

Peynir Yapımında Mikrobiyal Renet Kullanımı

Dr. Mehmet KARAPINAR — Dr. Adnan ÜNLÜTÜRK

E. Ü. Gıda Fakültesi, Besin Bilimi Bölümü — İZMİR

ÖZET

Peynir yapımında süt koagulanı olarak buzağı reneti yerine kullanılmak üzere proteazlar üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda yoğunluk kazanmıştır.

Günümüzde buzağı reneti standart bir süt koagulanı olarak önemini sürdürmekteyse de, şirden mayası üretimi her yıl giderek gereksinimi karşılayamaz duruma gelmektedir. Bunun sonucu olarak yeni renet kaynakları arasında mikrobiyal renetler konusundaki çalışmalar yoğunlaşmış ve günümüzde **Mucor pusillus**, **M. miehei**, **Endothia parasitica** küf türlerinden elde edilen üç fungal enzim ile **Bacillus cereus** bakterisinden elde edilen bir bakteriyel enzim ticari olarak üretilmeye başlanmıştır.

Giriş

Peynir, peynir mayası veya zararsız organik asitlerle, örneğin süt asidi yardımıyla pıhtılaştırılan, çeşitli şekillerde işlenmesi sonucu elde edilen bir süt mamulüdür. Organik asit yardımı ile elde edilen ürünler genellikle olgunlaşmaya tabi tutulmadan tüketilmekte, bu nedenle de üretimleri sınırlı olmaktadır. Peynir mayası kullanılarak yapılan peynirler ise bir olgunlaşma devresi geçirerek çeşidine ve uygulanan işleme yöntemine göre özel tat, aroma ve yapı kazanırlar. Dünyadaki üretimin büyük bir kısmı bu şekilde yapılmaktadır.

Günümüzde peynir, değişik hayvan türlerinin sütlerinden yaygın olarak üretilmekte ve tarımsal ekonomi içerisinde peynir üretimi önemli bir yer tutmaktadır. Dünyadaki peynir üretiminin yaklaşık 6 milyar kg. olduğu ve bu üretim hacminin yılda 250 milyon kg.lık bir artış gösterdiği bildirilmektedir. (12).

Renet sözcüğü süt endüstrisinde genellikle buzağı şirdeninden ekstrakte edilen ve peynir yapımında sütü koagüle etmek için kullanılan bir enzimi ifade eder. Daha genel anlamda ise sütü pıhtılaştırarak stabil bir pıhtı oluşturan tüm enzim preparatlarına renet ismi verilmektedir.

Renet, eğer enzim saflaştırılmışsa renin ismini almaktadır.

Günümüzde buzağı reneti standard bir süt koagulanı diğer bir ifade ile peynir mayası olarak önemini sürdürmektedir. Ancak dünyada peynir üretimindeki artışlar ve buna karşın buzağı kesimindeki azalmalar nedeniyle bu yolla üretilen maya gereksinimi karşılamakta bu nedenle şirden mayasının yerine geçebilecek maddelere olan yöneliş ve buna ilişkin araştırmalar önem kazanmış bulunmaktadır. Bu amaçla çeşitli bitki ekstraktları, tripsin, kimotripsin gibi hayvansal enzimler ve mikrobiyal proteolitik enzimler denenmiştir. Birçok bitki proteinazları oldukça yüksek proteolitik aktiviteye sahip olmakla birlikte, bunların sütü pıhtılaştırma aktivitelerinin düşük olması bunun yanında çok yüksek proteolitik aktivite nedeniyle ürün kaybına, dolayısıyla düşük peynir verimine yol açmaları nedeniyle pratikte kullanımları sözkonusu değildir.

Şirden mayası dışındaki hayvansal kaynaklı rennetlerden tripsin ve kimotripsin enzimleri iyi kalitede peynir vermediğinden bunlara göre daha iyi sonuçlar veren tripsin üzerinde çalışmalar yoğunlaşmış ancak şirden mayası yerine veya onunla birlikte kullanılan tripsin enzimi ile üretilen peynirlerde acımsı bir tat ve arzu edilmeyen bir yapının oluşması çözümü gereken sorunlar olarak ortaya çıkmıştır.

Mikrobiyal rennetler hem ekonomik olmaları hem de şirden mayası ile elde edilen ürünlere yakın özelliklerde ürün vermeleri nedeniyle süt koagulanı olarak buzağı reneti yerine kullanılacak en uygun kaynağı oluşturmaktadırlar. Bu gün için **Mucor pusillus**, **Mucor miehei** ve **Endothia parasitica** küf türlerinden üretilen mikrobiyal rennetlerin A.B.D. başta olmak üzere, Kanada, Japonya ve birçok Avrupa ülkelerinin gıda tüzüklerinde kullanılmasına olanak tanımış ayrıca bunlara ait spesifikasyonlar ve toksikolojik değerlendirme sonuçları dünya sağlık teşkilatı ile gıda ve tarım teşkilatı tarafından yayınlanmıştır (2,3).

Sütü pıhtılaştırıcı mikrobiyal enzimlere ait ilk bilgiler 1892 yıllarında ortaya konmuş olup 1921 yılında A.B.D.'de Takamine ve Takamine adlı araştırmacılara **Aspergillus**, **Mucor**, **Penicillium** ve **Eurotium oryzae** türlerinden üretilen rennetlerin kullanma patenti verilmiştir (11).

Bakteriyel Rennetler

Kısa fermentasyon süresi içerisinde titri yüksek aktif maddeler vermeleri bakımından bakterilerden enzim üretimi, daima diğer mikroorganizma gruplarına göre daha ilgi çekici olmuştur. Ancak bakteriyel rennetlerin oldukça yüksek ve spesifik olmayan proteolitik aktivite göstermesi, peyniraltı suyunda yağ ve azotlu maddelerin kaybına dolayısıyla peynir veriminin düşmesine ve olgunlaşma süresi sonunda düşük kalitede ürün eldesine yol açtığından bunların ticari fermentasyonu uygulama alanı bulamamıştır.

Birçok bakteri türünün sütü pıhtılaştırıcı enzimleri ürettiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Esasen bakteri türleri arasında proteolitik aktivitenin yaygın olması gözönüne alınacak olursa bu durum normal olarak karşılanmalıdır.

Bacillus türleri mikrobiyal rennet üretici bakteriler arasında üzerinde önemle durulan grubu oluşturmuştur. Bunlar arasında **Bacillus polymyxa** türünün salgılamış olduğu enzimin oldukça iyi özellikler taşıdığı bildirilmektedir. Bu bakterinin salgılamış olduğu enzimin buzağı renneti yerine kullanılması konusunda Japon firması Godo Shusei Co. tarafından patent alınmış ve enzim Milcozyme ticari ismi ile piyasaya sürülmüşse de kullanımı daha çok deneysel çalışmalarla sınırlı kalmıştır. Bu enzim, buzağı rennetine göre daha geniş bir sıcaklık aralığında (40-60°C) optimum aktivite gösterebilmekte, pH 4 ile 9.0 arasında stabil ve aktif kalabilmektedir (7,12). Diğer bir **Bacillus** türü **B.subtilis**'in ürettiği enzim, üzerinde en fazla çalışılan bakteriyel rennetlerden biridir. İlk defa İngiltere'de 1944 yılında Shimwell ve Evans adlı araştırmacılar bu rennet için patent almışlardır. Bunları Amerika'da alınan patentler izlemiştir (11). **Bacillus subtilis** ile yapılan çalışmalar bu organizmanın asidik, bazik ve nötral karakterde üç tip proteolitik enzim ürettiğini ve bu enzimlerin oranlarının kültür şartlarına ve suşlara göre değiştiğini göstermiştir.

Ancak **B.subtilis**'ten elde edilen rennet çok yüksek proteolitik aktivite gösterdiğinden, peyniraltı suyunda fazla yağ ve protein kaybına neden olmakta ve yumuşak bir pıhtı vermektedir. Bu bakımdan bu enzimin ticari çapta üretimi söz konusu değildir. Rao ve Mathur (8), **B.subtilis K 26** bakterisinden elde ettikleri saflaştırılmamış ve saflaştırılmış enzimlerin cheddar peyniri yapımında süt koagulantı olarak kullanıma durumlarını incelemişler ve saflaştırılmamış enzim kullanıldığında asid oluşumunun hızlandığını, protein ve yağ kaybının yüksek, peynir veriminin ise düşük olduğunu gözlemişlerdir. Ancak şirden mayası ile birlikte saf enzimi 50:50 oranında kullandıklarında elde edilen peynirin şirden mayası kullanılarak yapılan peynir özelliklerinde olduğunu saptamışlardır.

Bacillus cereus bakterisinden elde edilen rennet en olumlu sonuç veren bakteriyel rennet olup A.B.D.'de Miles, Laboratories, Inc. firması bu süt koagulantının patentini almış (10) ve rennetin özellikleri Dünya Sağlık Teşkilatı ile Gıda ve Tarım Teşkilatının (WHO/FAO) 1971 yılında yaptıkları müşterek toplantıda hazırlanan gıda aditifleri raporunda belirtilmiştir (2).

Fungal Rennetler :

Endothia parasitica, **Mucor miehei** ve **Mucor pusillus var. Lindt.** küflerinin değişik suşlarından elde edilen süt koagulantları dünyada ticari olarak üretilen mikrobiyal rennetlerin hemen tamamını kapsamaktadır. Çizelge 1 de piyasaya değişik firmalar tarafından farklı ticari isimlerle çıkarılan fungal rennetler görülmektedir.

M.pusillus dışındaki tüm mikroorganizmalar soya unu, glukoz, nişasta hidrozoatları ve mineral tuzları içeren besi yerlerinde derin kültür yöntemi uygulanarak üretilmektedir. **Mucor pusillus** derin kültürde çok yüksek proteolitik aktivite verdiği için kepek üzerinde yüzey fermentasyona tabi tutulmaktadır. (11). Ancak Khan ve arkadaşları (5) glukoz ve mısır ıslatma suyunu karbon ve azot kaynağı olarak içeren besi yerinde derin kültür fermentasyonuna tabi tutulan **M.pusillus**'un, diğer araştırmacıların bulgularından farklı olarak iki asidik proteaz ürettiğini ve bunlardan birisinin önemli derecede rennin aktivitesine sahip iken diğerinin bu bakımdan zayıf olduğunu saptamışlar; peynir

Çizelge 1. Mikrobiyal Renetler (12)

Kullanılan Mikroorganizma	Renet Ticari İsmi	Üretici Firma
<i>Endothia parasitica</i>	Suparen	Pfizer International
<i>Endothia parasitica</i>	Sure - Curd	Pfizer, Inc.
<i>Mucor miehei</i>	Fromase	Wallerstein Company
<i>Mucor miehei</i>	Hannilase	Chr. Hansen's Laboratory, Inc.
<i>Mucor miehei</i>	Marzyme	Miles Laboratories, Inc.
<i>Mucor miehei</i>	Rennilase	Novo Industry A/S
<i>Mucor pusillus</i> var. Lindt.	Emporase	Dairyland Food Laboratories, Inc.
<i>Mucor pusillus</i> var. Lindt.	Meito MR	Meita Sangyo
<i>Mucor pusillus</i> var. Lindt.	Noury Rennet	Vitex

olgunlaşma süresinde bazı organoleptik bozukluklara yol açan ve spesifik aktivite göstermeyen bu ikinci enzimin, enzim preparatından uzaklaştırılması ile elde edilen rennetin daha iyi sonuç verebileceğini belirtmişlerdir.

Tüm ticari mikrobiyal rennetler süt koagulantı enzimler dışında diğer enzimleri içeren bir karışım olarak elde edilirler. Bu enzimler —ki lipaz ve proteolitik enzimler önem arzeder— peynir işlemede bazı istenmeyen reaksiyonların gerçekleşmesine neden olduğundan bunların rennette bazı arıtma işlemleri yapılarak uzaklaştırılması gerekir.

Lipaz enzimi sütün yağ fraksiyonuna etki ederek peynirde ransid koku oluşmasına ve ayrıca yağ kaybına neden olduğundan tüm mikrobiyal rennetlerin bu enzim bakımından test edilmesi ve eğer fazla miktarlarda ise bunun uzaklaştırılması gerekir. Peynir mayasında proteolitik aktivite belirli bir düzeye kadar yararlı ise de mikrobiyal rennetlerde çok fazla proteolitik aktivite süt proteinlerinin yüksek oranda parçalanmasına neden olduğundan peynir veriminin düşmesine ve yumuşak ürün elde sine yol açar. Ayrıca fazla proteoliz sonucu üründe acı tad oluşur. Bu bakımdan mikrobiyal rennetlerin pıhtı oluşturma kuvvetlerinin proteolitik aktivitelerine olan oranlarını iyileştirmek ve yükseltmek amacıyla yine saflaştırma işlemi yapılır. Bu üç küf türünden elde edilen mikrobiyal rennetlerle Cheddar, Gouda, Camembert, Edan, Emmental, Italico, Kaşkaval, Tilsit gibi birçok peynir çeşidinin yapılmakta olduğu bildirilmektedir (6, 12). Öte yandan Türkiye'de yapılan bir araştırmada *E. parasitica*'dan elde edilmiş «Suparen» isimli mikrobiyal

rennet ile yapılan beyaz ve kaşar peynirlerinin duyuşal, kimyasal ve fiziksel özelliklerinin şirden mayası kullanılarak yapılan peynirlere göre bir farklılık göstermediği, hatta duyuşal nitelik ve randıman bakımından üstünlük sağlandığı saptanmıştır (13). Bu rennetlerin endüstride sağladığı olumlu sonuçlar mikrobiyal rennet kaynağı olarak ilginin küfler üzerinde toplanmasına neden olmuş bu amaçla *Byssoschlamys fulva*, *Rhizopus chinensis*, *Aspergillus candidus*, *A. ochraceus*, *Rhizopus niveus* gibi bir çok küf türünün mikrobiyal rennet üreticisi olarak kullanımı üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır (1, 4, 9, 11). Bu çalışmalarda kullanılan mikroorganizmaların aşağıda sayacağımız özelliklerde rennet vermesi, üzerinde durulan noktaları oluşturmaktadır. Bunlar;

- 1 — Elde edilen mikrobiyal rennetin sütü pıhtılaştırma gücünün proteolitik aktivitesine oranının yüksek olması diğer bir deyimle yüksek pıhtılaştırma gücü yanında düşük proteolitik aktivite göstermesi,
- 2 — Sütü pıhtılaştırıcı enzimler dışındaki lipaz, proteaz, selülaz v.b. enzimlerin olmaması veya en düşük düzeylerde bulunması,
- 3 — Ucuz ve basit şekilde elde edilmesi,
- 4 — Fazla sayıda peynir çeşidinin yapımında kullanılabilmesi,
- 5 — Depolama süresinde stabil kalması,
- 6 — Peynir suyu altındaki kalıntı enzimin hızla inaktif hale gelmesi.

SONUÇ

Sonuç olarak diyebiliriz ki mikrobiyal rennetler özellikle ticari olarak üretilen Fungal rennetler (*Endothia parasitica*, *Mucor miehei* ve *Mucor pusillus*) dünyadaki süt endüstrisi içer-

sinde yerlerini almışlar ve şirden renetine göre bazı avantajlar sağlamışlardır. Ancak bu demek değildir ki mikrobiyal renetlerin hiçbir kusuru yoktur. Ticari mikrobiyal renetler oldukça yüksek sıcaklık stabilitesine sahiptirler. Bu bakımdan peynir altı suyuna geçen kalıntı enzim pastörizasyon işlemi ile inaktif hale geçmediğinden peyniraltı suyu proteinleri üzerine etki ederek bunların kaybına neden olur. Mikrobiyal renetler buzağı renetine göre daha az sayıda peynir çeşidi için kullanılmış olduğundan her peynir çeşidi için yeni uygulama yöntemlerinin geliştirilmesine gerek duyulmaktadır. Mikrobiyal renetlerin diğer bir dezavantajı mutasyon ve fermentasyon koşullarında doğabilecek ufak bir değişiklik nedeniyle değişik partilerde farklı ürün elde etme olasılığıdır.

Tüm bu bazı olumsuz yanlarına rağmen mikrobiyal renetler bugünden önemli bir süt koagulanı olarak süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve gelecekte bu

kullanımın artacağı da kesinlik kazanmış bulunmaktadır.

SUMMARY

The Use of Microbial Rennets in Cheese Making

In recent years attempts have been made to obtain proteases which would be used as a coagulant in cheese manufacture as a partial or general substitution of calf rennet. Although calf rennet remains the industry standard with which other coagulants are compared; the shortage of that product becomes greater every year. As a result of this event, a great deal of attention has been paid to the use of microbial rennets in cheese making. At the moment, at least three fungal enzymes produced by *Mucor pusillus*, *M. miehei* and *Endothia parasitica* and one bacterial enzyme produced by *Bacillus cereus* are commercially available for this purpose.

KAYNAKLAR

1. Chu, P.S., P.Y.W. Nei and P.S.C. Leung. 1973. Byssochlamyopeptidase A, a Rennin-like enzyme produced by *Byssochlamys fulva*. *Appl. Microbiol.* 25 (2): 163-168.
2. F.A.O. 1972. Specifications for the identity and purity of some enzymes and certain other substances. Nutrition meetings Report. no 50 B. Rome, Italy.
3. F.A.O. 1975. Toxicological evaluation of some food additives. Nutrition meetings Report no. 55A. Rome, Italy.
4. Foda, M.S., A.A. Azza and M.A. Khorshid. 1975. Production of a new renninlike enzyme by *Aspergillus ochraceus*. *Milchwissenschaft* 30 (10): 598-601.
5. Khan, M.R., J.A. Blain, and J.D. Patterson. 1979. Extracellular Proteases of *Mucor pusillus*. *Appl. and Envir. Microbiol.* 37 (4): 719-724.
6. Martens, R. 1973. Gouda cheese made with microbial rennets derived from *Mucor miehei*. *Milchwissenschaft*, 28 (2): 87-91.
7. Poznanski, S.A., A. Repts, J. Kowalewska, J.R. Maszewski, and L. Jedrychowski 1974. Proteolytic activity of coagulating preparations of microbial origin depending on a kind of substrate. *Milchwissenschaft* 29 (12): 742-745.
8. Rao, L.K., D.K. Mathur 1979. Enzyme from *Bacillus subtilis* K.26 for cheddar cheese making. *J. Dairy Sci.* 62: 378-383.
9. Repts, A., S. Poznanski and W. Kowalska 1970. Characteristics of milk coagulating proteases obtained from *Byssochlamys fulva* and *Endothia parasitica*. *Milchwissenschaft*. 25 (3): 146-150.
10. Sardinas, J.L. 1969. New source of rennet. *Process Biochem.* 4: 13-16, 21.
11. Sardinas, J.L. 1972. Microbial Rennets. *Advan. Appl. Microbiol.* 15: 39-73.
12. Stenberg, M. 1976. Microbial Rennets. *Adv. Appl. Microbiol.* 20: 135-157.
13. Şehidi, G. 1974. *Endothia parasitica*'dan elde edilmiş pıhtılaştırıcı enzimle (Suparen) işlenen bazı yerli peynirlerimizin teknolojik nitelikleri üzerinde araştırmalar, Doktora Tezi, A.Ü. Ziraat Fakültesi, Ankara.