

T. C.

İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**SÜTÜN TİYOSİYANAT İÇERİĞİ VE TİYOSİYANATIN
SÜTLERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Murat AY

(Y1113.640009)

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Gıda Mühendisliği Doktora Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kamil BOSTAN

Mart 2017



30/03/2017

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DOKTORA TEZ ONAY BELGESİ

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bütünleşik Doktora Programı Y1113.640009 numaralı öğrencisi Murat AY'ın "SÜTÜN TİYOSİYANAT İÇERİĞİ VE TİYOSİYANATIN SÜTLERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ" adlı doktora tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 28/02/2017 tarih ve 2017/05 sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından gübirliği ile Doktora tezi olarak kabul... edilmiştir.

	Unvan- Ad-Soyad	İmza
Danışman	Prof. Dr. Kamil BOSTAN	
Üye (TİK)	Prof. Dr. Hilal ÇOLAK	
Üye (TİK)	Prof. Dr. Güner ARKUN	
Üye	Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ	
Üye	Prof. Dr. Ali AYDIN	

Tezin Savunulduğu Tarih: 30/03/2017

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12/04/2017 tarih ve 2017/09 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

Enstitü Müdürü

YEMİN METNİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Sütün Tiyosiyanat İeriği ve Tiyosiyanatın Sütlerin Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkisi**” adlı çalışmamın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve etik geleneklere aykırı düşecek bir davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden olduğunu, bunlara atıf yaparak yararlanmış olduğumu belirtir ve onurumla beyan ederim.

Murat AY

ÖNSÖZ

Başta, Değerli tez danışmanım ve Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Kamil BOSTAN'a değerli destekleri, bilimsel katkıları, tenkitleri ve yönlendirmeleri için teşekkür ederim. Doktora yapma konusunda beni destekleyen ve teşvik eden, doktora eğitimimin tüm safhalarında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen Sayın Asraf Engin GÜNER'e tüm içtenliklerimle teşekkürü bir borç bilirim.

Tez İzleme Komitesi Üyeleri Sayın Prof. Dr. Güner ARKUN ve Prof. Dr. Sayın Hilal ÇOLAK'a, eğitimim ve tez çalışmam süresince yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR'a, Yrd. Doç. Dr. İsmail Hakkı TEKİNER'e ve bana her türlü desteği gösteren tüm aile yakınlarıma şükranlarımı sunarım.

Mart 2017

Murat AY

Funda, İrem ve Bartu AY'a...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xix
ABSTRACT	xxi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Sütün Tanımı ve Bileşimi.....	3
2.2 Sütte Bulunan Mikroorganizmalar	4
2.3 Sütteki Mikroorganizmaların Kaynakları	13
2.4 Çiğ Sütün Muhafazası	18
2.5 Sütte Bulunan Antimikrobiyel Maddeler	20
2.5.1 Laktoferrin.....	20
2.5.2 Lizozim	23
2.5.3 Laktoperoksidaz	24
2.6 Laktoperoksidaz Sistem	24
2.6.1 Laktoperoksidaz enzimi	25
2.6.2 Tiyosiyanat	27
2.6.3 Hidrojen peroksit	28
2.7 LP Sistemin Aktivasyonu.....	28
2.8 LP Sistemin Antimikrobiyel Etkisi	29
2.9 LPS Aktivasyonunun İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	42
3. GEREÇ ve YÖNTEM	45
3.1 Gereç	45
3.1.1 Çiğ süt örneklerinin temini	45
3.1.2 UHT ve pastörize süt örneklerinin temini.....	45
3.1.3 Bakteri suşları.....	45
3.1.4 Laboratuvarda kullanılan alet - ekipmanlar	45
3.1.5 Analizlerde kullanılan besiyeri ve çözeltiler.....	46
3.2 Yöntem.....	46
3.2.1 Sütlerde tiyosiyanat miktarının belirlenmesi	46
3.2.2 Isıl işlemin tiyosiyanat miktarına etkisinin belirlenmesi	47
3.2.3 Soğukta muhafazanın tiyosiyanat miktarına etkisinin belirlenmesi.....	47
3.2.4 LP sistemin aktivasyonu	47
3.2.5 Homojenizasyon ve seyrelti hazırlama	48
3.2.6 Süt numunelerinin hazırlanması.....	48
3.2.7 Mikrobiyolojik analizler.....	48
3.2.7.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı	48

3.2.7.2 Psikrofil/psikrotrof mikroorganizmaların sayımı.....	49
3.2.7.3 <i>Pseudomonas</i> sp. ve <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sayımı	49
3.2.7.4 Enterobacteriaceae ve <i>Escherichia coli</i> sayımı	49
3.2.7.5 Laktik asit bakterilerinin sayımı.....	49
3.2.7.6 Küf ve maya sayımı.....	49
3.2.7.7 <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	49
3.2.7.8 <i>Streptococcus thermophilus</i> sayımı.....	50
3.2.8 İstatistiksel Değerlendirme.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1 Pastörize ve UHT Süt Örneklerinin Tiyosiyanat İçerikleri.....	51
4.2 Çiftliklerden Toplanan Çiğ Süt Örneklerinin Tiyosiyanat İçerikleri	52
4.3 Süte Uygulanan Isıl İşlemlerin Tiyosiyanat Miktarı Üzerine Etkisi	53
4.4 Soğukta Muhafazanın Çiğ Sütteki Tiyosiyanat Miktarı Üzerine Etkisi.....	54
4.5 LPS Aktivasyonunun Sütteki Toplam Mezofilik Aerobik Bakterilere Karşı Etkisi.....	55
4.6 LPS Aktivasyonunun Sütteki Psikrofil/Psikrotrof Bakterilere Karşı Etkisi.....	56
4.7 LPS Aktivasyonunun Sütteki <i>Pseudomonas</i> Türlerine Karşı Etkisi	58
4.8 LPS Aktivasyonunun Sütteki Enterobacteriaceae Karşı Etkisi.....	59
4.9 LPS Aktivasyonunun Sütteki Laktik Asit Bakterilerine Karşı Etkisi	60
4.10 LPS Aktivasyonunun Sütteki Küflere Karşı Etkisi	61
4.11 LPS Aktivasyonunun Sütteki Mayalara Karşı Etkisi	62
4.12 LPS Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen <i>P. aeruginosa</i> Üzerine Etkisi	63
4.13 LPS Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen <i>E. coli</i> Üzerine Etkisi	64
4.14 LPS Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen <i>S. aureus</i> Üzerine Etkisi	65
4.15 LPS Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen <i>St. thermophilus</i> Üzerine Etkisi..	66
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	69
KAYNAKLAR.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	95

KISALTMALAR

AKT	: Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonu Yapılmış Süt
a_w	: Su Aktivitesi
°C	: Santigrat Derece
CO₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
GRAS	: Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen
H₂	: Hidrojen
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HOSCN	: Hipotiyosiyanat Asit
IDF	: Uluslararası Süt Federasyonu
kDa	: Kilo Dalton
kg	: Kilogram
kob	: Koloni Oluşturan Birim
KON	: Kontrol Olarak Ayrılmış Süt
L	: Litre
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
LP	: Laktoperoksidaz
LPL	: Lipoprotein Lipaz
LPS	: Laktoperoksidaz Sistem
NaSCN	: Sodyum Tiyosiyanat
NO₂	: Nitrit
max.	: Maksimum
mg	: Miligram
min.	: Minimum
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
OH	: Hidroksil Radikaller
OSCN⁻	: Hipotiyosiyanat İyonu
ppm	: Milyonda Bir Birim
s	: Saniye
SCN⁻	: Tiyosiyanat
UHT	: Ultra Yüksek Sıcaklık
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ÇİZELGE LİSTESİ

SAYFA

Çizelge 2.1: İnek sütünün ortalama bileşimi	4
Çizelge 4.1: Pastörize ve UHT içme sütünün ortalama SCN ⁻ miktarları.....	47
Çizelge 4.1: Pastörize ve UHT içme sütünün ortalama SCN ⁻ miktarları.....	51
Çizelge 4.2: Çiğ sütünün ortalama SCN ⁻ miktarları.....	52
Çizelge 4.3: Farklı süre ve sıcaklıklarda ısıtılma tabii tutulan sütünün SCN ⁻ miktarları	53
Çizelge 4.4: Soğukta muhafaza sırasında çiğ sütte saptanan tiyosinat miktarları	55
Çizelge 4.5: Soğukta muhafaza sırasında saptanan toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları	56
Çizelge 4.6: Soğukta muhafaza sırasında saptanan psikrofil/psikrotrof bakteri sayıları	57
Çizelge 4.7: Soğukta muhafaza sırasında saptanan <i>Pseudomonas</i> sayıları	58
Çizelge 4.8: Soğukta muhafaza sırasında saptanan Enterobacteriaceae sayıları.....	60
Çizelge 4.9: Soğukta muhafaza sırasında saptanan laktik asit bakteri sayıları.....	61
Çizelge 4.10: Soğukta muhafaza sırasında saptanan küf sayıları	62
Çizelge 4.11: Soğukta muhafaza sırasında saptanan maya sayıları.....	63
Çizelge 4.12: Kontrol ve aktive edilmiş sütünün saptanan <i>P. aeruginosa</i> sayıları ...	64
Çizelge 4.13: Kontrol ve aktive edilmiş sütünün saptanan <i>E. coli</i> sayıları	65
Çizelge 4.14: Kontrol ve aktive edilmiş sütünün saptanan <i>S. aureus</i> sayıları.....	66
Çizelge 4.15: Kontrol ve aktive edilmiş sütünün saptanan <i>St. thermophilus</i> sayıları	67

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA

Şekil 3.1: Tiyosiyanat kalibrasyon grafiği.....	47
Şekil 4.1: Pastörize ve UHT içme sütlerinin SCN^- miktarlarının karşılaştırılması ..	52
Şekil 4.2: Çiğ sütlerin SCN^- miktarlarının karşılaştırılması.....	53
Şekil 4.3: Farklı süre ve sıcaklıklarda ısıtılma tabii tutulan sütlerdeki SCN^- miktarlarındaki değişimler	54
Şekil 4.4: Soğukta muhafaza edilen sütlerde tiyosinat içeriğindeki değişimler	55
Şekil 4.5: Soğuk muhafaza sırasında toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişimler.....	56
Şekil 4.6: Soğuk muhafaza sırasında psikrofil/psikrotrof bakteri sayılarındaki değişimler.....	57
Şekil 4.7: Soğuk muhafaza sırasında <i>Pseudomonas</i> sayılarındaki değişimler	59
Şekil 4.8: Soğuk muhafaza sırasında Enterobacteriaceae sayılarındaki değişimler ..	60
Şekil 4.9: Soğuk muhafaza sırasında laktik asit bakteri sayılarındaki değişimler.....	61
Şekil 4.10: Soğuk muhafaza sırasında küf sayılarındaki değişimler	62
Şekil 4.11: Soğuk muhafaza sırasında maya sayılarındaki değişimler.....	63
Şekil 4.12: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde <i>P. aeruginosa</i> sayılarındaki değişimler	64
Şekil 4.13: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde <i>E. coli</i> sayılarındaki değişimler.....	65
Şekil 4.14: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde <i>S. aureus</i> sayılarındaki değişimler ...	66
Şekil 4.15: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde <i>St. thermophilus</i> sayılarındaki değişimler.....	67

SÜTÜN TİYOSİYANAT İÇERİĞİ VE TİYOSİYANATIN SÜTLERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışma, süt endüstrisinde doğal antimikrobiyel sistem olarak tanımlanan laktoperoksidaz sistemin (LPS) bileşenlerinden biri olan tiyosiyanatın çiğ ve içme sütlerindeki miktarlarını, çeşitli işlemlerin tiyosiyanat miktarına etkilerini ve laktoperoksidaz sistem aktivasyonunun çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Kış ve bahar dönemlerinde iki ayrı çiftlikten toplam 66 adet çiğ süt örneği, perakende satış yerlerinden 20 adet UHT ve 20 adet pastörize süt örneği toplanmış ve tiyosiyanat içerikleri belirlenmiştir. Soğukta muhafaza (4°C) sırasında ve farklı sıcaklıklarda (60, 70, 80 ve 90°C) ısıl işlemlerden sonra sütlerdeki tiyosiyanat miktarlarındaki değişimler saptanmıştır. Son olarak tiyosiyanat ve hidrojen peroksit ilavesi (20:20 mg/kg) ile laktoperoksidaz sistemi aktivasyonunun soğukta muhafaza sırasında gerek sütün doğal mikroflorası gerekse süte deneysel olarak 6,0-8,0 log kob/ml seviyelerinde inoküle edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus thermophilus* üzerine etkisi incelenmiştir. Bahar döneminde elde edilen çiğ, UHT ve pastörize sütlerin tiyosiyanat miktarları anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (P<0,05). Çiğ süte ısıl işlem uygulamanın veya sütü soğukta muhafaza etmenin tiyosiyanat içeriği üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (P>0,05). Soğukta muhafaza edilen örneklerde, üçüncü muhafaza saatinde yapılan analizlerde toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrofil/psikrotrof bakteri, *Pseudomonas* sp., Enterobacteriaceae, laktik asit bakterileri ve maya sayıları aktive edilmiş sütlerde sırasıyla 0,43, 2,23, 1,09, 0,93, 0,22 ve 0,37 log kob/ml daha düşük, küf sayıları 0,20 log kob/ml daha yüksek saptanmış olup toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrofil/psikrotrof bakteri, *Pseudomonas* sp., Enterobacteriaceae ve maya sayıları bakımından aralarındaki farklar anlamlı bulunmuştur (P<0,05). Deneysel olarak süte inoküle edilen bakterilerden *Pseudomonas aeruginosa* sayısında laktoperoksidaz sistemin aktivasyonu ile üçüncü muhafaza saatinde 3,08 log kob/ml gibi ciddi bir azalma kaydedilmiştir. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus thermophilus* sayıları da laktoperoksidaz sistem aktivasyonundan etkilenmiş ve önemli redüksiyon ile sonuçlanmıştır (P<0,05). Bulgulara göre, soğukta saklanan sütlerde gelişerek önemli kalite sorunlarına yol açabilen bakterilerin laktoperoksidaz sistem ile kontrol altına alınabilmesi nedeniyle çiğ sütteki tiyosiyanat içeriğinin artırılmasına yönelik uygulamalar yapılması, özellikle tiyosiyanatça zengin yemlerin süt hayvanlarının beslenmesinde kullanımının artırılması durumunda, sütlerin mikrobiyolojik kalitesi korunmuş olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Süt, mikroflora, laktoperoksidaz, tiyosiyanat, inhibisyon, inaktivasyon

THIOCYANATE LEVEL IN RAW MILK AND EFFECT OF THIOCYANATE ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MILK

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the level of thiocyanate, one of the naturally occurring antimicrobial components of the lactoperoxidase system in the dairy industry, in raw and thermally-treated milk, the effects of different thermally treatments on the level of thiocyanate, and the effects of the lactoperoxidase system activation on the microbiological quality of raw milk. A total of 106 milk samples (in the winter and spring periods, 66 raw milk from two different dairy farms, 20 UHT and 20 pasteurized milk from the retail outlets) were collected. After that, the level of thiocyanate in each sample was determined. Subsequently, the changes in the level of thiocyanate in the samples were obtained during cold storage (4°C) and after heat treatment at different temperatures (60, 70, 80 and 90°C). Finally, during cold storage, the effect of the activation of the lactoperoxidase system with thiocyanate and hydrogen peroxide addition (20:20 mg/kg) was carried out on both normal microflora of milk and at levels of 6.0-8.0 log cfu/ml such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus thermophilus* bacteria were inoculated. The levels of thiocyanate in the raw, UHT and pasteurized samples related to the spring period were found to be significantly higher ($P < 0.05$). It has been determined that there is no significant effect on the thiocyanate content of the raw milk to apply heat treatment or keeping in the cold conditions ($P > 0.05$). The analyses at the end of 3rd hour during the cold storage, the microbial load of total mesophilic aerobic bacteria, psychrophile/psychrotrophic bacteria, *Pseudomonas* sp., Enterobacteriaceae, lactic acid bacteria and yeast were determined as 0.43, 2.23, 1.09, 0.93 0.22, and 0.37 log cfu/ml, respectively, lower and the microbial load of mold was 0.20 log cfu/ml higher than controls. In terms of total mesophilic aerobic bacteria, psychrotrophic/psychrotrophs bacteria, *Pseudomonas* sp., Enterobacteriaceae and yeast number were found to be significantly different ($P < 0.05$). A significant reduction in the number of *Pseudomonas aeruginosa* from the experimentally inoculated bacterium, with activation of the lactoperoxidase system, was noted at 3.08 log cfu/ml at the third storage time. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus thermophilus* were also affected by lactoperoxidase system activation and resulted in significant reduction ($P < 0.05$). In sum, the bacteria present in the cold stored milk may potentially cause severe quality problems. This issue can be naturally be prevented by the lactoperoxidase system. Thus, if the level of thiocyanate in the raw milk is increased, particularly using the thiocyanate rich feed for the dairy animals, this results in a positive approach to keep the microbiological quality of the milk for an effective preservation.

Key words: Milk, microflora, lactoperoxidase, thiocyanate, inhibition, inactivation

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanların besin gereksinimlerinin önemli bir kısmını karşılayabilen süt, aynı zamanda sıvı protein, karbonhidrat, doymamış yağ, mineral ve vitamin gibi zengin besin öğeleri içeriğiyle mikroorganizmaların büyümesi ve çoğalması için ideal bir yaşam alanıdır (Sudhasaravanan ve Binukumari, 2015). Bu nedenle sağım, toplama, depolama ve taşıma gibi aşamalarda bulaşan mikroorganizmalar, hem sütte hem de bu sütlerden yapılan ürünlerde bozulmaya neden olabilmektedir. Bunlar ekonomik kayıplara ve gıda zehirlenmelerine sebep olmaktadır (Akıllı ve ark., 2014).

Çiğ sütün bakteri yükünün düşük tutulması süt kalitesi açısından önemlidir. Bunun için sütün sağımından işleninceye kadar olan aşamalarda sağlığa uygun önlemler alınması ve çiğ sütün mutlaka soğukta saklanması gerekmektedir. Son yıllarda giderek artan modern sağım teknikleri ve sütün işleneceği işletmelere transferi sırasında soğukta muhafaza edilmesi sütün mikrobiyolojik kalitesinde bir iyileşme sağlamaktadır. Ancak, yapılan çalışmalar hem Türkiye’de hem de diğer ülkelerde çiğ sütlerin mikroorganizma yükünün hala yüksek olduğunu göstermektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2010; Patır ve ark., 2010; Kalupahana ve Fletcher, 2016; Tolosa ve ark., 2016).

Laktoperoksidaz sistem (LPS) çiğ sütlerde mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen doğal sistemlerden biridir. Bu sistem bir çok gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkilidir (Torrente-Rodriguez ve ark., 2013). Gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilere göre LP sistemine daha duyarlıdır (Hayek ve ark., 2013). Laktoperoksidaz sistemi; laktoperoksidaz enzimi, tiyosiyanat iyonu (SCN^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) olmak üzere üç komponentten oluşmakta ve sadece bu üç komponentin varlığında aktif olmaktadır (Campbell ve ark., 2012). Enzim, H_2O_2 varlığında, tiyosiyanat oksidasyonunu katalize etmekte ve bakteriler üzerine bakterisid veya bakteriyostatik etki gösteren bir ara ürün olan hipotiyosiyanat (HOSCN) meydana gelmektedir (Panwar, 2014). Oluşan bu ara ürünün antibakteriyel etkisi enzim ve proteinlerin temel sülfidril gruplarının oksidasyonundan kaynaklanmaktadır (Alba ve ark., 2015).

Laktoperoksidaz enzimi bütün memelilerin sütlerinde doğal olarak bulunmaktadır. Miktarı tür ve hayvanın bireysel özelliklerine bağlı olarak değişmektedir (Saad ve ark., 2013). Hidrojen peroksit süt mikroflorasındaki laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilmektedir (Björck ve ark., 1975; Siragusa ve Johnson, 1989; Gaya ve ark., 1991; Puspitarini ve ark., 2013). Son komponent olan tiyosiyanatın çiğ sütteki miktarı hayvanın yaşı, türü, laktasyon ve beslenme gibi şartlara bağlı olarak değişmekle birlikte en önemli kaynağı süt hayvanının tükettiği yem olduğu düşünülmektedir (Seifu ve ark., 2003). Çiğ sütün ortalama tiyosiyanat düzeyinin 3-5 ppm aralığında olması normal kabul edilmektedir (Metin, 1998). Ancak günümüzde mera besiciliğinin giderek azalması ve süt hayvanlarının genel olarak kaba yemle beslenmesi sütteki miktarı düşürmektedir. Bu da LP sisteminin aktivasyonu için yeterli olmamaktadır (Codex Alimentarius, 2007). Tiyosiyanat içeriğinin azalması sütün doğal koruyucu sisteminin zayıflaması anlamına geleceğinden bu konu özellikle önem taşımaktadır. Çeşitli araştırmacılar tarafından sütlere SCN⁻ ilave edilerek LP sistemin aktivasyonunun sütlerin mikrobiyolojik kalitesini iyileştirilebileceği öne sürülmektedir (Tayefi-Nasrabadı ve ark., 2011; Hamid ve Musa, 2013; Saad ve ark., 2013). FAO ve WHO geçmiş yıllarda hijyen standartlarının düşük olduğu bölgelerde LPS ile çiğ sütün korunmasını tavsiye etmektedir(Codex Alimentarius, 2007).

Bu çalışmada, kış ve ilkbahar dönemlerinde farklı hayvanlardan alınan süt örneklerinin tiyosiyanat içerikleri belirlemek; piyasada satışa sunulan değişik markalara ait pastörize ve UHT süt örneklerinde tiyosiyanat miktarlarını saptamak; belli bir konsantrasyonda tiyosiyanat ilave edilmiş sütlerin farklı sıcaklıklarda ısıtılma işlemine tabi tutulması ve soğukta bekletilmesi sırasında tiyosiyanat içeriğindeki değişimleri belirlemek; son olarak belli bir konsantrasyonda süte ilave edilen tiyosiyanatın muhafaza sırasında sütteki mikroflora ve süte aşılana bazı bakteriler üzerine etkisini saptamak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sütün Tanımı ve Bileşimi

Süt, dişi memeli hayvanların meme bezleri tarafından salgılanan, sarımsı beyaz renkte, kendine özgü tat, koku ve kıvamda olan, hemen hemen tüm besin öğelerini yeterli ve dengeli bir şekilde içeren, sindirilmeye ve emilmeye hazır, tam bir gıda maddesidir (Megha ve Annadurai, 2014). En az işlem ile içme sütü olarak tüketilebildiği gibi, çeşitli ürünler için hammadde olarak da kullanılabilen eşsiz bir malzemedir (Sudhasaravanan ve Binukumari, 2015). Süt, eski zamanlardan beri, içerdiği zengin besinler nedeniyle, insan beslenmesinde önemli bir role sahiptir. Özellikle yaşamın ilk birkaç ayında yeni doğan yavrular için tek ve yeterli bir besin kaynağıdır (Kanthale ve ark., 2013).

FAO tarafından, inek sütünün ortalama bileşimi; toplam kuru madde %11,9-12,7, yağsız kuru madde %8,60-9,60, yağ %3,10-3,30, laktoz %4,50-5,10, protein %3,20-3,40 ve kül miktarı %0,70 olarak bildirilmektedir (Muehlhoff ve ark., 2013). Bu bileşenler; hayvanın cinsi, genetik özellikleri, sağım şekli ve sıklığı, laktasyon durumu, yaşı, beslenme durumu, mevsim, sağlık durumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Rajeevie ve ark., 2003). Sütün bileşimi, beslenme ve iklime bağlı olarak günden güne ve hatta aynı sağımda, sağımın başı ve sonu arasında da değişiklik gösterebilmektedir (Pandey ve Voskuil, 2011).

Çevre sıcaklığı ile süt yağı ve proteini arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir. Sıcaklık arttığı zaman katı yağ miktarı azalma eğilimi göstermektedir. Aynı şekilde, laktasyon döneminin ilerleyen aşamalarında da süt yağında azalma meydana gelmektedir. Van bölgesinde 160 inek ile kış ve yaz dönemlerinde yapılan bir çalışmada, kış sütlerinin protein ve yağ içeriği, sırasıyla, %2,87 ve %3,10 bulunurken, yaz sütlerinin protein ve yağ içeriği, sırasıyla, %2,79 ve %2,30 olarak tespit edildiği ve aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı bulunduğu bildirilmektedir (Ozrenk ve Inci, 2008).

Lyatuu ve Eastridge (1998) beslenme/yem faktörünün, sütün bileşimi ve bu bileşenlerin iyi bir şekilde dağılımı üzerine genetik özelliklere göre daha etkili olduğunu rapor etmektedir.

İnek sütünün kimyasal bileşimi ile ilgili yapılan araştırmalarda elde edilen sonuçlar Çizelge 2.1 'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1: İnek sütünün ortalama bileşimi (%)

TKM	YKM	Yağ	Laktöz	Protein	Kül	Referans
12,88	8,60	4,28	4,43	3,43	0,74	Gemechu ve ark. (2015)
12,84	8,80	4,04	4,28	3,80	0,72	Salman ve ark. (2014)
12,60	9,00	3,60	4,90	3,40	0,70	Dehinet ve ark. (2013)
12,68	8,20	4,48	4,31	3,26	0,63	Ponka ve ark. (2013)
12,11	8,31	3,80	4,29	3,38	0,64	Pokhrel ve Laldas (2012)
12,70	8,90	3,80	4,85	3,35	0,70	Fernandes (2009)

YKM: Yağsız Kuru Madde; TKM: Toplam Kuru Madde

2.2 Sütte Bulunan Mikroorganizmalar

Süt zengin besin öğeleri içerdiğinden mikroorganizmalar için ideal bir yaşam alanıdır ve bu nedenle, sağım işleminden sonra sütün işlenmesine kadar geçen süre içinde, sütün hızlı bir şekilde bozulma riski yüksektir (Megha ve Annadurai, 2014). Özellikle bakteriler tarafından bir kez kirlendiğinde, bu bakteriler hızla çoğalabilmekte ve süt insan tüketimi ve diğer ürünlere işlenmesi için uygun olmayan, elverişsiz bir duruma gelebilmektedir (Diler ve Baran, 2014). Hem tüketicilerin sağlığını tehlikeye sokmamak hem de beklentilerini karşılayabilmek için kaliteli süt üretilmesi gereklidir. Kaliteli sütün, patojen bakteri ve zararlı toksik maddeler bulundurmayan, içerisinde tortu ve yabancı madde mevcut olmayan, iyi bir tada, normal bir bileşime ve düşük bakteri içeriğine sahip olması gerekmektedir (Dehinet ve ark., 2013).

Bütün dünyada, gıda kaynaklı hastalıklarla ilgili olarak, süt ürünlerinin güvenliği önemini korumaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, süt ve süt ürünlerinin üretimi sağlıklı koşullarda ve kötü üretim uygulamaları altında gerçekleşmektedir (Tassew ve Seifu, 2011).

Çiğ sütün baskın mikroflorasının aşağıdaki gibi olduğu bildirilmektedir (Lafarge ve ark., 2004).

- laktik asit bakteri türleri (LAB; *Lactococcus* ve/veya *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp.),
- *Pseudomonas* sp.,
- *Micrococcaceae* grubu (*Micrococcus* ve *Staphylococcus* sp.), ve
- Mayalar

Kaliteli süt ürünü üretmek ve tüm besleyici faydaları elde etmek için kaliteli çiğ süt kullanılmalıdır (Samed-Bali ve ark., 2013). Çiğ süt ve süt ürünlerinin, kalitelerinin muhafazası için soğuk havada depolanmaları, süt endüstrisinde bir ön koşuldur (Correa ve ark., 2011). Sütün soğukta saklanması mezofilik bakterilerin gelişmesinin neden olduğu bozulmaların kontrolünde pratik bir yöntemdir. Fakat psikrotrof bakteriler dolap sıcaklıklarında gelişmeye hazırdır (Çaylak Taş ve ark., 2013). Psikrotrofik bakteriler soğukta saklanan ve dağıtılan sütün ve süt ürünlerinin bozulmasından sorumludur. Kusurlar meyveli, bayat, küflü, acı, kokmuş, hatta çürümüş şekilde karakterize, birçok kötü lezzet vericinin üretimi ile sonuçlanabilmektedir (Megha ve Annadurai, 2014). Sütteki bakterilerin büyük bir yüzdesini psikrotrofik bakteriler oluşturmaktadır (Lu ve ark., 2013). Bu bakterilerin optimum sıcaklık değerleri daha yüksek olmakla birlikte, bazıları 7°C civarındaki bir sıcaklıkta da gelişebilmektedirler (Hantsis-Zacharov ve Halpern, 2007). Çiğ sütün hızlı soğutulması ve soğukta depolanması sütteki psikrotrofik bakterilerin büyümesini desteklemektedir (Samed-Bali ve ark., 2013). Sütün soğuk şartlarda depolanması sırasında hızla çoğalan psikrotrofik bakteriler, dominant mikroflora haline gelmekte ve hücre dışı enzimler salgılamaktadırlar (Correa ve ark., 2011).

Psikrotrofik bakteriler, 72°C'de 15 s yapılan pastörizasyon veya UHT gibi ısı uygulaması ile yok edilirken, bunların hücre dışı enzimleri olan lipaz ve proteaz ısıya dayanıklıdır ve işlenmiş süt ürünlerinde (tereyağ, UHT süt) bozulmaya neden olduğundan "bozulma yapıcı organizmalar" olarak tanımlanmaktadır (Correa ve

ark., 2011). Lipaz ve proteinazların düşük bakteriyel faaliyeti dahi UHT süt gibi uzun süre depolanan ürünlerde sorunlara sebep olabilmektedir (Ben Moussa ve ark., 2013). Çiğ sütte hücre sayıları 10^6 kob/ml'nin üzerinde olduğu zaman, lor peynirinin verimini ve kalitesini azaltabilmektedirler (Ledenbach ve Marshall, 2009). Çiğ sütte yüksek miktarda bakteri bulunması veya işlem öncesi bir bulaşma olması durumunda, pastörizasyon işlemi, sütte bakteri kalmamasını kesin olarak sağlayamamaktadır (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008).

Hücre dışı lipolitik enzimler, süt ve süt ürünlerinin raf ömrünü azaltan ve tüketiciler tarafından kabul edilemez hale getiren kokmuş tatlar ve kokulardan sorumludurlar (Samed-Bali ve ark., 2013). Trigliseridleri hidrolize ederek, krema, tereyağ, peynir ve UHT sütte yağ parçalar ve lezzet kusurlarına neden olurlar (Hantsis-Zacharov ve Halpern, 2007). Çok sayıda bileşik oluşturan süt yağının hidroliz ve oksidasyonu, ürünün organoleptik özelliklerinin azalmasıyla sonuçlanır. Isıya dirençli bakteriyel lipazlar yağ hidrolizinin birincil nedenidir ve UHT sütte varlığı çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesine bağlıdır (Ben Moussa ve ark., 2013). Lipazlar, düşük konsantrasyonlarda bile süt ve süt ürünlerinde bozulmaya neden olabilmektedir (Correa ve ark., 2011). Lipaz üretimi ($>10^6$ kob/ml), enzimin ısıl işleme dayanıklılığı, uzun süreli depolama ve uygun sıcaklık koşulları, pH ve su aktivitesi gibi çeşitli koşullar, işlenmiş süt ürünlerinde kalıntı lipazdan kaynaklanan lipolize tada sebep olmaktadır (Ledenbach ve Marshall, 2009).

Proteolitik enzimlerin süt proteinleri üzerindeki etkisi, doğal olarak süt içinde bulunan lökositler tarafından üretilene göre daha güçlüdür (Samed-Bali ve ark., 2013). UHT sütte meydana gelen proteoliz, acı tadın gelişmesine, vizkozitenin artarak raf ömrünün ve dolayısıyla pazar potansiyelinin sınırlanmasında temel faktör olan jel oluşumuna neden olurken (Ben Moussa ve ark., 2013), yumuşak peynir veriminin düşük olması ile de ilişkilidir (Hantsis-Zacharov ve Halpern, 2007). Çoğu proteaz kazeinleri parçalar ve belirli bir şekilde ısıya dirençlidir (Ben Moussa ve ark., 2013). Bozulma yapıcı proteolitik enzimler süt ürünlerinin raf ömrü ve duyu kalitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Çiğ süt yaklaşık 10^5 - 10^6 kob/ml psikrotrof bakteri içeriyorsa, pastörize sütlerin duyu özellikleri bozulabilmektedir. Çiğ sütte mevcut olan proteolitik enzimler, ısıl işleme kısmen hayatta kalmakta ve UHT sütte farklı lezzet oluşumu (acı, yakıcı olma veya kokmuş) veya form kusurları

(kalınlaşma, koagülasyon veya jelleşme) hatalarına neden olabilmektedirler (Nemeckova ve ark., 2009).

Enzimlerin faaliyetleri bakteriyel hidrolizi arttırarak sütün bozulma süresini kısaltmaktadır. Bu enzimlerin sütteki miktarlarının önemli göstergeleri aşağıda belirtilmektedir (Ledenbach ve Marshall, 2009).

- Psikrotrofik bakterilerin başlangıç hücre sayıları,
- İkiye bölünme süreleri,
- Spesifik enzimler üretme yetenekleri ve
- İşleme öncesinde sütün depolama süresi ve sıcaklığı.

Sütte bu organizmaların varlığı sadece sağlıklı koşulları belirtmez, aynı zamanda ürünlerinin kalitesini ölçmek için de kullanılır. Pastörize sütte bulunan psikrotrofik bakterilerin spor formları süt ürünlerinde gıda zehirlenmesinin nedenlerindedir (Megha ve Annadurai, 2014).

Hem gram negatif (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Enterobacter* ve *Flavobacterium*) hem de gram pozitif (*Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Lactobacillus*) psikrotrof bakteriler sütte bulunabilmektedir. Bunlar arasında, *Pseudomonas* türleri çiğ sütte en sık bulunan psikrotrof bakterilerdir (Hantsis-Zacharov ve Halpern, 2007; Pinto ve ark., 2010).

Özellikle sağımlı sırasında ve/veya tüketiciye ulaşıncaya kadar geçen süre içerisindeki mikrobiyel kirlenme, sütün kalitesi için çok kritiktir. *Pseudomonas* türleri çiğ sütün psikrotrof mikroflorasının %78'inden fazlasını oluşturan, en önemli bozulma yapıcı bakterilerdir (Saad, 2008). *Pseudomonas* türleri, yayık ayranın ve ekşi kremanın diasetil içeriğini azaltabilmekte ve böylece asetaldehit ile diasetil oranındaki dengesizlik, yeşil renge veya yoğurt benzeri bir tada sebebiyet verebilmektedir (Ledenbach ve Marshall, 2009).

Pseudomonas sp., toprak, su ve hava gibi farklı ortamlarda hayatta kalmalarını sağlayan yüksek bir genetik çeşitliliğe ve metabolik çok yönlülüğe sahiptirler (Scatamburlo ve ark., 2015). Süte hayvanın dışkısı, kirlenmiş su, ekipmanlar ve işçiler vasıtasıyla bulaşabilmektedirler (Saad, 2008). Yetersiz hijyen ve düşük sıcaklıklarda saklama *Pseudomonas* sp. sayısında artışa neden olmaktadır (Lafarge ve ark., 2004). Diğer psikrotroflar gibi bu mikroorganizmalarda ekipmanların

üzerinde birikip kolonize olmakta ve sağım işlemleri başladığında sütü kirletmektedirler (Çaylak Taş ve ark., 2013). Ayrıca, sütteki ve ürünlerindeki varlığı olası fekal kirlenmenin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Samed-Bali ve ark., 2013).

Pseudomonas türleri pastörizasyon ile elimine olmasına rağmen, süt genellikle bu psikrotrofik gram-negatif bakterilerin aktivitesi ile bozulmaktadır. Süt ısıl işlem öncesi kontamine olduğunda, *Pseudomonas* tarafından ısıya son derece dayanıklı hidrolitik enzimler salgılanmaktadır (Rajmohan ve ark., 2002). Proteolitik enzimler kazein parçalanmasını artırarak sütte grimsi renk ve acı tat oluşumuna neden olmaktadır. Lipazlar düşük molekül yağ asitlerinin serbest kalarak kokmuş ve sabunlu lezzet ve bazen acı tat gelişimiyle süt yağının bozulmasından sorumludurlar (Çaylak Taş ve ark., 2013).

Toprak, su ve gıda ürünlerinde organik maddenin önemli ayrıştırıcıları olarak rapor edilen *Pseudomonas*lar, aynı zamanda bitkiler, hayvanlar ve insanlar için patojendirler (Çaylak Taş ve ark., 2013). Özellikle *Pseudomonas (P.) aeruginosa* insan sağlığına zararlı patojen mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Saad, 2008). Ayrıca hummaya benzeyen, çocuklarda şiddetli diyare ile ortaya çıkan salgın ile ilişkili bulunmaktadır (Samed-Bali ve ark., 2013). *P. aeruginosa*, aynı zamanda meme içi enfeksiyon salgınlarına (mastitis) neden olabilmektedir (Dinsmore ve ark., 2001).

Soğutma sıcaklıkları altında depolanan çiğ süt bile sadece birkaç gün içinde bozulmaktadır. Yapılan bir çalışmada, pastörize edilmiş 30 süt örneğinin 8'inde (%26,66) *Pseudomonas* türlerine rastlandığı bildirilmektedir. Bunun yetersiz pastörizasyon veya pastörizasyon sonrası kirlenme ve devamında bu bakterilerin büyümesi ve çoğalması için uygun sıcaklık ve sürede tutulması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir. Süt ekipman ve gereçleri sütte birçok çeşit psikrotrof bakterinin ana kaynağını oluşturduğundan, psikrotrof bakteri sayısının düşük olması için temizlik ve sanitasyonun dikkatli bir şekilde yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Samed-Bali ve ark., 2013).

Enterobacteriaceae, gram-negatif, spor oluşturmeyen bakteri ailesidir ve insanoğlunun bildiği en önemli bakteri gruplarından biridir (Baylis ve ark., 2011). Enterobacteriaceae ailesi gıdalarda en patojenik ve en sık karşılaşılan organizmalar arasındadır. Diğer cinslere (*Salmonella*, *Shigella*, *Morganella*, *Providencia*,

Edwardsiella, *Proteus*, *Serratia* ve *Yersinia*) ek olarak koliform grubunu (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Klebsiella*) da kapsamaktadır (El-Ziney ve Al-Turki, 2007).

Süt ve süt ürünlerinde koliform mikroorganizmaların tespiti; sağım personeli, sağım ekipmanları, su ve sağım ortamının yetersiz hijyen düzeyinin, pastörizasyon işleminin başarısız uygulanmasının veya ısıl işlem sonrası bir bulaşma olduğunun göstergesidir (Blagoeva ve ark., 2014). Koliformlar, laktozu fermente ederek asit ve gaz oluşturduğundan ve süt proteinlerini bozduğundan sütün hızlı bozulmasına neden olabilmektedirler. *Escherichia (E.) coli* koliformlara iyi bilinen bir örnektir (Lu ve ark., 2013). *E. coli* gibi fekal koliform varlığı, diğer enterik patojenlerinde numunede mevcut olabilme riskini ortaya çıkarmaktadır (El-Ziney ve Al-Turki, 2007). Çiğ sütte bulunan *E. coli*'nin kaynağı toprak, dışkı, sağıksız ekipman ve insan dışkısı olarak verilmektedir (Olatunji ve ark., 2012). Ayrıca, yüksek *E. coli* sayısı mastitise de neden olabilmekte ve sağım sırasında çiğ süte bulaşabilmektedir (Diler ve Baran, 2014). Koliform mikroorganizmalar su altındaki veya nemli sağım ekipmanlarının yüzeyinde de bulunmaktadır (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008).

Sağımdan hemen sonra soğutulup gün boyunca buzdolabında saklanan sütte laktoz pozitif koliformların büyümesi sütün pıhtılaşmasına ve ekşimesine neden olan laktik, asetik ve formik asit, CO₂ ve H₂ üremesine neden olmaktadır (Dilbaghi ve Sharma, 2007). Gıda kaynaklı hastalık etkilerinin yanı sıra, ailenin bazı üyeleri gıda bozulmaları ile de ilişkilidir ve bu nedenle tarım ve gıda sanayi için önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Baylis ve ark., 2011).

Süt ve süt ürünlerinde, Enterobacteriaceae'nın bazı suşları kazein parçalayan enzimler üreterek acı tada sebebiyet verebilmektedirler. Lezzet kusurları yanında, bazı Enterobacteriaceae'lar, özellikle *Serratia* spp., diğer renk kusurlarına neden olabilir iken, kırmızımsı pigment üretebilmektedir. Taze peynir üretiminin erken olgunlaşma aşamasında Enterobacteriaceae, laktoz fermantasyonunun gaz üretiminden kaynaklanan, ürün içinde delik şeklinde görülen ve "erken kabarma" olarak adlandırılan bir bozulmaya neden olabilmektedir (Baylis ve ark., 2011). Psikrotroflar gibi, koliformlar da, yayık ayranı ve ekşi kremada diasetil içeriğini azaltabilmekte ve sonradan yoğurt benzeri lezzet üretmektedir (Ledenbach ve Marshall, 2009).

Proteus, *Escherichia* ve *Enterobacter*, süzme peynirde "sümüklü lor" olarak adlandırılan bir durum da dahil olmak üzere çeşitli kusurlarla ilişkilidir. *Serratia* spp. ve Enterobacteriaceae'nın diğer üyeleri, asit ve gaz üretimini takiben kremanın pıhtılaşması ile karakterize, taze kremalı tatlıların bozulmasına sebebiyet vermektedirler (Baylis ve ark., 2011).

Enterobacteriaceae'lar ciddi enfeksiyonların önemli nedenleridirler ve bu ailenin en önemli üyelerinden birçoğu, giderek mevcut kullanılan antimikrobiyellere dirençli hale gelmektedir (Hlebal ve ark., 2015).

LAB bitkiler, fermente gıdalar ve insanlar, kara ve deniz hayvanlarının mukoza yüzeyleri gibi karbonhidratça zengin çevrede çokça bulunan mikroorganizmalardır (Florou-Paneri ve ark., 2013).

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus*'un dahil olduğu LAB, gram-pozitif bakteri grubundandır. Gruba dahil bakterilerin genel tanımı; karbonhidrat fermantasyonu sırasında önemli son ürün olarak laktik asit üreten gram-pozitif, sporsuz, koklar veya çubuklar olmalarıdır (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2010). Çoğu durumda, oksijen taleplerine göre anaerobik, mikroaerofilik veya aerotolerant olmaktadır. Düşük şeker konsantrasyonlarında büyüdüğü zaman pseudokatalaz üretebilmelerine rağmen, bunlar genellikle katalaz ve oksidaz negatiftir. Kemo-organotrofikler ve karmaşık ortamlarda büyürler. Genel olarak LAB insanlar ve hayvanlar için patojen değildirler (Amenu, 2013).

Büyümeleri için fermente edilebilir karbonhidrata ihtiyaçları vardır ve şekerlerin enerji veren fermantasyonundan ana ürün olarak laktik asit üretirler (Amenu, 2013). Heterofermantatif LAB karbonhidratları laktik asit yanında etanol, asetik asit ve karbondioksit'e dönüştürürken homofermantatifler son ürün olarak sadece laktik asite dönüştürürler (Florou-Paneri ve ark., 2013). *Streptococcus* ve *Leuconostoc*'a ait türler az miktarda asit üretirken; *Lactobacillus*'un homofermantatif türü büyük miktarda asit üretir. Heterofermantatif *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* türleri glukozu yaklaşık %50 laktik asit'e, %25 asetik asit ve etil alkol'e ve %25 karbondioksit'e dönüştürür. Bu, lezzet gelişiminde ve ekmek gibi fermente gıdaların mayalanmasında önemlidir (Amenu, 2013).

LAB uzun zamandır, organoleptik özellikleri arttırmak ve ürünlerin daha iyi bir koruma sağlamak için, süt fermantasyon işlemlerinde kullanılmaktadır (Daba ve

Saidi, 2015). LAB, şekeri kullanarak fermente gıdaların lezzet gelişimine katkıda bulunmasının yanı sıra, istenmeyen kirlenme florasını inhibe eden pH azalmasına neden olan organik asitlerin (laktik asit, asetik asit) ve diğer metabolitlerin üretilmesini de sağlamaktadır (Amenu, 2013). Bu bakteriler fermente süt ürünlerinin içsel fizikokimyasal ve aromatik dönüşümlerin çoğundan sorumludurlar (Aziz ve ark., 2009). Ayrıca, Hidrojen peroksit, diasetil, bazı enzimler, antibiyotikler ve reuterin gibi diğer LAB metabolitleri de bu ürünlerin genel koruyucu potansiyeline katkıda bulunmaktadır (Daba ve Saidi, 2015). Tüm bunların yanı sıra, bazı probiyotik LAB suşları organik asitler, etanol, birçok enzim ve bakteriyosin gibi, diğer mikroorganizmalar ile aynı boşluğu paylaşan ve doğal bir rakip olan çeşitli diğer antimikrobiyel bileşikler üretme yeteneğine sahiptir (Reis ve ark., 2012). Bu nedenle, LAB ve bunların fermente ürünleri bozulmayı önleyip, raf ömrünü uzatıp, patojenik organizmaları inhibe ederken, yiyeceklere ayırt edici tatlar, dokular ve kokular vermektedir (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2010).

Süt endüstrisinde bu organizmalar starter kültür olarak bilinir ve temel rolleri öncelikle fermente sütlerin üretimi sırasında farklı taze ve asitli bir lezzet veren laktik asit üretimidir. İkinci olarak ise, süt ürünlerinin aromasına katkıda bulunan uçucu bileşiklerin (örneğin, diasetil ve asetaldehid gibi) üretimidir. Üçüncü olarak, starter kültürler, özellikle bazı peynir tiplerinin olgunlaşması sırasında arzu edilen proteolitik ve lipolitik etkilere sahip olabilirler. Son olarak, bu ürünlerin oluşturduğu asidik ortam, patojenlerin ve aynı zamanda pek çok bozulma yapan organizmaların gelişimini önler (Aziz ve ark., 2009).

LAB tarafından H_2O_2 üretimi gıda kaynaklı patojenlerin gelişimini engelleyebilmekte ve aynı zamanda gıda korunmasında faydalı olabilmektedir. H_2O_2 üreten laktik asit bakterilerinin buzdolabı sıcaklıklarında psikrotrofik ve patojen mikroorganizmaların büyümesini inhibe ettiği bildirilmektedir. Çoğu laktobasil türleri laktat oksitlenmesi ile hidrojen peroksit oluşturabilmektedir. Hidrojen peroksit son ürünün ekşime ve renk değişikliğini artırarak fermente et ürünlerinin duyuşal özelliklerine etki edebilmektedir (Reis ve ark., 2012).

Bu kültürler tarafından metabolize edilen ana bileşik, laktozdan elde edilen, pH değerini düşüren ve bazı patojenler ve bozulma yapıcı mikroorganizmaların gelişimi için olumsuz bir ortam oluşturan laktik asittir (Reis ve ark., 2012). pH 4,0 - 5,0 gibi düşük asit seviyelerinde, LAB gelişebilmekte ve laktik asit üretebilmektedir. Bu

organizmalar çoğu patojen bakterinin gelişimini inhibe etse ve yoğurt ve peynir gibi diğer süt ürünleri yapmak için sütü fermente etse de bazı ürünlerde istenmeyen bozulmalara neden olabilmektedirler (Lu ve ark., 2013). Bu organizmalar sütün olağan ekşimesinden sorumludurlar (Olatunji ve ark., 2012).

Yayıık ayranında ve ekşi kremada oluşan aşırı viskozite *Lactococci* büyümesine neden olabilmektedir. Buna ek olarak, 7°C'de büyüyen *Lactococci* ve bu ürünlerde oluşan diasetil redüktaz ile diasetil azaltılarak yoğurt benzeri bir tada sebep olmaktadır. *Lactobacilli* ve *Leuconostoc* gibi heterofermentatif LAB, olgunlaşmış peynirde lezzet kaybı ve gaz geliştirebilmektedir. Bu mikroorganizmalar, laktozu metabolize ederek daha sonra yaklaşık olarak eşit konsantrasyonlarda laktat, asetat, etanol ve CO₂ üretmektedir (Ledenbach ve Marshall, 2009). Bazı *Pediococcus* cinsi de gıdalarda bozulmaya sebep olabilmektedir (Florou-Paneri ve ark., 2013).

Staphylococcus türlerinin en entero-toksijenik suşları koagülaz pozitif grubu üyelerinden olan *Staphylococcus (S.) aureus*'dur (Kesenkaş ve Akbulut, 2010). Bu nedenle, sadece koagülaz pozitif suşlar potansiyel entero-toksijenik olarak kabul edilmektedir (Olatunji ve ark., 2012).

S. aureus mikroskop altında bir çift ya da demetler halinde, üzüm gibi kümeler şeklinde görülen, küresel bir bakteridir (kok). Gram-pozitif, fakültatif anaeroblardır, ancak aerobik koşullarda da hızla büyürler. Bunlar büyüme sıcaklığı aralığı 7 - 48°C olan mezofillerdir ve düşük a_w (0,86), düşük pH (4,8) değerinde, yüksek tuz ve %15 şeker konsantrasyonları ve NO₂ mevcudiyetinde çoğalma yeteneğine sahiptirler (Dilbaghi ve Sharma, 2007).

S. aureus, sağlıklı insanların ve sıcakkanlı hayvanların burun, boğaz, deri ve saçlarında doğal olarak bulunmaktadır (Diler ve Baran, 2014). Kirlenme genellikle enfekte kişiler tarafından yanlış uygulama nedeniyle gerçekleşmektedir. Bu organizmanın toksijenik suşları, sütte miktarları 10⁵ kob/ml'yi geçtiği zaman stafilokokkal enterotoksinleri üretebilmektedirler (Dilbaghi ve Sharma, 2007). Stafilokokkal enterotoksinler üremiş olan gıdaların tüketilmesi sonucunda meydana gelen zehirlenmeler, gıda kaynaklı hastalıkların en yaygın ikinci sebebidir (Diler ve Baran, 2014).

S. aureus, gastroenteritin en yaygın nedenlerinden birinden sorumlu enterotoksin üretme kapasitesine sahiptir ve aynı zamanda sığıı mastitisinin önemli bir etkenidir

(Arques ve ark., 2008). Bu hastalık (mastitis) sığır memesinde enflamatuara neden olan, genel olarak son derece bulaşıcı bir hastalıktır (Olatunji ve ark., 2012). Buna ek olarak, *S. aureus* yetersiz hijyen koşulları altında, süt ürünlerinin imalatı sırasında ısı işlem görmüş sütü kirletebilmektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2010).

Mayalar, laktik ürünlerin mikroflorasının önemli bir bileşenidir. Bunun yanı sıra, yüksek tuz konsantrasyonları ve düşük pH yüzeylerde artan aktivite yeteneğine sahiptir (Spanamberg ve ark., 2009). Ayran ve ekşi krema gibi düşük pH değerinde kültür ürünlerinde büyüyebilir ve fermente veya mayalı tatlar üretebilmektedir. Buna ek olarak, mayalar bu ürünlerden diasetil metabolize edebilmekte ve böylece yoğurt benzeri bir tada neden olmaktadır. Yoğurtların ve mayalanmış sütlerin bozulmasının önemli bir nedenidir (Ledenbach ve Marshall, 2009).

Peynirde genel bozulma yapıcı mayalar, *Candida* spp., *Kluyveromyces marxianus*, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii* ve *Pichia* türleridir (Ledenbach ve Marshall, 2009). *Candida* türleri süttten daha yaygın izole edilen mayalardır. Maya sayısı 4 log kob/ml'nin altında olduğunda düşük olarak kabul edilirken daha yüksek sayılar hijyen, sağım ve süt korunmasında eksikliklerin bir göstergesidir (Spanamberg ve ark., 2009).

Küfler peynir ve diğer süt ürünlerinin üretimi için kullanılan sütte önemlidir. Küflerin yabani türlerinin varlığı, peynirin duyuşal özelliklerini etkileyebildiği, mikotoksinler üretilip olası sağlık riski teşkil etmeleri nedeniyle, istenmeyen bir durumdur (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008).

Sütte bulunan küf ve mayalar, ısı işlem ile inhibe edilse de ürettikleri metabolitler ısıya dayanıklıdır ve ısı işlem sonrası aktivitelerini devam ettirebilmektedirler. Bu nedenle, süt ve süt ürünlerinin bozulmasında bakteriler kadar önemli rolleri bulunmaktadır (Kesenkaş ve Akbulut, 2010).

2.3 Sütteki Mikroorganizmaların Kaynakları

Çiğ süttün mikrobiyel kontaminasyonu süt ve süt ürünlerinin kalitesini belirleyen önemli bir parametredir (Correa ve ark., 2011). Yüksek mikrobiyel yük süttün bulaşmaya maruz kaldığını gösterirken, yüksek koliform yükü gübre veya topraktan kaynaklı bir bulaşma olduğunu göstermektedir (Pokhrel ve Laldas, 2012).

Çiğ sütteki mikroorganizma sayısı ve türü, sağımdan sonra hayvan ve ekipman temizliği, mevsim, yem ve hayvan sağlığı gibi faktörlerden etkilenmektedir. Yıkanmış ekipmanların durulama suları da çiğ sütte patojenleri içeren yüksek mikroorganizma sayılarının varlığının nedenlerindedir (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008). Ayrıca, kirli hava, toprak, dışkı ve çim gibi farklı kaynaklardan dolayı, çiğ sütün bakteri ile kirlenmesi meydana gelebilmektedir (Akıllı ve ark., 2014). Üretimde hijyenik olmayan yöntemler ve yüksek ortam sıcaklığı, sağımdan sonra yetersiz soğutma da çiğ sütün bakteriyal kalitesini etkileyen önemli nedenlerdir (Awad ve ark., 2005). Diğer olası bulaşma kaynakları ise, sağım personelinin eli veya kolu, su ve sağım yapılan ortam'dır (Pokhrel ve Laldas, 2012). Farklı bakteri türleri, farklı düzeylerde ve farklı kararlılıklarda enzimler ürettiklerinden, bozucu bakterilerin tanımlanması önemlidir (Correa ve ark., 2011).

Sağlıklı hayvanların meme bezlerinden elde edilen süt başlangıçta steril olmasına rağmen, mikroorganizmalar meme kanallarından içeri girerek sütü kirletebilmektedirler (Musa ve Hamid, 2013). Sağım sayısı arttıkça süte bakteri bulaşması meme kanallarının açılmasına bağlı olarak artmaktadır. Yüksek miktarlarda süt üretimiyle ineğin memesinde ve meme bezlerinde meydana gelen gerilme ve sağım makinalarının hareketleri nedeniyle meme kanalları açılabilen ve bu kanallardan meme bezlerini enfekte eden bakteriler içeri girebilmektedir (Ledenbach ve Marshall, 2009). Meme yüzeyinin, toprak, hayvanın yattığı yer, dışkı, silaj ve diğer yemlerin kalıntıları gibi unsurlarla kirlenmiş olması muhtemeldir. Bu da, sütün, özellikle *Salmonella*, *Campylobacter* spp., *L. monocytogenes*, spor oluşturan psikrotroflar, *Clostridia* ve Enterobacteriaceae gibi değişik tür mikroorganizmalar tarafından kirlenmiş olabileceği anlamına gelmektedir (Fernandes, 2009).

Süt, hijyenik olmayan koşullarda sağılması, depolanması veya taşınması sırasında özellikle toplum sağlığını etkileyen *E. coli* bakterisi ile bulaşmaktadır. *E. coli*'yi de kapsayan koliform grubu bakterileri, sütün tüketim için uygunluk göstergesi olarak tanımlanmaktadır (Sudhasaravanan ve Binukumari, 2015). Bunların yanı sıra süt sağım ekipmanlarının temizliğine bağlı olarak bozulma yapıcı mikroorganizmalar da (*Pseudomonas* türleri) bulunabilmektedir (Lafarge ve ark., 2004). Sağım ekipmanları ve depolama tanklarının yetersiz temizlenmesi ve sanite edilmemesi çiğ sütte bulunan psikrotrof bakterilerin de ana kaynağıdır (Fernandes, 2009).

Sütteki bakteri sayısının ölçülmesi, sütün bozulmasında direkt olarak etkili olduğundan ve sütün sağımından işlenmesine kadar geçen süreçteki hijyenik koşulları hakkında önemli bir gösterge olarak süt kalitesi ile ilgili bilgi verdiği için oldukça önemlidir (Diler ve Baran, 2014).

Süt ve süt ürünlerinde maya ve küfler hem ekonomik ve hem de duyu sorularına neden olabilmektedirler. Süt ürünlerinde, özellikle peynirde kirlenme peynir fabrikalarının çevresi, olgunlaşma odalarının duvar ve rafları, hava, ekipman, su, süt, salamura vb.'inde bulunan maya ve küflerden kaynaklanmaktadır (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008).

Son yıllarda sağım ve sütün saklanması ile ilgili, teknoloji gelişme gösterse ve çiğ sütün kalitesinde bir iyileşme sağlansa da, çalışmalar çiğ süt mikroorganizma yükünün hala oldukça yüksek olduğunu göstermektedir;

Tolosa ve ark. (2016) tarafından Etiyopya'da yapılan araştırmada, 32 çiftlikten, 46 süt satıcısından ve 3 yerel süt toplama merkezlerinden alınan örneklerde toplam bakteri sayısı, koliform sayısı, somatik hücre sayısı ve antibiyotik kalıntısı incelenmiştir. Sonuçta, örneklerin %97'sinin zayıf/yetersiz kaliteye sahip olduğu belirlenmiştir (toplam bakteri sayısı > 10.000 kob/ml, koliform sayısı > 100 kob/ml, somatik hücre sayısı > 400.000 hücre/ml ve antibiyotik kalıntı varlığı). Ayrıca, çiftliklerden toplanan örneklerin 12 (%38)'sinden, süt satıcılarından toplanan örneklerin 13 (%33)'ünden ve yerel süt toplama merkezlerinden alınan örneklerin 2 (%67)'sinden *S. aureus* izole edilmiştir.

Kalupahana ve Silva-Fletcher (2016) Sri Lanka'da yaptıkları çalışmada, sütün çiftlikten işleninceye kadar birçok bakteriyel kontaminasyona maruz kaldığını ve bu nedenle bakteri yükünün yüksek (2×10^6 – 3×10^7 bakteri/1 ml süt) olduğunu rapor etmişlerdir. Kontrol edilen sütün fiziksel ve kimyasal kalitesinin de düşük olduğu tespit edilmiştir. Uygun hijyenik prosedürlerin eksikliği ve gerek çiftliklerde gerekse de toplama merkezlerinde uygun soğutma koşullarının sağlanamaması yüksek bakteri yüküne neden olan en önemli etkenler olarak belirtilmiştir.

Sudhasaravanan ve Binukumari (2015) ise Hindistan'da, 240 çiğ süt örneği ve 72 pastörize süt örneği ile yaptıkları çalışmada, analize aldıkları çiğ sütlerden yalnızca %19,1'ini iyi kalite de bulmuş, aynı örneklerin %28,3'ünün ise çok düşük kalitede olduğunu belirlemişlerdir. Pastörize süt örneklerinden ise %81,9'unun insan tüketimi

için uygun olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, çiğ sütlerde, *Lactobacillus* spp., *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhi ve fekal koliform'lar izole edilmiştir.

Çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesini araştırmak için yapılan bir başka çalışmada 5 farklı satış noktasından örnekler alınmış ve toplam aerobik bakteri, Enterobacteriaceae, *E. coli* ve *Staphylococcus* sayıları araştırılmıştır. Sonuç olarak toplam aerobik bakteri sayısı $9,2 \times 10^4$ ve $3,6 \times 10^7$ kob/ml arasında, Enterobacteriaceae sayısı $6,4 \times 10^1$ ve $1,7 \times 10^6$ kob/ml arasında, *E. coli* sayısı $5,0 \times 10^0$ ve $1,1 \times 10^2$ kob/ml arasında ve *Staphylococcus* spp. sayısı $1,6 \times 10^3$ ve $5,1 \times 10^4$ kob/ml arasında bulunmuştur. Çalışmada kullanılan örneklerin mikrobiyel kalitesinin uluslararası hijyen standartlarının altında olduğu rapor edilmiştir (Pyz-Lukasik ve ark., 2015).

Diler ve Baran (2014) Erzurum, Hınıs İlçesinde küçük ölçekli aile tipi işletmelerde üretilen çiğ inek sütlerinin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için, 49 hayvan ile yaptıkları çalışmada, çiğ inek sütünün büyük bir bölümünün (%63,3) mikrobiyolojik kalitesinin Türk Gıda Kodeksi kriterlerine uymadığını tespit etmişlerdir. Çalışmada toplam bakteri sayısını ortalama 5,29 log kob/ml, stafilokok sayısını 3,7 log kob/ml, koliform sayısını 3,03 log kob/ml, enterokok sayısını 2,98 log kob/ml olarak hesaplamışlardır.

Dehinenet ve ark. (2013) Etiyopya'da, 284 farklı ahırdan aldıkları süt örneklerinde, ortalama, toplam bakteri sayısını $1,1 \times 10^8$ kob/ml, koliform sayısını $3,0 \times 10^4$ kob/ml ve somatik hücre sayısını $5,5 \times 10^5$ kob/ml bulmuş ve bu sütlerin kalitesinin yetersiz olduğu belirtmişlerdir.

Nijerya'da dört farklı yerel çiftlikten alınan süt örneklerinin bakteri yükünü belirlemek için yapılan çalışma sonucunda, çiğ süt örneklerinin *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *Lactobacillus* spp, *Streptococcus* spp. türleri dahil çeşitli bakteri türleri içerdiğini ortaya koyulmuştur. Toplam canlı bakteri sayısı $1,0 \times 10^6$ - $5,6 \times 10^7$ kob/ml arasında değişirken bu değerlerin standartın çok üzerinde (1×10^5 kob/ml) olduğu belirtilmektedir. Analizi yapılan bakterilerin görülme sıklığı en yüksek *Bacillus subtilis* (%26,84) olmuş ve ardından *E. coli* (% 4,39), *S. aureus* (%24,39), *Salmonella* spp. (%17,06), *Lactobacillus* spp. (% 4,88) ve *Streptococcus* spp. (%2,44) görülmüştür. Özellikle *S. aureus* ve *E. coli* (%24,39), kötü hijyen

seviyesinin ve patojenik bakterilerle kontaminasyonun yüksek olduğunun göstergesi olduğu rapor edilmiştir (Olatunji ve ark., 2012).

Tassew ve Seifu (2011) tarafından, çiğ sütlerin mikrobiyolojik kalitesini değerlendirmek için yapılan çalışmada, Etiyopya'daki çiftliklerden ve toplama merkezlerinden örnekler alınmış, bu örnekler toplam bakteri sayısı ve koliform sayısı yönünden analiz edilmiştir. Analiz sonunda, ortalama toplam bakteri sayısı, çiftliklerde 7,58 log kob/ml, toplama merkezlerinde 8,12 log kob/ml olarak belirlenirken, ortalama koliform sayısı çiftliklerde 4,49 log kob/ml, toplama merkezlerinde 4,94 log kob/ml olarak bulunmuştur. Çiftliklerden alınan örneklerin mikrobiyolojik kalitesi düşük bulunurken, uzun nakliye süresi ve yüksek sıcaklık nedeniyle sütteki bakteri faaliyeti artmış ve toplama merkezlerindeki sütlerin mikroorganizma sayıları kabul edilebilir seviyenin çok üzerilerine çıkmıştır.

Farklı illerden (Elazığ, Samsun, Malatya, Şanlıurfa ve Erzurum) toplanan çiğ inek sütlerinin somatik hücre sayısının belirlenmesi için yapılan çalışmada (Patır ve ark., 2010) toplam 440 adet örnek kullanılmış ve bunlardan sadece 11 tanesi (%2,5), Türk Gıda Kodeksi 'Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş Sütler Tebliği (2000/6)' ne uygun olarak 500.000 hücre/ml'nin altında çıkmıştır. Bu çalışmada, elde edilen sütün hemen hemen tamamının ilgili mevzuata uygunluk taşımadığı tespit edilmiştir. Somatik hücre sayısı süt kalitesi ve meme hastalıkları ile bağlantılı olduğundan, sütün sağımında hijyenik koşullara uyulmadığı veya hayvanların meme ile ilgili bir sorunları olabileceği sonucuna varılmıştır.

İzmir ilinden farklı bölgelerden toplanan sokak sütlerinin ve çiftliklerden toplanan sütlerin mikrobiyel kalitesi üzerine yapılan araştırmada ise 50 adet örnek kullanılmış ve toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform bakteri ve *S. aureus* sayıları incelenmiştir. Sokak sütü örneklerinin %91'inin mikrobiyolojik kalitesinin Türk Gıda Kodeksi Çiğ ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'ne uymadığı belirlenmiştir. Çiftliklerden elde edilen örneklerde ise bu oran %50'dir (Kesenkaş ve Akbulut, 2010).

Awad ve ark. (2005) 50 çiğ süt örneğinde proteolitik bakteri sayısını belirleyerek örneklerin hijyenik durumlarını incelemiştir. Mısır'da yapılan araştırmada, çalışılan örneklerin proteolitik bakteri sayısı ortalama $5,3 \times 10^6$ kob/ml (min. 10^3 -

max. 10⁹) olarak bulunmuş ve sütün düşük kalitesinin halk sağlığı riskinin yanı sıra önemli ekonomik kayıba da neden olduğu bildirilmiştir.

2.4 Çiğ Sütün Muhafazası

Sütün toplanması ve taşınmasında temel engel soğutma sistemlerinin bulunmaması ve ortam sıcaklığının yüksek olmasıdır (Asaah ve ark., 2007). Bu koşullar, özellikle sıcaklığın bakteri çoğalmasını arttırdığı yaz aylarında, çiğ sütün raf ömrünü/dayanma süresini azaltmaktadır (Kakar ve ark., 2013). Sütün üretildiği yerden işleneceği yere nakli sırasında, yetersiz hijyenik koşullar nedeniyle süte bulaşmış olan bakterilerin metabolik faaliyetleri sütün asiditesinde bir artış meydana getirmektedir. Bu artış nedeniyle süt başka ürünlere işlenmek için uygun özelliğini kaybetmektedir (Kanthale ve ark., 2013).

Sütteki mikrobiyel aktiviteyi düşürerek en aza indirmek ve böylece hem süt kalitesini hem de süttten elde edilen ürünlerin kalitesini korumak için özel önlemler alınmalıdır (Ndambi ve ark., 2008). Çiğ sütün diğer ürünlere işlenmesinden önce mikroorganizmaların neden olduğu bozulmalardan korunmasını sağlamak için, soğuk depolama, baktöfugasyon, termizasyon ve pastörizasyon gibi birkaç farklı ön işlem bulunmaktadır (Parveen ve ark., 2016). Süte yapılan ısı uygulamaları, mikrobiyel güvenliği ve ürün stabilitesini sağlamak için en önemli kritik kontrol noktasıdır (Dumitraşcu ve ark., 2012).

Soğutma, sütün bozulmasını engelleme veya yavaşlatmada kullanılan en yaygın yöntemdir (Kanthale ve ark., 2013). Fakat, elektrik ve mali yetersizlikler, yüksek maliyeti ve zayıf/yetersiz nakliye yöntemleri gibi problemler nedeniyle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde bu pek mümkün olmamaktadır (Kırdar, 2006). Bu yüzden üreticiler veya toplayıcılar gelişen asitliği nötralize etmek için, süte sodyum hidroksit, sodyum bikarbonat, sodyum karbonat, kalsiyum hidroksit gibi nötralize edici maddeler eklemektedirler. Bunun yanı sıra, sütün işleme tesislerine kabulünden önce, sütün ömrünü arttırmak için, formaldehit, hidrojen peroksit ...vb. gibi koruyucu maddeler de katılabilmektedir (Kanthale ve ark., 2013). Ancak bu gibi koruyucu ve nötralize edici maddelerin katılması yasaktır (Asaah ve ark., 2007). Ayrıca, bu katkıları işlem sırasında sütün kalitesini etkilemekte ve sağlık risklerini arttırabilmektedirler (Bayhan ve ark., 1995).

Gelişmiş ülkelerde, çiftliklerde çiğ süt hızla soğutulur ve toplanıncaya kadar 7 °C'nin altında soğuk depolarda muhafaza edilmektedir. Daha önce süte herhangi bir bulaşı olmuşsa, psikrotrof bakterilerin, özellikle *Pseudomonas* türlerinin sayısı hızlı bir şekilde artar. İşlenme tesisine getirilip, işleme öncesi 2-3 gün soğuk depolarda bekletilen süte psikrotrof bakterilerin çoğalması devam etmektedir. Çoğalmanın derecesi başlangıç mikroorganizma yüküne ve depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak değişmektedir. *Pseudomonas* türleri depolanmış süte baskın organizmalar olarak bulunmasına rağmen, Enterobacteriaceae, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* ve gram pozitif mikroorganizmalar da bulunabilmektedir (Fernandes, 2009). Psikrotrof bakterilerin çoğalması sonucunda ısıya dayanıklı, hücre dışı proteolitik ve lipolitik enzimlerin süte yayılmasına neden olabilmektedir. Bu enzimler, pastörizasyon işlemi sonrasında hatta bazen UHT işlemi sonrasında hayatta kalırlar ve işlenmiş sütün bozulmasına neden olabilmektedirler (Parveen ve ark., 2016).

Çiğ sütün depolanması ve nakliyesi sırasında oluşturulan soğuk koşullar, baskın mikrofloranın gram pozitiften, gram negatife değişmesine neden olmaktadır. Soğuk muhafaza edilen çiğ süte bulunan bakteri popülasyonunun %90'ından fazlası gram negatif bakterilerden oluşmaktadır. Gram negatif bakteri florası, özellikle *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium*, *Flavobacterium* ve *Enterobacter* türlerinden oluşmaktadır. Aynı zamanda, *Enterococcus*, *Proteus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus* ve koliformlarında varlığı söz konusu olabilmektedir (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008). Sütün soğuk koşullarda depolanması sırasında, psikrotrof bakterilerin çoğaldığı gözlenebilmektedir (Parveen ve ark., 2016).

Toplama ve taşıma sırasında çiğ süte bakteri gelişimini geciktirmek için, soğutmanın dışında çeşitli yöntemler de kullanılmaktadır. Hidrojen peroksit (H₂O₂), alkalin çözeltiler vs. gibi kimyasal koruyucuların kullanılması ve doğal antibakteriyel enzim aktivasyonu gibi uygulamalar soğutmanın pratik olmadığı gelişmekte olan ülkelerde tropikal ve subtropikal koşullar altında, yaygın uygulamalardır (Hamid ve Musa, 2013).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), doğal LP sistemin aktivasyonu için orta düzeyde (100-300 mg/kg) H₂O₂ kullanımı dışında kimyasal koruyucu kullanımını yasaklamaktadır. H₂O₂ kullanımında ise, sütün tüketiminden önce kalıntı

H₂O₂'nin ısı uygulaması veya katalaz ile imha edilmesi gerektiğini belirtmektedir (Özer ve ark., 2003).

2.5 Sütte Bulunan Antimikrobiyel Maddeler

Süt proteinleri konsantrasyonlarına göre iki ana sınıfa ayrılır; birinci grup, kazeinleri (alfa, beta ve kapa kazein) ve peynir altı suyu proteinleri olan laktalbümin ve lactoglobulini kapsayan temel proteinler, ikinci grup ise, laktoferrin, immunoglobülün ve ana kaynağı protein olan lizozim ve laktoperoksidaz enzimini kapsayan ikincil proteinlerdir. İkinci grup proteinler toplam süt proteinleri içinde küçük bir orana sahip olmasına rağmen, antimikrobiyel, antioksidan ve anti-kanser özellikleri nedeniyle ilk savunma hatlarında (doğrudan veya dolaylı) büyük bir rol oynamaktadırlar (Abbas ve ark., 2015).

Süt, enfeksiyon ajanlarına karşı koruyucu etki gösteren birçok biyoaktif bileşen içermektedir (Mazri ve ark., 2011). Sütte bulunan Laktoferrin, Lizozim ve Laktoperoksidaz mikroorganizmalara karşı etkili olduğu bilinen doğal antimikrobiyel bileşenlerdir (Magdoub ve ark., 2007). Bu bileşenler, memeyi ve yeni doğanı enfeksiyona karşı korumanın yanı sıra depolama ve nakliye sırasında çiğ süt korunmasında da etkin bir role sahiptirler (Fernandes, 2009).

Farklı türlere ait olan sütler, koruyucu proteinler içeriği bakımından büyük farklılıklar göstermektedirler. Örneğin, insan sütü inek sütünden 10 kat daha fazla laktoferrin içerirken, laktoperoksidaz inek sütünde insan sütüne nazaran daha fazladır (Elagamy ve ark., 1996).

2.5.1 Laktoferrin

Laktoperoksidaz, 80 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip, tek bir polipeptid zincirinden oluşan (Krol ve ark., 2012), kan serum transferrine benzeyen, yüksek derecede demir bağlama ve koruma özelliğine sahip, kırmızı bir glikoproteindir (Panwar, 2014). Gözyaşları, tükürük, kan, nötrofillerin ikincil granülleri ve süt gibi birçok farklı dokular ya da salgılarda bulunmaktadır (Abbas ve ark., 2015). Çoğu memelilerin sütünde bulunmasına rağmen, konsantrasyonu oldukça değişkendir ve laktasyon durumuna bağlıdır (Abdel-Salam ve ark., 2014). İnek sütünde doğal olarak yaklaşık 0,2 gram/litre seviyelerinde olmakla birlikte kolostrum döneminde, 0,5 ila 1 gram/litre'ye kadar yükselebilmektedirler (Losnedahl ve ark., 1998). Laktoferrin

içeriği sütün türüne bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. İnek sütünün laktoferrin konsantrasyonu, insan sütündekinden daha düşüktür (Al-Majali ve ark., 2007). Kolostrum ve sütün antimikrobiyel bir bileşeni olarak, laktoferrin yenidoğanların bulaşıcı hastalıklardan korunmasında önemli rol oynamaktadır. Laktoferrin, mikrobiyel patojenler tarafından saldırıya yatkın mukozal yüzeylerin belirgin bir antimikrobiyel bileşenidir (Tanaka ve ark., 2012).

Laktoferrin, gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler dahil olmak üzere geniş bir mikroorganizma aralığına karşı bakteriyostatik ve bakterisid etki göstermektedir (Alba ve ark., 2015). Laktoferrinin ana antimikrobiyel mekanizması, demir bağlaması ve buna bağlı olarak bu temel besinden potansiyel patojenleri mahrum etme kapasitesi ile ilişkilendirilmektedir (Andrade ve ark., 2014). Çoğu mikroorganizma büyümek için demire ihtiyaç duymaktadır. Demiri bağlaması ve alıkoymasıyla gram pozitif, gram negatif, virüs, çeşitli mantar ve parazitlere karşı antibakteriyel etki sergilemektedir (Krol ve ark., 2012).

Laktoferrinin antibakteriyel aktivitesinin etkinliği, organizmanın demir gereksinimine, ekzojen demir durumuna ve laktoferrinin demir doygunluğunun konsantrasyonuna ve derecesine bağlıdır (Losnedahl ve ark., 1998). Daha düşük demir doygunluğu, daha fazla demir bağlama ve antibakteriyel bir faaliyete neden olmaktadır (Panwar, 2014). Yani, laktoferrin sadece demir-serbest halde olduğunda bakterisid etkilidir ve demir doymuş laktoferrinin antimikrobiyel aktivitesinde bir azalma meydana gelmektedir (Abdel-Salam ve ark., 2014). Demir ile tam olarak doyurulmuş laktoferrin herhangi bir antibakteriyel etki göstermemektedir (Atanasova ve Ivanova, 2010).

Laktoferrin, yüksek demir gereksinimi olan gram negatif bakteriler (en önemli mastitis patojeni olan koliformlar), *Staphylococcus aureus* (bir diğer önemli mastitis patojeni) gibi gram pozitif bakteriler, bacillus türleri ve *Listeria monocytogenes* gibi bakterileri de kapsayan geniş bir aralıktaki mikroorganizmalara karşı bakteriyostatik etki göstermektedir (Losnedahl ve ark., 1998). *P. aeruginosa*, *Clostridium tyrobutyricum* *S. Albus*, *V. cholera*, *B. subtilis* ve *B. stearothermophilus*'a karşı da laktoferrinin antibakteriyel özelliği bulunmaktadır (Panwar, 2014). Mide ve bağırsaklarda bulunan LAB düşük demir gereksinimine sahip olduklarından genelde etkilenmemektedirler (Losnedahl ve ark., 1998). Laktoferrin, aynı zamanda, anti-

oksidan, anti-kanser, bağışıklık uyarıcı ve kimyasal önleyici özellikleri de göstermektedir (Panwar, 2014).

Aktivitenin büyük bir kısmı, laktoferrinin sindirimi sırasında oluşan bir bakteriyel peptit olan laktoferrisin tarafından meydana gelmektedir. Laktoferrinin N-terminalinden türetilen laktoferrisin, hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı güçlü bir aktiviteye sahiptir (Panwar, 2014). Laktoferrin ve bakteriyel hücre bileşenleri arasında doğrudan etkileşim gibi çeşitli mekanizmalar kullanılarak antimikrobiyel aktivite sergilemektedir (Andrade ve ark., 2014). Laktoferrinin bir diğer etkisi, organizmanın hücre duvarını yoketmesidir. Laktoferrin, gram negatiflerin lipopolisakkaritlerinin bir bileşeni olan lipidlerle etkileşime girer ve organizmanın hücre zarı hasar görenek lipopolisakkarit serbestlenmesi artar. Benzer işlem, hücre duvarı lipoteikoik asit olan gram pozitif hücrelerinde de gözlenmektedir (Panwar, 2014).

Laktoferrinin diğer antimikrobiyel etki mekanizmaları, doğrudan kılıfın imhası ve bakteriyel hücre metabolizmasının bozulması, konakçının vücut dokularına bakteriyel yapışma süreçlerini önlenmesi, bazı bakteriler tarafından biyofilm oluşumunun önlenmesi ve patojenlere karşı konağın bağışıklık sisteminin uyarılması şeklinde olmaktadır. Bağırsak epitel hücrelerini korumakta ve aynı zamanda *Bifidobacterium* cinsinin yararlı bağırsak florasının büyümesinin uyarılması sırasında *E. coli* ve özellikle *Enterobacteriaceae* gibi diğer patojenik intestinal bakterilerin büyümesini engellemektedir (Krol ve ark., 2012).

Demir emiliminin düzenlenmesi, bağışıklık sistemi modülasyonu, hücresel büyümesini desteklenmesi ve antitümör aktivitesi gibi diğer biyolojik aktiviteler laktoferrin ile bağlantılı bulunmaktadır (Mazri ve ark., 2011). Laktoferrin, depolarizasyon, membran bütünlüğü kaybı ve pH gradyanı kaybına neden olmaktadır (Alba ve ark., 2015).

Laktoferrinin antimikrobiyel aktivitesi pastörizasyon sıcaklıklarında etkili olmasına rağmen, daha yüksek sıcaklıklarda etkisini kaybetmektedir. Abdel-Salam ve ark. (2014) tarafından, deve sütünden izole edilen laktoferrinin antibakteriyel aktivitesi üzerine ısı işlemlerin etkisi incelenmiş ve sonuç olarak, Laktoferrin'nin, süte 65 ve 85°C'de ısı işlem uygulandığında, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı

güçlü antibakteriyel etki gösterirken, 100°C gibi yüksek sıcaklıklar uygulandığı zaman çok zayıf bir engelleyici etkisi olduğu rapor edilmiştir.

2.5.2 Lizozim

Lizozim, nispeten küçük temel proteindir ve 1,4-β-N-asetilmuramidaz olarak sınıflandırılmaktadır (Atanasova ve Ivanova, 2010). Düşük molekül ağırlıklı (14,4 kDa) bazık bir protein olan Lizozim, süt antibakteriyel sisteminin önemli bir bileşenidir (Krol ve ark., 2012).

Sütün lizozim konsantrasyonu, türler arasında geniş bir varyasyon göstermekte ve laktasyon durumu, sağlık ve yaş gibi faktörlerden etkilenmektedir (Priyadarshini ve Kansal, 2002). Lizozim aktivitesi inek sütünde neredeyse saptanamaz, ancak insan sütünde çok yüksektir (0,12 gram/litre) (Losnedahl ve ark., 1998). Genellikle lizozim seviyesinin kolostrum sütünde en yüksek, yaşlı hayvan sütünde daha düşük konsantrasyonda olduğu kabul edilmektedir (Panwar, 2014). Mastitis ve yüksek somatik hücre sayısı nedeniyle inek sütündeki sınırlı lizozim aktivitesi artmaktadır. İnek sütünü 15 dakika boyunca 75°C'de ısıtma, bu enzimin aktivitesinin %25 yok etmektedir. Ancak, insan sütü lizozimi ısıya, inek sütü lizoziminden daha fazla dayanıklıdır (Losnedahl ve ark., 1998).

Lizozim bakteri hücre duvarının ana bileşeni olan polisakkarit peptid kompleksinin (peptidoglikan) iki parçası arasındaki glikosidik bağı bozmakta ve bu da gram pozitif bakterilerin lizozim etkisine daha duyarlı olmasına sebep olmaktadır (Panwar, 2014). Gram negatif bakteriler, kalın peptidoglikan hücre zarına sahip olduğundan, normal koşullar altında, lizozim dayanıklı olarak kabul edilmektedir (Yılmaz ve Tosun, 2012). Lizozim'in antibakteriyel özellikleri, bakteri hücre duvarının murein içeren katmanın bozulmasına ve sonuç olarak bakteriyel parçalanmaya neden olan muramidaz faaliyeti ile ilgilidir (Andrade ve ark., 2014).

Lizozim immunoglobulin A ile uyum içinde *E. coli*'ye karşı etkilidir. Ayrıca, her ikisi de düşük konsantrasyonlarda sütte mevcut olan askorbat ve peroksit ile birlikte *Salmonella*'nın bazı türlerinin erimesine yol açmaktadır. Bunun yanı sıra, lizozim hasar görmüş doku içerisine nötrofillerin göçünü sınırlayabilmekte ve bir anti-enflamatuar ajan olarak görev yapabilmektedir (Losnedahl ve ark., 1998).

2.5.3 Laktoperoksidaz

Süt içinde mevcut olan Laktoperoksidaz yaklaşık 78 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip tek bir polipeptid zincirinden oluşan bazik bir proteindir (Mazri ve ark., 2011). Laktoperoksidaz (LP) süt, tükürük, gözyaşı ve solunum yollarının diğer salgılarında bulunan bir glikoproteindir (Morimoto ve ark., 2012). İnsan sütü, tükürük ve gözyaşı salgılarında sadece hafif bir konsantrasyonda bulunurken, inek sütünde daha yüksek konsantrasyonlarda (30 mg/ml) mevcuttur (Panwar, 2014). Laktoperoksidaz olarak bilinen süt peroksidazı, immünoglobulin olmayan protein koruyuculardan biridir ve meme bezlerini mikrobik istilaya karşı korumada önemli bir rol oynamaktadır. Kolostrum döneminde laktoperoksidaz içeriği çok düşüktür, ancak doğumdan sonra 4 ila 5 gün sonra hızla artar. İnsan sütündeki laktoperoksidaz aktivitesinin seviyesi sığır sütündekinden yaklaşık 20 kat daha düşüktür (Losnedahl ve ark., 1998).

Bu enzimin inhibitör etkisi, laktoperoksidaz sistem olarak adlandırılan bir antimikrobiyel sistemin oluşmasına bağlıdır (Mazri ve ark., 2011). Bu sistem, sütün doğal bileşeni olan laktoperoksidaz, hayvanın beslenmesine bağlı olarak elde edilen tiyosiyanat ve polimorfonükleer lökositler veya meme mikroorganizmalarının faaliyeti sonucunda elde edilen H_2O_2 'den oluşmaktadır (Panwar, 2014). Laktoperoksidaz, hidrojen peroksit varlığında tiyosiyanat anyonun oksidasyonunu antibakteriyel hipotiyosiyanat'a katalize etmektedir (Morimoto ve ark., 2012) ve oluşan hipotiyosiyanat ve diğer ürünler bakteriyel metabolik enzimlerin işlevini bozmaktadır (Mazri ve ark., 2011). Laktoperoksidaz sistem, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*'un ısı hassasiyetini arttırır ve aynı zamanda anti-kanserojen, anti-viral ve anti-fungal özelliklere sahiptir (Panwar, 2014).

2.6 Laktoperoksidaz Sistem

Laktoperoksidaz sistem, laktoperoksidaz enzimi, tiyosiyanat iyonu (SCN^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi üç bileşenin arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan sütün doğal antimikrobiyel sistemidir (Ndambi ve ark., 2008).

Laktoperoksidaz enziminin LP sistemi aktive edebilmesi için farklı konsantrasyonlarda hidrojen peroksit ve tiyosiyanata ihtiyacı vardır. LP sistemin, teknik ve/veya ekonomik nedenlerden dolayı mekanik soğutma yöntemlerinin uygulanamadığı bölgelerde de çiğ sütün korunmasında kullanılması tavsiye

edilmektedir (Magdoub ve ark., 2007). Düşük konsantrasyonlarda insan sağlığına zararının olmadığı kanıtlandığı için, kırsal bölgelerde sütün korunmasında alternatif bir çözüm olarak kullanılabilir (Asaah ve ark., 2007).

Gelişmekte olan ülkelerde, süt toplandıktan sonra çoğunlukla soğutucusu olmayan kamyonlarla işleme tesislerine taşınmaktadır. Yüksek sıcaklık doğrudan raf ömrünü ve süt güvenliğini etkilemektedir (Pokhrel ve Laldas, 2012). Bu bağlamda, çiğ sütün toplanması veya depolanması için teknik ve/veya ekonomik nedenlerden dolayı, mekanik soğutma kullanmanın mümkün olmadığı alanlarda LPS kullanımı, güvenli ve sağlıklı olarak süt üretiminin yapılmasını sağlamaya yönelik önemli bir uygulamadır (Kanthale ve ark., 2013). Toplama merkezlerinde sütün korunması için LPS uygulaması, güvenli, ucuz ve etkili, alternatif bir süt koruma yöntemidir (Saad ve ark., 2013). Özellikle soğutma ile kombine olarak kullanılması hem sütün güvenli olmasını hem de süt kayıplarının azalmasını sağlayarak üreticiler ve tüketiciler için potansiyel fayda sağlamaktadır (Pokhrel ve Laldas, 2012). Ayrıca, LP sistemi, çiğ süt, pastörize süt, peynir ve yoğurt korunması için süt endüstrisinde önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (Zarei ve ark., 2010). Süt ve tükürükte doğal olarak oluşan bir antimikrobiyel sistem olan laktoperoksidaz – tiyosiyanat - hidrojen peroksit sistemi, güvenliği (GRAS) ve geniş bir yelpazedeki etkisi nedeniyle, sadece gıdalarda kullanılmakla kalmayıp, aynı zamanda kozmetik ve klinik uygulamalarda da kullanılmaktadır (Touch ve ark., 2004).

Sütün LP sistemi, laktoperoksidaz enzimi, tiyosiyanat iyonu (SCN^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) olmak üzere üç ana bileşenden oluşmaktadır (Al-Baarri ve ark., 2010) ve bu üç bileşenin yeterli miktarlarda mevcut olduğu sürece aktiftir (Campbell ve ark., 2012).

2.6.1 Laktoperoksidaz enzimi

Laktoperoksidaz, doğal enzimler grubu peroksidaz ailesine ait, doğada ve insanlar da dahil olmak üzere bitki ve hayvanlarda bulunan, yaklaşık 78-80 kDa moleküler kütleyle sahip monomerik bir glikoproteindir (Torrente-Rodriguez ve ark., 2013). Süt peroksiti olan laktoperoksidaz, bakteri büyümesi için uygun bir ortam olan sütte, doğal bir antibakteriyel ajandır (Puspitarini ve ark., 2013) ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı konak-savunma sistemlerinde önemli bir doğal bileşen olduğu düşünülmektedir (Dumitraşcu ve ark., 2012). Hidrojen peroksit bağımlı reaksiyonda

tiyosiyanatı hipotiyosiyanat'a dönüştürmektedir (Tanaka ve ark., 2012). Laktoperoksidazın biyolojik önemi istilacı mikroorganizmalara karşı doğal konak savunma sistemine katılımıdır. Ayrıca çeşitli karsinojenlere karşı hayvan hücrelerinin korunmasını sağlamaktadır (Tayefi-Nasrabadi ve ark., 2011). Miktarı hayvanın cinsine, beslenme şekline, laktasyon döngüsüne ve sezona bağlı olarak değişiklik göstermesine rağmen laktoperoksidaz enzimi, bütün memelilerin sütünde yeterli miktarda mevcuttur (Campbell ve ark., 2014). Sütte laktoperoksidaz enzim konsantrasyonu 30 ppm civarındadır ve peynir altı suyu proteinlerinin yaklaşık %1'ini oluşturmaktadır (Gaya ve ark., 1991).

Laktoperoksidaz ısıya duyarlıdır, ancak 72°C/15 sn 'de pastörize edilmiş sütte faaliyetinin çoğunluğunu korumaktadır (Marks ve ark., 2001). Bununla birlikte, sıcaklık arttıkça, yaklaşık olarak 80°C de, laktoperoksidaz aktivitesi hızla azalmaktadır (Campbell ve ark., 2012).

Laktoperoksidazın aktivitesi doğum sonrası en yüksek seviyede iken laktasyon süresince azalma göstermektedir (Isobe ve ark., 2011). Biyolojik önemi yeni doğan yavruyu ve hayvan hücrelerini mikroorganizmalara karşı korumasıdır. Süt, tükürük, gözyaşı ve diğer biyolojik salgılarda bulunmaktadır (Yıldız ve Sert, 2008). Çiğ sütteki konsantrasyonu cins, yaş, laktasyon, beslenme ve sağım hayvanların sağlık durumu ile değişmekle birlikte, laktoperoksidaz enzim nispeten yüksek konsantrasyonlarda sığır ve manda sütünde bulunmaktadır (Kassa ve ark., 2013). Sütte bulunan laktoperoksidaz enzimi memeli hücreleri için zararsızdır ve ağız ve üst mide-bağırsak yolundaki enfeksiyonlara karşı savunmaya katkıda bulunmaktadır (Panwar, 2014).

Sütün normal pastörizasyonunda (63°C/30 dakika veya 72°C/15 saniye) aktivitesini korumakta, ancak 80°C/2,5 saniye ile yok olmaktadır (Panwar, 2014). Bu özelliği sayesinde yüksek pastörizasyon sıcaklık uygulamalarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Borda ve ark., 2013). Çiğ sütte başlangıçta mevcut olan laktoperoksidaz, pastörize sütte olumlu sonuç verirse işleme sırasında uygun sıcaklık ve zaman kontrolü teyit edilebilmektedir. Ancak yüksek sıcaklıkta pastörizasyon ve ultra-yüksek sıcaklık uygulamalarında LP-negatiftir (Torrente-Rodriguez ve ark., 2013). Bu nedenle, pastörize sütte tiyosiyanat ve hidrojen peroksit arasındaki reaksiyonları katalize etmek için yeterli etkinliğe sahiptir (Kamau ve Wangoh, 2010). Verimsiz soğuk saklama koşulları olan yerlerde, pastörize sütün raf ömrünü

uzatmaya katkı sağlaması için, ısıtılardan sonra bazı durumlarda enzim varlığında LPS aktif hale getirilebilmektedir (Tayefi-Nasrabadi ve ark., 2011).

2.6.2 Tiyosiyanat

Tiyosiyanat (SCN^-) normalde meme, tükürük, gözyaşı ve tiroid bezleri ve mide mukoza dahil birçok vücut doku ve salgılarında bulunan bir elektrolittir (Fernandez ve ark., 2005). Hayvanın türü, cinsi, laktasyon döngüsü ve sezona bağlı olarak, sütün tiyosiyanat düzeyi değişkendir ve daha çok hayvanın beslenmesine bağlıdır (Campbell ve ark., 2014; Codex Alimentarius, 2007). Daha az süt üretimi de dahil olmak üzere diğer süt üretim yöntemlerinin de tiyosiyanat konsantrasyonunda önemli bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir (Ponce, 2012).

İnek sütündeki miktarı 1 - 10 ppm arasında olmakla birlikte (FSANZ, 2002) genel olarak 3 - 5 ppm arasında bulunmaktadır (Dahlberg ve ark., 1984). Sütteki tiyosiyanat konsantrasyonu yemlerdeki glukozinolat ve siyanojenik glukozidlerin varlığına bağlıdır. Yüksek glukozinolat ve siyanojenik glukozid konsantrasyonu çoğunlukla yeşil otlaklarda (taze yem) beslenmeyle ilişkilidir (Borda ve ark., 2013). SCN^- , glukozinolatların ve yemlerde bulunan siyanojenik glukozidlerin sindirilmesi suretiyle hidrolize olarak tiyosiyanatın serbest kalmasıyla elde edilmektedir (Althaus ve ark., 2001). Bu glukozinolat ve siyanojenik glukozidlerin ortak kaynağı turpgiller ailesine ait bitkilerdir (Dahlberg ve ark., 1984). Meralarda, doğal otlaklarda beslenen hayvanlardan elde edilen sütlerin tiyosiyanat miktarı, özellikle kışın kaba yem ile beslenen hayvanlardan elde edilen sütlerin tiyosiyanat miktarından daha yüksektir (Bayhan ve ark., 1995).

Pokhrel ve Laldas (2012)'ın yaptığı araştırmada, süt örneklerinin tiyosiyanat içeriği 2,8 ile 3,2 arasında bulunmuş, düşük tiyosiyanat içeriği yemde siyanojenik glukozidlerin az olmasına bağlanmıştır. Ponce (2012), çiğ sütün tiyosiyanat içeriğini, 0,10-0,15 mmol/litre arasında, ortalama 0,140 mmol/litre olarak bulmuştur ki bunun LPS aktivasyonu için gerekli olan miktardan 2,4 kat daha az olduğunu rapor etmiştir. LP sisteminin çiğ deve sütü üzerine koruyucu etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir diğer çalışmada ise, örneklerin tiyosiyanat içerikleri 9,7 ile 36,4 mg/l gibi geniş bir aralıkta olduğu bildirilmiştir (Kamau ve ark., 2010). Saanen ve Güney Afrika keçi sütlerinin tiyosiyanat içeriğinin araştırılması için yapılan çalışmada, Güney Afrika

yerli keçileri sütlerinin tiyosiyanat miktarı ortalama 4,58 ppm, Saanen keçilerinin ise 2,78 ppm olarak bulunmuştur (Seifu ve ark., 2004b).

Ankara'da yapılan bir başka çalışmada, 10 hayvandan alınan süt örneklerinin laktasyon süresi boyunca tiyosiyanat miktarındaki değişim incelenmiştir. Laktasyon başlangıcında 1,731 ppm bulunan tiyosiyanat miktarı laktasyon sonunda (300. gün) 2,520 ppm olarak ölçülmüştür. Laktasyon boyunca tiyosiyanat miktarı 1,731 ile 4,465 ppm arasında değişirken en yüksek SCN^- miktarı laktasyonun 255. gününde gözlenmiştir (Gürsel ve ark., 2002). Bayhan ve ark. (1995), Ankara Bölgesi sınırları içindeki üç çiftlikten sağlanan çiğ inek sütlerinin içerdiği tiyosiyanat miktarlarını, Mart, Nisan, Mayıs aylarında incelemiş ve yapılan istatistiksel analizlere göre, çiftlikler arasında ve aylar arasındaki farkları anlamlı bulmuşlardır. Mayıs ayında tiyosiyanat miktarlarının belirgin ölçüde artış gösterdiğini saptamışlar ve bu artışı beslenme ve laktasyon ile ilişkilendirmişlerdir. Oysun (1989)'un Samsun ili çevresinde 150 örnek ile yaptığı çalışmada, sütlerin tiyosiyanat içeriği 1,24 – 62,49 ppm aralığında bulunurken sütün tiyosiyanat içeriğine etki eden faktörlerden en önemlisinin, aynı işletmelerden alınan örneklerin SCN^- içeriğinin birbirine yakın çıkması nedeniyle, beslenme (özellikle kara lahana) olduğu belirlenmiştir.

2.6.3 Hidrojen peroksit

LP sisteminin üçüncü bileşimi olan H_2O_2 , normal olarak çiğ sütte bulunmamakta ve dışarıdan ilave edilmektedir (Campbell ve ark., 2014). LP sistemini aktive etmek için yeterli miktarlarda elde edilebilir olmasa da hidrojen peroksit, bakteriler (LAB gibi katalaz negatif organizmalar, birçok laktobasil, laktokok ve streptokoklar) tarafından, aerobik şartlar altında, endojen olarak da oluşturulabilmektedir (Puspitarini ve ark., 2013). H_2O_2 'nin antimikrobiyel etkisi, enzimlerin denatürasyonuna neden olan sülfidril gruplarının oksidasyonu ve membran geçirgenliğini arttıran lipidlerin peroksidasyonu sonucu meydana gelmektedir. H_2O_2 , DNA'ya zarar verebilen süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-) radikalleri gibi bakterisidal serbest radikallerin üretiminin habercisi olabilmektedir (Amenu, 2013).

2.7 LP Sistemin Aktivasyonu

Tiyosiyanat ve H_2O_2 'nin çiğ sütte doğal varlığı LPS aktivasyonu için yeterli olmadığından, SCN^- ve H_2O_2 ilave edilerek ve çiğ sütte doğal olarak bulunan

laktoperoksidaz enzimi ile LPS aktif edilebilmektedir (Zarei ve ark., 2010). Süte bağlı olarak, LP sistemi oluşturan 3 bileşenden herhangi biri sınırlayıcı bir faktör haline gelebilmektedir (Campbell ve ark., 2012). Sığır sütünde laktoperoksidazın normal konsantrasyonu, antibakteriyel aktivite için gerekli minimum düzeyin üzerinde olduğu için sınırlayıcı faktörler tiyosiyanat ve hidrojen peroksittir (Haddadin ve ark., 1996).

2.8 LP Sistemin Antimikrobiyel Etkisi

Sütte LP sistemin antimikrobiyel etkisi, laktoperoksidaz enzimi, tiyosiyanat iyonu ve hidrojen peroksit varlığında, doğal bir inhibitör olarak ortaya çıkar ve çok sayıda gram-pozitif ve gram-negatif mikroorganizmaya karşı etkilidir (Torrente-Rodriguez ve ark., 2013). Laktoperoksidaz enzimi hidrojen peroksitin tiyosiyanat oksidasyonunu katalize ederek, antibakteriyel etkisi kanıtlanmış, kısa ömürlü bir ara ürün olan hipotiyosiyanat (OSCN^-) iyonu üretmektedir (Isobe ve ark., 2011). Bu iyon, spesifik olarak bakterilerin hücre membranındaki serbest sülfidril grupları ile reaksiyona girerek (oksitleyerek) (Al-Baarri ve ark., 2012) birçok hayati bakteriyel enzimlerin inaktivasyonuna neden olur ve dolayısıyla onların metabolizma ve çoğalabilme yeteneğini engellemektedir (Alba ve ark., 2015). Süt proteinleri çok az sülfidril grupları içerir ve bunlar OSCN^- 'den etkilenmezler (Kassa ve ark., 2013). Sütteki bu bileşenin reaksiyonu oldukça özeldir ve bakterilere yöneliktir (Sisecioglu ve ark., 2010). Bakteriyel sülfidrillerin bir kısmı OSCN^- ile yükseltgenerek sülfenik asit ve sülfenil tiyosiyanat türevleri elde edilir. OSCN^- büyük miktarlarda mevcut olsa dahi, kalan sülfidriller okside olmaz. Sülfidrillerin sülfenil türevlerine oksidasyonu bakteriyel solunumu inhibe eder (Thomas ve Aune, 1978).

Sistemin etkisi tiyosiyanat ve hidrojen peroksit konsantrasyonuna bağlıdır (Sisecioglu ve ark., 2010). Taze sağılmış sütte, antimikrobiyel aktivite oldukça zayıftır ve süt sadece optimal düzeylerde tiyosiyanat iyonu ve hidrojen peroksit içerdiğinden en fazla iki saat sürmektedir (Kakar ve ark., 2013). Etkinin uzaması SCN^- ve H_2O_2 eklenerek yapılmaktadır (Ndambi ve ark., 2008). LP- SCN^- - H_2O_2 sistemin aktivitesi sıcaklığa bağlı olup, tiyosiyanat tümüyle okside olduğunda bakteriler üzerinde etkisi durmaktadır (Gatti ve ark., 2014).

Tiyosiyanatın oksidasyon ürünleri nötral pH'ya dayanıklı değildir. Fazlalıkları yine tiyosiyanat tarafından parçalanmaktadır. Bu reaksiyon sıcaklıkla artmaktadır (Codex

Alimentarius, 2007). Kısacası, oksidasyon sürecinin son ürünleri inert ve zararsız olsa da bunlar ısı uygulamasıyla yokedilebilmektedirler (Abdallah, 2005). FAO/WHO (2005) doğal LPS'ye, tüketimden önce tamamen uzaklaştırılması kaydıyla, H₂O₂ ilavesi haricinde sütün korunmasında kimyasal kullanımını yasaklamaktadır.

Sistemin etkinliği sütün başlangıç mikroorganizma yüküne ve çeşidine, uygulama süresindeki sıcaklığa bağlıdır. LP sisteminin kullanımı, yeterli ısıl işlem ya da iyi hijyen uygulamaları ihtiyacını ortadan kaldırmamaktadır (Muehlhoff ve ark., 2013). Sistemin esas olarak bakteriyostatik etkisi nedeniyle, bu yöntemi uygulayarak, başlangıçta yüksek bir bakteri popülasyonu ihtiva eden kalitesiz sütü gizlemek mümkün değildir (Codex Alimentarius, 2007).

LP sistem, düşük sıcaklık uygulamalarıyla birleştirildiğinde, yüksek sıcaklık uygulamalarına gerek kalmayacağından, daha ekonomiktir ve sütün besin ve/veya kalite değeri korunmuş olmaktadır (Njage ve Wangoh, 2010). Laboratuvar ve saha çalışmalarından elde edilen gözlemler, LP sistemin çiğ süt ve işlenmiş süt ürünlerinin kimyasal, fiziksel veya duyuşal özellikleri üzerinde herhangi bir önemli olumsuz etkilere neden olmadığı belirtilmektedir (Musa ve Hamid, 2013).

Sistem sitoplazmik enzimlerin tiyol gruplarının (-SH) oksidasyonu ve dış zar, hücre duvarı ya da sitoplazmik zar, taşıma sistemleri, glikolitik enzimler, ve nükleik asitler gibi diğer hücre elemanlarının zarar görmesi olarak bakterisid veya bakteriyostatik etki gösteren, ağırlıklı olarak hipotiyosiyanat (OSCN⁻) ve HOSCN gibi kısa ömürlü oksidasyon ürünlerinin etkisiyle antimikrobiyel etki göstermektedir (Touch ve ark., 2004).

Önleyici etki için aşağıdaki mekanizmalar öne sürülmektedir (Siragusa ve Johnson, 1989);

- Uzun bir lag periyodu veya büyümememe,
- O₂ alımının azaltılması,
- Fermentatif organizmalar tarafından üretilen laktat'ın azaltılması,
- Heksokinaz, gliseraldehid-3P-dehidrojenaz ve D-laktat dehidrojenaz gibi önemli metabolik enzimlerin inhibisyonu,
- Glukoz alımının inhibisyonu,
- Sitoplazmik membran hasarı,

- Nükleik asit ve protein sentezinin engellenmesi.

LPS ile gıda korunmasına, gram negatif katalaz pozitif organizmalar, gram pozitif katalaz negatif bakterilere göre daha duyarlıdır (Hayek ve ark., 2013). Gram negatif, katalaz pozitif organizmalar (*E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* ve *Pseudomonas* sp. vb.) sadece inhibe olmaz, aynı zamanda yeterli kadar hidrojen peroksit sağlanırsa öldürülmektedir (Zarei ve ark., 2010). Öte yandan, gram pozitif organizmalara karşı LP sistemi genel olarak bakteriyostatiktir ve öldürücü değildir (Pokhrel ve Laldas, 2012). LPS aktivasyonu, yalnız soğutma ile elde edilebilene kıyasla, psikrotrofik bakterilerin büyümesini yavaşlatarak birkaç gün gıdaların bozulmasını geciktirmektedir (Musa ve Hamid, 2013). Çiğ sütün 15°C ve altındaki sıcaklıklarda saklanması durumunda, LP sistemi etkinliğinde 24 - 26 saat korunabileceği bildirilmektedir (Campbell ve ark., 2012).

Düşük seviyelerde tiyosiyanat ve H₂O₂ varlığında, LPS çok güçlü bir bakteri öldürücü etkinlik sergiler ve bu sistem, tek başına H₂O₂'den 50-500 kat daha etkilidir (Hamid ve Musa, 2013). Geleneksel olarak H₂O₂ ile korunan sütlerde 800 mg/l gerekirken LPS aktive edilmiş sütler için gerekli H₂O₂ miktarı 8 mg/l'dir. Peroksit hızla SCN⁻ enzimatik oksidasyonunda kullanılmaktadır (Fernandez ve ark., 2005). Yapılan çalışmalar 100 mg/kg'ın altında kullanılan H₂O₂'nin bakteri çoğalmasını ve asitlik gelişimini önlemediğini göstermektedir (Özer ve ark., 2003).

Hidrojen peroksitin sütün saklanmasıyla uygulanabilirliği ile ilgili yapılan çalışmada, 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 ppm ilave edilen sütler ve kontrol grubu oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Sütün kalitesi fiziksel ve kimyasal testler yapılarak belirlenmiştir. Bütün deneysel grubun kaliteyi arttırdığı görülen çalışmanın sonucuna göre, 400 -500 ppm H₂O₂ ilave edilen sütlerin raf ömrünün 24 saate kadar uzayabildiği ve bu miktardaki H₂O₂'nin çiğ sütün korunması için yeterli olacağı rapor edilmiştir (Saha ve ark., 2003).

LP sistemin etkinliği depolama süresi ve sıcaklığına bağlı olarak azalmaktadır. Yapılan bir çalışmada, 25°C 'de saklanan peynir altı suyunun LPS aktivitesi 1-2 hafta sürerken -20°C' de saklanan peynir altı suyunda 4 hafta kadar devam ettiği rapor edilmektedir (Puspitarini ve ark., 2013). LPS aktivasyonu çiğ süt üzerinde bakteriyostatik etkiye sahiptir ve çiğ sütün raf ömrünü ortam sıcaklıklarında yaklaşık 7-8 saat uzatmaktadır (Muehlhoff ve ark., 2013).

LPS kozmetik, ilaç ve gıda endüstrisi de dahil olmak üzere birçok endüstride uygulama alanı bulmaktadır. Gıda endüstrisinde LP sistemin en yaygın önerilen uygulaması, süt ürünlerinde bozulmayı önlemek için depolama ve nakliye sırasında çiğ sütün korunmasıdır (Defaie ve ark., 2010). Süt korunması yanı sıra, LPS peynir altı suyunun ağartılması için de kullanılabilir (Campbell ve ark., 2014).

Sistem düşük pH derecelerinde oldukça etkili olmasına rağmen asidik koşullarda stabilitesi düşüktür (Sisecioglu ve ark., 2010). LPS, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*'un termal yıkımını artırır, aynı zamanda, anti-kanserojen, anti-viral ve anti-fungal özelliklerine sahiptir (Borda ve ark., 2013). Kanserojen ve peroksidatif etkilere karşı hayvan hücrelerinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Ndambi ve ark., 2008).

Çeşitli araştırmacılar tarafından LP sistemin antibakteriyel etkisi üzerine yapılan çalışmalar aşağıda verilmiştir;

Pokhrel ve Laldas (2012) tarafından LPS, sağımından sonra 2 saat içinde hidrojen peroksit ve potasyum tiyosiyanat ilave edilerek aktive edilmiş ve örnekler dolap sıcaklığında (5°C) ve oda sıcaklığında (25°C) ve 35°C'de muhafaza edilmiştir. Sonuç olarak, LPS aktivasyonu yapılmış olan sütlerde, dolap sıcaklığında (5°C) ve oda sıcaklığında (25 °C) muhafaza edilenlerde raf ömrünü arttırdığı, 35 °C'de muhafaza edilenlerde ise kontrol ve deney grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Kassa ve ark. (2013), LPS uygulamasının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 30°C'de, oda sıcaklığında (22,5°C), soğuk suda (20°C) ve soğutma cihazı (10°C)'nda muhafazası sırasında sütün raf ömrünü sırasıyla, 6, 7,5, 12,5 ve 74 saat arttırdığını belirtmişlerdir. Bu durumun, muhtemelen, gece sağılan sütleri, soğutma olmadan, toplama merkezlerine ertesi sabah teslim eden küçük ölçekli süt çiftçileri için birden fazla avantaj getirebileceğini rapor etmişlerdir.

Abdallah (2005) sabah sağımından 3 saat sonra, 17 ppm potasyum tiyosiyanat ve 34 ppm sodyum perkarbonat kullanılarak, LPS aktive edilen ve 30 ve 5°C'de tutulmuş sütlerle yaptığı çalışmada, aktif ve kontrol numunelerinin raf ömrü arasında belirgin bir fark olduğunu göstermiştir. 30°C ve 5°C'de muhafaza edilen aktive edilmiş süt örnekleri sırasıyla, yaklaşık 12 saat ve 7 gün'de açıkça bozulmuş, kontrol süt örnekleri ise sırasıyla, yaklaşık 6 saat ve 3 gün'de bozulmuştur. Sonuç olarak, LPS

aktivasyonu yoluyla çiğ sütün korunmasının, Mısır ve diğer tropik ülkelerde, sütün raf ömrünü uzatmak için faydalı bir yöntem olarak kabul edilebileceğini, ancak, sütün bu yöntemle korunmasının, süt üreticilerinin hijyen kurallarına uyma zorunluluğunu ortadan kaldırmayacağını ve LPS aktivasyonu ile sütün korunmasının, kötü kaliteli sütün gizlenmesi veya iyileştirilmesi için değil iyi kalitedeki bir sütün kalitesinin korunması amacıyla yapılması gerektiğini rapor etmiştir.

Kakar ve ark. (2013)'nin yürüttüğü çalışmada, LP sisteminin aktivasyonu ile çiğ manda sütünün raf ömrü üzerine etkisini araştırmak için, süt örneklerine eşit miktarda (10, 20 ve 30 ppm) sodyum tiyosiyanat ve hidrojen peroksit ilave edilmiş ve 35, 40 ve 45 ° C de muhafaza edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre 30 ppm ile aktive edilen örneklerin raf ömrünün 9 saate kadar arttığı görülmüştür.

Asaah ve ark. (2007) LPS aktivasyonunun çiğ inek sütünün kalitesi üzerine etkisi araştırmıştır. Bunun için 10 ppm tiyosiyanat ve 8,5 ppm hidrojen peroksit ilave edilmiş süt ve kontrol süt örnekleri ortam sıcaklığı (22 - 25°C), su banyosu (20°C) ve dolap sıcaklığında (6 - 8°C) muhafaza edilmiştir. Kontrol süt ile karşılaştırdığında, aktive edilmiş sütün raf ömrü ortam sıcaklığında 7,1 saat, su banyosunda 8,1 saat ve dolap sıcaklığında 46,2 saat kadar artmıştır. Bunun yanı sıra, LP sistemin sütte bozulmaya neden olan laktik asit bakterilerinin aktivitesini sınırlandırdığı belirlenmiştir. Ayrıca ortam sıcaklığında muhafaza edilen aktive edilmiş sütlerin mikrobiyel yükünün, 8 saatlik muhafaza sonunda 1 log kob/ml'den fazla azaldığı görülmüştür. Bu sonuçların, aktive edilmiş sütlerin, soğutma olmadan ertesi günün kullanımı için iyi durumda kalabileceğini gösterdiği rapor edilmiştir.

Fonteh ve ark. (2005)'nin Kamerun'da yaptıkları çalışmada, LPS uygulamasının oda sıcaklıklarında çiğ süt raf ömrüne etkisi araştırılmıştır. Çiğ süte sodyum tiyosiyanat ve hidrojen peroksit çeşitli konsantrasyonlarda (sırasıyla, 7:10 ppm, 10:10 ppm 20:20 ppm) eklenerek, kontrol ve aktive grubun alkol stabilitesi, pıhtı kaynama testi, pH ve titre edilebilir asit değişiklikleri değerlendirilmiştir. Bütün örneklerde süt 12 saat taze kalırken, 12. saatten itibaren kontrol grubunda titre edilebilir asitlik hızla artmış, deney grubunda ise artış 15. saatten sonra başlamıştır. Ölçülen tüm parametrelerde, en geç bozulan deney grubu 20:20 ppm SCN⁻:H₂O₂ ile aktive edilmiş olan süt örnekleri olmuştur. Sonuç olarak, 20 ppm tiyosiyanat ve 20 ppm peroksit ile aktive edilmiş olan süt örnekleri oda sıcaklığında (23 - 21°C) 18 saat taze kalırken, aynı koşullarda kontrol grubunun raf ömrü 12 saat olarak belirlenmiştir. Raf ömründeki

bu %50'lik artışın, sütün çiftlikten işleme tesislerine gidene kadar taze olarak kalması için yeterli zamanı sağlayacağını rapor etmişlerdir.

Başka bir çalışmada, taze inek ve keçi sütüne farklı miktarlarda tiyosiyanat ve hidrojen peroksit (sırasıyla 25:20, 30:30 ve 35:40 ppm) eklenerek LPS aktive edilmiş ve oda sıcaklığında (32°C) inkübasyon sıcaklığında (37°C) ve dolap sıcaklığında (5°C) sütün pH'sı ve asitliği üzerine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca sistemin mikrobiyolojik kaliteye etkisi de araştırılmıştır. Bütün uygulamalar, bütün sıcaklıklarda, kontrol grubu örneklerine göre daha yüksek kalite ortaya koymakla birlikte en iyi sonuçlar 30:30 ppm SCN⁻:H₂O₂ uygulaması yapılan süt örneklerinde elde edilmiştir (Suliman ve ark., 2009).

Kamau ve ark. (2010) ise, LP sistemi, 0, 10:10, 20:20, 30:30 ve 40:40 ppm düzeylerinde tiyosiyanat (NaSCN) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) kombine ederek aktive etmişler ve 30°C'de toplam canlı sayıları ve laktik asit gelişimi gözlemlemişlerdir. Deve sütünün raf ömrü, laktik asit üretimi yönünden, kontrolde 4 saat olarak belirlenmiş ve NaSCN: H₂O₂ kombinasyon oranları 10:10, 20:20, 30:30 ve 40:40 ppm olanlarda sırasıyla 6, 12, 16 ve 16 saat arttığı gözlenmiştir. LP sistem etkinleştirilerek, deve sütünün depolama süresinin uzatılabileceği ve LP sistemin bakterilere etkisinin depolama sıcaklığı ve SCN⁻-H₂O₂ oranına bağlı olarak değişebileceği görülmüştür. NaSCN: H₂O₂ oranı 30:30 ile yapılan LPS aktivasyonunun deve sütü raf-ömrünü 16 saat uzatma kapasitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

LPS uygulanmış deve sütünün pastörizasyonunun düşük mikroorganizma yüküne etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, kontrol grubu (pastörize edilmiş deve sütü) ve aktivasyondan sonra 0., 4. ve 8. saatte pastörize edilmiş sütler 10 ve 20°C'de muhafaza edilmiştir. 10°C'de muhafaza edilen kontrol grubu ve aktivasyondan sonra 0., 4. ve 8. saatte pastörize edilmiş sütlerin raf ömrü sırasıyla 15, 32, 17 ve 17 gün, 20°C'de muhafaza edilenlerde ise sırasıyla 6, 13, 9 ve 7 gün olarak bulunmuştur. Toplam canlı bakteri sayısı, 10°C'de muhafazada, kontrol grubunda 45 gün sonra 10⁸'e ulaşırken aktive edilen sütlerde aynı sürede 10⁵-10⁷ aralığında kalmıştır. 20°C'de muhafazada ise kontrol grubunun toplam canlı sayısı 15 günde 10⁸'e ulaşırken aktive edilen sütlerde 10⁶ seviyelerinde kalmıştır. Çalışma sonucunda, LPS aktivasyonunun pastörizasyon işleminden önce yapıldığında, deve sütünün raf

ömrünü arttırmada yarar sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Kamau ve Wangoh, 2010).

Hamid ve Musa (2013), çiğ inek sütünün kalitesinde LP sisteminin aktivasyonu için farklı düzeylerde sodyum tiyosiyanat ve sodyum perkarbonatın (sodyum tiyosiyanat:sodyum perkarbonat sırasıyla LP1: 12:20, LP2: 16:20 ve LP3: 20:30 mg/litre) etkisini araştırmışlardır. Sağımdan 30 dakika sonra aktive edilen ve 37°C'de 8 saat muhafaza edilen örneklerde, Titrasyon asitliği (%), süt bileşimi ve toplam bakteri sayılarını değerlendirmişlerdir. Muhafaza periyodu boyunca, aktive edilmiş numunelerin kalitesi kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve aktive edilmiş örneklerin kalitesinin belirgin bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, sonuçlar, LPS aktive edilmiş ile kontrol grubunun süt kompozisyonunda (yağ, protein, yoğunluk ve toplam katı) anlamlı farklılık olmadığını gözlediğini ortaya koymuştur. Titre edilebilir asitlik düzeylerinde ilk 3 saatte anlamlı bir farklılık gözlenmezken, muhafaza periyodunun sonunda kontrol (ort. %0,22) ve aktive edilen sütler (ort. %0,171) arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Aynı şekilde, başlangıç toplam canlı bakteri sayısı, kontrol, LP1, LP2 ve LP3 örneklerinde sırasıyla 5,41, 5,39, 5,36 ve 5,39 log kob/ml olarak belirlenirken, muhafaza periyodu sonunda 7,73, 6,60, 6,45 ve 6,45 log kob/ml olarak bulunmuştur.

El Zubeir (2010), Sudan'da LP sistemin inek sütünün kalitesi üzerine yaptığı araştırmada kontrol ve deney grubunun asitlik, toplam bakteri ve koliform sayıları üzerine etkisini araştırmıştır. Aktive edildikten sonra oda sıcaklığında muhafaza edilmiş sütler ile dolapta muhafaza edilen çiğ süt arasında toplam canlı bakteri sayısında, koliform sayısında ve asitlik değişiminde anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu durumun soğutma imkanının bulunmadığı bölgelerde süt korunması için LP sistemin önemli bir metod olduğunu desteklediği bildirilmiştir. Diğer yandan, kontrol grubu örnekleri oda sıcaklığı ve dolap sıcaklığında muhafaza edildiğinde, toplam canlı bakteri sayısı ve koliform sayısı anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Bu farkın soğutmanın bakteri üzerindeki etkisinden kaynaklandığı rapor edilmiştir.

Dolap sıcaklığında çiğ inek sütünün kalitesini arttırmak için, Musa ve Hamid (2013) tarafından yapılan çalışmada, LP sisteminin aktivasyonu için farklı düzeylerde sodyum tiyosiyanat ve sodyum perkarbonat (12, 16, 20 ve 20, 30, 40 mg/L) kullanılmıştır. Numuneler, sabah sağımından yaklaşık 30 dakika sonra aktive

edilmiş, daha sonra 7 gün boyunca 4 ° C'de muhafaza edilmiştir. Titrasyon asitliği (%), süt kompozisyonu ve toplam bakteri sayımı değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, farklı düzeylerde sodyum tiyosiyanat ve perkarbonat ile LPS aktivasyonu yapılmasının, süt örneklerinde titre edilebilir asitlik ve toplam bakteri sayısı üzerine önemli etkileri olduğu görülmüştür. LPS aktivasyonu için en etkili sodyum tiyosiyanat ve perkarbonat konsantrasyonlarının 16, 20 mg/L ve 30, 40 mg/L olduğu bildirilmiştir. Bu seviyelerde aktive edilen sütler dolap sıcaklıklarında (4°C) en az 7 gün boyunca taze kalırken, aynı koşullar altında işlenmemiş süt örneklerinin raf ömrü sadece 4 gün olarak bulunmuştur.

LPS aktivasyonunun inek sütünün mikrobiyel kalitesi üzerine etkisini araştırmak için, Etiyopya'da yapılan çalışmada, 14 ppm sodyum tiyosiyanat, 10 ppm hidrojen peroksit kullanılarak sistem aktive edilmiş ve ortam sıcaklığında (22-23°C) muhafaza edilmiştir. Yedi saatlik muhafazanın sonunda aktive edilen sütlerde koliform ve toplam bakteri sayısı başlangıça göre sırasıyla 0,57 log kob/ml ve 0,23 log kob/ml azalırken, kontrol grubunda aynı sürede sırasıyla 1,16 log kob/ml ve 0,84 log kob/ml artış gözlenmiştir (Nigussie ve Seifu, 2007).

Koyun, sığır ve keçi sütlerinin doğal LPS aktivasyonu ile korunmasının incelenmesi için yapılan çalışmada, değişik oranlarda tiyosiyanat iyonu ve hidrojen peroksit (SCN^- ve H_2O_2 oranları sırasıyla, 15:10, 75:50, 125:75 ve 150:100 mg/l) içeren süt örnekleri 4°C, 22°C ve 30°C'de muhafaza edilmiştir. Süt örneklerinin titre edilebilir asit değişiklikleri, toplam koloni sayısı ve koliform sayıları muhafaza periyodu süresince takip edilmiştir. LPS aktivasyonu ile çığ sütün 4°C'de günlerce saklanabileceği, 15 mg/l SCN^- ve 10 mg/l H_2O_2 konsantrasyonunun sütün işlem öncesi bozulma riskini geciktirmek için yeterli bulunduğu, bu seviyelerde tiyosiyanatın insan sağlığına potansiyel riski ihmal edilebilir düzeyde olduğu rapor edilmiştir (Haddadin ve ark., 1996).

Başka bir çalışmada, LPS aktivasyonu yapıldıktan sonra buzdolabı sıcaklığında (7°C) muhafaza edilen koyun sütünde, kontrol gubu ile deney grubu, toplam bakteri sayısı, koliform sayısı, psikrotrof bakteri sayısı ve küf ve maya sayısı olarak karşılaştırılmıştır. LPS aktivasyonunun ilk yapıldığı anda bakteri sayılarında anlamlı değişiklik görülmezken, muhafazanın ilerleyen sürelerinde toplam bakteri sayısı, koliform sayısı, psikrotrof bakteri sayısı ve küf ve maya sayısı anlamlı değişiklikler

belirlenmiştir. Kontrol grubunda bütün bakterilerde anlamlı bir artış görülürken, deney grubunda bakteri sayılarında azalma olduğu bildirilmiştir (Saad ve ark., 2013).

Björck (1978) tarafından, sütün LPS aktivasyonu 0,25 mM tiyosiyanat ve 0,25 mM H₂O₂ ile yapılarak sistemin sütün mikroflorası üzerine etkisinin araştırılması için yapılan çalışmada, sistemin bakteri florasında anlamlı bir azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Uygulanan yöntemin özellikle psikrotrofik bakterilerin üremesini 5 gün engellediği, bunun yanı sıra sütün kimyasal özellikleri üzerinde herhangi bir etkiye neden olmadığı rapor edilmiştir.

Magdoub ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışmada ise LPS sırasıyla 14:30, 15:10 ve 20:25 ppm sodyum tiyosiyanat ve sodyum perkarbonat ilave edilerek aktive edilmiş ve farklı miktarlarda SCN⁻ ve H₂O₂ ile aktive edilmiş keçi sütünün raf ömrüne etkisi araştırılmıştır. Bütün gruplarda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 18–24°C'de 72 saat muhafaza sırasında titre edilebilir asitlik artışında bir yavaşlama gözlenmiştir. LPS aktive edilmiş sütlerin, toplam aerobik bakteri, psikrotrof bakteri, koliform bakteri ve somatik hücre sayılarında 24 saat boyunca anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Muhafazanın 48. saatinde yapılan kontrolde ise, muhtemelen LPS aktivitesinin sona ermesinden dolayı, aktive edilmiş örneklerdeki bakteri sayılarının artış gösterdiği gözlenmiştir.

LPS aktivasyonunun oda sıcaklığında muhafaza edilen çiğ sütlerde *Pseudomonas* türleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada çiğ sütlerin ortalama *Pseudomonas* sayısı 3,54 log kob/ml olarak bulunmuştur. Aktivasyon 14 ppm sodyum tiyosiyanat ve 30 ppm sodyum perkarbonat ile yapılmıştır. 8 saatlik muhafaza süresinin sonunda kontrol grubunun *Pseudomonas* yükü 6,23 log kob/ml olurken LPS aktive edilmiş sütlerin *Pseudomonas* yükü 5,10 log kob/ml'ye ulaşmıştır. Kontrol ve deney grubu arasındaki bu anlamlı fark, LPS aktivasyonunun, tüketici ya da fabrika tarafından uygun bir yöntemle depolama işlemi uygulanana kadar, taşıma sırasında çiğ süt kalitesinin korunmasını geliştirmek için kullanılabileceğini gösterdiği rapor edilmiştir (Saad, 2008).

Zapico ve ark. (1995) çiğ keçi sütünde *Pseudomonas fluorescens*'e karşı LP sistemin bakterisid aktivitesini araştırmışlardır. LPS aktivasyonundan 24 saat sonra *P. fluorescens* sayısında, 4°C'de 1,69 log kob/ml, 8°C de ise 1,85 log kob/ml bir azalma meydana gelmiştir.

Tayland'da yapılan çalışmada LP sistemin *E.coli* üzerine antimikrobiyel aktivitesi incelenmiştir. Bunun için çiğ süt örnekleri dörde ayrılarak ikisine *E.coli* inokule edilmiş, daha sonra ise bakteri ilave edilen ve edilmeyenlerin birer tanesi kontrol grubu olarak ayrılırken diğerleri 40 mg/l sodyum tiyosiyanat ve 30 mg/l sodyum perkarbonat ile LPS aktive edilmiştir. Her iki grupta da LP sistemin aktive edilmesinin sütün kalitesini arttırdığı görülmüştür. Buna ilave olarak, LP sistemin varlığında, bakteri sayısındaki azalma, bakteri inokule edilmemiş sütlerde %87, inokule edilmiş sütlerde ise %78 oranında gözlemlenmiştir. Bu sonuçların, LP sistemin çiğ inek sütünde mikrobiyel büyümeyi kontrol etmek için alternatif bir yöntem olarak hizmet verebileceğini gösterdiği bildirilmiştir (Dajanta ve ark., 2008).

Bir başka çalışmada ise, LPS aktivasyonu, bilinen patojen potansiyele sahip bazı mikroorganizmaları inhibe ederek süt güvenliğini sürdürmek için potansiyel alternatif yöntem olarak incelenmiştir. LP sisteminin aktivasyonu *S. aureus* ve *E. coli* yükünü 2 log kb/ml kadar azaltmıştır. (Başlangıç *S. aureus* yükü $1,5 \times 10^7$ kob/ml, aktivasyon sonrası $1,5 \times 10^5$ kob/ml; Başlangıç *E. coli* yükü $3,2 \times 10^7$ kob/ml, aktivasyon sonrası $1,7 \times 10^5$ kob/ml) (Kangumba ve ark., 1997).

İtalya'da yapılan çalışmada, çiğ süt örneklerine, 10^2 - 10^4 kob/ml miktarında inoküle edilen *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase-positive, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus*'a karşı LP sistemin etkisi araştırılmıştır. Aktivasyon için 9 mg/l sodyum tiyosiyanat ve 34 mg/l sodyum perkarbonat kullanılmıştır. Oda sıcaklığında (21-27,4°C) muhafaza edilen örnekler muhafazanın 0, 4, 8 ve 12. saatinde analiz edilmiştir. 12 saatin sonunda kontrol ile aktive edilmiş süt örnekleri arasında sadece toplam bakteri sayısında anlamlı bir fark oluşmuştur. Diğer bakteri sayıları arasında, herbirinde kontrol grubundaki üreme daha fazla olsa da, anlamlı bir fark görülmemiştir. Genel olarak, deney grubunda, LPS aktivasyonundan 12 saat sonra, çalışılan patojenlerin hiçbirinde kontrol grubunda gözlemlendiği gibi hızlı bir artış bildirilmemiştir. Bu nedenle, bu yöntemin kullanımının tüketici için bir mikrobiyolojik risk taşımadığı rapor edilmiştir (Armenteros ve ark., 2007).

Seifu ve ark., (2004b) Saanen ve Güney Afrika keçi sütlerinde LP sistem aktivasyonunun *E. coli*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Brucella melitensis* üzerine etkisini araştırmak için, LPS 14 mg/L sodyum tiyosiyanat ve 30 mg/L sodyum perkarbonat ilavesi ile aktifleştirmişler ve örnekleri 30°C'de 6 saat muhafaza

etmişlerdir. LPS hem Saanen ve hem de Güney Afrika yerli keçi sütlerinde *L. monocytogenes* ve *B. melitensis*'e karşı bakterisid etki göstermiştir. *S. aureus* üzerine ise, Saanen keçi sütlerinde bakterisid, Afrika yerli keçi sütlerinde bakteriyostatik etki göstermiştir. Her iki süt örneklerinde, LP sistemin *E. coli* üzerine bakteriyostatik etki gösterdiği görülmüştür. LP sistem uygulamasının keçi sütlerinde gıda kaynaklı patojenlerin büyümesinin kontrol altına alınması için kullanılabilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Marks ve ark. (2001) ise, pastörize sütün bozulmasında önemli dört mikroorganizmayı (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Streptococcus (St.) thermophilus* ve *Bacillus cereus*) pastörizasyon sonrası ultra - ısıl işlem görmüş (UHT) sütlerde LPS aktive edilerek incelemiştir. LPS aktivasyonunun 72°C'de pastörize edilen ve *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *St. thermophilus* ile aşılana sütlerde, büyük ölçüde sütlerin mikrobiyolojik kalitesini arttırdığını bulmuşlardır. Ancak, 80°C'de, muhtemelen 80°C'de laktoperoksidaz enziminin inaktivasyonu nedeniyle, hemen hemen hiç bir etkisi olmadığını görmüşlerdir. Bununla birlikte, pastörizasyon sıcaklığının *Bacillus cereus* sporlarla aşılana sütlerin süt kalitesi üzerinde herhangi bir etki meydana getirmediğini kaydetmişlerdir.

Gaya ve ark. (1991) çalışmalarında, çiğ süte 0,25 mM sodyum tiyosiyanat ve 0,25 mM hidrojen peroksit ilave ettikten sonra, soğutma sıcaklıklarında dört *Listeria monocytogenes* suşuna laktoperoksidaz - tiyosiyanat - hidrojen peroksit (LP) sisteminin etkisini incelemiştir. LPS 4 ile 8°C de *L. monocytogenes*'lere karşı bakterisid aktivite sergilemiştir. Etki sıcaklık, inkübasyon süresi ve test edilen *L. monocytogenes* suşuna bağımlıdır. LPS aktivasyonunun dolap sıcaklığında çiğ sütteki *L. monocytogenes* gelişimini kontrol için uygun bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Ben Moussa ve ark. (2013)'nın yaptığı çalışmada, LPS uygulaması yapıp soğukta saklanan çiğ süttten üretilen UHT sütte, gram negatif psikrotrof bakterilerin ısıya dirençli proteinaz ve lipazlarının sebep olduğu proteoliz ve lipoliz azalmıştır. Kontrol olarak ayrılan UHT sütte ise 30°C'de 6 ay depolama sırasında yüksek seviyede proteoliz ve lipoliz görülmüş, bu da UHT sütün raf ömrünü azaltan acı tada, jelleşmeye ve ekşimeye neden olmuştur.

Ahrne ve Björck (1985) yaptığı çalışmada, LP sisteminin sütteki lipoprotein lipazı (LPL) inhibe ettiğini bulmuşlar, LPL'nin inhibisyonunun sütteki lipoliz aktivitede de bir azalma meydana getireceğini ve inhibisyonun süte katılan SCN^-/H_2O_2 miktarı ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

LPS aktivasyonu ile korunmuş buffalo sütlerinden elde edilen yumuşak peynirlerin, kalitesi ve raf ömrü üzerine yapılan bir çalışmada, eşit konsantrasyonda (20 ppm) NaSCN ve H_2O_2 kullanılarak aktivasyon sağlanmış ve örnekler 4°C'de muhafaza edilmiştir. Sonuçlar, kontrol grubuyla kıyaslandığında, LPS aktivasyonu yapılmış sütlerden elde edilen peynirlerde özellikle maya, küf, koliform ve bakteri sayıları daha düşük bulunmuştur. Ayrıca, proteoliz sonuçlarının LPS aktive edilenlerde daha düşük olduğu bildirilmiştir (Parveen ve ark., 2016).

Ndambi ve ark. (2008) LP sistemi taze süte 10 ppm sodyum tiyosiyanat ve 8,5 ppm sodyum perkarbonat eklenmesi ile aktive etmişler ve aktive edilmiş ve edilmemiş (kontrol) sütlerle yoğurt ve bambui peyniri yapmışlardır. Peynirin yağ ve nem içeriği izlenirken, yoğurt örnekleri asit, protein içeriği ve kuru madde içeriği analiz edilmiştir. Aktive ve kontrol sütleri ile yapılmış yoğurt ve peynirleri karşılaştırmak için basit organoleptik değerlendirmeler yapılmıştır. LP sistemin aktivasyonu yoğurt üretiminde laktik asit gelişimini yavaşlatırken, kalitesini arttırmıştır. Aktive edilmiş sütlerden yapılmış yoğurt'un organoleptik kalitesini düşürürken, Bambui peynirinin arttırmıştır. Yoğurt'un kurumadde ve yağ içeriği ile peynirin nem ve yağ içeriği LPS uygulamasından etkilenmemiştir.

Yapılan bir başka çalışmada LPS aktivasyonu ile korunmuş keçi sütünden yapılan gouda peynirlerinin, 90 günlük olgunlaşma periyodunun sonunda, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, LPS aktive edilmiş keçi sütünden yapılan peynirlerin anlamlı ölçüde daha düşük koliform ve koagulaz pozitif *Staphilococcus* sayısına sahip olduğu, LPS uygulamasının peynirin genel kimyasal bileşimini etkilemediği görülmüştür. Kontrol ve aktive edilmiş sütlerden yapılmış peynirlerin, olgunlaşma periyodu sonunda, proteoliz seviyesi anlamlı değişiklik göstermezken, aktive edilmiş sütlerden yapılmış peynirlerin lipoliz seviyesi kontrolle yapılan peynirlere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Düşük lipolitik aktivite keçi sütü peynirinin güçlü lezzetinin azalmasında önemli olabilmektedir. Aktive ve kontrol grubuyla yapılan peynirlerde, genel duyuşal özelliklerde anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

Aktive grubuyla yapılan peynirlerde, kontrol grubuna kıyasla daha hafif bir lezzete sahip olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, keçi peyniri sütünün LPS ile korunmasının, toplam kimyasal kompozisyonda negatif bir değişikliğe neden olmadığı ve mikrobiyolojik kaliteyi geliştirdiği için kullanılabilir olduğu rapor edilmiştir (Seifu ve ark., 2004b).

Piyasada mevcut mezofilik peynir starter kültürlerin aktivitesi üzerine LP sisteminin etkisinin araştırılması için yapılan çalışmada incelenen starter kültürlerin çoğunun LPS karşı hassas olduğu ve bu hassaslığın kültürün çeşidine bağlı olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, LPS ile korunmuş sütlerden peynir yapmadan önce LP sistemine direnç gösteren starter kültürlerin belirlenmesinin ve kullanılmasının gerektiği bildirilmiştir (Seifu ve ark., 2003).

Kenya'da yapılan çalışmada deve sütünde LP sistemin laktik starter kültürleri üzerine etkisi araştırılmıştır. LPS aktivasyonu ile çiğ deve sütü 30°C'de 8 saat boyunca özelliklerini kaybetmeden korunabildiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, bütün numunelerde aktivasyon sonrasında starter kültürlerin asit gelişiminde anlamlı bir yavaşlama olduğu görülmüştür. Fakat, ısıl işlem uygulamasının, LP sistemin mezofilik ve termofilik starter kültürlerine karşı inhibisyon etkisini ortadan kaldıracağı ve yeniden aktive olmasını sağlayacağı rapor edilmiştir (Njage ve Wangoh, 2008).

Odabaşı ve ark. (1999), 20:20 ppm ve 60:60 ppm SCN⁻:H₂O₂ katılarak 30°C'de, SCN⁻:H₂O₂ katılmadan 4°C'de 6 saat süreyle bekletilen sütlerden beyaz peynir üretilerek depolamanın 30.,60.,90. günlerinde kalitesi değerlendirilmiş, sonuçta 20:20 ppm SCN⁻: H₂O₂ katılarak korunmuş sütlerle üretilen peynirlerin kalitesi en yüksek bulunmuştur.

Gürsel ve Bozbay (2001), çiğ keçi sütünü 15 saat süreyle 4°C'de, 100 ve 400 ppm H₂O₂ ilavesiyle 20 ve 35°C'de ve 20:20 ve 60:60 ppm SCN⁻: H₂O₂ ilavesiyle 20 ve 35°C'de depolamışlardır. Keçi sütünün niteliklerini yitirmeden 20°C'de 15 saat süreyle korunabilmesinde 100 ppm H₂O₂ veya 20:20 ppm SCN⁻: H₂O₂ ilavesinin soğutmaya alternatif olabileceği görülmüştür. Ancak, hidrojen peroksitin özellikle 100 ppm'den yüksek konsantrasyonlarda kullanımı sütün peynir mayası ile pıhtılaşma süresi ve starter kültür aktivitesi üzerinde olumsuz etki yarattığından peynir ya da yoğurda işlenecek keçi sütünün LP sistemi aktivasyonu ile korunmasının daha uygun olacağını söylemektedirler.

2.9 LPS Aktivasyonunun İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Süte yüksek miktarda tiyosiyanat eklenmesi sadece gıda yasalarına karşı değil aynı zamanda tüketicilerin sağlığı açısından da tehdit etkiye neden olabilmektedir (Kanthale ve ark., 2013). Sistemin kullanılmasında olası sağlık riskleri ile ilgili olarak, sadece guatrojenik ajan olarak bilinen SCN^- için bir endişe ortaya çıkabilmektedir (Abdallah, 2005). Tiyosiyanatlar yüksek seviyelerde alındığı zaman hipotiroidizme yol açabilen güçlü anti-tiroid maddelerdir (Kanthale ve ark., 2013). Tiyosiyanat iyonunun yüksek seviyelerde alındığında iyodun fazla emilmesine neden olacağı ve dolayısıyla tiroit işlevini etkileyeceğinden, toksik etkilere sahip olduğu belirtilmektedir (FSANZ, 2002).

Tiyosiyanatın tiroid bezinde birikmediği ve iyot tutma etkisi için kan plazmasında 18 - 20 mg/litre üzerinde olması gerektiği bildirilmektedir (Fernandez ve ark., 2005). SCN^- 200-400 mg kullanıldığında iyot metabolizması ve tiroid fonksiyonlarında toksik etki göstermektedir (Kırdar, 2006). 200 mg tiyosiyanat olarak düşünüldüğünde, 25 mg/ litre tiyosiyanat katılmış süttten 8 litre içilmesi anlamına gelmektedir. Farelerde oral yolla alındığında NaSCN için ölümcül doz 764 mg/kg olduğu rapor edilmektedir (Fernandez ve ark., 2005).

Bu sistemin sağlığa potansiyel tehlikeleri düşünülse de yapılan çalışmalarda, LPS aktivasyonunda 42 ppm düzeyinde tiyosiyanat kullanıldığında dahi herhangi bir olumsuz etki göstermediğini bildirilmektedir. H_2O_2 katıldıktan sonra birkaç saat içinde yıkımlandığından herhangi bir risk teşkil etmemektedir. Bununla birlikte oluşan oksidasyon ürünleri ($OSCN^-$ ve diğerleri) ısıya (pastörizasyon) dayanıksızdır (Abdallah, 2005). Tüm bunların yanı sıra, sistemin uygulanmasının ardından sütteki kalıntı miktarı doğal olarak bulunan miktara inmektedir. Ayrıca, bu miktarın tükürükte bulunan tiyosiyanatın da altında olduğu bildirilmektedir (Bayhan ve ark., 1995).

LPS çiğ sütü korumak için FAO/WHO yönergeleri takip edilerek kullanıldığı zaman hiçbir toksikolojik risk oluşturmamaktadır. Bu, 20 yıldır farklı ülkelerdeki pratik kullanımla kanıtlanmaktadır. LPS uygulanmış süt tüketen nüfusta tiyosiyanat nedeniyle hiçbir istenmeyen belirti bildirilmemektedir. Düşük toksisitesi nedeniyle, LPS işlenmiş süt veya süt ürünlerinin hemen hemen hiç yan etkisi bulunmamaktadır.

Diğer yandan, bileşenler doğal olarak sütte bulunduğundan, istenmeyen yan etkiler rapor edilmemektedir (Fernandez ve ark., 2005).

Koruyucuların kullanımını düzgün idare ve kontrol gerektirir ve bunun yanında uygulama toksikolojik açıdan güvenli olmalıdır. Bu gereksinimleri karşılayan LP sistemi IDF (Uluslar arası Süt Federasyonu) tarafından desteklenmektedir (Fernandez ve ark., 2005).

Dahlberg ve ark. (1984)'nın yaptığı çalışmada, süt yoluyla 8 mg tiyosiyanat alımının, 12 hafta boyunca 37 sağlıklı bireyde tiroid fonksiyonuna etkisi incelenmiştir. Tiyosiyanat anlamlı düzeyde artarken, 4 hafta sonra maksimum değerine (3,8 mg/l) ulaşmıştır. Bu süre sonunda, tiroksin, triiyodotironin ve tirotropik hormon düzeyleri normal sınırlar içinde bulunmuş ve deney süresince anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Sonuç olarak, süt yoluyla günlük 8 mg tiyosiyanat alımının tiroid fonksiyonuna belirgin bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Buna ek olarak, klinik deneylerden elde edilen sonuçlar, bu yöntemle göre işlem görmüş sütün ne normal iyot durumu olan kişilerde ne de iyot eksikliği durumlarında, tiroid bezinin iyot alımının etkilemediğini göstermektedir (Codex Alimentarius, 2007).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Çiğ süt örneklerin temini

Çatalca bölgesinde yer alan iki ayrı çiftlikten, 2015 yılının kış (Ocak) döneminde 33 ve bahar (Mayıs) döneminde 33 olmak üzere toplam 66 adet çiğ süt örneği alınmıştır. Örnekler A çiftliğinde 5, B çiftliğindeki 6 inekten elde edilmiştir. Çiğ sütler, sabah sağımında aseptik şartlarda, hayvanın memesinden 200 ml'lik steril numune kaplarına alınmış, termobaks içine konularak soğuk şartlarda (+4°C) aynı gün laboratuvara getirilmiştir.

3.1.2 UHT ve Pastörize süt örneklerin temini

Üretim tarihleri (kış ve bahar dönemi) ve bölgesi (Bursa, İzmir, Sakarya ve Balıkesir bölgelerinden 5 farklı üretici) dikkate alınarak gıda marketlerinden 20 adet UHT ve 20 adet pastörize olmak üzere toplam 40 adet içme sütü örneği toplanmıştır.

3.1.3 Bakteri suşları

LPS aktivasyonunun spesifik mikroorganizmalar üzerine etkisinin araştırılması için; *S. aureus* (ATCC 29213), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) ile kendi tarafımızdan izole edilmiş olan *E. coli* ve *St. thermophilus* suşları kullanılmıştır.

3.1.4 Laboratuvarlarda kullanılan alet - ekipmanlar

- Su Banyosu (Membert 22 LT)
- Spektrofotometre (Jenway 6315)
- Otomatik Pipet (Vitlab ve Axypet)
- Saf Su Cihazı (Sartorius stedim biotech arium pro UV)
- Otoklav (Hiclave HV-50L)
- Etüv (Binder)
- Terazî (AND GF-6100)
- Vortex (Stuart SA8)

- Filtre (Whatman No:40)
- Mc Farland Standard (bioMerieux 70900)

3.1.5 Analizlerde kullanılan besiyeri ve çözeltiler

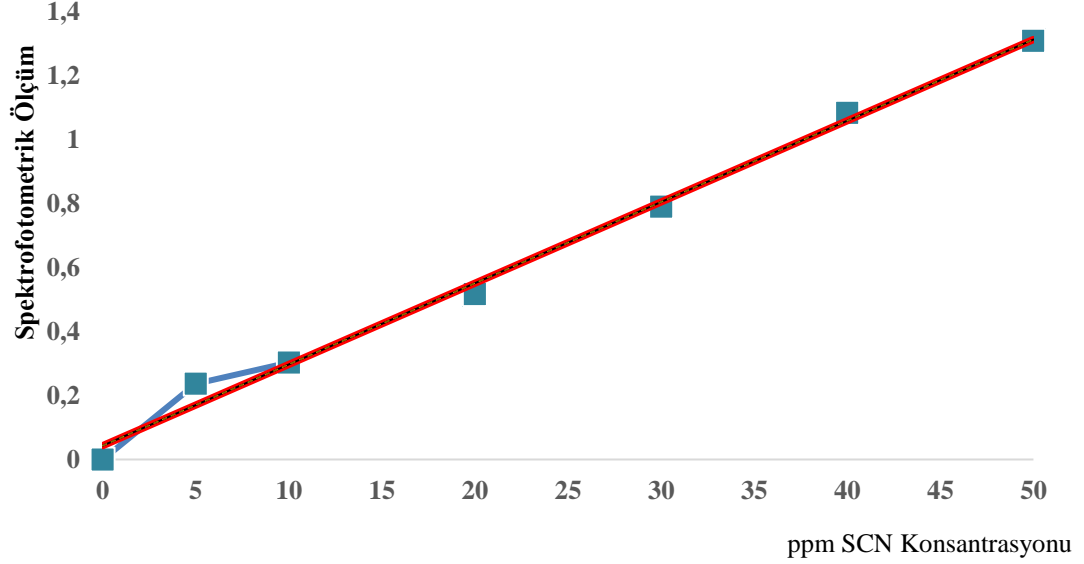
- TCA (Merck 1.00807.0250)
- NaCl (Merck 1.06404.1000)
- Buffered Peptone Water ((ISO) : LAB204)
- PCA (LAB149)
- CFC Selective Supplement (Merck 1.07627.0001)
- Pseudomonas Agar (Merck 1.07620.0500)
- Glycerol (Merck 1.04091.0500)
- VRBG (LAB088)
- MRS (Merck 1.10660.0500)
- YGC (Merck 1.16000.0500)
- BPA (LABX086)
- Egg Yolk Tellurite (LABX085)
- M17 (Merck 1.15108)
- NaSCN (Fluka Analytical 71938-250G)
- H₂O₂ (Merck 1.07210.1000)
- Demir Nitrat : Iron (III) nitrate nonahydrate (Merck 1.03883.0250)
- HCL (Merck 1.0317.2501)
- H₂SO₄ (Merck 1.00731.2511)

3.2 Yöntem

3.2.1 Sütlerde tiyosiyanat miktarının belirlenmesi

Süt numuneleri 2/1 oranında %20 trikloroasetikasit ile muamele edilerek 30 dk beklenmiş ve karışım uygun bir filtre kağıdı ile (Whatman No 40 filtre kağıdı) filtre edilmiştir. Elde edilen berrak filtratın 1,5 ml'sine, 1,5 ml Fe(NO₃)₃.9H₂O (Demir Nitrat) ilave edilmiştir. Fe³⁺ iyonu ile tiyosiyanat iyonu içeren çözeltiler karıştırıldığında reaksiyona girerek, turuncu-kırmızı renge sahip FeSCN²⁺ kompleks iyonu oluşturmuşlardır. Meydana gelen kompleks iyonun renk intensitesi spektrofotometrede 460 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Ölçülen absorbans değerleri,

Şekil 3.1'de kalibrasyon grafiği verilen, tiyosiyanat konsantrasyonları bilinen (ppm cinsinden) solüsyonların absorbans değerlerine göre hesaplanmıştır (Codex Alimentarius, 2007).



Şekil 3.1: Tiyosiyanat kalibrasyon grafiği.

3.2.2 Isıl işlemin tiyosiyanat miktarına etkisinin belirlenmesi

Bir litre çiğ süt her birinde 250 ml olacak şekilde dört ayrı kaba dağıtılmıştır. Her bir kap içine SCN^- içeriği 20 ppm olacak şekilde sodyum tiyosiyanat ilave edilmiştir. Süt örnekleri sırasıyla 60°C, 70°C, 80°C ve 90°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilmiştir. Sıcakta bekletme sırasında 1., 5., 10., 15., 20. ve 30. dakikalarda numune alınarak tiyosiyanat miktarları ölçülmüştür. Deneme üç kere tekrarlanmıştır.

3.2.3 Soğukta muhafazanın tiyosiyanat miktarına etkisinin belirlenmesi

Çatalca'daki bir çiftlikten temin edilen çiğ süt laboratuvarında iki eşit kısma ayrılmıştır. Bunlardan birisine 20 ppm konsantrasyonunda tiyosiyanat ilave edilmiştir. Sütler buzdolabında (4°C) 36 saat süreyle muhafaza edilmiştir. Muhafazanın 0., 6., 12., 24. ve 36. saatlerinde örnek alınarak tiyosiyanat miktarları ölçülmüştür. Deneme üç kere tekrarlanmıştır.

3.2.4 LP sistemin aktivasyonu

Bir litre çiğ süte, içindeki tiyosiyanat miktarı 20 ppm olacak şekilde NaSCN ilave edilerek bir dakika boyunca iyice karıştırılmış ve sonrasında H_2O_2 konsantrasyonu

20 ppm olacak şekilde H₂O₂ ilave edilerek 2-3 dk. daha karıştırılarak hidrojen peroksitin süt içinde iyi bir şekilde çözünmesi ve dağılması sağlanmıştır (Codex Alimentarius, 2007).

3.2.5 Homojenizasyon ve seyrelti hazırlama

Örnekten 1 ml alınarak 9 ml'lik FTS (Fizyolojik Tuzlu Su) solüsyonu içinde homojenize edilmiştir. Buradan yine 1 ml alınarak, 9 ml'lik FTS kullanılarak seyreltiler hazırlanmıştır (ISO 6887-1, 1999).

3.2.6 Süt numunelerinin hazırlanması

Hazırlıklar iki ayrı bölümde yapılmıştır. İlk bölümde, çiğ süt iki eşit kısma ayrılmıştır. Bunlardan birisine 20 ppm konsantrasyonunda tiyosiyanat ilave edilmiştir. Aynı süt örneğine LP sistemin aktivasyonu için, eşit konsantrasyonda H₂O₂ eklenmiştir. Kontrol (KON) ve aktive edilmiş (AKT) örnekler 4°C'de muhafaza edilmiş; muhafazanın 3., 6., 9. ve 12. saatlerinden örnek alınarak mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. İkinci bölümde ise, çiğ süt laboratuvarında tindalizasyon işleminden sonra, Mc Farland Standard (bioMerieux 70900) tüpleri kullanılarak belirli miktarda (6,0-8,0 log kob/ml) *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* ve *St. thermophilus* ile inoküle edilmiştir. Daha sonra numune iki eşit kısma ayrılarak, bunlardan birine LP sistemin aktivasyonu için 20 ppm tiyosiyanat ve 20 ppm H₂O₂ katılmıştır. Kontrol (KON) ve aktive edilmiş (AKT) örnekler etüvde, bakterinin özelliğine göre (*P. aeruginosa*: 25°C, *E. coli*: 37°C, *S. aureus*: 37°C ve *St. thermophilus*: 42°C) muhafaza edilmiş; muhafazanın, *P. aeruginosa* bakterisi için 0., 3. ve 6. saatlerinde, *E. coli*, *S. aureus* ve *St. thermophilus* bakterileri için 0., 1., 2. ve 3. saatlerinde örnekler alınarak mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Denemeler farklı tarihlerde üç kere tekrarlanmıştır.

3.2.7 Mikrobiyolojik analizler

3.2.7.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının belirlenmesinde Standard Plate Count Agar kullanılmıştır. Dökme yöntemiyle ekimi yapılan petri plakları 30°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra koloni sayımı yapılmıştır (ISO 4833, 2003).

3.2.7.2 Psikrofil/psikrotrof mikroorganizmaların sayımı

Psikrofil/psikrotrof bakteri sayısının belirlenmesinde Standard Plate Count Agar kullanılmıştır. Dökme plak ekim yöntemiyle ekim yapılarak petripler 7°C'de 5-7 gün inkübe edildikten sonra koloni sayımları gerçekleştirilmiştir (Harrigan, 1998).

3.2.7.3 *Pseudomonas sp.* ve *P. aeruginosa* sayımı

Seyreltilerden C-F-C Selective Supplement takviye edilmiş *Pseudomonas* Agar içeren plaklara yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Plaklar 25°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra gelişen sarı renkli koloniler *pseudomonas* olarak sayılmıştır (ISO 13720, 2010). Isıl işlem görmemiş süte sadece *P. aeruginosa*'nın inoküle edildiği örneklerde aynı besiyerinde gelişen tüm *pseudomonas* kolonileri *P. aeruginosa* olarak kabul edilmiştir.

3.2.7.4 Enterobacteriaceae ve *E. coli* sayımı

Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) içeren plaklara yayma tekniği ile yapılan ekimler 37°C'de 24 saat inkübasyonda tutulmuş ve koloni sayımı yapılmıştır (ISO 21528-2, 2004).

3.2.7.5 Laktik asit bakterilerinin sayımı

Seyreltilerden de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS)'a dökme tekniği ile ekim yapılmıştır. Plaklar 37°C'de 48 saat inkübasyon sonucunda koloni sayımı yapılmıştır (ISO 15214, 1998).

3.2.7.6 Küf ve Maya sayımı

Bu amaçla seyreltilerden Yeast Glucose Chloramphenicol Agara ekim yapılmış, plaklar 25°C de 5 gün inkübe edildikten sonra sayım yapılmıştır (ISO 7954, 1988).

3.2.7.7 *S. aureus* sayımı

Baird Parker Agar (BPA) içeren plaklara yayma tekniği ile yapılan ekimler 37°C'de 48 saat inkübasyonda tutulmuştur. Süre sonunda çapı yaklaşık olarak 3 mm olan siyah-gri renkli ve etrafında şeffaf zonlar bulunan parlak koloniler *S.aureus* olarak sayılmıştır (Lancette ve Bennet 2001).

3.2.7.8 *St. thermophilus* sayımı

Yoğurt kültürü bakterilerinden *St. salivarius subsp. thermophilus*'un izolasyonu ve sayımı için Terzaghi ve Sandine (1975) tarafından önerilen M17 besiyeri kullanılmıştır. Ekimler yayma tekniği ile yapılmış ve plaklar 42°C'de 48 saat inkübasyonda bekletilerek koloni sayımı yapılmıştır.

3.2.8 İstatistiksel Değerlendirme

İstatistik analiz için SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago 2013) paket programı kullanılmıştır. İncelenen süt örnekleri arasında tiyosiyanat içeriğinin mevsimsel farklılık (kış ve bahar dönemleri) durumu ve piyasadan toplanan Pastörize ve UHT sütlerin tiyosiyanat içeriği Bağımsız Örnek T Testi (Independent Sample-T Test) ile değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar $P < 0,05$ seviyesinde anlamlı kabul edilmiştir.

Farklı sıcaklık (60°C, 70°C, 80°C ve 90°C) ve sürelerde (1, 5, 10, 15, 20 ve 30 dakika) çiğ süte uygulanan ısı işlemin ve sabit saklama sıcaklığında (4°C) farklı muhafaza sürelerinin (0. saat, 6. saat, 12. saat, 24. saat ve 36. saat) süt örneklerinde tiyosiyanat konsantrasyonu üzerine etkileri, incelenen süt örneklerinde LP sistemin sütün bakteriyel yükü ve inoküle edilen bazı bakteriler (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *St. thermophilus*) üzerine etkilerinin kıyaslaması ve niteliksel kontrolü Tek Yönlü Varyans Analizi (one-way-ANOVA) ile ($P < 0,05$), grup ortalamaları arasındaki farklılıkların anlamlılığı Çoklu Karşılaştırma (Post-hoc) Duncan testi ile yapılmıştır. Yapılan deneylerde bulunan mikroorganizma sayıları logaritmik değerlere çevrilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Piyasadan Toplanan Pastörize ve UHT Süt Örneklerinin Tiyosiyanat İçerikleri

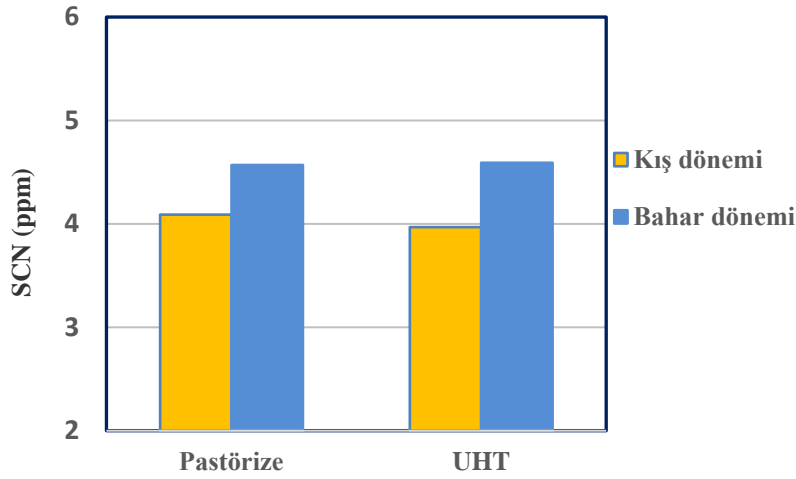
Kış ve bahar dönemlerinde, piyasadan toplanan pastörize ve UHT sütlerin tiyosiyanat içerikleri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Aynı firmaların Pastörize ve UHT sütlerinin SCN^- konsantrasyonları, kış ve bahar dönemlerinde incelenmiştir. Pastörize sütlerde kış dönemi ortalama SCN^- konsantrasyonu 4,09 ppm, bahar dönemi ise 4,57 ppm; UHT sütlerde kış dönemi ortalama SCN^- konsantrasyonu 3,97 ppm, bahar dönemi 4,59 ppm olarak belirlenmiştir. Hem pastörize hem de UHT sütlerin SCN^- konsantrasyonlarının kış ve bahar ayları ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Pastörize ve UHT sütlerin kış ve bahar dönemi SCN^- konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise, değerler birbirine yakın olup aralarındaki farklar istatistik açıdan anlamlı değildir ($P>0,05$).

Çizelge 4.1: Pastörize ve UHT içme sütlerinin ortalama SCN^- miktarları (ppm)

Dönem	Pastörize Süt	UHT Süt
Kış Dönemi (n:20)	4,09±0,36 ^{b,x}	3,97±0,28 ^{b,x}
Bahar Dönemi (n:20)	4,57±0,38 ^{a,x}	4,59±0,17 ^{a,x}
Ortalama	4,28	4,34

^{ab}: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)

^{xy}: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)



Şekil 4.1: Pastörize ve UHT içme sütlerinin SCN⁻ miktarlarının karşılaştırılması.

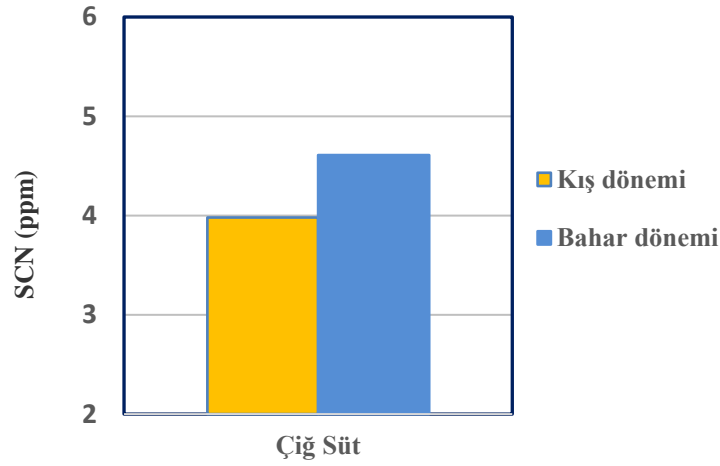
4.2 Çiftliklerden Toplanan Çiğ Süt Örneklerinin Tiyosiyanat İçerikleri

Kış dönemi toplanan 33 adet çiğ süt örneğinde SCN⁻ konsantrasyonları 3,40 ppm ile 4,40 ppm arasında olup, ortalama 3,98 ppm bulunurken, bahar dönemi toplanan çiğ süt örneklerinde ise SCN⁻ konsantrasyonları 4,20 ppm ile 5,10 ppm arasında olup ortalama 4,59 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Kış ve bahar ayları çiğ süt SCN⁻ konsantrasyonlarının ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.2: Çiğ sütlerin ortalama SCN⁻ miktarları (ppm)

Dönem	Çiğ Süt
Kış dönemi (n:33)	3,98±0,25 ^b
Bahar dönemi (n:33)	4,59±0,25 ^a
Ortalama	4,30

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.2: Çiğ sütlerin SCN⁻ miktarlarının karşılaştırılması.

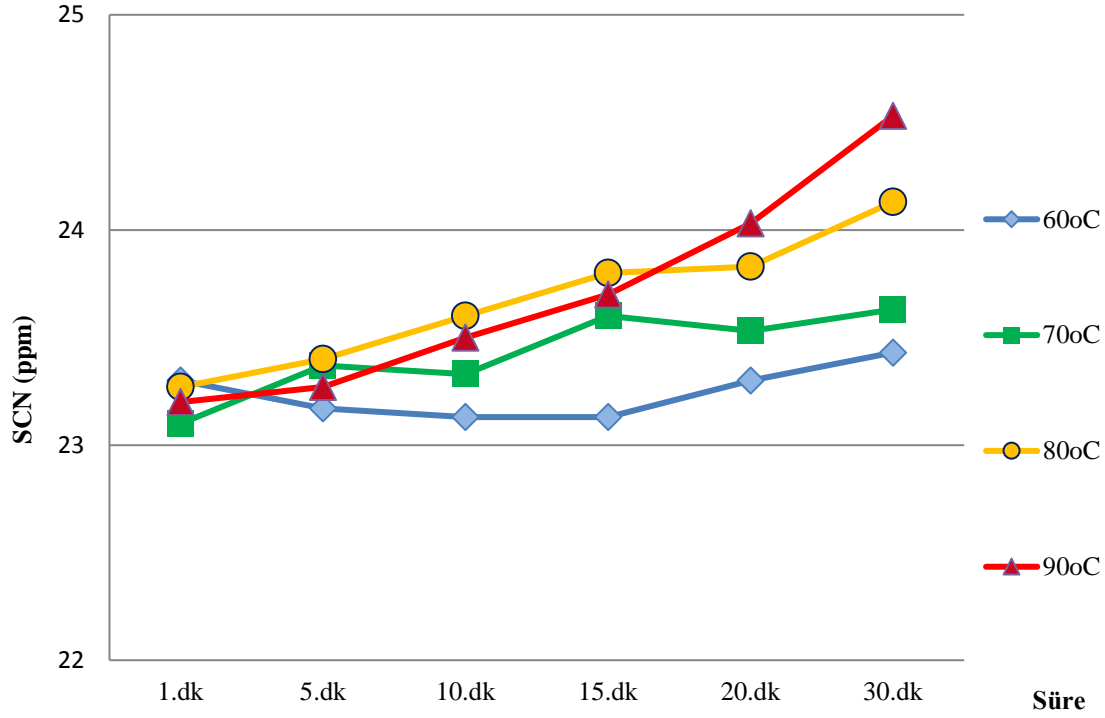
4.3 Süte Uygulanan Isıl İşlemlerin Tiyosiyanat Miktarı Üzerine Etkisi

Farklı sıcaklık (60°C, 70°C, 80°C ve 90°C) ve sürelerde (1, 5, 10, 15, 20 ve 30 dakika) ısıl işlem uygulanan çiğ sütün SCN⁻ konsantrasyonundaki değişim incelenmiştir. Uygulama sonrası çiğ sütlerdeki SCN⁻ konsantrasyonu değişimleri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3’de sunulmuştur. Uygulanan sıcaklık değerlerine ve süresine bağlı olarak sütün 60, 70 ve 80°C’lerdeki SCN⁻ konsantrasyonundaki değişim istatistiksel olarak anlamlı değildir (P>0,05). Ancak, 90°C’de uygulanan ısıl işlem sonrasında, başlangıçtaki SCN⁻ konsantrasyonu artmış, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.3: Farklı süre ve sıcaklıklarda ısıl işleme tabi tutulan sütlerdeki SCN⁻ miktarları (ppm)

Süre	Sıcaklık			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
1.dk	23,30±0,46 ^a	23,10±0,46 ^a	23,27±0,40 ^a	23,20±0,46 ^c
5.dk	23,17±0,45 ^a	23,37±0,47 ^a	23,40±0,46 ^a	23,27±0,40 ^c
10.dk	23,13±0,45 ^a	23,33±0,35 ^a	23,60±0,50 ^a	23,50±0,30 ^{bc}
15.dk	23,13±0,35 ^a	23,60±0,36 ^a	23,80±0,46 ^a	23,70±0,46 ^{bc}
20.dk	23,30±0,46 ^a	23,53±0,42 ^a	23,83±0,45 ^a	24,03±0,40 ^{ab}
30.dk	23,43±0,45 ^a	23,63±0,42 ^a	24,13±0,40 ^a	24,53±0,35 ^a

^{abc} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.3: Farklı süre ve sıcaklıklarda ısıl işleme tabi tutulan sütlerde SCN^- miktarlarındaki değişimler.

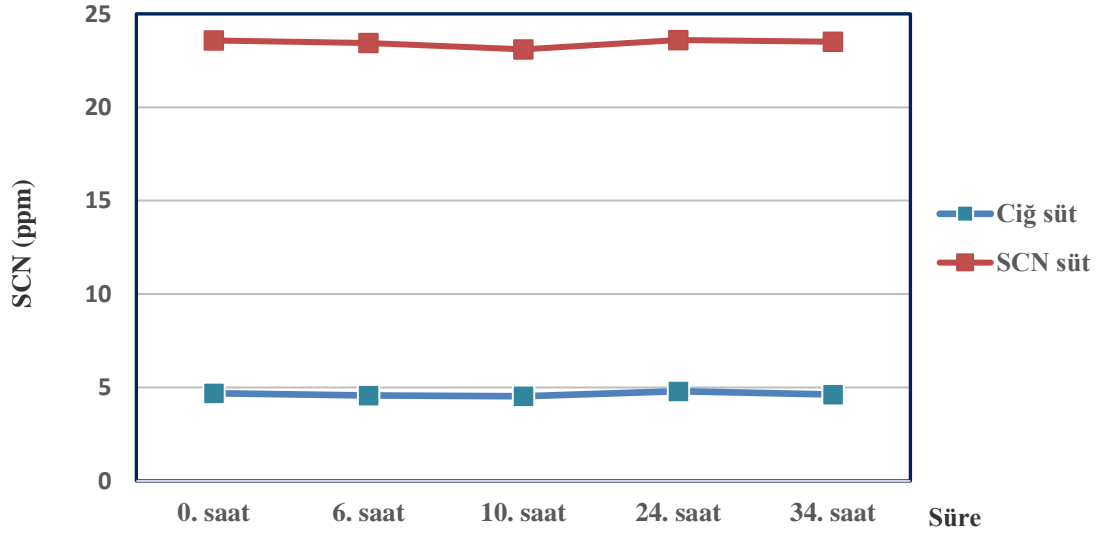
4.4 Soğukta Muhafazanın Çiğ Sütteki Tiyosiyanat Miktarı Üzerine Etkisi

Soğuk muhafaza sırasında ($4^{\circ}C$) çiğ süt ve SCN^- ilave edilmiş (20 ppm) çiğ sütün farklı sürelerdeki (0, 6, 12, 24 ve 36 saat) SCN^- konsantrasyonundaki değişimler incelenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Muhafaza süresinde çiğ süt SCN^- konsantrasyonu %1,5 azalmış, SCN^- ilave edilmiş çiğ sütte ise %0,3 artmıştır. Her iki grupta meydana gelen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.4: Soğukta (4°C) muhafaza sırasında çiğ sütte saptanan tiyosiyanat miktarları (ppm)

Süre	Çiğ Süt	SCN ⁻ ilave edilmiş süt
0. saat	4,70±0,30 ^a	23,57±0,50 ^a
6. saat	4,57±0,40 ^a	23,43±0,45 ^a
12. saat	4,53±0,40 ^a	23,10±0,46 ^a
24. saat	4,80±0,36 ^a	23,60±0,60 ^a
36. saat	4,63±0,35 ^a	23,50±0,46 ^a

^{a,b} Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.4: Soğukta muhafaza edilen sütlerde tiyosiyanat içeriğindeki değişimler.

4.5 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki Toplam Mezofilik Aerobik Bakterilere Karşı Etkisi

Çiğ süt ve LPS aktivasyonu yapılmış çiğ sütte soğuk muhafaza sırasında (4°C) toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişimler Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Çiğ sütte, başlangıçta 7,10 log kob/ml olarak belirlenen toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı, muhafaza sonunda 7,14 log kob/ml 'ye ulaşmıştır. Muhafaza süresince anlamlı değişikliğe rastlanmamıştır (P>0,05). Ancak, LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütte, ilk 3 saatte 0,50 log kob/ml azalma olmuştur. Bu

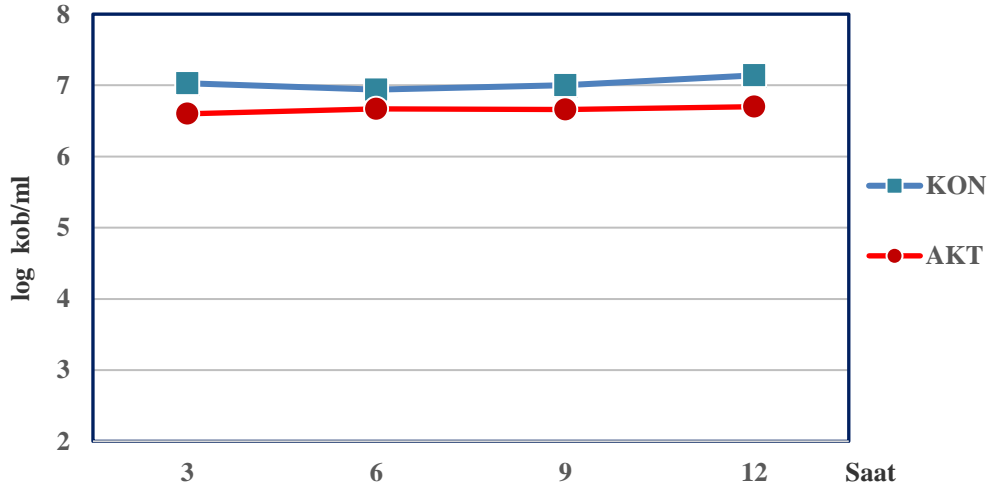
azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Muhafazanın ilerleyen süresinde görülen değişim ise anlamlı değildir ($P>0,05$).

Çizelge 4.5: Soğukta muhafaza sırasında saptanan toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	7,10±0,23 ^a	7,10±0,23 ^b
3	7,03±0,21 ^{a,x}	6,60±0,20 ^{a,x}
6	6,94±0,16 ^{a,x}	6,67±0,20 ^{a,x}
9	7,00±0,22 ^{a,x}	6,66±0,21 ^{a,x}
12	7,14±0,19 ^{a,x}	6,70±0,26 ^{a,x}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)

^x : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)



Şekil 4.5: Soğuk muhafaza sırasında toplam mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişimler.

4.6 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki Psikrofil/Psikrotrof Bakterilere Karşı Etkisi

Çiğ sütün başlangıç psikrotrof bakteri yükü 5,14 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Aktivasyon işlemi sonrasında kontrol ve deney grubu soğukta (4°C) muhafaza edilmiş ve muhafaza sonucunda kontrol grubunun psikrotrof bakteri yükü anlamlı bir

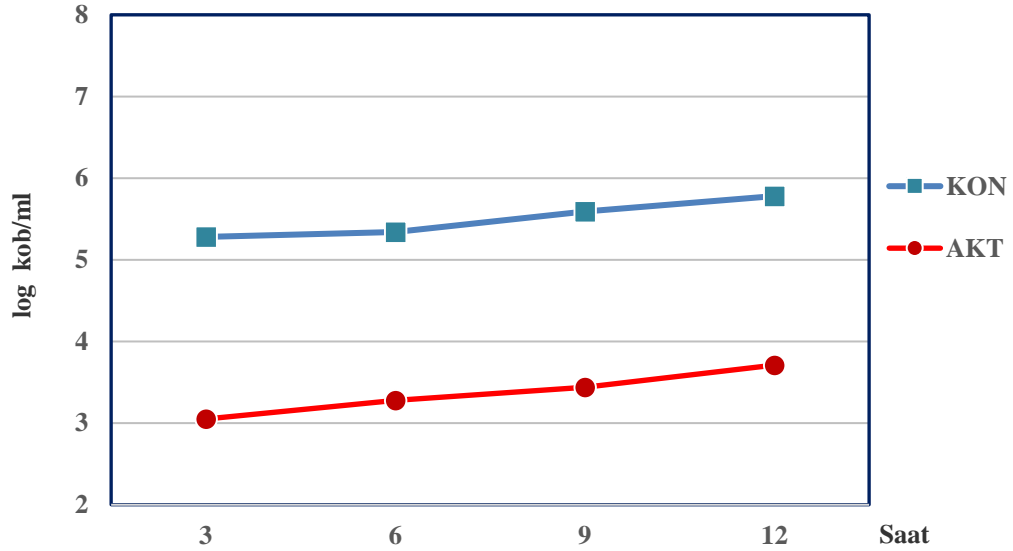
düzeyde artarak ($P<0,05$) 5,78 log kob/ml 'ye ulaşmıştır (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6). Aktive edilmiş olan sütlerde (deney grubu) ise ilk 3 saatte 2,09 log kob/ml azalma gözlenirken, bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). 3. saatten itibaren, muhafaza periyodunun sonuna kadar, deney grubunun psikrotrof bakteri sayısında anlamlı bir artış gözlenmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.6: Soğukta muhafaza sırasında saptanan psikrofil/psikrotrof bakteri sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	5,14±0,13 ^c	5,14±0,13 ^c
3	5,28±0,15 ^{c,x}	3,05±0,24 ^{b,y}
6	5,34±0,12 ^{bc,x}	3,28±0,26 ^{b,y}
9	5,59±0,14 ^{ab,x}	3,44±0,21 ^{ab,y}
12	5,78±0,15 ^{a,x}	3,71±0,26 ^{a,y}

^{abc} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)



Şekil 4.6: Soğuk muhafaza sırasında psikrofil/psikrotrof bakteri sayılarındaki değişimler.

4.7 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki *Pseudomonas* Türlerine Karşı Etkisi

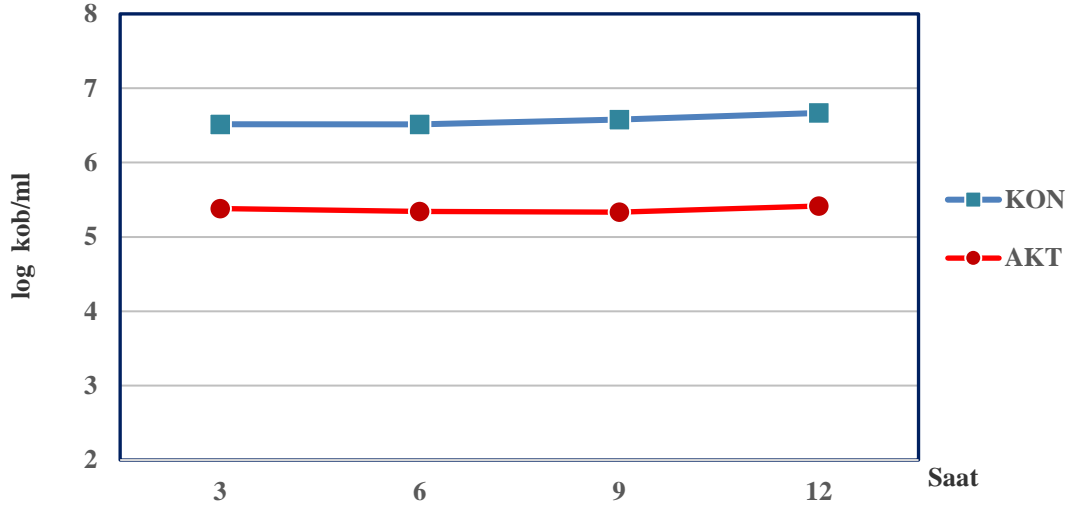
Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7’de, çiğ süt ve LPS aktivasyonu yapılmış çiğ sütte soğuk muhafaza sırasında (4°C) *Pseudomonas* sayısındaki değişimler gösterilmiştir. Kontrol olarak ayrılan çiğ sütte, başlangıç *Pseudomonas* sayısı 6,42 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Muhafaza sonunda ise *Pseudomonas* yükü 6,67 log kob/ml’ye ulaşmıştır ve bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Ancak, LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütte, ilk 3 saatte 1,04 log kob/ml azalma olmuştur. Bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Muhafazanın ilerleyen süresinde görülen değişim ise anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Her iki grupta da muhafaza süresi boyunca anlamlı olmayan bir artış gözlenirse de, aktive edilmiş sütlerdeki artışın daha az olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.7: Soğukta muhafaza sırasında saptanan *Pseudomonas* sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	6,42±0,28 ^a	6,42±0,28 ^b
3	6,47±0,33 ^{a,x}	5,38±0,47 ^{a,y}
6	6,52±0,26 ^{a,x}	5,34±0,30 ^{a,y}
9	6,58±0,30 ^{a,x}	5,33±0,26 ^{a,y}
12	6,67±0,30 ^{a,x}	5,42±0,23 ^{a,y}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)



Şekil 4.7: Soğuk muhafaza sırasında *Pseudomonas* sayılarındaki değişimler.

4.8 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki Enterobacteriaceae Karşı Etkisi

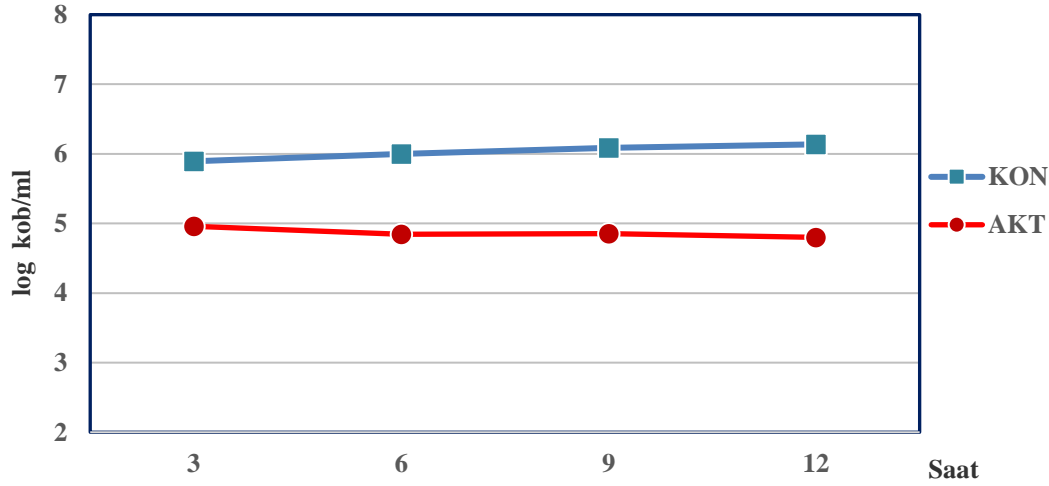
Soğukta muhafaza edilen (4°C) çiğ süt ve LPS aktivasyonu yapılmış çiğ sütün Enterobacteriaceae sayısındaki değişimler Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda, başlangıçta 5,93 log kob/ml olarak belirlenen Enterobacteriaceae sayısı, muhafaza sonunda 0,21 log kob/ml'lik bir artışla 6,14 log kob/ml 'ye ulaşırken bu artış anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Ancak, deney grubunda Enterobacteriaceae sayısı, ilk 3 saatin sonunda 0,97 log kob/ml'lik anlamlı bir azalma göstererek 4,96 log kob/ml olarak bulunmuştur ($P<0,05$). Muhafazanın ilerleyen süresinde ise, Enterobacteriaceae sayısı, kontrol grubunda bir artış gösterirken ($P>0,05$) deney grubunda bir azalma eğilimindedir ($P>0,05$).

Çizelge 4.8: Soğukta muhafaza sırasında saptanan Enterobacteriaceae sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	5,93±0,27 ^a	5,93±0,27 ^b
3	5,89±0,32 ^{a,x}	4,96±0,24 ^{a,y}
6	6,00±0,29 ^{a,x}	4,84±0,23 ^{a,y}
9	6,09±0,28 ^{a,x}	4,86±0,23 ^{a,y}
12	6,14±0,29 ^{a,x}	4,80±0,20 ^{a,y}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.8: Soğuk muhafaza sırasında Enterobacteriaceae sayılarındaki değişimler.

4.9 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki Laktik Asit Bakterilerine Karşı Etkisi

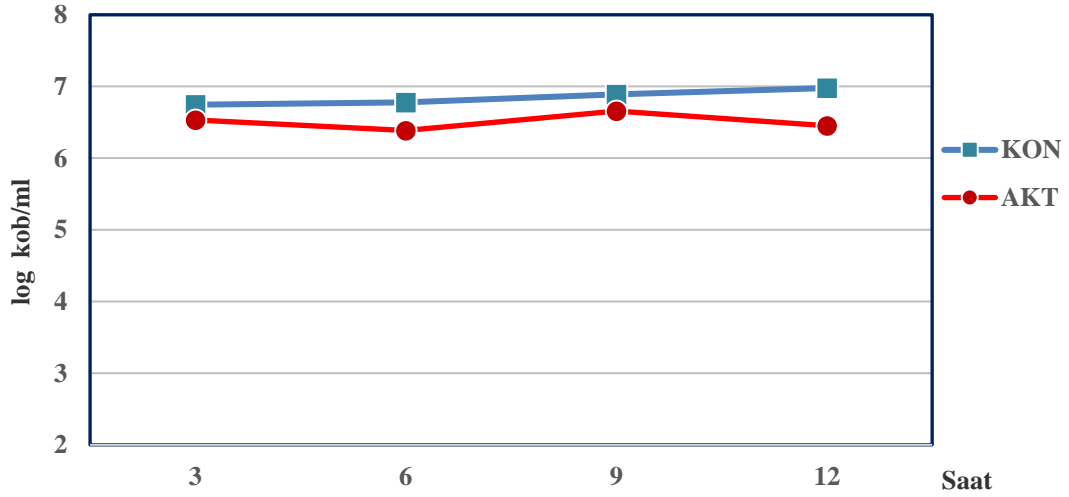
Çiğ süt ve LPS aktivasyonu yapılmış çiğ sütte soğuk muhafaza sırasında (4°C) LAB sayısındaki değişimler Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Çiğ sütte, başlangıçta 6,92 log kob/ml olarak belirlenen LAB sayısı, muhafaza sonunda, kontrol grubunda 6,98 log kob/ml 'ye, deney grubunda ise 6,45 log kob/ml 'ye ulaşmıştır. Her iki grupta da muhafaza süresince gözlenen değişimler anlamlı bulunmamıştır (P>0,05).

Çizelge 4.9: Soğukta muhafaza sırasında saptanan LAB sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	6,92±0,40 ^a	6,92±0,40 ^a
3	6,75±0,23 ^{a,x}	6,53±0,20 ^{a,x}
6	6,78±0,24 ^{a,x}	6,39±0,29 ^{a,x}
9	6,89±0,24 ^{a,x}	6,66±0,17 ^{a,x}
12	6,98±0,32 ^{a,x}	6,45±0,33 ^{a,x}

^a : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^x : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.9: Soğuk muhafaza sırasında LAB sayılarındaki değişimler.

4.10 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki Küflere Karşı Etkisi

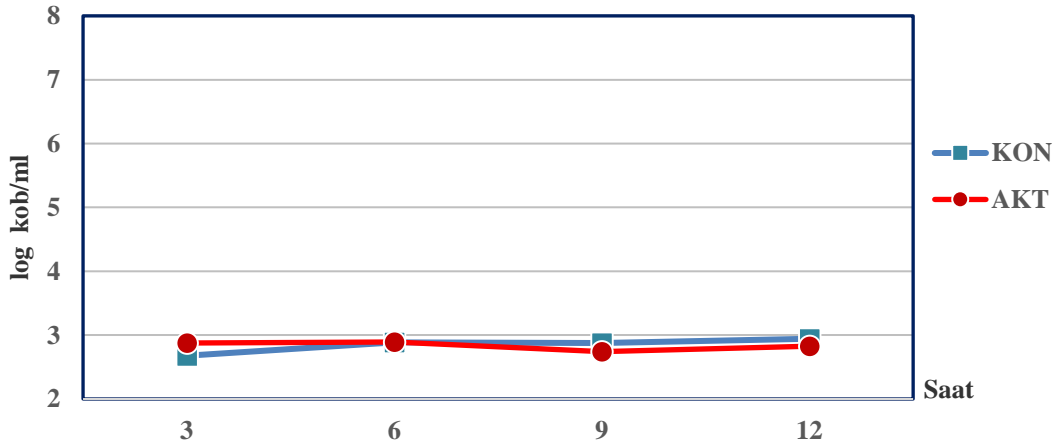
Başlangıç küf sayısı 2,85 log kob/ml olarak belirlenen çiğ süt ile aktivasyonu yapılmış olan çiğ sütün (deney grubu) soğukta (4°C) muhafazası sonunda küf yükü, kontrol grubunda 2,94 log kob/ml'ye deney grubunda ise 2,83 log kob/ml'ye ulaşmıştır (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.10). Her iki grupta da gözlemlenen değişimler istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (P>0,05).

Çizelge 4.10: Soğukta muhafaza sırasında saptanan küf sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	2,85±0,20 ^a	2,85±0,20 ^a
3	2,68±0,33 ^{a,x}	2,88±0,27 ^{a,x}
6	2,88±0,26 ^{a,x}	2,89±0,22 ^{a,x}
9	2,88±0,17 ^{a,x}	2,74±0,26 ^{a,x}
12	2,94±0,24 ^{a,x}	2,83±0,22 ^{a,x}

^a : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^x : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.10: Soğuk muhafaza sırasında küf sayılarındaki değişimler.

4.11 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Sütteki Mayalara Karşı Etkisi

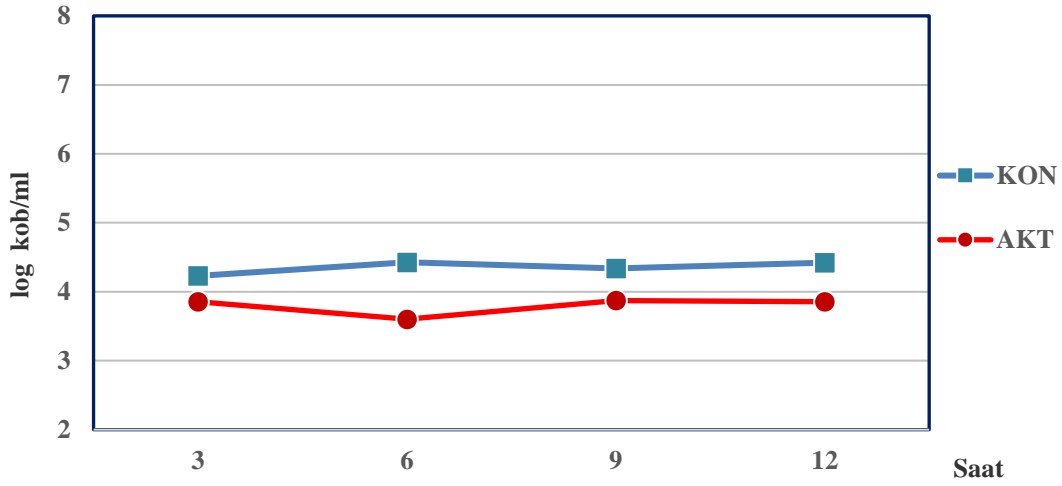
Çiğ sütün başlangıç maya sayısı 4,31 log kob/ml olarak belirlenmiş ve kontrol grubu ile deney grubu soğukta (4°C) muhafaza edilerek muhafaza süresinde maya yüklerindeki değişimler Çizelge 4.11 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Muhafaza sonunda, kontrol grubunun maya sayısı 4,42 log kob/ml 'ye ulaşmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (P>0,05). Deney grubunda ise, ilk 3 saatte 0,45 log kob/ml azalma meydana gelirken maya sayısı, 3,86 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Bu azalma ise istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (P<0,05). Muhafazanın ilerleyen süresinde görülen değişim ise anlamlı değildir (P>0,05).

Çizelge 4.11: Soğukta muhafaza sırasında saptanan maya sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	4,31±0,19 ^a	4,31±0,19 ^b
3	4,23±0,19 ^{a,x}	3,86±0,22 ^{a,x}
6	4,43±0,16 ^{a,x}	3,60±0,20 ^{a,y}
9	4,34±0,22 ^{a,x}	3,87±0,24 ^{a,x}
12	4,42±0,24 ^{a,x}	3,85±0,27 ^{a,x}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.11: Soğuk muhafaza sırasında maya sayılarındaki değişimler.

4.12 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen *P. aeruginosa* Üzerine Etkisi

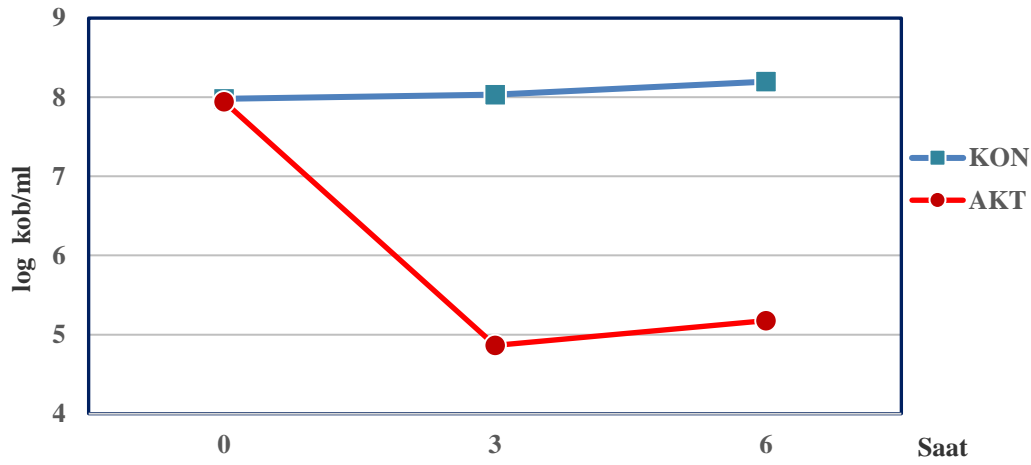
Çiğ süt ve LPS aktivasyonu yapılmış çiğ süte bakteri inokülasyonundan sonra, 25°C'de muhafaza sırasında *P.aeruginosa* sayısındaki değişimler Çizelge 4.12 ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Çiğ sütte, başlangıçta 7,98 log kob/ml olarak belirlenen *P.aeruginosa* sayısı muhafaza sonunda 8,20 log kob/ml 'ye ulaşmıştır. Muhafaza süresince anlamlı değişikliğe rastlanmamıştır (P>0,05). Ancak, LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütte, başlangıçta 7,94 log kob/ml olarak belirlenen *P.aeruginosa* sayısında ilk 3 saatte 3,08 log kob/ml azalma olmuştur. Bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.12: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde saptanan *P. aeruginosa* sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	7,98±0,34 ^{a,x}	7,94±0,33 ^{b,x}
3	8,03±0,33 ^{a,x}	4,86±0,37 ^{a,y}
6	8,20±0,32 ^{a,x}	5,18±0,36 ^{a,y}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.12: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde *P. aeruginosa* sayılarındaki değişimler.

4.13 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen *E. coli* Üzerine Etkisi

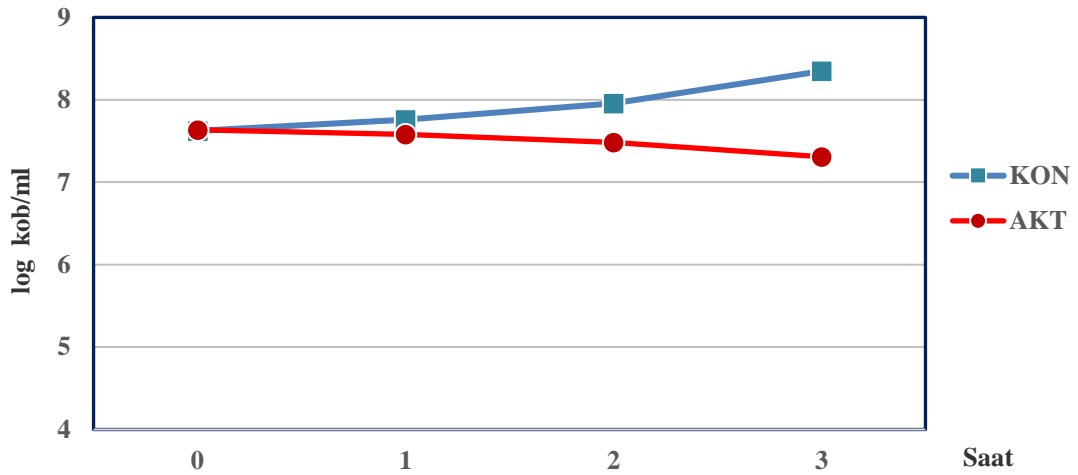
E.coli inokülasyonu yapılmış çiğ sütün ve ve deney grubunun bakteri yükü, 37°C 'de muhafaza süresince gözlenmiştir (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.13). Çiğ sütte, başlangıçta 7,62 log kob/ml olarak belirlenen *E.coli* sayısı muhafaza sonunda anlamlı bir artış göstererek (P<0,05) 8,35 log kob/ml 'ye ulaşmıştır. LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütte muhafaza süresinde oluşan değişiklikler istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da, muhafaza sonunda kontrol ve aktivasyon yapılmış sütün *E.coli* sayısı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05).

Çizelge 4.13: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde saptanan *E. coli* sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	7,62±0,20 ^{b,x}	7,64±0,21 ^{a,x}
1	7,76±0,24 ^{b,x}	7,58±0,25 ^{a,x}
2	7,96±0,30 ^{ab,x}	7,48±0,21 ^{a,x}
3	8,35±0,27 ^{a,x}	7,31±0,25 ^{a,y}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.13: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde *E. coli* sayılarındaki değişimler.

4.14 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen *S. aureus* Üzerine Etkisi

Çiğ süt ve LPS aktivasyonu yapılmış çiğ süte *S.aureus* inokülasyonundan sonra 37°C'de muhafaza sırasında bakteri yükündeki değişimler Çizelge 4.14 ve Şekil 4.14'de gösterilmiştir. Çiğ sütte, başlangıçta 7,15 log kob/ml olarak belirlenen *S.aureus* sayısı muhafaza sonunda 8,16 log kob/ml 'ye ulaşmıştır. Muhafaza süresince belirlenen bu değişiklik istatistiksel açıdan anlamlıdır (P<0,05). LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütte, başlangıçta 7,06 log kob/ml olarak belirlenen *S.aureus* sayısında ilk saatte 0,26 log kob/ml azalma meydana gelse de deney grubunda ilk saatte görülen bu azalma ve muhafazanın ilerleyen süresinde görülen değişim

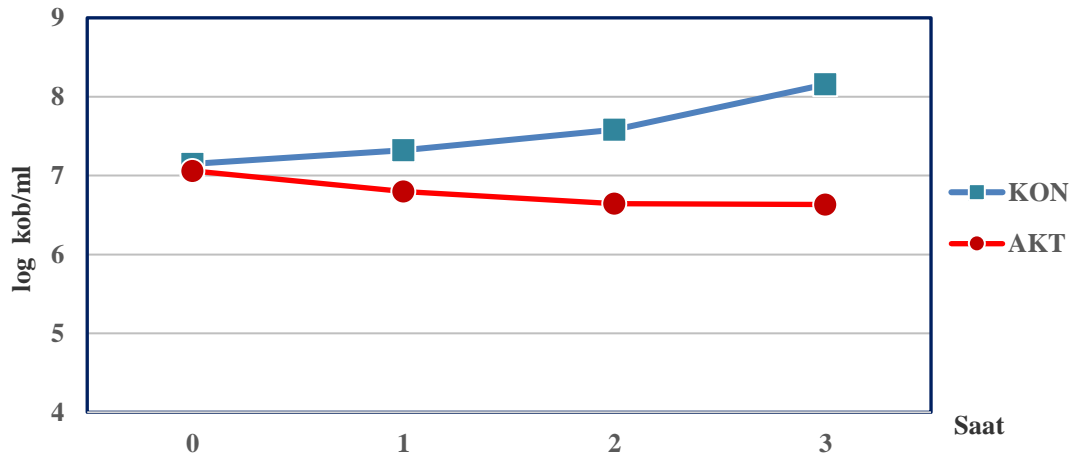
anlamli bulunmamıştır (P>0,05). Muhafaza sonunda ise kontrol ve aktivasyon yapılmış sütün *S.aureus* yükü arasında belirlenen fark anlamlıdır (P<0,05).

Çizelge 4.14: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde saptanan *S. aureus* sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	7,15±0,24 ^{b,x}	7,06±0,25 ^{a,x}
1	7,32±0,24 ^{b,x}	6,80±0,20 ^{a,y}
2	7,58±0,27 ^{b,x}	6,65±0,23 ^{a,y}
3	8,16±0,24 ^{a,x}	6,63±0,20 ^{a,y}

^{ab} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir (P>0,05)



Şekil 4.14: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde *S. aureus* sayılarındaki değişimler.

4.15 Laktoperoksidaz Sistem Aktivasyonunun Süte İnoküle Edilen *St. thermophilus* Üzerine Etkisi

St. thermophilus inoküle edilmiş kontrol grubu ve deney grubu örnekleri 42°C’de muhafaza edilerek, muhafaza periyodu boyunca bakteri sayısındaki değişim gözlenmiştir (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.15). Kontrol grubunda, başlangıçta 6,39 log kob/ml olarak belirlenen *St. thermophilus* sayısı muhafaza sonunda, 1,25 log kob/ml’lik artışla 7,64 log kob/ml’ye ulaşırken bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (P<0,05). LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütlerde, başlangıçta 6,59 log

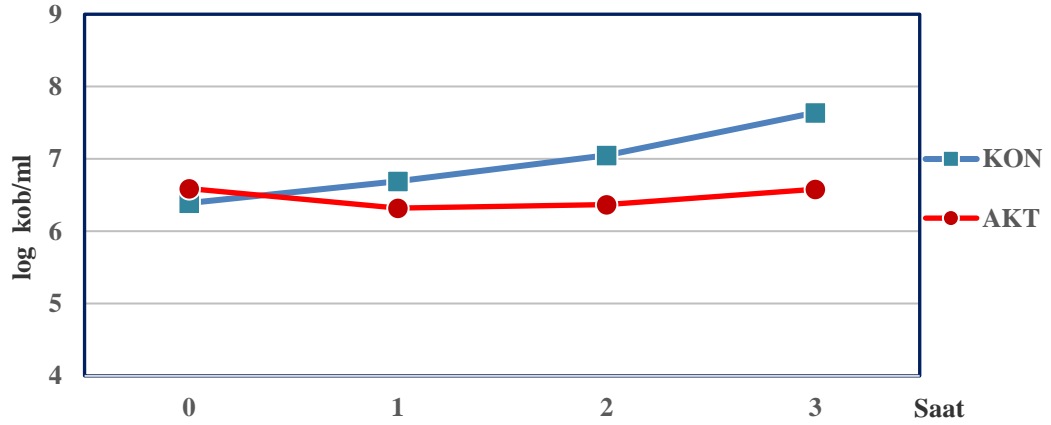
kob/ml olarak belirlenen *St. thermophilus* sayısında muhafaza süresince görülen değişim ise anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Muhafaza sonunda kontrol ve aktivasyon yapılmış sütün *St. thermophilus* sayısı arasında gözlemlenen fark ise anlamlıdır ($P<0,05$).

Çizelge 4.15: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde saptanan *St. thermophilus* sayıları (log kob/ml)

Muhafaza süresi (saat)	KON	AKT
0	6,39±0,27 ^{c,x}	6,59±0,21 ^{a,x}
1	6,69±0,25 ^{bc,x}	6,32±0,28 ^{a,x}
2	7,05±0,23 ^{b,x}	6,37±0,27 ^{a,y}
3	7,64±0,21 ^{a,x}	6,58±0,21 ^{a,y}

^{abc} : Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)

^{xy} : Aynı satırda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlı değildir ($P>0,05$)



Şekil 4.15: Kontrol ve aktive edilmiş sütlerde *St. thermophilus* sayılarındaki değişimler.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ülkemizde süt üretimi daha çok kırsal kesimlerde ve küçük çiftliklerde yapılmaktadır. Üretilen sütün işleme tesislerine ulaştırılması, bazen sağımdan sonra birkaç saat (hatta gün) sürmektedir. Bu süre içerisinde, sütün kalitesinin muhafaza edilmesi için en çok kullanılan yöntem çiğ sütün soğutulmasıdır. Çiğ sütün muhafazasında, sütün soğutulması mikrofloranın değişerek soğukta da gelişebilen psikrofil/psikrotrof bakterilerin baskın hale gelmesine neden olmaktadır (Çaylak Taş ve ark., 2013). Bu nedenle çiğ sütün soğukta muhafazasında, sütün korunması amacıyla doğal bir antimikrobiyel sistem olan LPS kullanılabilir.

Çalışmamızın konusu olan tiyosiyanat, LP sistemin doğal bir bileşimi olup, inek sütündeki miktarı yaklaşık olarak 3 - 5 ppm arasında bulunmaktadır (Dahlberg ve ark., 1984). FAO/WHO (2005)'ya göre normal çiğ sütün doğal tiyosiyanat içeriği 5 ppm civarındadır. Çalışmamızda, piyasadan toplanan pastörize sütlerin ortalama tiyosiyanat içeriği 4,28 ppm, UHT sütlerin 4,34 ppm ve çiftliklerden toplanan çiğ süt örneklerinin ise 4,3 ppm olarak belirlenmiştir. Pokhrel ve Laldas (2012) çiğ inek sütünün tiyosiyanat içeriğini ortalama 3,00 mg/l olarak rapor etmişlerdir. Ponce (2012)'de incelemiş olduğu sütlerde tiyosiyanat miktarını ortalama 8,09 mg/l; Fonteh ve ark. (2002) 8,5 mg/l; Fernandez ve ark. (2005), 8,15 mg/l olarak bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz değerler yukarıdaki araştırmacıların bildirdiği değerlerle uyumludur.

Çiğ sütün tiyosiyanat içeriği birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hayvanın türü, cinsi, laktasyon periyodu, mevsim, beslenme, hayvan sağlığı gibi faktörler sütün tiyosiyanat düzeyini etkilediği düşünülmektedir (Campbell ve ark., 2014; Codex Alimentarius, 2007). Fernandez ve ark. (2005) Küba'da yaptıkları çalışmada sağım süresi, kolostrum ve mastitis gibi etkenlerin tiyosiyanat içeriği üzerine etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, süt karışımının ortalama tiyosiyanat konsantrasyonunu 8,15 ppm bulurken, bu miktarın sağım süresinin sonuna doğru anlamlı bir artış göstererek ortalama 8,7 ppm'e kadar yükseldiğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde çiğ sütün tiyosiyanat miktarının kolostrumda (ağız sütü) 17,4 ppm'e, mastitisli hayvanların sütlerinde ise 20,3 ppm'e kadar yükseldiğini,

laktasyonun ilk ve son günleri, mastitis ve barınak koşulları gibi diğer fizyolojik veya patolojik durumların çiğ sütteki tiyosiyanat konsantrasyonunu etkileyebileceğini bildirmişlerdir.

Sütteki SCN^- miktarı süt hayvanının beslenmesi ile direkt ilişkilidir. Yemlerdeki glukozinolat ve siyanojenik glukozidlerin varlığı SCN^- düzeyini etkilemektedir. Bu maddelerin miktarı da yeşil yemlerde yüksek, suni (kaba) yemlerde düşüktür (Borda ve ark., 2013). Dolayısıyla kışın elde edilen sütlerin tiyosiyanat düzeyi ile bahar ve yaz aylarında elde edilen sütlerin SCN^- içeriğinin farklı olması doğaldır. Çalışmamızda, kış döneminde üretilmiş pastörize sütlerde ortalama tiyosiyanat konsantrasyonu 4,09 ppm iken bahar dönemine ait olanlarda ise 4,57 ppm olarak saptanmıştır. Aynı şekilde kış döneminde toplanan UHT sütlerde ortalama tiyosiyanat konsantrasyonu 3,97 ppm, bahar döneminde 4,59 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Benzer değişim çiğ sütlerde de gözlenmiştir. Kış döneminde elde edilen çiğ sütlerde 3,98 ppm olan ortalama tiyosiyanat konsantrasyonu bahar döneminde 4,59 ppm'e yükselmiştir (Çizelge 4.2). Her üç süt örneğinde de ortalama SCN^- içeriğindeki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Diğer çalışmalarda da benzer bulgular elde edilmiştir. Ponce (2012) yapmış olduğu çalışmada meralarda beslenen hayvanların sütlerinin tiyosiyanat içeriğinin en yüksek değerlere sahip olduğunu bildirmiştir. Pokhrel ve Laldas (2012) süt örneklerinin tiyosiyanat içeriğini 2,8 ile 3,2 arasında bulmuş, düşük tiyosiyanat içeriğini yemde siyanojenik glukozidlerin az olmasına bağlamıştır. Bayhan ve ark. (1995) üç farklı çiftlikteki hayvanların sütlerindeki tiyosiyanat konsantrasyonunu üç aylık dönemde (Mart, Nisan, Mayıs) araştırmışlardır. Bu dönemlerde meraya salınan ve yeşil yemle beslenen hayvanların sütlerinin tiyosiyanat içerikleri daha yüksek bulunmuştur. Özellikle Oysun (1989)'un yaptığı çalışmada tiyosiyanat içeriği 1,24 – 62,49 ppm aralığında bulunmuş ve bu farklılık hayvanların beslenmesine bağlanmıştır.

Pastörizasyon, sütte bulunan patojen mikroorganizma yükünü hastalık yapıcı seviyenin altına indirmek için uygulanan bir ısı işlemidir. Pastörizasyon, yöntemine göre 63°C'de 30 dakika (kesikli pastörizasyon) ve 72°C'de 15 saniye (sürekli pastörizasyon) olarak uygulanmaktadır (Codex Alimentarius, 2007). Isıl işlem, sütün fonksiyonel ve besleyici özelliklerini etkilediği gibi, süt bileşiminde de değişikliklere sebep olabilmektedir (Dumitraşcu ve ark., 2012). Uygulanan ısı işleminin çiğ sütün

SCN⁻ içeriği üzerine etkisini araştırmak için çiğ sütler farklı sıcaklık (60°C, 70°C, 80°C ve 90°C) ve sürelerde (1, 5, 10, 15, 20 ve 30 dakika) ısıl işleme tabi tutulmuş ve ardından SCN⁻ miktarları ölçülmüştür. Ancak, 90°C hariç SCN⁻ miktarlarında bir azalma saptanmamıştır (izelge 4.3). Benzer şekilde Van Nieuwenhove ve ark. (2004)'da yaptığı çalışmada 65°C de 30 dakika ve 72°C de 15 saniye ısıl işlem uygulamalarının SCN⁻ miktarında herhangi bir değişme göstermediğini vurgulamışlardır. Çalışmamızda 90°C'de 20 ve 30 dakika süreyle ısıl işleme tabi tutulan çiğ sütte SCN⁻ miktarında artış kaydedilmiştir. Bu artış, süt içindeki suyun yüksek sıcaklık ve artan sreye bağlı olarak buharlaşması ve dolayısıyla SCN⁻ konsantrasyonunun artması ile ilişkilendirilmiştir.

Sütte bulunan antibakteriyel LP sistemi oluşturan bileşenler laktoperoksidaz enzimi, tiyosiyanat iyonu ve hidrojen peroksittir ve bu üç bileşenin yeterli miktarlarda mevcut olduğu sürece aktiftir (Campbell ve ark., 2012). Çalışmamızda, soğukta (4°C), 36 saat muhafaza sırasında çiğ sütün tiyosiyanat içeriğinde %1,5'lik, 20 ppm SCN⁻ ilave edilmiş çiğ sütün tiyosiyanat içeriğinde ise %0,3'lk anlamlı olmayan bir azalma gözlenmiştir (izelge 4.4). Sütte mevcut olan tiyosiyanat miktarı LPS aktive olduğunda azalmaktadır. Soğuk depolama (4°C) sırasında çiğ sütün tiyosiyanat miktarında bir değişiklik gzlenmemesini, LP sistemin bileşenlerinden biri olan hidrojen peroksitin çiğ sütte doğal olarak bulunmamasına ve sistemin aktif olmamasına bağlamak mümkündür.

LPS süt mikroflorasında bulunan birçok psikrofil/psikrotrof ve mezofilik bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahiptir. Mezofil ve aerob koşullarda gelişen, saprofit veya patojen olabilen bakteriler, süt ve süt ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi için en önemli göstergelerdendir (Kesenkaş ve Akbulut, 2010). Çalışmamız, 4°C'de soğuk koşullarda muhafaza edilen, LPS aktive edilmiş çiğ sütte, 3 saat sonunda toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında bir değişiklik olduğunu göstermiştir (izelge 4.5). Başlangıç toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 7,10 log kob/ml iken, 3. saat sonunda bakteri sayısında 0,50 log kob/ml azalma gözlenmiş ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Muhafazanın geri kalan süresinde (12 saat) bakteri sayısında anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Kontrol grubunda ise (aktive edilmemiş) 12 saatlik soğukta muhafaza sırasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Elde edilen bulgular, LP sistemin çiğ sütün toplam mezofilik

aerobik bakteri sayısını azalttığını ve dolayısıyla çiğ sütün kalitesini arttırdığını göstermektedir.

Yapılan diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiş, LPS aktivasyonunun çiğ sütlerdeki toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını önemli derecede düşürdüğü rapor edilmiştir (Erginkaya ve ark., 2001; Abdallah, 2005; Musa ve Hamid, 2013). Erginkaya ve ark. (2001), başlangıç toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı $3,45 \times 10^6$ kob/ml olan çiğ sütü soğukta muhafaza etmiş ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) ve 6 saat sonunda $6,50 \times 10^6$ kob/ml'ye ulaştığını belirlemişlerdir. Aynı süte, sırasıyla 12:8 ppm ve 24:16 ppm $\text{SCN}^-:\text{H}_2\text{O}_2$ ilavesiyle LP sistemi aktive etmişler ve 30°C 'de muhafazaya bırakmışlardır. Bu sütlerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 6 saat sonunda azalmış ve sırasıyla $1,91 \times 10^6$ kob/ml ve $1,66 \times 10^6$ kob/ml olarak bulunmuştur. LPS aktivasyonunun çiğ sütte mevcut toplam mezofilik aerobik bakteri üzerine anlamlı bir etki gösterdiğini ve ilave edilen $\text{SCN}^-:\text{H}_2\text{O}_2$ miktarı arttıkça bu etkinin artacağını rapor etmişlerdir. Abdallah (2005), başlangıç toplam bakteri sayısı $2,5 \times 10^5$ kob/ml olan çiğ sütte LP sistemi, SCN^- kaynağı olarak 17 ppm potasyum tiyosiyanat ve H_2O_2 kaynağı olarak 34 ppm sodyum perkarbonat ilavesiyle aktive etmiştir. 30°C 'de muhafaza edilen aktive edilmiş çiğ sütün toplam bakteri sayısı 10. saate 4×10^6 kob/ml'ye ulaşırken, kontrol grubu olarak ayrılan çiğ sütün toplam bakteri sayısı bu seviyeyi henüz 4. saate geçmiştir. LPS aktivasyonunun sütün raf ömründe yaklaşık 6 saatlik bir uzama sağladığını bildirmiştir. Pokhrel ve Laldas (2012), LPS aktive edilerek normal oda sıcaklığında (25°C) muhafaza edilen çiğ sütün raf ömrünü 18 saat olarak belirtirken, kontrol sütlerinde 12 saat olarak bildirmişler, LP sistemin mezofilik bakterilere karşı etkili olduğunu ve sütün raf ömrünü uzatacağını rapor etmişlerdir. Magdoub ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışmada, LP sistem değişik miktarlarda (14:30, 15:10 ve 20:25 ppm) sodyum tiyosiyanat ve sodyum perkarbonat ilavesiyle aktive edilmiş ve ortam sıcaklığında 24 saat bekletilen örneklere yapılan mikrobiyolojik analiz sonunda bütün aktive edilmiş gruplarda toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında %26 ve %45 arasında azalma olduğu bildirilmiştir. Asaah ve ark. (2007), 10 ppm tiyosiyanat ve 8,5 ppm hidrojen peroksit ilavesiyle LPS aktivasyonu yapılmış sütlerin, soğutma olmadan ertesi günün kullanımı için iyi durumda kalabileceğini gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada, 14 ppm sodyum tiyosiyanat ve 10 ppm hidrojen peroksit kullanılarak sistem aktive edilmiş ve deney grubu ve kontrol olarak ayrılan örnekler ortam sıcaklığında ($22-23^\circ\text{C}$)

muhafaza edilmiştir. Yedi saatlik muhafazanın sonunda aktive edilen sütlerde, toplam bakteri sayısı başlangıç bakteri sayısına göre 0,23 log kob/ml azalırken, kontrol grubunda aynı sürede 0,84 log kob/ml artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, LPS aktivasyonunun, ortam sıcaklığında saklanan sütlerde, mikroflorayı baskılayarak, kaliteyi en az 7 saat boyunca muhafaza edebileceği rapor edilmiştir (Nigussie ve Seifu, 2007). Ndambi ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışmada ise, 10 ppm tiyosiyanat ve 8,5 ppm hidrojen peroksit ile LP sistemi aktive edilmiş ve ortam sıcaklığında (22 - 25°C) bekletilmiş sütlerin raf ömrünün, aynı şartlarda muhafaza edilen kontrol grubu sütleri göre 7,1 saat daha uzun olduğu tespit edilmiştir. Ortam sıcaklığında muhafaza edilen aktive edilmiş sütlerin mikrobiyel yükünün, 8 saatlik muhafaza sonunda 1 log kob/ml'den daha fazla azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre, aktive edilmiş sütlerin, soğutma olmadan ertesi günün kullanımı için iyi durumda kalabileceğini gösterdiği bildirilmiştir.

Çiğ süt ve süt ürünlerinin soğuk havada depolanması süt endüstrisi için bir ön koşuldur. Çiftliklerde ve işleme tesislerinde yapılan bu uygulama, mezofilik mikroorganizmalar tarafından meydana gelen bozulmayı azaltmasına rağmen, çiğ sütün psikrofil/psikrotrof mikroorganizmalar tarafından bozulmasını engellemez (Correa ve ark., 2011). Çalışmamızda, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişime benzer durum psikrofil/psikrotrof bakteri sayısı için de gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Kontrol grubunda, ilk üç saat içinde anlamlı bir değişim gözlenmezken; LPS aktivasyonu yapılmış sütlerde, psikrofil/psikrotrof bakteri sayısı 2 log kob/ml kadar azalmıştır. Muhafazanın 6. ve 9. saatlerinde aynı düzeyde kalan psikrotrof bakteri sayısı 12. saatte yükselme eğilimi göstermiştir. Bulgulara göre, LPS aktivasyonu ilk üç saat içinde etkin olmuş ve bu etki 12 saate kadar sürmüştür. Ben Moussa ve ark. (2013), LPS aktivasyonunun psikrotrof bakterilere karşı oldukça etkili olduğunu, bu yöntemle soğukta saklanan sütlerin raf ömrünün birkaç gün uzayacağını bildirmişlerdir. Diğer araştırmacılar tarafından da LP sistemin özellikle psikrotrof bakteriler üzerine etkili olduğu rapor edilmiştir (Metin, 1998; Ayhan, 2000; Kırdar, 2006).

Saad ve ark. (2013), başlangıç bakteri yükü $5,94 \times 10^7$ log kob/ml olan çiğ sütü, LPS aktivasyonu yaptıktan sonra 7°C'de muhafaza etmişlerdir. 6 saat sonunda aktive edilmiş sütlerin psikrotrof bakteri sayısı $3,54 \times 10^7$ log kob/ml olarak belirlenirken aynı koşullarda ve sürede muhafaza edilmiş olan kontrol sütlerinin psikrotrof sayısı

1,36x10⁸ log kob/ml olarak bildirilmiş ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur. Abdallah (2005)'in yapmış olduğu çalışmada, başlangıç psikrotrof bakteri yükü 5,5x10³/ml olan sütler, kontrol ve aktive edilmiş (deney grubu) olarak 2'ye ayrılarak 5°C'de muhafaza edilmiştir. Deney grubunun psikrotrof bakteri sayısı 7. günde 2,6x10⁶/ml'ye ulaşırken, kontrol grubunun psikrotrof bakteri sayısı bu rakamlara (1,3x10⁶/ml) muhafazanın 2. gününde ulaşmıştır. Bir başka çalışmada, dolap sıcaklığında (5°C) muhafaza edilen örneklerde kontrol ve deney grubu sütlerin raf ömrü sırasıyla 4 ve 6 gün bulunmuş ve LPS aktivasyonunun, soğukta muhafaza edilen çiğ sütün raf ömrünü 2 güne kadar uzatabileceği rapor edilmiştir (Pokhrel ve Laldas, 2012). Aynı şekilde Asaah ve ark. (2007) da LPS aktivasyonunun dolap sıcaklığında muhafaza edilen sütün raf ömrünü 46,2 saat arttırdığını bildirmişlerdir. Musa ve Hamid (2013), dolap sıcaklığında (4°C) çiğ inek sütünün kalitesini arttırmak için yaptıkları çalışmada, LP sisteminin aktivasyonu için farklı düzeylerde (12, 16, 20 ve 20, 30, 40 mg/l) sodyum tiyosiyanat (tiyosiyanat kaynağı olarak) ve sodyum perkarbonat (hidrojen peroksit kaynağı olarak) kullanmışlardır. Çalışmada, LPS aktivasyonu için en etkili sodyum tiyosiyanat ve perkarbonat konsantrasyonlarının 16:20 ppm ve 30:40 ppm olduğu bildirilmiş ve bu seviyelerde aktive edilen sütlerin dolap sıcaklıklarında (4°C) en az 7 gün boyunca taze kalırken, aynı koşullar altında işlenmemiş süt örneklerinin raf ömrünün sadece 4 gün olarak bulunduğu rapor edilmiştir. Björck (1978) LP sistemin sütün bakteri florasında önemli bir azalmaya sebep olduğunu, özellikle psikrotrofik bakterilerin üremesini 5 gün engellediğini, bunun yanı sıra, uygulanan yöntemin, sütün kimyasal özellikleri üzerinde herhangi bir etkiye neden olmadığını rapor etmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara benzer şekilde, LP sisteminin psikrotrofik bakterilere karşı hem bakterisid, hem de bakteriyostatik etki gösterdiğini, LPS aktivasyonunun özellikle psikrotrof mikroflorayı baskılayarak çiğ sütün raf ömrünü uzatabileceğini açıkça ortaya koymaktadır.

Süt mikroflorasının önemli bakterilerinden olan *Pseudomonas* türleri, çiğ veya pastörize sütte bulunan en yaygın bozulma yapıcı psikrofil mikroorganizmalar olarak bilinmektedir. Bu bakterilerin en önemli özellikleri buzdolabı koşullarında gelişmelerine devam edebilmeleridir (Ledenbach ve Marshall, 2009). LP sistemin sütte mevcut *Pseudomonas* türleri üzerine etkisi incelendiğinde, çiğ sütlerde başlangıç *Pseudomonas* sayısı ortalama 6,42 log kob/ml olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunun *Pseudomonas* sayısının soğuk muhafaza sırasında (4°C) kısmi bir artış göstererek, 12. saatte 6,67 log kob/ml 'ye ulaştığı görülmüştür. Deney grubunda ise, LPS aktivasyonu ilk üç saat içinde sütlerdeki *Pseudomonas* sayısında 1,04 log kob/ml'lik anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Muhafazanın ilerleyen saatlerinde ise artışa izin vermemiştir (Çizelge 4.7). Sonuçlar, LP sistemin *Pseudomonas* bakterileri üzerine bakterisid ve bakteristatik etkisi olduğunu göstermiştir. Nitekim, Björck ve ark. (1975)'da yapmış oldukları çalışmada LP sistemin çiğ sütteki *Pseudomonas* türlerine karşı bakterisid etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Zapico ve ark. (1995)'da çalışmamızdakine benzer şekilde, LPS aktivasyonundan sonra çiğ keçi sütlerinin *Pseudomonas* sayısında, ilk 24 saat içinde, 1,69 log kob/ml'lik azalma tespit etmişlerdir. Saad (2008) tarafından yapılan çalışmada, çiğ sütün LP sistemi 14 mg/l sodyum tiyosiyanat (tiyosiyanat kaynağı olarak) ve 30 mg/l sodyum bikarbonat (hidrojen peroksit kaynağı olarak) ile aktive edilmiştir. Kontrol grubunun *Pseudomonas* sayısında, ortam sıcaklığında 8 saatlik muhafaza sonunda 2,67 log kob/ml'lik bir artış gözlenirken aynı koşullarda aktive edilmiş sütlerdeki artış 1,50 log kob/ml olarak bulunmuştur. Muhafaza sonunda kontrol grubu ile deney grubunun *Pseudomonas* sayıları arasında anlamlı bir fark bulunsa da, aktivasyon işleminden 2 saat sonra yapılan sayımda, deney grubunun *Pseudomonas* sayısında herhangi bir azalma olmadığı bildirilmiştir. Araştırmacıya göre, bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, LPS *Pseudomonas* türleri üzerine sadece büyümeyi engeleyici (bakteriyostatik) bir etki göstermiştir.

Enterobacteriaceae, gram negatif, spor oluşturmeyen bakteri ailesidir ve insanoğlunun bildiği en önemli bakterileri gruplarından biridir (Baylis ve ark., 2011). İçerisinde patojen türlerin de bulunduğu bu familyanın bazı üyeleri hijyen indikatörü olarak da bilinmektedir. Laktozu fermente ederek asit ve gaz oluşturdıklarından ve süt proteinlerini bozduklarından sütün hızlı bozulmasına neden olabilmektedir (Lu ve ark., 2013). Yaptığımız çalışmada, başlangıçta 5,93 log kob/ml olarak belirlenen Enterobacteriaceae sayısında, kontrol grubunda soğuk muhafaza sırasında anlamlı bir artış görülmemiştir. Buna karşın, LPS aktivasyonu yapılan çiğ sütün Enterobacteriaceae sayısında ilk üç saatte 0,97 log kob/ml'lik anlamlı bir azalma saptanmıştır (Çizelge 4.8). Daha sonraki muhafaza periyodu boyunca anlamlı bir değişim görülmemiştir. Kontrol grubunda da anlamlı bir değişim gözlenmemesi soğuk muhafazanın bu bakteri grubu üzerine etkisinden kaynaklanmıştır. Erginkaya

ve ark. (2001) sırasıyla 12:8 ve 24:16 ppm tiyosiyanat: hidrojen peroksit ilavesiyle aktive edilen LP sistemin sütlerdeki Enterobacteriaceae üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında, çiğ sütün başlangıç Enterobacteriaceae sayısını $2,33 \times 10^4$ kob/ml olarak belirlemişlerdir. Kontrol grubu olarak ayrılan ve dolap sıcaklığında (4°C) muhafaza edilen sütlerin Enterobacteriaceae yükü, 6 saatlik muhafaza sonunda $3,28 \times 10^4$ kob/ml ye ulaşmıştır. Aynı süre içerisinde aktive edilen sütlerin Enterobacteriaceae yükü ise, 12:8 ppm $\text{SCN}^-:\text{H}_2\text{O}_2$ ile aktive edilen sütlerde $8,30 \times 10^3$ kob/ml'ye, 24:16 ppm $\text{SCN}^-:\text{H}_2\text{O}_2$ ile aktive edilen sütlerde ise $7,50 \times 10^3$ kob/ml'ye düşmüştür. Sonuç olarak, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde, soğutmanın bakteri gelişmeyi inhibe ettiğini, LPS aktivasyonunun ise Enterobacteriaceae üzerinde bakterisid etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir.

İçerisinde patojen türlerin de bulunduğu Enterobacteriaceae familyasının önemli bir grubunu koliformlar oluşturmaktadır (El-Ziney ve Al-Turki, 2007). Hijyen indikatörü olarak da bilinen koliformlar, laktozu fermente ederek asit ve gaz oluşturduğundan ve süt proteinlerini bozduğundan sütün hızlı bozulmasına neden olabilmektedir (Lu ve ark., 2013). Nigussie ve Seifu (2007), LPS aktivasyonunun inek sütünün mikrobiyel kalitesi üzerine etkisi araştırmışlardır. 14 ppm sodyum tiyosiyanat, 10 ppm hidrojen peroksit kullanılarak sistem aktive edilmiş ve ortam sıcaklığında ($22-23^{\circ}\text{C}$) muhafaza edilmiştir. 7 saatlik muhafazanın sonunda aktive edilen sütlerin koliform sayısı 0,57 log kob/ml azalmış ve kontrol grubunun koliform sayısı deney grubundan 1,73 log kob/ml daha yüksek bulunmuştur. Saad ve ark. (2013), 14 ppm sodyum tiyosiyanat ve 30 ppm sodyum perkarbonat ile aktive edilen ve buzdolabı sıcaklığında (7°C) muhafaza edilen koyun sütünde, kontrol grubu ile deney grubunun koliform sayısını karşılaştırmışlardır. LPS sistem aktivasyonunun ilk yapıldığı anda koliform yükünde anlamlı değişiklik görülmezken, 6 saatlik muhafaza sonunda kontrol grubunun koliform yükü 1.07×10^6 kob/ml, deney grubunun koliform yükü ise 3.94×10^5 olarak belirlenmiş ve aradaki farkın anlamlı olduğu rapor edilmiştir. Magdoub ve ark. (2007), LP sistemin, sırasıyla 14:30 ve 15:10 ppm sodyum tiyosiyanat ve sodyum perkarbonat ilavesiyle aktive edilmiş keçi sütündeki koliform bakteri üzerine etkisini araştırmışlardır. Kontrol ve deney grupları oda sıcaklığında ($18-24^{\circ}\text{C}$) muhafaza edilerek 24 saat sonunda analize alınmıştır. Analiz sonucunda, kontrol grubunun koliform bakteri sayısında %31'lik bir artış gözlenirken, aktive edilmiş sütlerde sırasıyla %41 ve %24'lük anlamlı bir azalma

belirlenmiştir. 48. saatte yapılan kontrolde ise, muhtemelen LP sistem aktivitesinin sona ermesinden dolayı, aktive edilmiş örneklerdeki bakteri sayılarının artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. El Zubeir (2010), LPS aktive etmiş olduğu sütleri oda sıcaklığında (25°C) ve dolap sıcaklığında (8°C) muhafaza etmiş ve muhafazanın 4. saatinde analize almıştır. Her iki sıcaklıkta muhafaza edilmiş olan aktive edilmiş sütlerin koliform yükü arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (sırasıyla $2,32 \times 10^9$ kob/ml, $1,40 \times 10^9$ kob/ml). Diğer yandan, aynı şartlarda muhafaza edilen kontrol grubu örneklerinin koliform yükü arasındaki farkın ise anlamlı olduğu belirtilmiştir (sırasıyla $4,23 \times 10^9$ kob/ml, $1,29 \times 10^9$ kob/ml). Bulguların, soğutma imkanının bulunmadığı bölgelerde süt korunması için LP sistemin önemli bir metod olduğunu desteklediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen bulgular yapılan bu çalışmalardan elde edilen bulgularla uyumludur.

LAB bir çok fermente süt ürünlerinde arzu edilen karakteristiklerin oluşmasında önemli rol oynamakla birlikte, çiğ sütlerde ve bazı süt ürünlerinde bozulmalara da neden olabilmektedir (Florou-Paneri ve ark., 2013). Çalışmamızda, çiğ sütlerin başlangıç LAB yükü 6,92 log kob/ml olarak belirlenmiştir. 12 saatlik muhafaza sonunda kontrol grubunun bakteri yükü %0,8'lik bir artış gösterirken (6,98 log kob/ml), aktive grubunun bakteri yükü ise %7'lik bir azalma göstermiştir (6,45 log kob/ml). Muhafaza sonunda elde edilen bulgular arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.9). Odabaşı ve ark. (1999) ise beyaz peynirlerde yaptıkları çalışmalarında, LP sisteminin laktik asit bakterilerinin gelişimini yavaşlattığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Ndambi ve ark. (2008), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, inkübasyon sırasında LPS aktivasyonunun yoğurttaki laktik asit oluşumunu %12,50 oranında azalttığını rapor etmiştir. Bu sonuçlar, LP sisteminin LAB üzerinde bakteriyostatik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Hatta, Kamau ve ark. (2010)'na göre sistemin bu etkisi, süte ilave edilen NaSCN ve H₂O₂ miktarı arttıkça çoğalmaktadır. Bizim çalışmamızda muhafaza süresinin kısa olması nedeniyle LP sisteminin bu bakteriler üzerine gelişmeyi yavaşlatıcı etkisini gözlemlemek mümkün olmamıştır.

Mayalar laktik ürünlerin mikroflorasının önemli bir bileşenidir ve çoğalmaları için uygun ortam sağlayan düşük pH değerinin bulunduğu yoğurt ve fermente sütlerin bozulmasında önemli bir nedendir (Ledenbach ve Marshall, 2009). Küfler ise peynir ve diğer süt ürünlerinin üretimi için kullanılan sütte önemlidir. Küflerin yabancı

türlerinin varlığı, peynirin duyuşal özelliklerini etkileyebildiği, mikotoksinler üretip olası sağlık riski teşkil etmeleri nedeniyle, istenmeyen bir durumdur (Godic Torkar ve Golc Teger, 2008). Yaptığımız çalışmada, soğuk muhafaza sırasında, başlangıçta ortalama 4,31 log kob/ml olarak belirlenen maya sayısı kontrol grubunda muhafaza boyunca anlamlı bir değişikliğe uğramazken, LPS aktivasyonu yapılan sütlerde ilk üç saatte 0,45 log kob/ml'lik anlamlı bir azalma ile 3,86 log kob/ml olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11). Çalışmamıza benzer şekilde, Atamer ve ark. (1997)'nin yapmış olduğu çalışmada, sistemin maya gelişimine karşı engelleyici etkisi olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda, başlangıç küf yükü 2,85 log kob/ml olarak belirlenen çiğ sütlerde, kontrol grubunda 2,94 log kob/ml, aktive edilmiş sütlerde ise 2,83 log kob/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.10). Elde edilen bulgulara göre, LPS aktivasyonunun çiğ sütün küf sayısına anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır. Çiğ koyun sütü ile yapılan bir çalışmada, 7°C'de 6 saat muhafaza edilen örneklerde, aktive edilmiş numunelerin küf ve maya yükü, kontrol örneklerine göre 0,71 log kob/ml daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Saad ve ark., 2013). Sonuçlar, bizim çalışmamızdan farklı olarak, LPS aktivasyonunun sütte mevcut olan küfler üzerine de etkili olduğunu göstermektedir.

İnsan sağlığına zararlı patojen mikroorganizmalar arasında yer alan ve sütün soğukta saklanması sırasında bozulmaya sebep olan en genel mikroorganizma olan *P. aeruginosa*, aynı zamanda meme içi enfeksiyon salgınlarına (mastitis) neden olabilmektedir (Dinsmore ve ark., 2001). Çalışmamızda, çiğ süte bakteri inokülasyonundan sonra, 25°C 'de muhafazasında, ilk 3 saatte LPS aktive edilen sütlerde 3,08 log kob/ml azalma olmuştur. Aynı sıcaklık ve sürede kontrol grubunda ise 0,05 log kob/ml'lik bir artış gözlenmiştir (Çizelge 4.12). Marks ve ark. (2001), 72°C'de pastörize edilen süte *P. aeruginosa* inoküle ederek yaptıkları çalışmada, LPS aktivasyonunun bakteri sayısını önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir. Çiğ keçi sütü ile yapılan bir başka çalışmada ise, LP sistem aktivasyonundan 24 saat sonra *Pseudomonas fluorescens* sayısında, 4°C'de 1,69 log kob/ml, 8°C de ise 1,85 log kob/ml bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Zapico ve ark., 1995). Bosch ve ark. (2000), çiğ süte 10⁶kob/ml düzeyinde inoküle edilen *P. aeruginosa* üzerine aktivasyondan sonra 2 saat içerisinde öldürücü etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların çalışmalarının sonuçlarına

benzer şekilde, çiğ sütte LP sistemin *P. aeruginosa* üzerine güçlü bir bakterisid etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

E. coli, laktozu fermente ederek asit ve gaz oluşturan ve süt proteinlerini bozarak sütün hızlı bozulmasına neden olabilen koliformların en önemli üyeleri arasındadır (Lu ve ark., 2013). Ayrıca, *E. coli* mastitise de neden olabilir ve hastalıklı ineklerin sütünde bulunabilir (Diler ve Baran, 2014). Yaptığımız çalışmada, kontrol grubunun *E. coli* sayısı muhafaza periyodu boyunca 0,73 log kob/ml artış gösterirken, deney grubunda anlamlı bir artış gözlenmemiştir (Çizelge 4.13). Muhafaza sonunda kontrol grubunun *E. coli* sayısı deney grubuna göre 1,04 log kob/ml daha fazla bulunmuştur. Bu anlamlı fark, LPS aktivasyonunun *E. coli* üzerine bakteriyostatik etkisi olduğunu göstermektedir. Seifu ve ark., (2004a) yaptığı çalışmada, çiğ keçi sütü örneklerine *E. coli* O157:H7 inokule ederek LPS aktivasyonunun bakteri üzerine etkisini araştırmıştır. LPS 14 ppm sodyum tiyosiyanat ve 30 ppm sodyum perkarbonat ile aktive edilmiştir. Aktive ve kontrol grubuna bakteri inoküle edilmiş ve 30°C'de 6 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda yapılan analizde aktive edilmiş süt örneklerinin *E. coli* yükü kontrol grubundan %46 daha düşük bulunmuştur. Sonuçta, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, kontrol grubunda bakteri miktarında hızlı bir artış gözlenirken, deney grubunda aynı hızda artış görülmemiştir. Aynı şekilde, Zapico ve ark. (1995), *E. coli* sayısının aktive edilmiş olan sütlerde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bazı araştırmacılar ise, bizim çalışmamızdan farklı olarak, sistemin *E. coli* sayısında bir azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir (Björck ve ark., 1975; Bosch ve ark., 2000). Dajanta ve ark., (2008)'in yaptığı çalışmada LPS aktivasyonu süte inoküle edilen *E. coli* sayısında %78'lik bir azalma belirlemişken, Kangumba ve ark. (1997) aktivasyon sonrası bakteri sayısında yaklaşık 2 log kob/ml bir azalma bildirmiştir. Armenteros ve ark. (2007) yaptığı çalışmada, *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş sütlerde LPS aktivasyonunun bu bakteri üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmalarında sistemin belirtilen bakteri üzerine bakterisid etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bunun kullanılan bakteri suşundan kaynaklanmış olabileceğini rapor etmişlerdir.

Yetersiz hijyen koşulları altında süt ve süt ürünlerine bulaşarak bozulmalarına neden olabilen *S. aureus* (Kesenkaş ve Akbulut, 2010), gastroenteritin en yaygın nedenlerinden birinden sorumlu enterotoksin üretme kapasitesine sahiptir (Arques ve

ark., 2008). Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, başlangıç *S.aureus* yükü 7,06 log kob/ml olan aktive edilmiş grubun 3 saatlik muhafaza sonunda bakteri miktarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Kontrol grubunda ise muhafaza boyunca bakteri miktarı 1,01 log kob/ml kadar anlamlı bir şekilde artmış, muhafaza sonunda kontrol grubunun *S. aureus* yükünün deney grubundan 1,53 log kob/ml daha fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.14). Bu durum, LP sistemin *S.aureus* üzerine bakteriyostatik etkisinden kaynaklanmaktadır. Yapılan diğer çalışmalarda da, bizim çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşen şekilde, sistemin *S.aureus*'u öldürmediği, sadece gelişmesini yavaşlattığı rapor edilmiştir (Armenteros ve ark., 2007; Marks ve ark., 2001). Kangumba ve ark. (1997) ise LP sistemi 14 ppm sodyum tiyosiyanat ve 30 ppm sodyum perkarbonat ile aktive etmişler, kontrol ve aktive gruplarını 6 saat 30°C'de inkübasyona bırakmışlardır. Sonuç olarak, LP sistemin sütün *S.aureus* yükünü 2 log kob/ml kadar azalttığını bildirmişlerdir. Kamau ve ark. (1990), LPS ile korunan çiğ sütlere 52,5 ve 55,2°C ısı işlem uygulamışlardır. *S.aureus*'un inhibisyonu için gerekli olan zamanın kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla %93,3 ve %85,5 azaldığını bulmuşlardır. Çalışmalarının sonunda, LP sistemin yüksek sıcaklıklara gerek kalmadan, daha düşük sıcaklık ve daha kısa sürede süt kaynaklı patojenlerin inhibisyonuna neden olacağını rapor etmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinden olan *St. thermophilus*, süt endüstrisinde sıklıkla kullanılan starter kültür bakterilerindendir. Başta yoğurt olmak üzere fermente sütlerin ve diğer süt ürünlerinin üretiminde, istenilen yapı ve aromanın elde edilmesi için kullanılırlar (Aziz ve ark., 2009). Yaptığımız çalışmada, 10⁵ kob/ml düzeyinde inokülasyon yapılan ve 42°C'de muhafaza edilen kontrol ve deney grubu (aktive) sütlerde *St. thermophilus* sayısındaki değişimler incelenmiştir. Kontrol grubunun bakteri sayısı muhafaza sonunda 1,25 log kob/ml'lik anlamlı bir artış gösterirken, deney grubunda anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Çizelge 4.15). LPS aktivasyonu *St. thermophilus* sayısında bir azalmaya neden olmasa da gelişmeyi baskılamıştır. Nitekim, muhafaza sonunda kontrol grubunun *St. thermophilus* sayısının deney grubundan 1,06 log kob/ml daha yüksek olması, sistemin bakteri üzerine bakteriyostatik etkisinden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuca benzer şekilde, yapılan başka bir çalışmada da, LPS tarafından korunmuş süttten yapılmış olan yoğurtlarda, depolama sırasında, yumuşak yapının neden olduğu serum ayrılmasının yüksek olduğu saptanmış; bunun da LPS tarafından yoğurt bakterilerinden olan *St.*

thermophilus'un baskılanması ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Özer ve ark., 2003). Aynı şekilde, peynir yapımında kullanılan starter kültürlerin çoğunun LP sisteme karşı hassas olduğu ve bu hassaslığın kültürün çeşidine bağlı olduğu, bu nedenle LP sistem ile korunmuş sütlerden peynir yapmadan önce sisteme direnç gösteren starter kültürlerin belirlenmesi ve kullanılması gerektiği bildirilmektedir (Seifu ve ark., 2003). Marks ve ark., (2001)'da LP sistemin *St. thermophilus* gelişmesini 12 saat kadar geciktirdiğini rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra, Njage ve Wangoh (2008) ısıtma işlem uygulamasının LP sistemin mezofilik ve termofilik starter kültürlerin inhibisyon etkisini ortadan kaldıracak ve yeniden aktive olmasını sağlayacağını belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışma bulguları genel olarak değerlendirildiğinde LPS aktivasyonunun bazı mikroorganizmalara karşı güçlü bazılarına karşı zayıf olmak üzere antimikrobiyel etki gösterdiği görülmektedir. LP sisteminin aktivasyonu için gerekli olan unsurlardan biri de H_2O_2 'dir. H_2O_2 de tek başına antimikrobiyel etki gösterebilmektedir. Zaten, özellikle yaz aylarında bazı süt üreticilerinin sütlerine bozulmayı geciktirmek için yasal olmayan bir şekilde H_2O_2 ilave ettikleri bilinmektedir. Dolayısıyla çalışmamızdaki antimikrobiyel etkinlik H_2O_2 'ye de bağlanabilir. Ancak, H_2O_2 'nin antimikrobiyel etki gösterebilmesi için, çiğ sütteki konsantrasyonunun 800 ppm civarında olması gerekmektedir (Fernandez ve ark., 2005). Çalışmamızda ise LPS aktivasyonu için kullanılan miktar (20 ppm) bunun çok altındadır. Bu nedenle çalışmamızda elde ettiğimiz antimikrobiyel etkinlik LP sisteminin aktivasyonundan kaynaklanmıştır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre aşağıdaki sonuçlara varılmıştır:

- İlkbahar döneminde temin edilen çiğ süt örneklerinin tiyosiyanat içeriği kış döneminde toplanan örneklere göre önemli derecede daha yüksektir.
- Çiğ sütlerde ve içme sütlerinde (pastörize ve UHT) saptamış olduğumuz tiyosiyanat düzeyleri etkili bir LPS aktivasyonu için yeterli değildir.
- Kaynatma derecesinin altındaki sıcaklıklarda sütteki tiyosiyanat miktarı önemli bir değişime uğramamaktadır.
- Çiğ sütün soğukta muhafazası sırasında tiyosiyanat miktarında bir azalma olmamaktadır.
- LPS, sütteki mikroorganizmalar üzerine üzerine az veya çok inhibe edici etki göstermektedir. İncelenen mikroorganizmalar arasında psikrofil/psikrotrof

mikroorganizmalar LPS aktivasyonundan en fazla etkilenen grubu oluşturmuştur. Bunu Enterobacteriaceae izlemiştir. Aynı şekilde LPS aktivasyonu süte inoküle edilen *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* bakterilerine karşı da güçlü bir inhibisyon oluşturmaktadır. LAB ve küf florası LP sistemden önemli derecede etkilenmemektedir.

- Hayvan yem rasyonlarında glukozinolat ve siyanojenik glukozid konsantrasyonunun artırılması ve çiğ sütün tiyosiyanat miktarına etkisinin belirlenmesine yönelik gelecek dönem çalışmaları yapılmalıdır.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda; LPS aktivasyonunun çiğ sütün mikroflorasında bulunan bakterilere, özellikle soğukta saklanan sütlerde gelişerek kaliteyi olumsuz yönde etkileyen psikrofil/psikrotrof bakterilere karşı inhibe edici etkisinden yola çıkarak, çiğ sütte bu sistemin aktivasyonu için gerekli üç faktörden birisi olan tiyosiyanat miktarının artırılmasına yönelik çalışmaların yapılmasında yarar görülmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda olduğu gibi dışarıdan süte tiyosiyanat ilavesi yasal değildir. Sütteki tiyosiyanat miktarının yeme bağlı olarak değiştiği göz önünde bulundurulduğunda; süt hayvanlarının beslenmesinde tiyosiyanat içeriği yüksek yemlerin kullanılması durumunda, sütün tiyosiyanat içeriğinin istenilen düzeylere çıkarılabileceği ve bu sayede sütün mikrobiyolojik kalitesinin korunabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, Z.H., Doosh, K.S. ve Yaseen, N.Y.** (2015): Isolation, Purification and Characterization of Lactoferrin from Goat Colostrum Whey. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14 (8): 517-523.
- Abdallah, M.I.M.** (2005): A New Trial for Preservation of Cow's Milk at 30°C and 5°C by Activation of The Natural Lactoperoxidase System. *The 4th International Science Conference. The Role Of Veterinary Medicine for Community, Application of Biotechnology in Veterinary Medicine.*, 5-6 April 2005, Mansoura, Egypt.
- Abdel-Salam, A.M., Alharbi, K.B., Magzoub, M.A. ve Mousa, H.M.** (2014): Effect of heat treatment on the chromatographic detection, electrophoretic pattern and antibacterial activity of lactoferrin purified from camel milk. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 12 (2): 20-23.
- Ahrne, L. ve Björck, L.** (1985): Effect of the lactoperoxidase system on lipoprotein lipase activity and lipolysis in milk. *The Journal of Dairy Research*, 52 (4): 513-20.
- Akıllı, A., Atıl, H. ve Kesenkaş, H.** (2014): Çiğ Süt Kalite Değerlendirmesinde Bulanık Mantık Yaklaşımı. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 20 (2): 223-229. DOI: 10.9775/kvfd.2013.9894.
- Alba, M., Bravo, D. ve Medina, M.** (2015): Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in dry-cured ham by combined treatments of high pressure and the lactoperoxidase system or lactoferrin. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31: 54-59.
- Al-Baarri, A.N., Ogawa, M. ve Hayakawa, S.** (2010): Scale-up studies on immobilization of lactoperoxidase using milk whey for producing antimicrobial agent. *J. Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 35 (3): 185-191.
- Al-Baarri, A.N., Ogawa, M., Visalsok, T. ve Hayakawa, S.** (2012): Lactoperoxidase Immobilized onto Various Beads for Producing Natural Preservatives Solution. *Journal of Applied Food Technology*, 1 (1): 4-6.
- Al-Majali, A.M., Ismail, Z.B., Al-Hami, Y. ve Nour, A.Y.** (2007): Lactoferrin Concentration in Milk From Camels (*Camelus dromedarius*) With and Without Subclinical Mastitis. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 5 (3): 120-124.
- Althaus, R.L., Molina, M.P., Rodriguez, M. ve Fernandez, N.** (2001): Analysis Time and Lactation Stage Influence on Lactoperoxidase System Components in Dairy Ewe Milk. *Journal of Dairy Science*, 84 (8): 1829–1835.
- Amenu, D.** (2013): Antimicrobial activity of Lactic acid bacteria isolated from “Ergo”, Ethiopian traditional fermented milk. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, 1 (6): 278-284.
- Andrade, F.B., Oliveira, J.C., Yoshie, M.T., Guimaraes, B.M., Goncalves, R.B. ve Schwarcz, W.D.** (2014): Antimicrobial Activity and Synergism of Lactoferrin and Lysozyme Against Cariogenic Microorganisms. *Brazilian Dental Journal*, 25 (2): 165-169.

- Armenteros, M., Dalvit, P., Leyva, V., Ponce, P. ve Alfonso, P.** (2007): Risk Analysis of the Exacerbation of Foodborne Pathogens in Raw Milk Activated With The Lactoperoxidase System. *Rev. Salud Anim.*, 29 (3): 176-181.
- Arques, J.L., Rodriguez, E., Nunez, M. ve Medina, M.** (2008): Antimicrobial Activity of Nisin, Reuterin, and the Lactoperoxidase System on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in Cuajada, a Semisolid Dairy Product Manufactured in Spain. *Journal of Dairy Science*, 91 (1): 70-75.
- Asaah, N.O., Fonteh, F., Kanga, P., Mendi, S. ve Imele, H.** (2007): Activation of The Lactoperoxidase System as a Method of Preserving Raw Milk in Areas Without Cooling Facilities. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 7 (2): 1-15.
- Atamer, M., Yamaner, N., Odabaşı, S., Tamuçay, B. , Çimer, A.** (1997): Laktoperoksidaz/Tiyosiyanat/Hidrojen Peroksit (LP) Sisteminin Aktivasyonu ile Korunmuş Sütler ile Bunlardan Üretilen Teleme ve Kaşar Peynirlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri. *Gıda*, 22 (5): 317-325.
- Atanasova, J. ve Ivanova, I.** (2010): Antibacterial Peptides from Goat and Sheep Milk Proteins. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24 (2): 1799-1803, DOI: 10.2478/V10133-010-0049-8.
- Awad, E.I., Abd-El Aal, S.F.A. ve Ibrahim M.A.** (2005): Occurrence Of Proteolytic Bacteria In Milk And Some Dairy Products. *Zag. Vet. J.*, 33 (3): 183-189.
- Ayhan, K.** (2000): Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara.*
- Aziz, T., Khan, H., Bakhtair, S.M. ve Naurin, M.** (2009): Incidence and Relative Abundance of Lactic Acid Bacteria in Raw Milk of Buffalo, Cow and Sheep. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 19 (4): 168-173.
- Bayhan, A., Akdoğan, A. ve Yentür, G.** (1995): Ankara İli Sütlerinde Tiyosiyanat Miktarları. *Ankara Üniv. Vet. Fak Derg.*, 42: 457-460.
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H. ve Davies, A.** (2011): The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry. ILSI Europe Report, Brussels, Belgium.
- Ben Moussa, O., Mankai, M., Ben Fekih, A. ve Hassouna, M.** (2013): Effect of the lactoperoxidase system on proteolysis and physicochemical changes in ultra high temperature milk during storage. *African Journal of Biotechnology*, 12 (16): 2041-2050.
- Björck, L., Rosen, C.G., Marshall, V. ve Reiter, B.** (1975): Antibacterial Activity of the Lactoperoxidase System in Milk Against *Pseudomonas* and Other Gram-Negative Bacteria. *Appl. Microbiol.*, 30 (2): 199-204.
- Björck, L.** (1978): Antibacterial effect of the lactoperoxidase system on psychotrophic bacteria in milk. *The Journal of Dairy Research*, 45 (1): 109-118.
- Blagoeva, G., Milev, M., Minkova, S., Gotcheva, V. ve Angelov, A.** (2014): Assessment of Lactic Acid Bacteria and Enterobacteriaceae Counts in Bulgarian Probiotic Products by TEMPO® System and ISO Methods. *J. Nutr. Health Food Eng.*, 1 (5): Article 29.
- Borda, D., Ghermaneanu, M., Bleoanca, I. ve Neagu, C.** (2013): Thermal Inactivation Kinetics of Lactoperoxidase in Model System, Milk and Whey. *Food and Environment Safety*, 12 (1): 53-58.

- Bosch, E.H., Van Doorne, H. ve De Vries, S.** (2000): The lactoperoxidase system: The influence of iodide and the chemical and antimicrobial stability over the period of about 18 months. *Journal of Applied Microbiology*, 89 (2): 215-224.
- Campbell, R.E., Kang, E.J., Bastian, E. ve Drake, M.A.** (2012): The use of lactoperoxidase for the bleaching of fluid whey. *Journal of Dairy Science*, 95 (6): 2882-2890.
- Campbell, R.E., Gerard, P.D. ve Drake, M. A.** (2014): Characterizing endogenous and exogenous peroxidase activity for bleaching of fluid whey and retentate. *Journal of Dairy Science*, 97 (3): 1225–1232.
- Codex Alimentarius (2007).** Milk and Milk Products. First edition, Guidelines for The Preservation of Raw Milk by Use of The Lactoperoxidase System. CAC/GL 13-1991: 183-189, Rome.
- Correa, A.P.F., Daroit, D.J., Velho, R.V. ve Brandelli, A.** (2011): Hydrolytic Potential of A Psychrotrophic *Pseudomonas* Isolated From Refrigerated Raw Milk. *Braz. J. Microbiol.*, 42 (4): 1479-1484.
- Çaylak Taş, T., Yuvalı-Çelik, G. ve Onbaşılı, D.** (2013): Investigation of proteolytic, lipolytic activities and antibiotics susceptibility of some *Pseudomonas* bacteria isolated from raw milks. *Turk. Hij. Den. Biyol. Derg.*, 70 (3): 147-52.
- Daba, H. ve Saidi, S.** (2015): Detection of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from milk in various farms in north-east Algeria by a new procedure. *Agronomy Research*, 13 (4): 907-918.
- Dahlberg, P., Bergmark, A., Björck, L., Bruce, A., Hambraeus, L. ve Claesson, O.** (1984): Intake of thiocyanate by way of milk and its possible effect on thyroid function. *The American journal of clinical nutrition*, 39 (3): 416-420.
- Dajanta, K., Chukeatirote, E. ve Apichartsrangkoon, A.** (2008): Effect of Lactoperoxidase System on Keeping Quality of Raw Cow`s Milk in Thailand. *International Journal of Dairy Science*, 3: 112-116.
- Defaie, M., Samsam Sharieat, S.Z. ve Divsalar, A.** (2010): Kinetic Investigation on Lactoperoxidase upon Interaction with Lead ion. *International Journal of Environmental Science and Development*, 1 (1): 97-100.
- Dehinenet, G., Mekonnen, H., Ashenafi, M. ve Emmanuelle, G.** (2013): Determinants of raw milk quality under a smallholder production system in selected areas of Amhara and Oromia National Regional States, Ethiopia. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 4 (1): 84-90.
- Dilbaghi, N. ve Sharma, S.** (2007): Food and Industrial Microbiology: Food spoilage, food infections and intoxications caused by microorganisms and methods for their detection. *Guru Jambheshwar University of Science and Technology, Hisar-Haryana, India.*
- Diler, A.A. ve Baran, A.** (2014): Erzurum'un Hınıs İlçesi Çevresindeki Küçük Ölçekli İşletme Tank Sütlerinden Alınan Çiğ Süt Örneklerinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. *Alınteri Zirai Bilimler Dergisi*, 26 (1): 18-24.
- Dinsmore, R.P., Meyer, S., Garry, F. ve Hirst, H.** (2001): Sources of *Pseudomonas* sp. in Bulk Tank Milk on Colorado Dairy Farms. *Published in the Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality*, pp: 140.
- Dumitraşcu, L., Stanciuc, N., Stanciu, S. ve Rapeanu G.** (2012): Thermal inactivation of lactoperoxidase in goat, sheep and bovine milk – A

- comparative kinetic and thermodynamic study. *Journal of Food Engineering*, 113 (1): 47–52.
- Elagamy, E.I., Ruppanne, R., Ismail, A., Champagne, C.P. ve Assaf, R.** (1996): Purification and Characterization of Lactoferrin, Lactoperoxidase, Lysozyme and Immunoglobulins from Camel's Milk. *International Dairy Journal*, 6 (2): 129-145.
- El-Ziney, M.G. ve Al-Turki, A.I.** (2007): Microbiological quality and safety assessment of camel milk in Saudi Arabia (Quassim region). *Applied Ecology and Environmental Research*, 5 (2): 115-122.
- El Zubeir, I.E.M.** (2010): Improvement of Keeping Quality of Raw Camel's and Cow's Milk by Lactoperoxidase Enzymes System. University of Khartoum, Conference of Graduate Studies. Scientific Research-Pillar of Civilization Development. Fiends Ship Hall: 27th February-2nd March 2010.
- Erginkaya, Z., Güven, M. ve Karaca, O.B.** (2001): Laktoperoksidaz Sistemin Aktivasyonu ve Soğutulularak Korunan Sütlerin Mikrobiyolojik Özellikleri. *Gıda Dergisi*, 26 (5): 367-373.
- FAO/WHO 2005:** Benefits and potential risks of the lactoperoxidase system of raw milk preservation. Technical meeting. FAO, Headquarters 28 November - 2 December, 2005. Rome.
- Fernandes, R.** (2009): Microbiology Handbook Dairy Products. Leather Publishing and Royal Society of Chemistry, Surrey, Cambridge, UK.
- Fernandez, O., Marrero, E. ve Capdevila, J. Z.** (2005): Safety Considerations on Lactoperoxidase System Use For Milk Preservation. *Rev. Salud Anim.*, 27 (3): 186-189.
- Florou-Paneri, P., Christaki, E. ve Bonos, E.** (2013): Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients. *Lactic Acid Bacteria-R&D for Food, Health and Livestock Purposes*, 589–614. Dr. J. Marcelino Kongo (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/47766.
- Fonteh, F.A., Grandison, A.S. ve Lewis, M.J.** (2002): Variations of lactoperoxidase activity and thiocyanate content in cows' and goats' milk throughout lactation. *J. Dairy Res.*, 69 (3): 401-9.
- Fonteh, F.A., Grandison, A.S., Lewis, M.J. ve Niba, A.T.** (2005): The keeping quality of lactoperoxidase-activated milk in the Western Highlands of Cameroon. *Livestock Research for Rural Development*, 17 (10): 1-9.
- FSANZ,** (2002): Final assessment report application A404, Lactoperoxidase system. Food Standards Australia New Zealand, 18 December, 2002.
- Gatti, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E. ve Mucchetti, G.** (2014): *Invited review:* Microbial evolution in raw-milk, long-ripened cheeses produced using undefined natural whey starters. *Journal of Dairy Science*, 97 (2): 573-591.
- Gaya, P., Medina, M. ve Nunez, M.** (1991): Effect of the Lactoperoxidase System on *Listeria monocytogenes* Behavior in Raw Milk at Refrigeration Temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (11): 3355-3360.
- Gemechu, T., Beyene, F. Ve Eshetu, M.** (2015): Physical and chemical quality of raw cow's milk produced and marketed in Shashemene Town, Southern Ethiopia. *Journal of Food and Agricultural Science*, 5 (2): 7-13.
- Godic Torkar, K. ve Golc Teger, S.** (2008): The Microbiological Quality of Raw Milk After Introducing The Two Day's Collection System. *Acta agriculturae Slovenica*, 92 (1): 61-74.

- Gürsel, A. ve Bozbay, E.** (2001): Keçi Sütünün Farklı Yöntemlerle Muhafazası. *Gıda*, 26 (3): 209-220.
- Gürsel, A., Tamuçay, B., Odabaşı, S. ve Özer, M.** (2002): İnek ve Keçi Sütlerinin Tiyosiyanat içeriklerinde Laktasyon Dönemindeki Değişimler. *Gıda*, 27 (2): 143-146.
- Haddadin, M.S., Ibrahim, S.A. ve Robinson, R.K.** (1996): Preservation of raw milk by activation of the natural lactoperoxidase systems. *Food Control*, 7 (3): 149- 152.
- Hamid, O.I.A. ve Musa, Z.A.B.** (2013): Effect of Different Levels of Sodium Thiocyanate and Percarbonate for Activation of Lactoperoxidase on the Keeping Quality of Raw Milk. *Journal of Advanced Scientific Research*, 4 (1): 27-30.
- Hantsis-Zacharov, E. ve Halpern, M.** (2007): Culturable Psychrotrophic Bacterial Communities in Raw Milk and Their Proteolytic and Lipolytic Traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (22): 7162-7168.
- Harrigan, W. F.** (1998): *Laboratory methods in food microbiology*. Gulf Professional Publishing.
- Hayek, S.A., Gyawali, R. Ve Ibrahim, S.A.** (2013): Antimicrobial Natural Products. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Badajoz, Spain, pp. 910-921.
- Hlebal, L., Petroval, J., Kantor, A., Cubon, J. ve Kacaniova, M.** (2015): Antibiotic Resistance in Enterobacteriaceae Strains Isolated From Chicken and Milk Samples. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 4 (1): 19-22. doi: 10.15414/jmbfs.2015.4.special1.19-22.
- ISO 4833** (2003): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30 degrees C. International Standardization Organization, Switzerland.
- ISO 6887-1** (1999): Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbial examination. Part-1 General rules for preparation of dilutions for microbial examination. International Standardization Organization, Switzerland.
- ISO 7954** (1988): General guidance for the enumeration of yeasts and moulds. Colony count technique at 25°C. International Standardization Organization, Switzerland.
- ISO 13720** (2010): Meat and meat products - Enumeration of presumptive *Pseudomonas* sp. International Standardization Organization, Switzerland.
- ISO 15214** (1998): Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for enumeration of Mesophilic Lactic Acid Bacteria. International Standardization Organization, Switzerland.
- ISO 21528-2** (2004): Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae. International Standardization Organization, Switzerland.
- Isobe, N., Kubota, H., Yamasaki, A. ve Yoshimura, Y.** (2011). Lactoperoxidase activity in milk is correlated with somatic cell count in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94 (8): 3868-3874.
- Kakar, M.U.H., Kakar, M.A., Shahwani, M.N., Ahmed, N., Arain, M.A. ve Khaskhaili, M.** (2013): Stabilization of Fresh Buffalo Milk by Activating Lactoperoxidase System. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 23 (1): 90-93.

- Kalupahana, R. ve Silva-Fletcher, A.** (2016): A participant – Led programme for field veterinary training to identify bacteriological quality of milk from the farmer to the retail outlet. *Food Control*, 63: 128-134.
- Kamau, D.N., Doores, S. ve Pruitt, K.M.** (1990): Enhanced Thermal Destruction of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* by the Lactoperoxidase System. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (9): 2711-2716.
- Kamau, P.M.N. ve Wangoh, J.** (2010): Use of the Lactoperoxidase System to Enhance Keeping Quality of Pasteurised Camel Milk. *Food*, 4 (1): 61-63.
- Kamau, P.M.N., Lamuka, P.O. ve Wangoh, J.** (2010): Effect of Lactoperoxidase – Thiocyanate – Hydrogen Peroxide System and Storage Temperature on Keeping Quality of Raw Camel Milk. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 10 (10): 4185-4201.
- Kangumba, J.G.K., Venter, E.H. ve Coetzer, J.A.W.** (1997): The effect of activation of the lactoperoxidase system and souring on certain potential human pathogens in cows' milk. *Journal of the South African Veterinary Association*, 68 (4): 130–136.
- Kanthale, P., Kumar, A., Upadhyay, N., Lal, D., Rathod, G. ve Sharma, V.** (2013): Qualitative test for the detection of extraneous thiocyanate in milk. *Journal of Food Science and Technology*. 52 (3): 1698-1704. DOI 10.1007/s13197-013-1174-9.
- Kassa, F., Yilma, Z., Assefa, G., Bekele, T., Gojam, Y., Nebiyu, R. ve Kassa, B.** (2013): Evaluation of Lactoperoxidase System as Raw Milk Preservative at Different Storage Temperature Conditions in The Central Highlands of Ethiopia. *Livestock Research for Rural Development*, 25 (4): Article 68.
- Kesenkaş, H. ve Akbulut, N.** (2010): İzmir İlinde Satılan Sokak Sütleri ile Orta ve Büyük Ölçekli Çiftliklerde Üretilen Sütlerin Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 47 (2): 161-169.
- Kırdar, S.S.** (2006): Laktoperoksidaz Sisteminin Ürün Kalitesi ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Krol, J., Brodziak, A., Litwinczuk, Z. ve Barłowska, J.** (2012): Selected Factors Determining the Content of Lactoferrin, Lysozyme and Immunoglobulins G in Bovine Milk. A Search for Antibacterial Agents, Dr. Varaprasad Bobbarala (Ed.), InTech, Rijeka, Croatia. DOI: 10.5772/46047.
- Lafarge, V., Ogier, J.C., Girard, V., Maladen, V., Leveau, J.Y., Gruss, A. ve Buchet, A.D.** (2004): Raw Cow Milk Bacterial Population Shifts Attributable to Refrigeration. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (9): 5644-5650. DOI: 10.1128/AEM.70.9.5644–5650.2004.
- Lancette, G. A. ve Bennett, R. W.** (2001): *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: Downes, F.P. and Ito, K. (Ed.), Compendium Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington D.C., American Public Health Association, pp. 387-400.
- Ledenbach, L.H. ve Marshall, R.T.** (2009): Microbiological Spoilage of Dairy Products. In: Sperber WH, Doyle MP (Eds.): Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. Springer Science+Business Media, New York, NY, pp. 41–67.
- Losnedahl, K.J., Wang, H., Aslam, M., Zou, S. ve Hurley W.L.** (1998): Antimicrobial factors in milk. *Illinois Dairy Net Papers*, 38: 1-4.
- Lu, M., Shiau, Y., Wong, J., Lin, R., Kravis, H., Blackmon, T., Pakzad, T., Jen, T., Cheng, A., Chang, J., Ong, E., Sarfaraz, N. ve Wang N.S.** (2013):

- Milk Spoilage: Methods and Practices of Detecting Milk Quality. *Food Nutr. Sci.*, 4 (7): 113-123.
- Lyatuu, E.T. ve Eastridge M.L.** (1998). Nutritional factors affecting milk production, milk composition, milk urea nitrogen, and plasma urea nitrogen. Special Circular Ohio Agricultural Research and Development Center, 163: 65-71.
- Magdoub, M.N.I., El-Gendy, M.H., Kamel, Y.M. ve El-Nawawy, M.A.** (2007): The effect of lactoperoxidase system on enhancing the microbiological quality of goat milk and yoghurt. ISAH-2007 Tartu, Estonia.
- Marks, N.E., Grandison, A.S. ve Lewis, M.J.** (2001): Challenge Testing of The Lactoperoxidase System in Pasteurized Milk. *Journal of Applied Microbiology*, 91 (4): 735-741.
- Mazri, C., Sánchez, L., Ramos, S.J., Calvo, M. ve Pérez, M.D.** (2011): Effect of high-pressure treatment on denaturation of bovine lactoferrin and lactoperoxidase. *Journal of Dairy Science*, 95 (2): 549-557.
- Megha, S.V. ve Annadurai, B.** (2014): Isolation and Identification of Proteolytic Bacteria From Raw Milk Samples. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 3 (4): 391-397.
- Metin, M.** (1998). Süt Teknolojisi, Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. *Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir*, 495.
- Morimoto, K., Kanda, N., Shinde, S. ve Isobe, N.** (2012): Effect of enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine on innate immune function of bovine mammary gland infused with lipopolysaccharide. *Journal of Dairy Science*, 95 (9): 5067-5074.
- Muehlhoff, E., Bennett, A. ve McMahon. D.** (2013): Milk and dairy products in human nutrition. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, Rome.
- Musa, Z.A. ve Hamid, O.I.A** (2013): Effect of Lactoperoxidase activation on the keeping quality of raw milk kept at refrigeration temperature. *American Journal of Research Communication*, 1 (2): 22-32.
- Ndambi, O.A., Kamga, P.B., Imele, H., Mendi, S.D. ve Fonteh, F.A.** (2008): Effects of Milk Preservation Using The Lactoperoxidase System on Processed Yogurt and Cheese Quality. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 8 (3): 358-374.
- Nemeckova, I., Pechacova, M. ve Roubal, P.** (2009): Problems with Detection of Proteolytic Microorganisms and Their Undesirable Activities in Milk. *Czech J. Food Sci.*, 27 (2): 82-89.
- Nigussie, H. ve Seifu, E.** (2007): Effect of the lactoperoxidase system and container smoking on the microbial quality of cows' milk produced in Kombolcha woreda, eastern Ethiopia. *Livestock Research for Rural Development*, 19 (10): Article 157.
- Njage, K. M.P. ve Wangoh, J.** (2008): Impact of the Lactoperoxidase System on Activity of Selected Lactic Starter Cultures in Camel Milk. *Food*, 2 (1): 70-74.
- Njage, K.M.P. ve Wangoh, J.** (2010): Use of the Lactoperoxidase System to Enhance Keeping Quality of Pasteurised Camel Milk. *Food*, 4 (1): 61-63.
- Odabaşı, S., Gürsoy, A., Çimer, A. ve Atamer, M.** (1999): Laktoperoksidaz / Tiyosiyanat / Hidrojen Peroksit Sisteminin Aktivasyonu ile Korunmuş Sütlerden Üretilen Beyaz Peynirlerin Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Araştırmalar. *Gıda*, 24 (5): 327-335.

- Olatunji, E.A., Jubril, A.E., Okpu, E.O., Olafadehan, O.A., Ijah, U.J. ve Njidda, A.A.** (2012): Bacterial Assessment and Quality Analysis of Raw Milk Sold in Gwagwalada Area Council of the Federal Capital Territory (FCT) Abuja, Nigeria. *Food Science and Quality Management*, 7: 1-4.
- Oysun, G.** (1989): Samsun İlinde Üretilen Sütlerin Tiyosiyanat (SCN⁻) Miktarları. *Gıda*, 14 (1): 31-33.
- Ozrenk, E. ve Inci, S.S.** (2008): The Effect of Seasonal Variation on the Composition of Cow Milk in Van Province. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (1): 161-164.
- Özer, B., Grandison, A., Robinson, R. ve Atamer, M.** (2003): Effects of lactoperoxidase and hydrogen peroxide on rheological properties of yoghurt. *Journal of Dairy Research*, 70 (2): 227- 232.
- Pandey, G. S. ve Voskuil, G. C. J.** (2011): Manual On Milk Safety, Quality And Hygiene For Dairy Extension Workers and Dairy Farmers. *Golden Valley Agricultural Research Trust Publishing*, Lusaka, Zambia.
- Panwar, H.** (2014): Biologically active components of human and bovine milk as potent antimicrobial agents. *Journal of Innovative Biology*, 1 (2): 97-104.
- Parveen, R., Kausar, R., Sameen, A., Khan, M.I. ve Sana, N.** (2016): Effect of Activating Lacto Peroxidase System (LPS) On Quality and Storage Stability of Soft Cheese. *Journal of Biotechnology Biomaterials*, 6 (2): Article 224. doi:10.4172/2155-952X.1000224.
- Patır, P., Can, Ö.P. ve Gürses, M.** (2010): Farklı İllerden Toplanan Çiğ İnek Sütlerinde Somatik Hücre Sayıları. *F.Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.*, 24 (2): 87-91.
- Pinto, U.M., Costa, E.D., Mantovani, H.C. ve Vanetti, M.C.D.** (2010): The Proteolytic Activity of *Pseudomonas Fluorescens* 07A Isolated From Milk is not Regulated by Quorum Signals. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41 (1): 91-96.
- Pokhrel, P. ve Laldas, S. K.** (2012): Study on the Extension of Shelf-life by Activation of Inherent Lactoperoxidase System in Raw Cow Milk. *J. Food Sci. & Technol. Nepal*, 7: 57-60.
- Ponce, P.** (2012): Thiocyanate Content in Raw Milk Under The American Tropic Conditions in Relation to The Activation of The Lactoperoxidase System. *Rev. Salud Anim.*, 34 (2): 115-119.
- Ponka, R., Beaucher, E., Fokou, E., Kansci, G., Piot, M., Leonil, J. ve Gaucheron F.** (2013): Composition of raw cow milk and artisanal yoghurt collected in Maroua (Cameroon). *African Journal of Biotechnology*, 12 (49): 6866-6875.
- Priyadarshini, S. ve Kansal, V.K.** (2002): Lysozyme Activity in Buffalo Milk: Effect of Lactation Period, Parity, Mastitis, Season in India, pH and Milk Processing Heat Treatment. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15 (6): 895-899.
- Puspitarini, O.R., Al-Baarri, A.N., Legowo, A.M., Bintoro, P. ve Hintono, A.** (2013): The Activation Method of Lactoperoxidase System to Inhibit Microbial Activity in Fresh Milk. *Animal Production*, 15 (2): 119-126.
- Pyz-Lukasik, R., Paszkiewicz, W., Tatara, M.R., Brodzki, P. Ve Belkot, Z.** (2015): Microbiological quality of milk sold directly from producers to consumers. *Journal of Dairy Science*, 98 (7): 4294-4301.
- Rajeevie, M., Potoenik, K. ve Levstek J.** (2003): Correlations Between Somatic Cells Count and Milk Composition with Regard to the Season. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 68 (3): 221-226.

- Rajmohan, S., Dodd, C.E.R. ve Waites, W.M.** (2002): Enzymes from isolates of *Pseudomonas fluorescens* involved in food spoilage. *Journal of Applied Microbiology*, 93 (2): 205–213.
- Rattanachaikunsopon, P. ve Phumkhachorn P.** (2010): Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research*, 1 (4): 218-228.
- Reis, J.A., Paula, A.T., Casarotti, S.N.A. ve Penna L.B.** (2012): Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Eng. Rev.*, 4 (2): 124–140.
- Saad, A.H.** (2008): Activation of Milk Lactoperoxidase System for Controlling *Pseudomonas* in Cow's Milk. *Int. J. Dairy Sci.*, 3 (3): 131-136.
- Saad, M. S. A., El Zubeir, I.E.M. ve Fadel Elseed, A.M.A.** (2013): Effect of lactoperoxidase enzyme system and storage temperature on the keeping quality of sheep milk. *Livestock Research for Rural Development*, 25 (6): Article 102.
- Saha, B.K., Ali, M.Y., Chakraborty, M., Islam, Z ve Hira, A.K.** (2003): Study on the Preservation of Raw Milk with Hydrogen Peroxidase (H₂O₂) for Rural Dairy Farmers. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (1): 36-42.
- Salman, M., Khaskheli, M., Ul-Haq, I., Talpur, R., Khuhro, A.P., Rauf, M., Hamid, H. ve Aziz, A.** (2014): Comparative Studies on Nutritive Quality of Buffalo and Cow Milk. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences*, 2 (12): 69-78.
- Samed-Bali, O., Felfoul, I., Lajnaf, R., Attia H. ve Ayadi M.A.** (2013): Study of Proteolytic and Lipolytic Activities of *Pseudomonas* sp. Isolated From Pasteurized Milk in Tunisia. *Journal of Agricultural Science*, 5 (7): 46-50. doi:10.5539/jas.v5n7p46.
- Scatamburlo, T.M., Yamazi, A.K., Cavicchioli, V.Q., Pieri, F.A. ve Nero, L.A.** (2015): Spoilage potential of *Pseudomonas* species isolated from goat milk. *Journal of Dairy Science*, 98 (2): 759-764.
- Seifu, E., Buys, E.M. ve Donkin, E.F.** (2003): Effect of the lactoperoxidase system on the activity of mesophilic cheese starter cultures in goat milk. *International Dairy Journal*, 13 (12): 953-959.
- Seifu, E., Buys, E.M., Donkin, E.F. ve Petzer, I.M.** (2004a): Antibacterial activity of the lactoperoxidase system against food-borne pathogens in Saanen and South African Indigenous goat milk. *Food Control*, 15 (6): 447–452.
- Seifu, E., Donkin, E.F. ve Buys, E.M.** (2004b): Application of the lactoperoxidase system to improve the quality of goat milk cheese. *South African Journal of Animal Science*, 34 (5): 184-187.
- Siragusa, G.R. ve Johnson, M.G.** (1989): Inhibition of *Listeria monocytogenes* Growth by the Lactoperoxidase-Thiocyanate-H₂O₂ Antimicrobial System. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (11): 2802-2805.
- Sisecioglu, M., Kirecci, E., Cankaya, M., Ozdemir, H., Gulcin, I. Ve Atasever, A.** (2010): The prohibitive effect of lactoperoxidase system (LPS) on some pathogen fungi and bacteria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4 (9): 671-677.
- Spanamberg, A., Ramos, J.P., Leoncini, O., Alves, S.H. ve Valente, P.** (2009): High frequency of potentially pathogenic yeast species in goat's raw milk and creamed cheese in Southern Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, 37 (2): 133-141.

- Sudhasarayanan, R. ve Binukumari, S.** (2015): Microbial Quality of Raw and Pasteurized Milk Samples Collected From Different Regions of Madurai District, (T.N.) India. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 9 (1): 71-73. DOI: 10.9790/2402-09117173.
- Sulieman, A.M.E., EL Zubier, S. ve El Hardallou, S.B.** (2009): Activation of Lactoperoxidase (LP) System in Milk and Use of The LP-Activated Milk in Manufacture of Jibna-Beida (white cheese). *Journal of Science and Technology*, 10 (1): 1-12.
- Tanaka, T., Xuan X., Fujisaki, K. ve Shimazaki, K.** (2012): Expression and Characterization of Bovine Milk Antimicrobial Proteins Lactoperoxidase and Lactoferrin by Vaccinia Virus, Insight and Control of Infectious Disease in Global Scenario, Dr. Roy Priti (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/32575.
- Tassew, A. ve Seifu, E.** (2011): Microbial quality of raw cow's milk collected from farmers and dairy cooperatives in Bahir Dar Zuria and Mecha district, Ethiopia. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2 (1): 29-33, doi:10.5251/abjna.2011.2.1.29.33.
- Tayefi-Nasrabadi, H., Hoseinpour-fayzi, M.A. ve Mohasseli, M.** (2011): Effect of heat treatment on lactoperoxidase activity in camel milk: A comparison with bovine lactoperoxidase. *Small Ruminant Research*, 99 (2): 187-190.
- Terzaghi B.E. ve Sandine W.E.** (1975): Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl. Microbiol.* 29 (6): 807-813.
- Thomas, E.L. ve Aune, T.** (1978): Lactoperoxidase, Peroxide, Thiocyanate Antimicrobial System: Correlation of Sulfhydryl Oxidation with Antimicrobial Action. *Infection and Immunity*, 20 (2): 456-463.
- Tolosa, T., Verbeke, J., Piepers, S., Tefera, M., Getachew, Y., Supré, K. Ve DeVliegher S.** (2016): Milk Production, Quality, and Consumption in Jimma (Ethiopia): Facts and Producers', Retailers', and Consumers', Perspectives. *Prev. Vet. Med.*, 124: 9-14.
- Torrente-Rodriguez, R.M., Campuzano, S., Gamella, M., Conzuelo, F., Reviejo, A.J. ve Pingarron, J.M.** (2013): Label-Free Amperometric Magnetoimmunosensors for Direct Determination of Lactoperoxidase in Milk. *Electroanalysis*, 25 (4): 967-974. DOI: 10.1002/elan.201300027.
- Touch, V., Hayakawa, S., Yamada, S. ve Kaneko, S.** (2004): Effect of a lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide system on *Salmonella enteritidis* in animal or vegetable foods. *Journal of Food Microbiology*, 93 (2): 175-183.
- Van Nieuwenhove, C.P., Gutierrez, C.V., Nunez, M.S. ve Gonzalez, S.N.** (2004): Lactoperoxidase and Lysozyme Activity in Buffalo Milk from Argentine. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3 (7): 431-433.
- Yıldız, H. ve Sert, S.** (2008): Gıdalarda Laktoperoksidaz Sistemin Kullanımı. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Yılmaz, B. ve Tosun, H.** (2012): Sütte Bulunan Antimikrobiyel Sistemler ve Bunların Gıda Sanayiinde Kullanımı. *C.B.Ü. Fen Bil. Dergisi*, 8 (1): 11 –20.
- Zapico, P., Gaya, P., Nuñez, M. ve Medina, M.** (1990): Lactoperoxidase and thiocyanate contents of goats' milk during lactation. *Letters in Applied Microbiology*, 11 (2): 90–92. doi:10.1111/j.1472-765X.1990.tb01283.x
- Zapico, P., Gaya, P., Nuñez, M. ve Medina, M.** (1995): Activity of Goats' Milk Lactoperoxidase System on *Pseudomonas fluorescens* and *Escherichia coli* at Refrigeration Temperatures. *Journal of Food Protection*, 58 (10): 1136-1138.

Zarei, M., Shekarforoush, S.S., Khajehali, E. ve Nazer, A.H.K. (2010): Antibacterial activity of lactoperoxidase system, activated by two different recommended methods against *Escherichia coli* O157:H7 in raw milk. *Milk Science International*, 65 (3): 298- 301.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Murat AY

Doğum Tarihi ve Yeri : 17 Nisan 1976; Görele/GİRESUN

E-posta : may@tamamutfak.com.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Doktora:** 2011-2017, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 34295-İstanbul-TÜRKİYE.
- **Lisans:** 1994-1999, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir-TÜRKİYE.

Murat AY lisans derecesini Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalından 1999 yılında aldı. Askerlik görevinden sonra (2002) başlamış olduğu Tama Mutfak'ta halen Üretim ve Kalite Müdürü olarak görev yapmaktadır. Aynı zamanda A Sınıfı İş Güvenliği Uzmanı olan Murat AY, evli ve iki çocuk sahibidir.

TEZDEN TÜRETİLEN MAKALE

Ay, M. ve Bostan, K. (2017): Effects of Activated Lactoperoxidase System on Microbiological Quality of Raw Milk. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23 (1): 131-136. DOI:10.9775/kvfd.2016.15993