

Peynirde Starter Kültür Gelişimini Etkileyen Faktörler

Mustafa ARDIÇ^{1*}

Hisamettin DURMAZ¹

¹ Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
*e-posta: mardic@harran.edu.tr

Özet: Peynir ve yoğurt gibi fermente ürünlerin üretiminde kullanılan starter kültürlerin esas fonksiyonu laktozdan laktik asit oluşturmalarıdır. Bu kültürlerin aktiviteleri pH, hidrojen peroksit, laktoperoksidaz sistem, bakteriyofaj ve inhibitör maddelerin varlığına bağlı olarak etkilenebilir. Starter kültürlerin gelişimini etkileyen bu faktörler kontrol altına alındığında, istenilen kalite ve özellikte peynir üretimi gerçekleştirilebilir.

Anahtar kelimeler: Peynir, starter kültür, inhibisyon

Factors Affecting the Growth of Starter Culture in Cheese

Summary: The primary function of starter cultures used in the production of fermented products such as yogurt and cheese is the production of lactic acid from lactose. The activity of these cultures can be influenced by a number of factors including pH, hydrogen peroxide, Lactoperoxidase system, bacteriophage and the presence of inhibitors. When these factors are controlled, cultures can be help produce cheese of the desired quality and specification.

Key Words: Cheese, starter culture, inhibition

GİRİŞ

Süte uygulanan ısı işlemleri (örn. pastörizasyon, sterilizasyon) patojen ve zararlı mikroorganizmaların yanında mevcudiyeti arzu edilen ve starter kültür olarak bilinen mikroorganizmaların çoğunun da tahrip olmasına neden olurlar. Bu nedenle uygulanan ısı işlemi sonrası standart ve iyi kaliteli ürün elde etmek için belirli mikroorganizmaların saf veya karışık kültürlerinden yararlanılır (Tekinşen, 2000).

Starter kültürler; çeşitli süt ürünlerinin üretiminde lezzet, yapı, tekstür ve görünüm bakımından arzu edilen nitelikleri kazandırmak amacıyla süte, kremaya veya her ikisinin karışımına katılan seçilmiş mikroorganizmaların kültürleri olarak tanımlanırlar (Vedemuthu, 1976; Tekinşen, 1978).

Peynir yapımında starter kültür olarak kullanılan en yaygın mikroorganizmalar Streptococcaceae familyasının Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus ve Leuconostoc soyları ile Lactobacillaceae familyasının Lactobacillus soyu, diğer bir ifadeyle laktik asit bakteri grubunda bulunan belirli bir veya daha fazla türlerin seçilmiş ve kontrollü şartlar altında geliştirilmiş kültürleridir (Tekinşen, 2000; Guessas ve Kihal, 2004).

Ayrıca Brevibacterium linens, Propionibacterium freudenreichii, Bifidobacterium bifidum, ile maya ve küflerde süt endüstrisinde starter kültür olarak kullanılır (Tekinşen ve Atasever, 1994). Bu mikroorganizmalar peynire karakteristik nitelikler kazandırmak amacıyla laktik asit bakterileriyle birlikte kullanılırlar. Örneğin İsviçre peynirlerindeki gözenekler (örn.,

emmental) Propionibacterium'lardan, brick peynirinin sarımtırak rengi ve karakteristik lezzeti Brevibacterium linens'den kaynaklanır (Nath, 1993).

STARTER KÜLTÜRLERİN TEMEL İŞLEVLERİ

Starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar gelişmeleri sırasında oluşturdukları enzimlerle ürünün bileşimindeki bazı maddeleri metabolize ederek parçalanma ürünleri oluştururlar. Süt ve/veya süt ürününde oluşan bu değişiklikler sonucu ürün kendine özgü karakteristik niteliklerini kazanır. Starter kültürlerin temel işlevleri arasında; asit oluşturma, proteoliz ve lipoliz, lezzet ve aroma bileşiklerinin oluşumunda rol alması ve zararlı bakterilerin inhibisyonu sayılabilir (Tekinşen ve Atasever, 1994).

PEYNİRDE STARTER KÜLTÜRLERİN GELİŞMELERİNİ İNHİBE EDEN FAKTÖRLER

1. Bakteriosinler

Peynir üretiminde kullanılacak çiğ sütün bakteriyolojik kalitesi ve depolanma süresi önemlidir. Sütte her zaman, amino asitleri ve peptitleri kullanabilen mikroorganizmalar bulunur ve bu mikroorganizmalar çok düşük konsantrasyonlarda bile inhibitör etki oluşturan bakteriosinleri oluştururlar (Gonzalez ve ark., 1994; Eijsink ve ark., 1998).

Nisin, *L. lactis* subsp. *lactis* tarafından üretildiği ve Gram-pozitif mikroorganizmalara karşı inhibitör etki gösterdiği (Buyong ve ark., 1998), bir bakteriosin olan diplokoksinin de L.

Lactis subsp. *cremoris* tarafından üretildiği ancak sınırlı bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir. (Nath, 1993). *Jensenii* G, *Propionibacterium jensenii* P126 tarafından üretilen ısıya dayanıklı bir bakteriosindir ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCDO 1489'u inhibe ettiği belirtilmektedir (Weinbrenner ve ark., 1997). *Propionicin* PLG-1, *Propionibacterium thoenii* 127 tarafından üretilen ve *Propionibacteria*'ları inhibe ettiği bildirilen bakteriosindir (Barefoot ve Nettles, 1993).

Leuconostoc mesenteroides spp. *mesenteroides* *mesentericin* Y105, *Leuconostoc gelidum leucocin* AUAL 187, *Leuconostoc carnosum carnosin* 44A, *Leuconostoc paramesenteroides leuconocin* S bakteriosinlerini üretirler. Bu bakteriosinler diğer laktik asit bakterilerin gelişimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Stiles, 1994).

2. Lipolizis

Soğukta muhafaza edilen çiğ sütte psikrotrof mikroorganizmalar gelişmekte ve düzeyleri 106-107 kob/ml'den fazla olduğunda ise lipolizise sebep olabilmektedir (Mullon, 2001). Bu sütün peynir üretiminde kullanılması durumunda oluşan bazı yağ asitleri (4'den 12 karbonluya kadar) ve sorbik asit, starter kültür olarak kullanılan bazı mikroorganizmaların (örn., *L. lactis* subsp. *cremoris*) gelişimlerini engelleyebilmektedirler (Nath, 1993).

3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit, Grup N *Lactococcus*'lar tarafından Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) oksidazın katalize ettiği reaksiyonda, moleküler oksijen ile NADH'nin oksidasyonu sonucu metabolik olarak üretilir. Enzim flavin adenin dinükleotid (FAD) tarafından aktive edilir. Oluşturulan hidrojen peroksitin bir kısmı NADH peroksidaz tarafından ortadan kaldırılır.

Peynir üretiminde, sütün tekneye aktarılması, starter kültür ve rennet katılması esnasında çalkalanması sonucu, sütte yeterince hidrojen peroksit oluşur. Az miktarda hidrojen peroksit oluşması veya ilavesinde bile *Lactococcus*'ların gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir. Sütte, *Lactobacillus* ve *Lactococcus*'lar asit üretiminin ilk aşamalarında iken hidrojen peroksit oluştururlar. Daha sonraları asit üretiminin artması nedeniyle hidrojen peroksitin fazla birikmesi engellenmiş olur. Demir sülfat ve katalaz ilavesi hidrojen peroksitin birikmesini azaltır veya önler. *Micrococcus*'lar da asit oluşumunu stimüle ederek, ortamda hidrojen peroksit birikimini önlerler (Nath, 1993).

4. Laktoperoksidaz/Tiyosiyanat/H₂O₂ Sistem

Starter kültürlerin laktoperoksidaz/hidrojen peroksit/tyosiyanat sistem (LPS) inhibisyonuna hassasiyetleri; tür hassasiyetine,

mikroorganizma suşunun LPS'yi aktive edebilen hidrojen peroksiti oluşturabilme yeteneğine, spesifik olmayan enzimlerin mevcudiyetine (örn., ksantin oksidaz veya hidrojen peroksit oluşturan hipoksantin) bağlıdır (Nath, 1993).

Sütte doğal olarak oluşan bu sistem gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı bakterisid ve bakteriostatik etki gösterirler (Wolfson ve Sumner, 1993). DeValdez ve ark. (1988), termofilik starter kültürlerin LPS'ye oldukça duyarlı olduklarını ve aktivitelerinin önemli düzeyde etkilendiğini bildirmişlerdir.

Metabolik olarak oluşturulan hidrojen peroksit sütte bulunan *Lactococcus*'ların bazı suşlarını inhibe eder. İnhibisyon, laktoperoksidaz enziminin katalize ettiği bir reaksiyonla sütte bulunan tyosiyanatın, inhibitör bir ürüne dönüştürülmesiyle gerçekleşir. Düşük konsantrasyonlu hidrojen peroksit, laktoperoksidaz ile kompleks bir yapı meydana getirerek, oksidasyon gücünü stabil hale getirir.

Tiyosiyanat oksidasyonunun son ürünleri CO₂, NH₄⁺, SO₄²⁻ dür. Ara oksidasyon ürünü (OSCN-) Gram-pozitif bakterileri, *Pseudomonas*, *Salmonella* ve koliformlar gibi diğer Gram-negatif bakterileri inhibe eder (Reiter, 1986).

5. Isı İşlemleri

Muhafaza süresini uzatmak ve güvenli tüketimini sağlamak amacıyla süte ısı işlemi uygulanır. Isı işleminin derecesi ve süresi amaca göre değişebilir. Farklı starter kültürlerin gelişimi, uygulanan ısı işlemlerine bağlı olarak değişim göstermektedir. Speck (1962) ile Olson ve Gilliland (1970), *Lactococcus*'ların asit üretiminin en iyi 71.1 °C'de 30 dakika süreyle ısı işlemi uygulanmış sütte olduğunu, bunu sırasıyla, 121.1 °C de 15 dakika, 61.6°C, 82.2°C ve 98.8°C'de 30 dakika süreyle ısı işlemi uygulanmış sütün takip ettiğini bildirmişlerdir.

Termofilik kültürlerle (örn., *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) yapılan bir çalışmada, süte yüksek ısı kısa zaman (HTST) pastörizasyonu ile 180 °C'de 10 dakikaya kadar farklı ısı-zaman kombinasyonları uygulanmış, sonuçta uygulanan ısı-zaman düzeneklerinin *S. thermophilus*'un gelişmesinde dikkate değer bir etkisinin olmadığı, fakat ısı işleminin şiddetinin artmasına paralel olarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un gelişiminin stimüle edildiği ortaya konulmuştur (Nath, 1993).

6. Aglutininler

Aglutine eden antikorların inhibitör özelliği, peynir yapımı esnasında rennet pıhtısının oluşmasıyla tahrip olduğundan starter kültürler için çok fazla öneme sahip değildir. Bununla beraber aglutininler, cottage peyniri üretiminde starter kültürlerin gelişimini

yavaşlatması nedeniyle önemli kabul edilebilirler (Nath, 1993).

7. Antibiyotikler

Antibiyotiklerin düşük konsantrasyonlarda mevcudiyeti dahi kültürlerin aktivitesinin yavaşlamasına sebep olabilir. Bu durumda peynir üretimi oldukça zordur. Heap (1982), farklı düzeylerde penisilin içeren yağsız sütte, *Lactococcus*'ların asit üretilip geliştiklerini, asit üretiminin normal düzeyde olduğunu fakat kültür aktivitesinin zayıf olduğunu bildirmiştir.

Süt ürünlerinde kullanılan bazı starter kültürlerinin penisiline duyarlılığı Tablo 1'de (Nath, 1993) ve starter kültürlerin inhibisyonuna sebep olan bazı antibiyotiklerin en düşük miktarları da Tablo 2'te gösterilmiştir (Lewis, 1987).

8. pH

Starter kültür aktivitesindeki en önemli kısıtlama, bulk starterin uzun süre muhafaza

edilmesi durumunda ya da peynir teknesinde telemin fazla beklemesi esnasında oluşan yüksek asitlikten kaynaklanır (Nath, 1993, Packham, 2002).

Lactococcus'ların pH 5.0'm altında gelişmelerinin kısıtlandığı ve ortam pH'sının 5.0'in üzerinde olması durumunda gelişmelerinin tekrar arttığı ifade edilmiştir. Düşük pH da gelişme bir kısım enzimlerin direkt inaktive olmasına veya farklı oranlarda sentezlenen bir takım enzimlerin üretiminin kontrol altında tutulmamasına bağlı olabilir. pH 4.6 düzeyine düşüncüye kadar laktik asit üretimi devam etse dahi pH 4.9'a ulaştığında mikroorganizmaların gelişmeleri durabilir. Asidin nötralizasyonu, mikroorganizmaların gelişimi ve glikolizisin tekrar devam etmesine neden olur (Nath, 1993).

Tablo 1. Bakteriler İçin Sütte Kritik Penisilin Düzeyleri

Bakteri	Gelişmeyi İnhibe Eden Penisilin Konsantrasyonları (İÜ/ml)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	0.05-0.10
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	0.10-0.30
<i>S. thermophilus</i>	0.01-0.05
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.30
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	0.30.60
<i>L. acidophilus</i>	0.30.60
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>Casei</i>	0.30.60
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	0.25-0.50
<i>L. helveticus</i>	0.25-0.50
<i>L. citrovorum</i>	0.05-0.10
<i>Propionibacterium shermanii</i>	0.05-0.10

Tablo 2. Bazı Antibiyotiklerin Starter Kültürleri İnhibe Eden En Düşük Miktarları (İÜ/ml)

Antibiyotik	Streptococcus	Lactobacillus
Penisilin	0.07	0.1
Streptomisin	1.00	2.0
Auremisin	0.9	2.0
Nisin	0.1	0.19

9. Bakteriyofajlar

Starter kültürler, *Leuconostoc* ve *Propionibacterium* türleri dışında, bakteriyofajlarla yıkımlanmaya elverişlidir. Bu nedenle bakteriyofajlar, starter kültür üretiminde ayrı bir önem arz eder (Sandine, 1979).

Fajın duyarlı bakteriye etkisi iki şekilde olur. Faj ya konakçı hücreyi lize eder (eritir) ya da bakteri lizojenik hale dönüşür. Son durumda faj, bakteriyi lize etmez, sitoplazmasında bulunur ve bakterinin kromozomuyla birleşir (profaj). Ancak bazı özel şartlarda (örn., ultraviyole ışınlarının etkisi) profaj kendi konakçısını eriterek dışarı çıkabilir (temperate faj) (Sandine, 1979; Arda, 1985). Fajın bulaşmadan sonra bakteriye girmesi ve kendisini çoğaltarak bakteri hücrelerinin parçalanmasına yol açması için sadece 30

dakika yeterlidir. Genellikle fajla kontamine olan bakteriden yaklaşık 300 adet yeni faj oluşabilmektedir (Arda, 1985).

Süt işletmelerinde kontaminasyonun kaynağını başlıca süt, peyniraltı suyu ve bazen de fajla bulaşık olan starter kültürler oluştururlar. İşletmede tüm şartların sağlanması durumunda, starter kültürlerden beklenen fonksiyonlar sağlanamıyorsa fajlardan şüphelenilir (Vedemuthu, 1976; Metin ve Ünlütürk, 1984; Karakuş, 1987). Fajlar ufak su zerrecikleriyle yayıldıklarından kontaminasyonun önlenmesi için, peyniraltı suyunun kapalı bir sistemle imalat bölgesinden uzaklaştırılması gerekir. Bunların yapılmaması durumunda imalathaneye pozitif hava basıncı uygulanmalıdır (Vedemuthu, 1976; Huggins, 1984). Ayrıca faj kontaminasyonunun

önlenmesi için araç ve gereçler kaba kirlerinden (örn., süt proteinleri, yağ ve inorganik tuz kalıntıları) temizlendikten sonra, 200 ppm sodyum hipokloritle yıkanmaları gerekir. Bakteriyofajlarla kontamine olmuş süt işlemlerinde, ya faja duyarlı suşlar seçilip dönüştürülür olarak kullanılır (rotasyon sistemi) ya da çok suşlu starter kültürlerden yararlanılır. Başarılı bir starter rotasyon sistemi için fajla bulaşık olmayan suşların kullanılması ve günlük olarak faj/kültür ilişkisinin test edilmesi gerekir (Huggins, 1984).

Fajlar laktik asit bakterilerini tahrip ettiği peynirde asidite gelişmemekte ve olgunlaşma seyri olumsuz etkilenmektedir. Bakteriyofajların tahribinde HTST pastörizasyon metodu (72 °C'de 16 sn) yetersiz olduğundan, süte daha etkin ısı işlemleri (örn., 75 °C'de 1 saat) uygulanması gerekmektedir (Cox, 1977; Lewis, 1987).

Süt kültürlerinde bakteriyofajların tahrip edici etkisini engellemek için ısı işlemi yanında; kültürün bileşimini değiştirmek, çabuk gelişen fermente kültürleri kullanmak, faj çoğalmasını engelleyen bakteri kültürlerini çoğaltmak, daha fazla inokulum kullanmak ve etkin bir yıkama ve dezenfeksiyon yapmak gibi önlemlerinde alınması gerekir (Svensson ve Christiansson, 1991).

KAYNAKLAR

- Arda, M., (1985). Genel Bakteriyoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No 402, Ankara.
- Barefoot, SF., Nettles, CG., (1993). Antibiosis revised: bacteriocins produced by dairy starter cultures. *J. Dairy Sci.* 76, 2366-2379.
- Buyong, N., Kok, J., Luchansky, JB., (1998). Use of a genetically enhanced, pediocin-producing starter culture, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MM217, to control *Listeria monocytogenes* in cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4842-4845.
- Cox, WA., (1977). Characteristics and use of starter cultures in the manufacture of hard pressed cheese. *J. Soc. Dairy Technol.* 30, 5-15.
- DeValdez, GR., Bibi, W., Bachmann, MR., (1988). Antibacterial effect of the lactoperoxidase/thiocyanate/hydrogen peroxide (LP) system on the activity of thermophilic starter culture. *Milchwissenschaft* 43, 350-352.
- Eijsink, VG H., Skeie, M., Middelhoven, PH., Brurberg, MB., Nes, IF., (1998). Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3275-3281.
- Fox, PE., (1987). *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*. Volume 1, Elsevier Applied Science Publ., London.
- Gonzalez, B., Arca, P., Mayo, B., Suarez, JE., (1994). Detection, purification, and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus* strain of dairy origin. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2158-2163.
- Guessas, B., Kihal, M., (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *Afr. J. Biotechnol.* 3 (6), 339-342.
- Heap, HA., (1982). Sensitivity of starter cultures to penicillin and streptomycin in bulk-starter milk. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 17, 81-86.
- Huggins, AR., (1984). Progress in dairy starter cultures technology. *Food Technol.*, 6: 41-50.
- Karakuş, M., (1987). Fermente süt ürünleri üretiminde starter kültürler, temel işlevleri ve uygulamadaki sorunlar. *Gıda Sanayi Derg.*, 1: 31-36.
- Lewis, JE., (1987). *Cheese Starters Developments and Application of The Lewis System*. Elsevier Applied Science Publ., London.
- Metin, M., Ünlütürk, A., (1984). Süt endüstrisinde kullanılan starter kültürler. *Ege Üniv. Müh. Fak. Derg.* 2 (2), 79-88.
- Mullon, M., (2001). Inhibitor in milk. Erişim: <http://www.dairyscience.info/inhibitors.htm>
- Nath, KJ., (1993). Cheese. Hui YH. ed. *Dairy Science and Technology Handbook Volume 2 Product Manufacturing*. VCH Publishers Inc., New York pp.
- Olson, HC., Gilliland, SE., (1970). The influence of heat treatments on the rates of acid production by lactic cultures. *J. Cult. Dairy Prod.* 5, 2-7.
- Packham, W., (2002). Non-phage inhibition cheese starter lactococci. MSc Thesis. The University of Melbourne Institute of Land and Food Resources. Melbourne.
- Reiter, B., (1986). Biological significance of the antibacterial factors in milk: immunoglobulins, lysozyme, lactoferrin, lactoperoxidase. *International Dairy Federation (IDF)*. ed. *Natural Antimicrobial System, Part 2: Antimicrobial Systems in Milk*. IDF, Brussels.
- Sandine, WE., (1979). *Lactic Starter Culture Technology*. Pfizer Cheese Monographs. Volume VI. Pfizer Inc New York.
- Speck, ML., (1962). Starter culture growth and action in milk. *J. Dairy Sci.* 45, 1281-1286.

- Stiles, ME., (1994). Bacteriocins produced by *Leuconostoc* species. *J. Dairy Sci.* 77 (9), 2718-2724.
- Svensson, U., Christiansson, A., (1991). Methods for phage monitoring. *Bull. Int. Dairy Fed.* 263, 29-39.
- Tekinşen, OC., (1978). Kaşar peynirinin olgunlaşması sırasında mikrofloranın, özellikle laktik asit bakterilerinin, lezzete etkisi ve iç anadolu bölgesinde üretilen ticari kaşar peynirinin kalitesi üzerinde incelemeler. Doçentlik Tezi. A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Programı. Ankara.
- Tekinşen, OC., Atasever, M., (1994). Süt Üretiminde Üretimde Starter Kültür. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Yayın Ünitesi, Konya.
- Tekinşen, OC., (2000). Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniv Basımevi, Konya.
- Vedemuthu, ER., (1976). Getting the most out of your starter. *J. Cult. Dairy Prod.* 11 (1), 16-20.
- Weinbrenner, DR., Barefoot, SF., Grinstead, DA., (1997). Inhibition of yoghurt starter cultures by jensenii G, a *Propionibacterium* bacteriocin. *J. Dairy Sci.* 80, 1246-1253.
- Wolfson, LM., Sumner, SS., (1993). Antibacterial activity of the lactoperoxidase system. *J. Food Prot.* 56, 887-892.