

## Süt ve Ürünlerinde Lipoliz

Dr. Metin ATAMER — Adnan ÇAVUŞ — Hürriyet ŞEN

A.Ü. Zir. Fak. Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü — ANKARA

Lipoliz; süt yağının enzimatik olarak hidrolizasyonudur. Trigliseridlerin hidrolizasyonu sonucunda serbest hale geçen küçük moleküllü yağ asitlerinin miktarına bağımlı olarak süt ürünlerinde acılaşıma olarak nitelendirilen aroma bozuklukları görülmektedir. Aroma bozukluklarında birçok tepkime bir arada olduğu için (mikrobiyolojik, enzimatik, kimyasal) bozulma nedenini saptamak son derece güçtür.

Özellikle tereyağının dayanım süresinin belirlenmesinde önemli etkiye lipoliz olayının nedeni olarak lipaz enziminin çok geniş sıcaklık dereceleri arasında aktivitesini koruduğu yada reaktif hale geldiği saptanmıştır.

Sütçülükle ilgili kitapların pek çoğunda lipazın ısıya dayanıklı bir enzim olmadığı, optimum pH'sı 8.5-9.0, en faal olduğu sıcaklık 37°C, 45°C'den sonra faaliyetinin zayıfladığı, 55°C'de 30 dakika tutulan sütlerde tamamen harap olduğu, pastörizasyon sıcaklığının 10°C altında bile inaktif hale geldiği belirtilmektedir (21). Ancak lipazın HTST pastörizasyon yöntemi ile büyük bölümünün inaktif olduğu, tamamının inaktivasyonu için daha yüksek ısı uygulamasının gerekli olduğu ileri sürülmektedir (6). Konu ile ilişkin araştırma bulguları arasında, süt lipazının inaktivasyonu için ısı uygulamasının pratik olarak önemi vurgulanmış ve 87°C'di 17.6 saniyede bazı lipazların aktif olduğu, yağ ve yağsız kurumaddenin li-

pazı ısı inaktivasyonundan koruduğu yer almaktadır (4). Ayrıca, 62.9°C'den 96.1°C'ye kadar değişen sıcaklık derecelerinde (süre 30 dakika) ve 146°C'de (3.2 s.) yapılan sterilizasyondan sonra lipazın aktif olduğu belirlenmiştir (19).

Isı uygulamasının lipaz enzimi üzerindeki etkisi yukarıda açıklanan şekilde ortaya çıkarırken, soğukta depolamanın hatta derin dondurucularda muhafazanın bile etkisinin sınırlı olduğunu gözlemek mümkündür.

Krema kalitesi, pastörizasyon ve depolama sıcaklığının tereyağında lipaz aromasının gelişimine etkisi araştırılırken, — 28.9°C'de depolanan örneklerde lipazın aktif olduğu saptanarak, bu durum kalıntı lipazın aktivitesi veya lipazın reaktivasyonu şeklinde yorumlanmıştır (3).

Extrem değerler olmasına karşın lipaz enziminin — 28.9°C'den 146°C'ye kadar aktivitesini koruması yada reaktif hale gelmesi süt ürünlerinin dayanımı açısından önem taşımaktadır.

Süt ve ürünlerindeki lipaz iki kaynaktan ileri gelmektedir. Birincisi doğal lipaz, diğeri ise mikrobiyel orijinli lipazdır. Sütte lipolize neden olan değişik esteralitik/lipolitik enzimler aşağıdaki şekilde verilmektedir (7).

Enzimler	Etkileri
A — tipi karboksilik ester hidrolaz	Zayıf
Kolinesteraz	Zayıf
Asit lipaz	Şüpheli
Bakteriyel lipolitik enzimler	sayıları ml'de > 10 <sup>6</sup> - 10 <sup>7</sup> olunca etkili
Alkali lipolitik enzimler	Gerçek sorumlu

### LIPOLİZ ÇEŞİTLERİ :

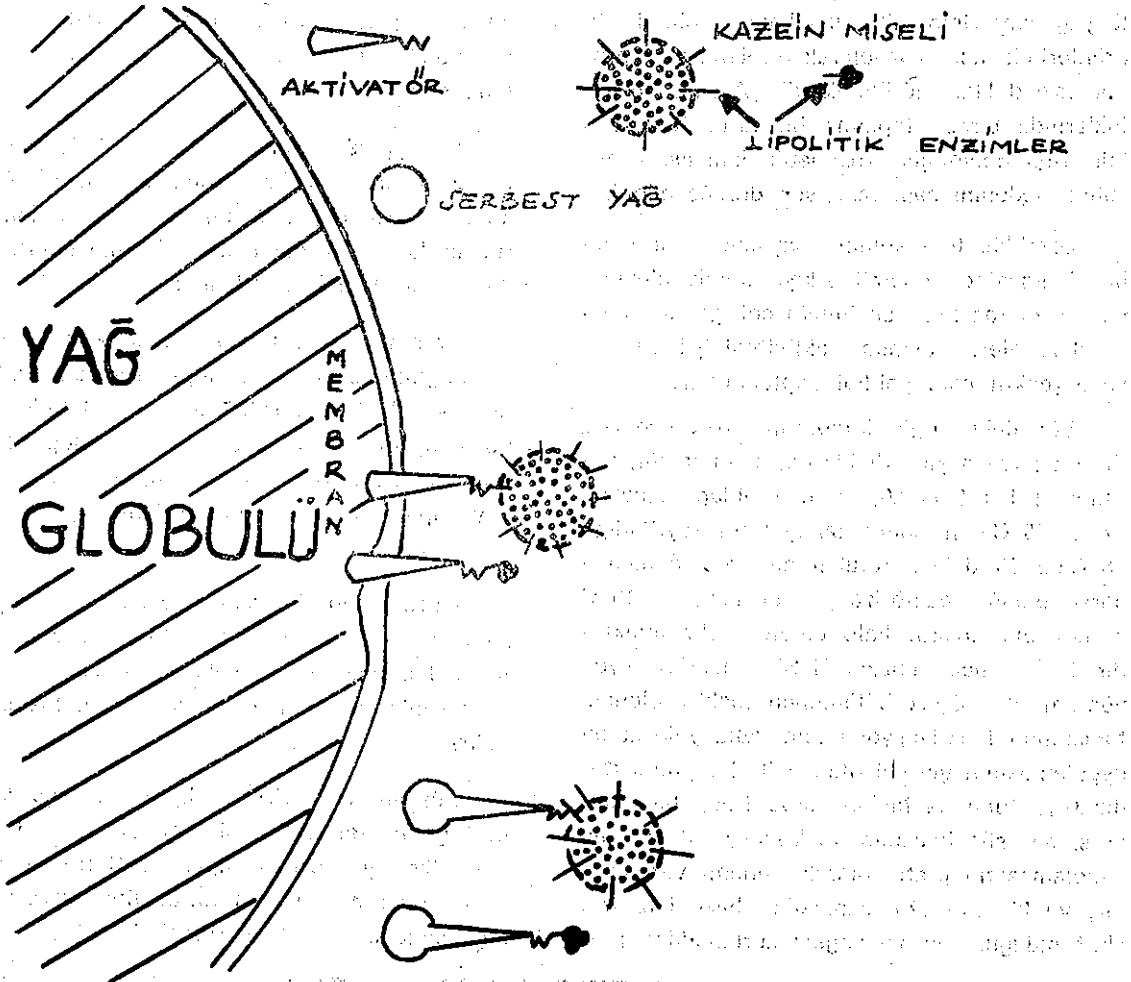
Genel olarak iki grup altında toplanmaktadır.

- Kendiliğinden oluşan lipoliz (Membran lipazı ile ilişkilidir)
- Teşvik edilen lipoliz (Plazma lipazı ile ilişkilidir).

— Kendiliğinden Oluşan Lipoliz :

Membran lipazı, kendiliğinden oluşan lipolizle ilişkilidir. Sütte emülsiyon halinde bulunan yağ globüllerinin etrafı fosfolipid - protein gliserid özelliğinde bir tabaka ile çevrilidir. Süt inekten sağıldığı zaman yağ globülleri dis-

pers hale gelir. Bu aşamada yağ globülleri ile ilişkili halde bulunmadığı için lipaz inaktiftir (8) (Şekil 1). Sağımdan sonra, sütte yüksek oranda serbest yağ asidi (FFA) birikimi sütün soğutulması veya ısıtılması ile ortaya çıkar (12).

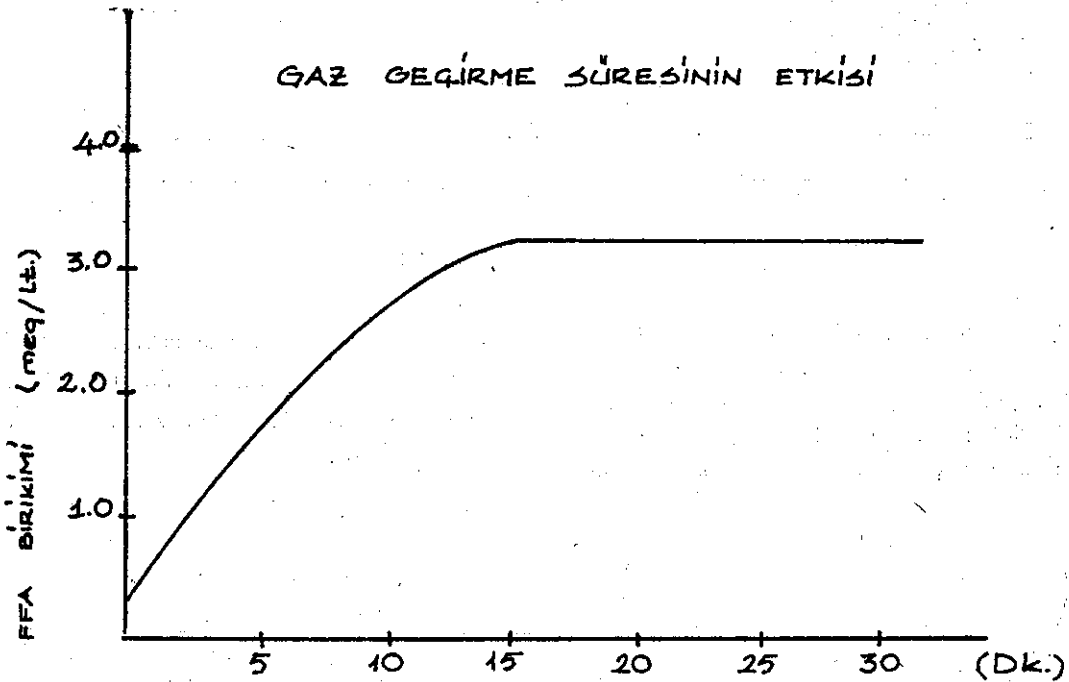


Diğer bir ifade ile soğutma ile başlaması kendiliğinden oluşan lipolizi, teşvik edilen lipolizden ayıran en önemli özelliktir (7). Nitekim, memede eseri olarak serbest yağ asidi bulunmasına karşın, soğutulma veya herhangi bir aktivasyon uygulaması sağlanana kadar taze çiğ sütte çok az veya hiç lipoliz meydana gelmez. Membran lipazı, globüller tarafından adsorbe edilene kadar aktif değildir. Soğutma ile, globüller membran lipazını adsorbe eder. Enzim yağ ilişkisi sonucunda hidrolizasyon meydana gelir. Soğutmanın hızı ve derecesi kendiliğinden oluşan lipolizi önemli ölçüde etkilemektedir. Lipoliz oranı hızlı soğutulan sütte daha fazla, yavaş soğutulanlara oranla daha fazladır. Benzer şekilde bir etki de 5.5°C yerine 0°C'ye soğutulan sütte görülmüştür. Ortaya çıkan sonuçların nedenleri, düşük sıcaklıkta daha fazla membran lipazının adsorpsiyonu ve globül yüzeylerinde bozulma olarak gösterilmiştir (12).

Ancak, elektron mikroskopu ile yapılan incelemede, lipolize sütte, normal sütün yağ globülleri arasında farklılık olup olmadığı saptanamamıştır (20).

Soğutma aynı zamanda yağ küreciklerinin dış bölümündeki erime noktası yüksek ve doymamış olan lipidlerin hacmini azaltmakta ve kristalleşmelerine neden olmaktadır. Bu yüzden yağ küreciğinin içinde sıvı halde bulunan az doymuş yağ asitleri zardan dışarı taşınarak yağ küreciğinin yüzeyinde toplanmakta ve enzimlerle direk temasta bulduklarından bozulmaları kolaylaşmaktadır. İlaveten, soğutucunun etkisini artırmak ve sütü daha çabuk soğutmak için tanklara yerleştirilen karıştırıcılar da lipoliz olayını hızlandırmaktadır. Karıştırma sonucu büyük yağ kürecikleri parçalanmakta ve lipaz enzim aktivitesi yükselmektedir (18).

— Teşvik Edilen Lipoliz :



Benzer sonuç 3:2 v/v oranında karıştırılmış çiğ ve pastörize (homogenize edilmiş) süt, 16°C'de inkübasyona bırakılmış, 2 saat içinde hızlı bir artış gösteren serbest yağ asiti içeriği 3 mek/L seviyesinde sabit kalmıştır. Ayrıca, trigliseridlerden toplam yağ asitlerinin % 16'sının serbest hale geldiği saptanmıştır (8).

Homogenizasyonun, teşvik edilen lipoliz üzerine etkisinin nedenleri aşağıdaki şekilde açıklanmıştır.

Teşvik edilen lipolize, plazma lipazı neden olmaktadır. Çözünabilir kazein ile ilişkili olan plazma lipazı, aşırı çalkalama, homogenizasyon v.b. aktivasyon etmenlerinin uygulanması ile aktifleşir. Yağ globüllerinin koruyucu unsuru olan globül zarı, çalkalanma yada diğer mekanik etkiler sonucunda parçalanır. Bu nedenle, enzim trigliseridler ile ilişkili duruma gelecek, hidrolizasyon olayını gerçekleştirir.

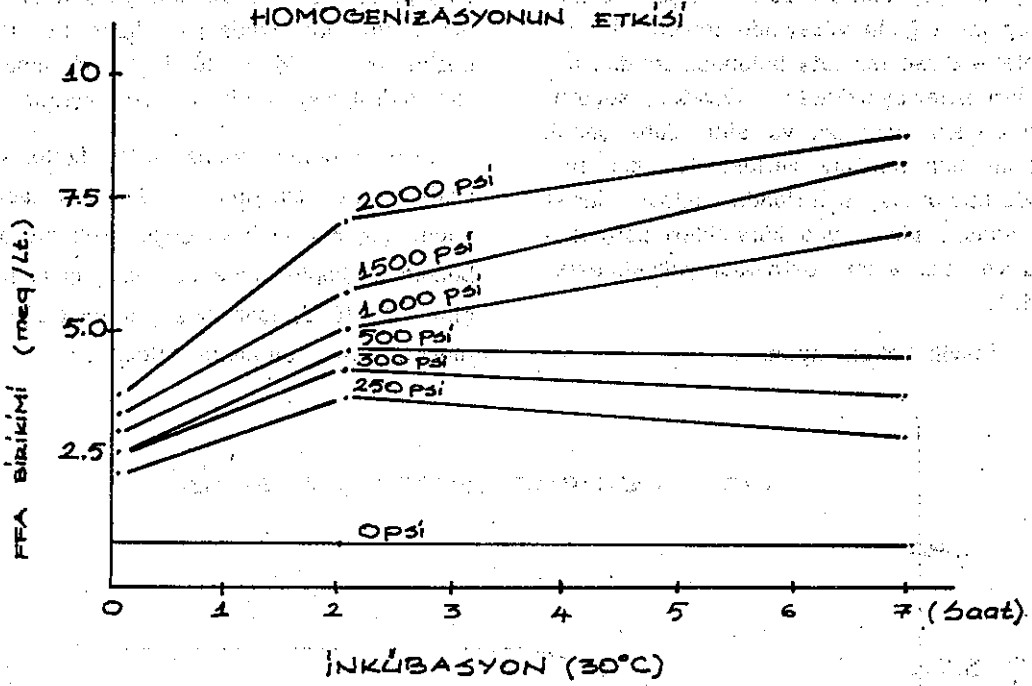
Teşvik edilen lipolize etkili faktörler üzerinde yapılan çalışmalar oldukça fazladır. Örneğin; çiğ süttten hava geçirilerek oluşan turbülans ve köpüklenme serbest yağ asiti içeriğinin 10-15 d. içerisinde 3.5 mek/L'ye ulaşmasına neden olmuştur (Şekil 2).

- Homogenizasyon sonucunda yağ globüllerinin kazein kaplanması,
- Homogenizasyon ile substrat yüzey alanında meydana gelen genişleme ve buna bağlı olarak enzim etkisini artırması (12).

Genel olarak homogenizasyon basıncındaki artışa paralel olarak serbest yağ asiti içeriğinde artış gözlenmiştir. Ancak başlangıç

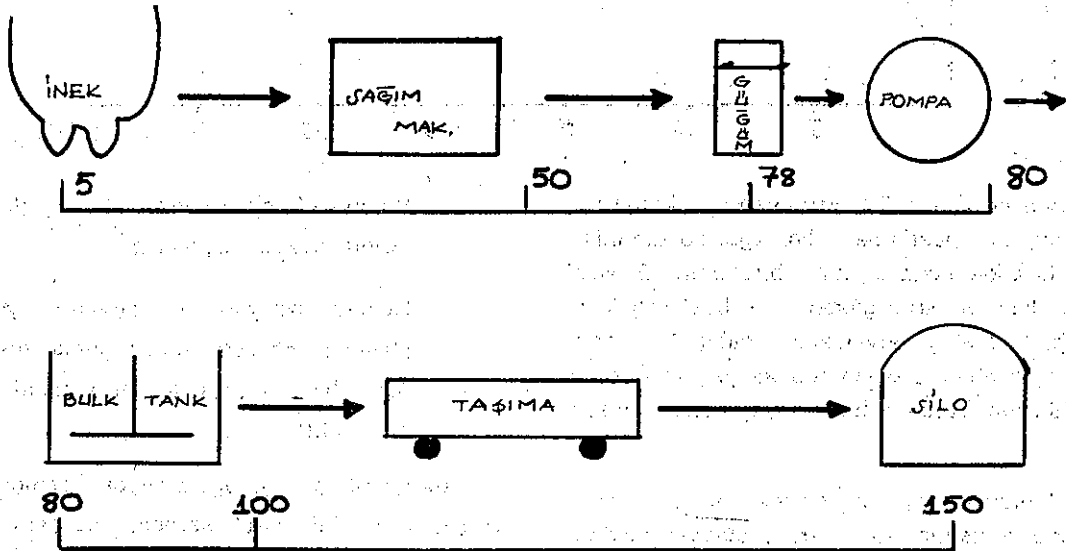
aşamasında hızlı bir artış gösteren serbest yağ asiti içeriğinde bunu izleyen devrede özellikle düşük basınç uygulamalarında belirgin artış ortaya çıkmamaktadır. Örneğin homogenizasyon

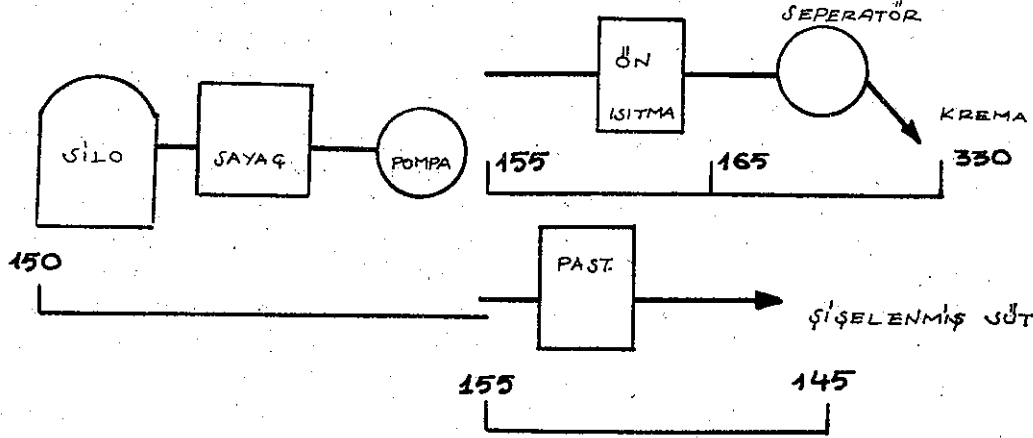
basıncında 200'den 2000 psi'ye artış, 2. saat içinde serbest yağ asiti içeriğinin 2 ila 8 meq/L arasında değişim göstermesine neden olmuştur (8) (Şekil 3).



Çeşitli mekanik faktörlerin serbest yağ asiti içeriğine etkisini belirlemek amacı ile yapılan çalışmaya göre, bulk tankında serbest yağ içeriği 100 kabul edilerek yapılan değerlendirmede, sağımda 5 değerini gösteren ser-

best yağ asitleri seviyesi çeşitli aşamalardan sonra ve bunların yarattığı mekanik etki sonucunda pastörize sütte 145'e kremada ise 330'a ulaşmıştır (Şekil 4).





Ancak pastörizasyondan sonra meydana gelen azalmanın nedeni kesin olarak açıklanamamıştır (2).

Doğal süt lipazının yanında, pekçok bakteri türünün ürettiği benzer enzimlerinde lipoliz üzerine etkisi oldukça önemlidir. Genellikle pastörizasyon öncesi süt, çiftlik ve fabrikalarda + 4°C'de depolanmaktadır. Üretimden işleme aşamasına kadar, geçen bu süre, gerek sütün doğal mikroflorasından gelen, gerekse sonradan bulaşan psikrotrofik bakteriler ve diğer lipolitik mikroorganizmaların gelişmeleri, özellikle lipaz ve proteinazlar oluşturmaları için yeterlidir. Sütçülükte uygulanan pastörizasyon işleminde doğal süt lipazı ve anılan mikroorganizmaların büyük çoğunluğu inaktive olurken, bunların ürettikleri ekstraselüler enzimler tamamen inaktivite olmamaktadır (5, 7). Bu durum süt ve ürünlerinde lipolizin, üretim sonrasında devamının başlıca nedenidir.

Süt mikrobiyolojisinde önemli lipolitik mikroorganizmalar arasında, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas mephitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas nigrifaciens*, *Alkaligenes serratia*, *Achromobacter lipolyticum*, *Achromobacter lipidis*, *Bacterium lipolyticum*, *Candida lipolitica*, *Cladosporium butricum*, *Ceotrichum candidum*, *Penicillium requeforti* sayılabilir (10, 15, 17).

Bu mikroorganizmalar fazla miktarda toprakta, havada, tatlı ve tuzlu sularda, kuvvetli tuz çözeltilerinde, alet ve ekipmanlarda bulunarak, salamura suyu, tereyağı yıkama suyu ve temizlik sularıyla süt ürünlerine geçebilmektedirler.

Nitekim yürütülen çalışmalarda, değişik işletmelerden sağlanan sütlerin tamamına yakın bölümünde ısıya dayanıklı (149°C'de 10 s.) proteinazlara rastlanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca, izole edilen 60 psikrotrofik türün % 30'unun ısıya dirençli (90°C'de 2 d.) proteinaz ve lipazlar ürettiği saptanmıştır. Mikrobiyal proteinaz ve lipazların % 90 inaktivasyonu için gerekli zaman HTST pastörizasyon yönteminde gereken süreden daha uzundur (5). Mikrobiyal proteinazlar ısıya karşı lipazlardan daha dirençli olmaları nedeniyle süt ürünlerinin bozulmalarında önemli etkiye sahiptirler (8).

Çiğ süt örneklerinde % 75 oranında saptanan *Pseudomonas*lar tüm psikrofilik organizmaların yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadırlar (15). Bu durum *pseudomonas*ların lipolitik aktivitelerinin önemini ortaya koymaktadır. Mikrobiyel kökenli lipoliz özellikle *Pseudomonas fluorescens* lipazları ile ilişkilidir. Test edilen bakterilerin lipaz inaktivasyon kurveleri 100°C'deki ısıya dayanıklı olduğunu göstermiştir (14).

*Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter lipolyticum*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas species* gibi 5°C'de gelişebilen bu bakterilerin, lipaz aktivitelerinin % 90'nının inaktivasyonu için sırasıyla (98°C'de) 25, 18, 16 14 d gereklidir (16).

Hücre başına üretilen lipaz miktarı *Pseudomonas*'larda 5°C ve 2°C'lerde aynı olduğu görülmüştür. Genelde hidrolizin düşük sıcaklıklarda önlenmesine karşın soğukta depolanan gıdalarda önemli miktar lipazın üretilebileceği ve hidroliz yapısının türlere ve sıcaklıklara göre değiştiği görülmüştür (13). Bunun ya-

nında mikrobiyel yolla yağ asitlerinin oluşumunda laktoz katabolizmasının ve amino asitlerinin transformasyonunun etkisi büyüktür (17). *Pseudomonas fluorescens* ve *Pseudomonas putrefaciens*'in daha yüksek lipolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Her iki enzim 120°C'de ısı uygulamasında büyük ölçüde inaktif hale gelmesine karşılık, kalıntı lipolitik aktivite % 5 olarak bulunmuştur. *Pseudomonas fluorescens* lipolitik enzimi katılmış sütlerde, depolamada belirgin lipoliz görülmüştür (11).

Kültür kullanılarak yapılan tereyağlarında lipolizi oluşturan mikroorganizmaların başında maya ve küfler gelirken, tatlı krema tereyağlarında hidrolitik ransiditeyi bakteriler geliştirirler (7).

Peynirde olgunlaştırma döneminde yağ, proteinler kadar değilsede belirli bir miktarda değişime uğrar. Lipolitik aktivite, uygulanan teknolojiye göre doğal süt lipazı mikrobiyel lipaz ve enzim preparatlarından kaynaklanabilir. Peynir yapımında yararlanılan Laktobasil'ler gibi bazı starter mikroorganizmalarda otolizle intraselüler lipazlar salgırlar.

Mikrobiyel lipolitik enzimler süt ve ürünlerinde işlem öncesi ve sonrasındaki aşamalarda etkilerini sürdürerek konuya ticari açıdan önem kazandırmaktadırlar (10).

Süt yağının yapısındaki alçak môleküllü uçucu yağ asitlerinin gliseridleri oldukça hoş aromaya sahiptir. Ancak, lipoliz sonucunda trigliseridlerin bünyelerinde bulunan alçak môleküllü yağ asitlerinin serbest hale geçmesiyle, süt ürünlerinde acılaşıma olarak nitelendirilen aroma bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Lipolitik aroma olarak tanımlanan bu aromayı butirik, kaproik, kaprilik laurik gibi suda eriyen uçucu yağ asitleri oluşturur. Özellikle butirik asit kuvvetli aroma meydana getirme özelliğine sahiptir. Örneğin, % 3.5 yağlı 100 gr sütte 10 mol veya daha düşük konsantrasyonlarda bulunması halinde bile, butirik asit aroması kolaylıkla hissedilebilmektedir. İlaveten, lipoliz sonucu serbest hale geçen yağ asitlerinin % 89.9 mol'u butirik asit olarak tanımlanmıştır (1) ve doymuş yağ asitlerine ait tri-gliseridlerin hidrolizasyon hızları doymamışlardan daha fazladır (9).

Lipoliz, özellikle yağca yoğun süt ürünlerinde istenmeyen bir olaydır. Ancak, kamambert rokford, tulum v.b. gibi peynirlerin karakteristik aromalarının ortaya çıkmasından alçak môleküllü yağ asitlerinin önemi oldukça büyüktür. Bu nedenle anılan peynir çeşitlerinin üretiminde lipolitik aktivitesi yüksek olan kültürler kullanılmaktadır. Ayrıca, yoğurt aroma maddeleri içinde, belirli oranda butirik, propionik, asetik, izovalarik gibi yağ asitleri de yer almaktadır (17).

#### L İ T E R A T Ü R

- 1 — AL-SHABIBI, M.M.A., E.H. LANGNER., J. TOBIAS., S.L. TUCKEY. 1964. Effect of added fatty acid on the flavor of milk. *J. Dairy Sci* 47 (3), 295 - 296.
- 2 — ANDERSON, M. 1983. Milk lipase and off-flavour development. *J. of Soc. of Dairy Tech*, Vol 36 (1) 3 - 7.
- 3 — BELL, L.I., J.G. PARSONS. 1975. Measuring the development of lipase flavor in butter. *J. Dairy Sci*. 58: 789.
- 4 — BELL, L.I., J.G. PARSONS. 1977. Factors affecting lipase flavor in butter. *J. of Dairy Sci* 60: 117 - 122.
- 5 — COGAN, T.M. 1982. Heat resistant lipases and proteinases and the Quality of dairy products. *IDF Bulletin*, Document. 118: 26 - 32.
- 6 — DAIRY HAND BOOK (tarihsiz) Alfa-Laval Yay. Sweden.
- 7 — DOWNEY, W.K. 1975. Butter Quality. *Dairy Res. Review Series* No 7. Dublin 4.
- 8 — DOWNEY, W.K. 1980. Risk from pre-and post manufacture lipolysis. *IDF Bulletin*, Document 118: 4 - 18.
- 9 — ERGİN, G. 1978. Tereyağının dayanıklılığına muhafaza sıcaklığı, krema asitliği ve pastörizasyonu ile tuzlamamanın etkileri üzerinde bir araştırma (Doç. Tezi) Erzurum.
- 10 — FOSTER, E.M., F.E. NELSON, M.L. SPECK., R.H. DOETSCH., J.L. OLSON. 1957. *Dairy Microbiology* Prentice Hall. Inc Engle Wood. Cliffe New Jersey.

- 11 — HLADÍK, J., J. DOLEZALEK, J. SYNKOVA. 1978. Effect of heat resistant lipases on changes in milk fat in UHT-treated milk Brief Communications, 20 th. Int. Dairy Cong 276 S. Paris.
- 12 — JENSEN, R.G. 1964. Lipolysis. J. of Dairy Sci. 47: 210 - 212.
- 13 — JONSSON, U., S.G. SYNGG. 1974. Lypolitic microorganism in cold stored foods. I. Isolation of organisms and Quantitative measurements of lipase in broth cultures Chem, Micr. Techn. Lebensm. 3: 76 - 80.
- 14 — KNAOT, T. 1978. Heat resistance of Pseudomonas lipases in milk Brief Communications, 20 th. Int. Dairy Cong. 305 S. Paris.
- 15 — KÖŞKER, Ö., N. TUNAİL, 1982. Süt Mikrobiyolojisi ve Hijyeni A.Ü.Z.F. Teksir No 77, 185 S. Ankara.
- 16 — DONNELL, E.T. 1978. Heat resistance of lipase enzymes produced by Psychrotrophic bacteria. Brief Communications, 20 th. Int Dairy Cong. 307 S. Paris.
- 17 — RASIC, J. Lj., KURMANN, J.A. 1978. Yogurt Vol. I, Switzerland.
- 18 — ÜÇÜNCÜ, M. 1982. Süt ve mamüllerinin soğukta depolanması. SEGEM Semineri. Bursa.
- 19 — WALLANDER, J.G., A.M. SWANSON. 1967. Effect of certain heat treatments on the milk lipase system. J. of Dairy Sci. 50. 949.
- 20 — WOODING, F.B.F. 1975. Proc. of lipolysis symposium, IDF Doc, 86, 7. (Alınmıştır) DOWNEY, W.K. 1980. Risk from pre and past manufacture lipolysis, IDF Bulletin, Document 118: 4 - 18.
- 21 — YÖNEY, Z. 1974. Süt Kimyası A.Ü.Z.F. Yay. 530, Ankara.

