduğı ve bu bakterinin gıda kaynaklı zehirlenmelerde ana etmen olmamakla birlikte gıdalardan sık olarak izole edildiğı belirtilmektedir. En çok izole edilen *Y. enterocolitica* serotipinin ise 0:3 ve 0:9 olduğı bildirilmektedir (9, 16).

Normal olarak pastörizasyon işlemi esnasında *Y. enterocolitica* yıkımlandığından (18) pastörize süt ve süt ürünlerinde bir sorun yaratmamaktadır. Ancak pastörizasyon işleminin yetersiz yapılması, pastörize süte çiğ süt karışması veya pastörize süttün sonradan *Y. enterocolitica* ile kontamine olması sonucu pastörize sütte bulunabildiğı gibi peynirin çiğ süttten yapılmasıyla veya peynir yapımı sırasında rekontamine olması sonucu peynirde de bulunabilmektedir (13). Pastörize sütlerde ender de olsa izole edilmesinin diğeri bir nedeni de, pastörize süt şişelerinin, kartonlarının veya ambalajlarının dış yüzeyindeki bakterilerin, satıcıların ve tüketicilerin elleriyle ambalajı açma işlemi sırasında ürüne bulaşması ve bu şekilde kontamine olan sütlerde bu bakterinin buzdolabı ısısında bile üreyebilmesidir (17, 18, 22).

Tüketime hazır peynirlerde yapılan piyasa taramalarında, De Boer ve Ark. (5) 89 adet küflü peynir örneğinin (camambert ve brie) 4'ünde, 50 adet blue-veined peynir örneğinin ise 1 tanesinde *Y. enterocolitica* izole ettiklerini açıklamışlardır.

Mısır'da Assuit kentinde tüketime sunulan yumuşak peynirlerden beyaz peynir benzeri Ka-

reish peynir örneklerinin %6.7 sinden *Y. enterocolitica* izole edilmiştir (11). Aynı araştırmacılar Colby peynirinin üretimi ve olgunlaştırılması sırasında *Y. enterocolitica*'nın virulansını incelemişler ve *Y. enterocolitica* serotip 0:8 suşunun, 3°C'de muhafaza edilen ve pH değeri 6.0 olan peynir örneklerinde 8 hafta sonra  $2 \times 10^2$  kob/g düzeyinde canlı kaldığını saptamışlardır (13).

Karaioannoglou ve ark. (10) feta peyniri yapımı için tam yağlı koyun süttünü 65°C'de pastörize ettikten sonra 42°C'de *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* (1:1)'dan oluşan starter kültürden %2.5 oranında ilave etmişler ve 37°C'de 30 dakika pH 6.2-6.3 oluncaya kadar beklettikten sonra *Y. enterocolitica*'nın Brain Heart Infusion Broth'da 22°C'de 18 saat bekletilen serotip 0:9 suşunu mayalanacak süte değişik oranlarda inoküle etmişlerdir. Araştırmacılar, kalsiyum klorür ilave edilen süttü mayaladıktan 30 dakika sonra 8 mm'lik küp şeklinde kesme işlemini takiben süzme işlemini de tamamladıktan sonra elde ettikleri peynirleri kuru tuzlama ile 22°C'de 2 gün bekletmişlerdir. Peynirler %6 lık salamura içeren tenekelerde 22°C'de 3 gün bekletildikten sonra da 4°C'de olgunlaştırmışlardır. Araştırmacılar, yaptıkları 11 deneysel feta peynirinin yapımı ve olgunlaşması esnasında, inokulasyondan 4 saat sonra *Y. enterocolitica* düzeyinin log 3.3617-8.1760 kob/g iken, asitliğı çabuk gelişen peynirlerde (48-96 saat içerisinde pH değerinin 4.6 ve daha altına düşen peynirler) sayılarının log 1 ile 6 arasında değişen oranda düştüğünü ve 72 ile 120 saat içerisinde *Y. enterocolitica* tesbit edemediklerini bildirmişlerdir. Buna karşın asitliğı yavaş gelişen peynirlerde pH'nın 30 günde 6.6'dan 5.4'e düştüğünü ve *Y. enterocolitica* sayılarının arttığını, 30 gün sonra sayılarının  $6 \times 10^2$  kob/g dan  $1.4 \times 10^4$  kob/g'a ulaştığını ve *Y. enterocolitica*'nın inaktivasyon pH değerinin 4.5 ve daha altında olduğunu saptamışlardır.

Türkiye'de beyaz peynirin üretimi ve olgunlaşması sırasında *Y. enterocolitica*'nın canlı kalabilme yeteneğini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, Özbaş ve Aytaç (14) farklı dönemlerde piyasadan toplanan 66 beyaz peynir örneğinin 19'unda, 60 pastörize süt örneğinden 4'ünde *Y. enterocolitica* izole etmişlerdir. Araştırmacılar, peynirlerden izole edilen *Y. enterocolitica* suşlarından 5'inin, pastörize süt örneklerinden izole edilen suşların 2'sinin atipik olduklarını belirlemişlerdir.

Sağun (15), İstanbul piyasasında satışı sunulan beyaz peynirlerden alınan 41 örnekten sadece 1'inde *Y. enterocolitica* izole etmiştir.

Ülkemizde tüketilmekte olan beyaz peyni-

rin büyük çoğunluğu köylerde ve hijyenik koşulları yeterli olmayan mandıralarda çiğ süttten üretildiğinden, biraz daha modern sayılabilen üretim merkezlerinde ise hijyen kurallarını, bakteri kavramını bilmeyen ustaların inisiyatifinde tam pastörize edilmeden ve starter kültür kullanılmadan ampirik şartlarda yapıldığından ve olgunlaştırılmadan çok kısa sürede piyasaya sunulduğundan dolayı beyaz peynirin halk sağlığı yönünden büyük bir risk oluşturduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır (1, 21).

Konunun öneminden dolayı bu çalışma, beyaz peynirin yapımı ve olgunlaşması sırasında *Yersinia enterocolitica*'nın canlı kalabilme yeteneğini incelemek amacı ile ele alınmıştır.

### Materyal ve Metot

#### Materyal

Çalışmada, A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Süt Ünitesi'nde deneysel olarak yapılan peynirler materyal olarak kullanıldı. Peynir yapılacak sütlere inoküle edilen *Yersinia enterocolitica* 0:9 suşu, Alman Federal Sağlık Teşkilatı (Bundesgesundheitsamt Robert von Ostertag Institut Burgstraße 37 Wernigerode/Deutschland)'ndan temin edildi.

#### Metot

Deneysel olarak yapılacak peynir için 120 kg süt alındı. 60 kg'lık birinci bölümü çiğ olarak kullanıldı. Bu amaçla süt 32°C'ye kadar ısıtıldıktan sonra 30'ar kg'lık iki gruba ayrıldı. 30 kg'lık 1. gruba mililitresinde 10<sup>3</sup> kob, 30 kg'lık 2. gruba mililitresinde 10<sup>5</sup> kob düzeyinde *Yersinia enterocolitica* olacak şekilde daha önceden Brain Heart Infusion Broth (BBL) da 22°C'de 18 saat inkübe edilerek sayısı 10<sup>8</sup> kob/ml olan *Y. enterocolitica* 0:9 suşundan inoküle edildi.

Diğer 60 kg'lık süt 72°C'de 2 dakika süreyle pastörize edildikten sonra 32°C'ye kadar soğutuldu ve aynı çiğ sütte olduğu gibi iki gruba ayrılarak 1. grup mililitresinde 10<sup>3</sup> kob, 2. grup mililitresinde 10<sup>5</sup> kob düzeyinde *Y. enterocolitica* olacak şekilde *Y. enterocolitica* 0:9 suşu ile kontamine edildi ve %2 oranında starter kültür (*S. lactis* ve *S. cremoris* Chr. Hansen No:54) ilave edildi.

*Yersinia enterocolitica* ile kontamine edilmiş ikisi çiğ ve ikisi pastörize sütlardan oluşan 4 grup süttten aynı şartlarda beyaz peynir yapıldı. Her grup sütte kalsiyum klorür (20 g/100 kg) ilave edildi ve 2:10 (v/w) oranında peynir mayası (kimozin) (1/12000) ile pıhtılaşma sağlandı. Pıhtılaşma zamanı 4 ile çarpılarak pıhtıyı kesme zamanı bulundu ve bu süre sonunda pıhtı 2x2x2 cm boyutlarında kesilerek peynir suyunun ayrılması amacı ile önce 10 dakika kendi

suyu içinde, daha sonra 2 saat süreyle baskı altında (20 kg/100 kg süt) süzölmeye bırakıldı. Süzölme sonunda teleme kitlesi 8x8x8 cm boyutlarında kesildi ve 12°C'deki %13 lük tuzlu suda 16 saat bekletildikten sonra %6 lük salamura içersinde +4°C'de olgunlaştırıldı (1).

### Numunelerin alınması

Peynir yapılacak çiğ ve pastörize süttten *Y. enterocolitica* test suşunun inokulasyonundan önce ve sonra, peynir yapımı aşamasında telemeden ve olgunlaşma sırasında 1., 3., 6., 7., 10., 15. ve 30. günlerde peynirlerden mikrobiyolojik analizler, pH ve tuz tayini amacı ile numuneler alındı.

### Mikrobiyolojik analizler

Süt ve peynir numunelerinin steril peptonlu suda 10<sup>-8</sup>'e kadar hazırlanmış dilüsyonlarından aerob genel canlı sayımı için Trypton Soya Agar (TSA, Oxoid CM 131), koliform bakterilerin sayımı için Violet Red Bile Agar (Oxoid CM 107) besi yerlerine yayma plak yöntemi ile ekimler yapıldı (20).

*Yersinia enterocolitica*'nın sayımı için ise sütlardan 25 ml, teleme ve peynirlerden 25 g alındı ve üzerine steril 225 ml 1/15 M Phosphate Buffered Saline (PBS, pH 7.6) ilave edilerek vortex'de iyice karıştırıldıktan sonra 1 ml alınarak 10<sup>-6</sup>'e kadar olan dilüsyonları hazırlandı ve yayma plak yöntemi ile CIN Agar'da (Cefsulodin Irgasan Novobiocin Agar, *Yersinia* antimicrobial supplement CN Art. NR. 3196 *Yersinia* Selective Agar Difco Art. Nr. 1817) çift paralelli ekimleri yapılarak 32°C'de 48 saat inkübe edildi ve 1 mm çapında düzgün kenarlı koyu kırmızı ve etrafı şeffaf koloniler (peteşi gibi) şüpheli *Yersinia* kolonileri olarak değerlendirildi.

Kalitatif tayin amacıyla, 25 ml süt veya 25 g peynir üzerine zenginleştirme besi yeri olarak steril 225 ml PBS (pH 7.6) ilave edildi. Vortexte iyice karıştırıldıktan sonra +4°C'de 21 gün bekletildi. 21. gün sonunda direkt olarak ve KOH ile muamele (0.5 ml zenginleştirilmiş PBS +4.5ml %0.5 lik KOH +%0.5'lik NaCl=pH 9) edilerek ayrı ayrı, yayma plak yöntemi ile CIN Agar'a çift paralelli ekimler yapılarak 25°C'de 48 saat inkübe edildi ve 1 mm çapında düzgün kenarlı, etrafı şeffaf koyu kırmızı koloniler şüpheli *Yersinia* kolonileri olarak değerlendirildi.

Şüpheli koloniler Kligler Iron Agar (KIA)'da 35°C'de 24 saatte zenginleştirildi. Bu kolonilerden, Urea Agar'da 35°C'de üre hidrolizi yapan (+) ve Sucrose (25°C) (+) olanlar *Y. enterocolitica* olarak değerlendirildi (16, 23).

### Tuz ve pH tayini

Numunelerin tuz miktarı FIL/IDF (2)'in standard metoduna göre, pH değerleri ise portable NEL pH900 pH-metresi ile saptandı.

### Bulgular

#### Pastörize Sütten Yapılan Beyaz Peynirde *Y. enterocolitica* Gelişimi

Pastörizasyon işleminden sonra 32°C'deki süte mayalama işleminden evvel  $10^3$  kob/ml düzeyinde inoküle edilen *Y. enterocolitica*'nın sütte  $9.0 \times 10^3$  ve  $7.9 \times 10^3$  kob/ml düzeyinde iken, telemde  $1.1 \times 10^2$  ve  $3.0 \times 10^2$  kob/g'e düştüğü, 24 saat sonra I. üretimdeki peynirlerde direkt ekimle tesbit edilemediği ( $<1.0 \times 10^1$  kob/g), fakat +4°C'de 21 gün zenginleştirme sonucu tespit edildiği, II. üretimdeki peynirlerde sayılarının  $2.2 \times 10^2$  kob/g düzeyinde olduğu, olgunlaşmanın 3. gününde ise gerek 1. üretimdeki, gerekse 2. üretimdeki hiçbir peynirde *Y. enterocolitica*'nın üremediği gözlemlendi (Çizelge 1).

$10^5$  kob/ml düzeyinde *Y. enterocolitica* inoküle edilerek yapılan peynirlerin pastörize sütünde, inokülasyondan hemen sonra, sayılarının  $2.2 \times 10^5$  ve  $6.2 \times 10^5$  kob/ml olduğu, telemde  $4.8 \times 10^3$  ve  $3.2 \times 10^4$  kob/ml düzeyine düştüğü, 1. üretimde 24 saatte direkt ekimle tespit edilmediği ( $<1.0 \times 10^1$  kob/g), ancak +4°C'de 21 gün zenginleştirildikten sonra tespit edildiği, 2. üretimde ise üretimden 24 saat sonra ve onu takip eden olgunlaşma günlerinde hem direkt yöntemle, hem de zenginleştirme yoluyla yapılan ekimlerde *Y. enterocolitica* tespit edilemediği, diğer bir deyimle 24 saat sonra peynirde aktivitesini yitirdiği gözlemlendi.

#### Çiğ Sütten Yapılan Beyaz Peynirde *Y. enterocolitica* Gelişimi

Çiğ süte *Y. enterocolitica* inoküle etmeden evvel yapılan kontrollerde çiğ süütün *Y. enterocolitica*, prezervatif madde ve antibiyotik içermediği saptandı. Mayalama ısısına getirilen çiğ süte  $10^3$  kob/ml olacak şekilde *Y. enterocolitica* inokülasyonundan sonra sütte tesbit edilen sayısının  $2.7 \times 10^3$  ve  $2.3 \times 10^3$  kob/ml olduğu, telemde sayılarının artarak  $1.6-2.0 \times 10^4$  kob/ml'e yükseldiği, olgunlaşmanın 1. gününden itibaren sayılarının azalmaya başladığı, 7. günde  $1.0 \times 10^2$  kob/g'e düştüğü, ancak olgunlaşmanın 10. gününde peynirde kalmadığı ve +4°C'de 21 gün zenginleştirmede de rastlanmadığı gözlemlendi.

Peynir yapılacak çiğ süte  $10^5$  kob/ml düzeyinde inokülasyondan hemen sonra *Y. enterocolitica* sayılarının  $3.6 \times 10^5$  kob/ml ve  $9.0 \times 10^5$  kob/ml olduğu saptandı. Telemde aynı seviye-

yi korurken sayılarının peynirde 24 saatte  $2.3 \times 10^4-6.10 \times 10^4$  kob/g'a düştüğü, yavaş bir azalma göstererek 7. gün  $1.0 \times 10^2-1.4 \times 10^2$  kob/g olduğu, olgunlaşmanın 10. gününde ise peynirde kalmadığı saptandı. Olgunlaşmanın 10. gününden itibaren gerek direkt ekimlerle ve gerekse zenginleştirme ile yapılan ekimlerde hiçbir peynirde *Y. enterocolitica* saptanamadı (Çizelge 2).

#### Peynirlerde Aerob Genel Canlı ve Koliform Bakteri Sayıları

Pastörize süte  $10^3$  kob/ml düzeyinde *Y. enterocolitica* inoküle edilerek yapılan deneylerde aerob genel canlı sayısının sırasıyla sütte  $2.4 \times 10^7$  ve  $7.2 \times 10^7$  kob/ml, telemde  $4.6 \times 10^7$  ve  $6.2 \times 10^8$  kob/g, olgunlaşmanın 1. ve 3. gününde ise  $1.2 \times 10^8-4.4 \times 10^8$  kob/g düzeyinde olduğu saptandı (Çizelge 1). Gerek sütte ve gerekse peynirlerde koliform bakteri tespit edilemedi.

Pastörize süte  $10^5$  kob/ml düzeyinde *Y. enterocolitica* inoküle edilerek yapılan üretimde, aerob genel canlı sayısının sütte  $1.4 \times 10^7-8.4 \times 10^7$  kob/g'den 24 saatte  $1.4-3.6 \times 10^8$  kob/g'e yükseldiği saptandı (Çizelge 1). Sütte, telemde ve peynirlerde koliform bakteri tespit edilemedi.

Çiğ süte  $10^3$  kob/ml *Y. enterocolitica* inoküle edilen süterde aerob genel canlı sayıları  $1.7 \times 10^5-1.9 \times 10^5$  kob/ml iken, peynirde olgunlaşmanın 3. gününde  $10^8$  kob/g'e ulaştığı saptandı. Çiğ sütte  $10^6$  kob/ml düzeyinde bulunan koliform bakteri sayısının artarak telemde ve peynirde  $10^7$  kob/g'a yükseldiği, olgunlaşmanın 10. gününde  $2.0 \times 10^4$  ve  $8.0 \times 10^5$  kob/g'a düştüğü gözlemlendi (çizelge 2).

Çiğ süte  $10^5$  kob/ml düzeyinde *Y. enterocolitica* inoküle edilerek yapılan peynirlerin süttünde aerob genel canlı sayısının  $1.3 \times 10^7-8.0 \times 10^7$  kob/ml olduğu, sayılarının yavaş arttığı, 24 saatte peynirde  $1.6 \times 10^8-7.4 \times 10^8$  kob/g olduğu ve olgunlaşmanın 10. gününe kadar seviyelerini koruduğu gözlemlendi. Aynı peynirlerin süttünde koliform bakteri sayısının  $8.4 \times 10^5-4.6 \times 10^6$  kob/ml düzeyinde olduğu, telemde sayılarının arttığı ( $3.0 \times 10^6-2.8 \times 10^7$  kob/ml), olgunlaşmanın 10. gününe kadar sayılarının değişmediği 10. gün  $2.0 \times 10^5-4.0 \times 10^5$  düzeyine düştüğü saptandı (Çizelge 2).

#### Pastörize ve Çiğ Sütten Yapılan Peynirlerde pH Değerlerinin Seyri ve Tuz Miktarı

Pastörize ve çiğ sütte pH'nın 6.70 ( $s=0.07$ ) olduğu, telemde 5.38-5.87 arasında değiştiği, starter kültür ilave edilerek, pastörize sütten yapılan peynirlerde daha çabuk düştüğü, 24 saatte

Çizelge 1: Pastörize süte *Y. enterocolitica* (0:9) inokulasyonundan sonra yapılan beyaz peynir örneklerindeki bakteri sayıları.

ÖRNEK	Pastörize süte $10^3$ kob/ml düzeyinde <i>Y. enterocolitica</i> inoküle edilerek üretilen beyaz peynirler						Pastörize süte $10^5$ kob/ml düzeyinde <i>Y. enterocolitica</i> inoküle edilerek üretilen beyaz peynirler					
	Y. enterocolitica kob/g		Aerob Genel Canlı kob/g		Koliform bakteri kob/g		Y. enterocolitica kob/g		Aerob Genel Canlı kob/g		Koliform bakteri kob/g	
	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar
Süt	$9.0 \times 10^3$	$7.9 \times 10^3$	$7.2 \times 10^7$	$2.4 \times 10^7$	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$	$6.3 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$	$8.4 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
Teleme	$1.1 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$	$4.6 \times 10^7$	$6.2 \times 10^8$	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$	$4.8 \times 10^3$	$3.2 \times 10^4$	$6.0 \times 10^7$	$8.0 \times 10^7$	$<1.0 \times 10^1$	$<1.0 \times 10^1$
1. gün	**	$2.2 \times 10^2$	$4.0 \times 10^8$	$1.2 \times 10^8$			**	--	$3.6 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$		
3. gün	--	--	$1.2 \times 10^8$	$4.4 \times 10^8$			--	--	$2.0 \times 10^8$	$4.2 \times 10^8$		
6. gün	--	--	$8.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^7$			--	--	$7.2 \times 10^7$	$8.4 \times 10^7$		

\*\* Ancak  $+4^\circ\text{C}$ 'de 21 gün zenginleştirme sonucu tesbit edilebilen *Y. enterocolitica*-- Direkt ekimle ve zenginleştirme ile saptanamayan *Y. enterocolitica*Çizelge 2: Çiğ süte *Y. enterocolitica* (0:9) inokulasyonundan sonra yapılan beyaz peynir örneklerindeki bakteri sayıları

ÖRNEK	Çiğ süte $10^3$ kob/ml düzeyinde <i>Y. enterocolitica</i> inoküle edilerek üretilen beyaz peynirler						Çiğ süte $10^5$ kob/ml düzeyinde <i>Y. enterocolitica</i> inoküle edilerek üretilen beyaz peynirler					
	Y. enterocolitica kob/g		Aerob Genel Canlı kob/g		Koliform bakteri kob/g		Y. enterocolitica kob/g		Aerob Genel Canlı kob/g		Koliform bakteri kob/g	
	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar	I. tekrar	II. tekrar
Süt	$2.7 \times 10^3$	$2.3 \times 10^3$	$1.7 \times 10^5$	$1.9 \times 10^5$	$1.8 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6$	$9.0 \times 10^5$	$3.6 \times 10^5$	$8.0 \times 10^7$	$1.3 \times 10^7$	$8.4 \times 10^5$	$4.6 \times 10^6$
Teleme	$2.0 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$	$5.6 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$	$1.2 \times 10^7$	$3.2 \times 10^6$	$9.0 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$5.2 \times 10^7$	$6.6 \times 10^7$	$2.8 \times 10^7$	$3.0 \times 10^6$
1. gün	$1.2 \times 10^4$	$8.0 \times 10^3$	$1.6 \times 10^7$	$4.4 \times 10^8$	$4.2 \times 10^7$	$4.0 \times 10^6$	$2.3 \times 10^4$	$6.0 \times 10^4$	$1.6 \times 10^8$	$7.4 \times 10^8$	$6.0 \times 10^6$	$2.2 \times 10^6$
3. gün	$1.5 \times 10^2$	$1.2 \times 10^2$	$1.1 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	$6.6 \times 10^6$	$4.6 \times 10^6$	$6.0 \times 10^2$	$2.0 \times 10^3$	$7.2 \times 10^8$	$6.5 \times 10^8$	$7.4 \times 10^6$	$6.0 \times 10^6$
6. gün	$1.2 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$	$7.4 \times 10^8$	$6.1 \times 10^8$	$5.4 \times 10^6$	$6.4 \times 10^7$	$1.0 \times 10^2$	$1.6 \times 10^2$	$1.2 \times 10^8$	$6.2 \times 10^7$	$5.8 \times 10^8$	$1.4 \times 10^7$
7. gün	$1.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$	$1.4 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	$2.0 \times 10^6$	$6.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^2$	$1.0 \times 10^2$	$4.0 \times 10^7$	$5.8 \times 10^8$	$2.0 \times 10^6$	$3.4 \times 10^6$
10. gün	--	--	$7.6 \times 10^7$	$4.1 \times 10^8$	$2.0 \times 10^4$	$8.0 \times 10^5$	--	--	$8.8 \times 10^7$	$2.4 \times 10^8$	$2.0 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$

-- Direkt ekimle ve zenginleştirme ile saptanamayan *Y. enterocolitica*

4,70 olduğu, olgunlaşmanın 3. gününde ise 4.65'e düştüğü saptandı (Çizelge 3). Çiğ süttten yapılan peynirlerde ise pH değerlerinin çok yavaş düştüğü, 1. gün 5.10-5.16 iken 3. gün 4.86-4.96 olduğu 6. gün değişmediği ancak olgunlaşmanın 10. günü 4.71-4.74'e kadar düştüğü saptandı (Çizelge 3).

Çizelge 3. Peynir üretim ve olgunlaştırma esnasında ortalama pH değerleri

	Pastörize süt peyniri		Çiğ süt peyniri	
	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>
Süt	6.70	6.76	6.70	6.76
Teleme	5.76	5.38	5.87	5.70
1. gün	4.74	4.7	5.10	5.16
3. gün	4.65	4.67	4.96	4.86
6. gün	-	-	4.84	4.86
7. gün	-	-	4.89	4.85
10. gün	-	-	4.74	4.71

Çiğ ve pastörize süttten yapılan peynirlerdeki tuz miktarının ortalama %4.02+0.63 olduğu saptandı.

### Tartışma ve Sonuç

*Y. enterocolitica*, alışılmışın dışında buzdolabı ısısında üreyebilen birkaç gıda kaynaklı patojenden biri olması, doğada her yerde bulunabilmesi, hayvansal ürünlerle insanlara geçmesi gibi özellikleriyle halk sağlığını yakından ilgilendirmektedir. Bu nedenle deneysel olarak kontamine ettiğimiz çiğ ve pastörize sütlerden yapılan beyaz peynirlerde *Yersinia enterocolitica*'nın canlı kalma süresi incelenmiştir. Pastörize süttün 10<sup>3</sup> ve 10<sup>5</sup> kob/ml düzeyinde kontamine edilmesinden sonra yapılan beyaz peynir örneklerinde inokülasyon miktarından kaynaklanan bir fark saptanamamıştır. *Y. enterocolitica*'nın her iki grup peynirde de olgunlaşmanın 3. gününden itibaren canlılığını yitirdiği saptanmıştır. Olgunlaşmanın 1. gününde bazı peynirlerde ancak +4°C'de 21 gün zenginleştirdikten sonra tespit edilmesi, bazılarındaki tespit edilememesinin nedeni, *Y. enterocolitica* sayısının iyice azalmasına ve 25 g numuneye 225 ml PBS ilave ederek elde edilen 10<sup>-1</sup> dilusyonundan yayma plak yöntemiyle ekim yapılmasının yeterli olmadığına, bakteri sayısı izole etme şansının 1/10 olmasına (<1.0x10<sup>1</sup>) bağlanabilir. Nitekim zenginleştirme sonucu aynı ortamdan izole edilebilmiş olması bunu göstermektedir.

Pastörize süte *Y. enterocolitica* inoküle edilerek yapılan beyaz peynir örneklerinde 3. günden itibaren *Y. enterocolitica* sayılarının telemde azalması ve süratle azalmaya devam ederek 24 saatte II. partide görülmemesi, I. par-

ti peynirlerde de sadece zenginleştirilerek saptanabilmesi ve 3. günden itibaren üremediğinin saptanması (Çizelge 1), peynirlerin pH değerleriyle doğru orantılı olduğunu göstermektedir (Şekil 1). Starter kullanılarak yapılan bu peynir örneklerinin pH değeri 1. günde 4.7'e düşmüş, 3. gün 4.65 olup, bakterinin pratik olarak pH 5-9 aralığında ürettiği, inaktivasyon pH değerinin 5.0 ve daha altında olduğu gerçeğine uymaktadır (8, 9). Bulgularımız, Karaioannoglou ve ark. (10)'nın asitliği çabuk geliştirmek amacı ile yoğurt kültürü kullanarak yaptıkları feta peynirinde olgunlaşmanın 3. günü pH'nın 4.5'e düştüğünü ve *Y. enterocolitica*'nın inaktive olduğunu saptamalarıyla uyum sağlamaktadır.

Çiğ süte 10<sup>3</sup> kob/ml düzeyinde *Y. enterocolitica* inoküle ederek yapılan deneysel peynir örneklerinin telemesinde, *Y. enterocolitica* sayısının 10<sup>4</sup> kob/ml düzeyine çıkması (şekil 2), 10<sup>5</sup> kob/ml düzeyinde inoküle edilerek yapılan peynirlerin yapımı sırasında telemde sayılarının değişmemesi, telemenin değerinin 5.70-5.87 olmasından diğer bir deyimle asitliğin yavaş gelişmesinden kaynaklanmaktadır. Çiğ süttten yapılan peynir örneklerinin asitliğinin olgunlaşma süresince de yavaş gelişmesine paralel olarak her iki grupta da *Y. enterocolitica* sayılarında yavaş bir azalma olmuştur. Olgunlaşmanın 3. günü pH 4.86-4.96 düzeyinde kalmış, bu süre içerisinde *Y. enterocolitica* sayıları 10<sup>2</sup> kob/g düzeyinde canlılığını devam ettirmiştir. Aynı peynirlerde olgunlaşmanın 1. gününden itibaren koliform bakteri sayılarının yükseldiği, peynirlerin sünger gibi gözenekli olduğu gözlenmiş olup, pH değerinin değişmemesi, koliform bakterilerin üremelerine ve karbondioksit oluşturarak ortamın pH sını etkilemelerine bağlanabilir. Olgunlaşmanın 3. günü peynir tenekelelerinden alınan örneklerin hacimlerini tamamlamak amacı ile ilave edilen %6 lık tuzlu suyun da tenekeledeki salamuranın ve peynirlerin asitliğini düşürmesi de diğer bir faktördür. Asitliğin yavaş gelişmesi sonucu ancak olgunlaşmanın 10. gününden itibaren çiğ süttten yapılan peynirlerde *Y. enterocolitica*'nın canlılığını yitirdiği saptanmıştır (Şekil 2).

Karaioannoglou ve ark. (10) deneysel olarak yaptıkları asitliği yavaş gelişen peynirlerde pH değerinin 30 günde 4.9 ve daha altına düştüğünü, *Y. enterocolitica*'nın da canlılığını 30 gün koruduğunu bildirmişlerdir.

De Boer ve ark. (5) 89 adet küflü peynir örneğinden (camambert ve brie) 4'ünde, 50 adet blue-veined peynir örneğinin 1 tanesinde *Y. enterocolitica* izole ettiklerini, peynirin olgunlaşmasını sağlayan küflerin üremeleri sonucu ortamı alkalileştirerek *Y. enterocolitica*'nın canlılığını sürdürebileceği ortamı yarattıklarını vurgulamışlardır.

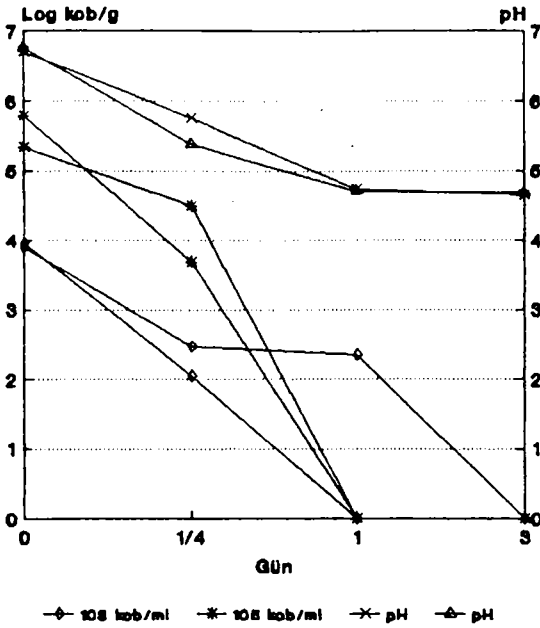


Fig.1. Fate of *Y. enterocolitica* and pH in cheese samples made from pasteurized milk.

Moustafa (11) Mısır'da Assuit kentinde tüketime sunulan yumuşak peynirlerden Kareish peynir örneklerinin %6.7 sinden *Yersinia enterocolitica* izole etmiştir. Moustafa ve ark. (13), Colby peynirinin üretimi ve olgunlaştırılması sırasında pH 6.0 da *Y. enterocolitica* serotip 0:8 suşunun 3°C'de 8 hafta sürede  $2 \times 10^2$  kob/g düzeyinde canlı kaldığını saptamışlardır.

Türkiye'de değişik zaman ve kentlerde yapılan piyasa taramalarında beyaz ve kaşar peynirinde *Y. enterocolitica*'nın izole edilmiş olması büyük bir ihtimalle peynirlerin taze ve asitliklerinin düşük veya pH değerlerinin yüksek olmasından kaynaklanabilir. Zira araştırmacılar (14, 15) yaptıkları peynir analizinde pH değerlerinin 5.4 ile 6.2 arasında değiştiğini bulmuşlardır.

Sonuç olarak, *Y. enterocolitica*, pastörize süte aktif starter kültür ilave edilerek yapılan peynirlerde en geç 3 günde aktivitesini yitirmektedir. Çiğ süttten yapılan peynirlerde durum biraz farklı olmakla beraber, denemelerimizde her ne kadar 10 günde canlılığını yitirmişse de, asitliği gelişmeyen peynirlerde uzun süre canlı kaldığı gerçektir. Türkiye'de tereyağının çiğ kremadan, beyaz peynirin köylerde, yaylalarda ve hatta çoğu mandıralarda çiğ süttten yapıldığı ve taze olarak pazar yerlerinde veya diğer satış yerlerinde tüketime sunulduğu göz önüne alınırsa, halk sağlığı yönünden oluşturacağı tehlikenin boyutları kendiliğinden ortaya çıkmaktadır.

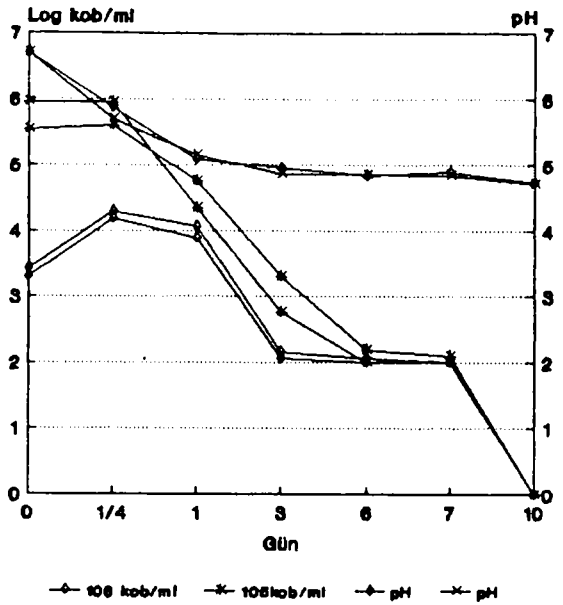


Fig.2. Fate of *Y. enterocolitica* and pH in cheese samples made from raw milk.

#### Kaynaklar

1. Akgün, S. ve Mutluer, B. (1993). *Beyaz peynirlerde vakumlu ambalajlamanın olgunlaşma süresi üzerine etkileri*. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 40 (33):346-360.
2. Anonim. (1972). *Fromage: Determination de la Teneur en Chlorures*. FIL/IDF. Norme 4.
3. Barton, W., Rohrbach, F., Draughon, P., Davidson, M. and Oliver, S. (1992). *Prevalance of Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica and Salmonella in bulk tank milk: risk factors and risk of human exposure*. J. Food Prot. 55 (2): 93-97.
4. Bryan, F.L. (1983). *Epidemiology of milk-borne diseases*. J. Food Prot. 46 (7): 637-649.
5. De Boer, E., Seldam, W.M. and Oosterom, J. (1986). *Characterization of Yersinia enterocolitica and related species isolated from foods and porcine tonsils in Netherland*. J. Food Microbiol. 3:217-227.
6. Farrag, S.A., El-Gazzar, F.E. and Marth, E.H. (1992). *Inactivation of Yersinia enterocolitica by the lactoperoxidase system in a semi-synthetic medium and in raw milk*. Milchwissenschaft 47:95-98.
7. Greenwood, M.H. and Hooper, W.L. (1989). *Improved methods for the isolation of yersinia species from milk and foods*. Food Microbiol. 6:99-104.
8. Hanna, M.O., Zink, D.L., Carpenter, Z.L. and Vanderzant, C. (1976). *Yersinia enterocolitica like organisms from vacuum-packaged beef and lamb*. J. Food Sci. 41: 1254.
9. Kapperud, G. (1991). *Yersinia enterocolitica in food hygiene*. Int. J. Food Microbiol. 12:53-66.
10. Karaioannoglou, P., Koidis, P., Papageorgiou, D. and Mantis, A. (1985). *Survival of Yersinia enterocolitica during the manufacture and storage of Feta cheese*. Milchwissenschaft. 40 (4): 204-206.

11. Moustafa, M.K. (1990). *Isolation of Yersinia enterocolitica from raw milk and soft cheeses in Assiut City*. Assiut Vet. Med. J. 23 (45): 106-109.
12. Moustafa, M.K., Ahmet, A.A.H. and Marth, E.H. (1983). *Occurens of Yersinia enterocolitica in raw and pasteurized milk*. J. Food Prot. 46 (4): 276-278.
13. Moustafa, M.K., Ahmet, A.A.H. and Marth, E.H. (1983). *Behavior of virulent Yersinia enterocolitica during manufacture and storage of Colby-like cheese*. J. Food Prot. 46 (4): 318-320.
14. Özbaş, Z.Y. ve Aytaç, S.A. (1992). *Beyaz peynirlerden ve pastörize sülterden Yersinia enterocolitica izolasyonu ve tanımlanması üzerine araştırmalar*. Gıda, 17 (1):47-52.
15. Sağun, E. (1991). *İstanbul piyasasında tüketime sunulan Türk tipi beyaz ve kaşar peynirlerinde Y. enterocolitica'nın varlığı*. Doktora Tezi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
16. Schiemann, D.A. and Wauters, G. (1992). *Yersinia*. In: Vanderzant C. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association. Washington, 433-448.
17. Stanfield, J.T., Jackson, G.J. and Aulizio, C.C.G. (1985). *Yersinia enterocolitica: Survival of a pathogenic strain on milk containers*. J. Food Prot. 48 (11): 947-948.
18. Toora, S., Amoako, E.B., Ablett, R.F. and Smith, J. (1992). *Effect of high-temperature short-time pasteurization, freezing and thawing and constant freezing, on the survival of Yersinia enterocolitica in milk*. J. Food Prot. 55:803-805.
19. Toplama, L. (1993). *Gıda Enfeksiyonları arasında Yersinia enterocolitica'nın yeri ve önemi*. Seminer, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Ankara.
20. Vanderzant, C. and Splittstoesser, D.F. (1992). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association. Washington DC, 1105-1208.
21. Vardarli, D., Altınel, A. ve Özder, M. (1993). *2000'li yıllarda Türkiye'de süt üretimi. 2000'lere Doğru Türkiye Hayvancılığı Kongresi*, 9-10 Haziran 1993, Ankara.
22. Walker, S.J., Archer, P. and Banks, J.G. (1990). *Growth of Yersinia enterocolitica at chill temperatures in milk and other media*. Milchwissenschaft 45 (8): 503-506.
23. Walker, S.J. and Gilmour, A. (1986). *A comparison of media and methods for the recovery of Yersinia enterocolitica and Y. enterocolitica-like bacteria from milk containing simulated raw milk microfloras*. J. Appl. Bacteriol. 60:175-183.
24. World Health Organization (1983). *Yersiniosis*. Euro Reports and Studies 60. WHO Regional Office, Copenhagen.

Alınmıştır - Received 7.1.1995