

Peynir Olgunlaşımında Propionik Asit Bakterilerinin Kullanımı

Uz. Dr. Sevda KILIÇ

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi — IZMİR

ÖZET

Propiyonik asit bakterileri İsviçre tipi sert peynir yapımında laktik asit bakterileri ile birlikte kullanılır. Bu bakteriler G+, sporsuz ve hareketsizdir. Çubuk formundadır. Asitlik ve pH değişimine, inhibitör maddelere karşı hassastırlar. Gelişmeleri için en iyi sıcaklık 30-37°C'dir. Yüksek tuz konsantrasyonuna karşı dayanıksızdır.

Peynir olgunlaşması devresinde proteinleri ve yağları sınırlı olarak hidrolize ederler. Laktatları kullanırlar. Bunun sonucunda meydana gelen propiyonik ve asetik asit, prolin aminoasiti ve bazı yan ürünler peynirde tat, koku ve aromanın oluşumunu sağlar. CO₂ ise, peynir tipine özgü gözlerin oluşumunda rol oılır. Ancak kültürde laktik asit bakterileriyle birlikte bulundukları için onlarla uyum sağlayan tür ve suşların seçimi özen göstermek gereklidir.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Hartkäseherstellung (Typ Schweiz) werden Propionsärebakterienkulturen in der Praxis unter der normalen Bedingungen mit den Milchsäurebakterien zusammen verwendet. Diese Kulturen sind Gramm-positiv, keine Sporen ausbilden und ohne Bewegung. Sie sind auch Stäbchenförmig und gegen Acidität der Milieu und pH—Veränderungen, inhibitor einwirkende Stoffe sensibel. Sie wachsen bei dem Temperatur zwischen 30-37°C optimal und ertragen die salsige Milieu nicht.

Bei der Reifung der Käse hydrolisieren sie den Milcheiweiß und Fett bis eine bestimmte Grenze. Dafür verwenden sie die Laktat. Bei der Reifung der Käse esntstehende Propionsäure, Essigsäure, Prolin Aminosäure und einige Nebenprodukte wirken auf den Geschmack, Aroma der Käse aus und spielen dafür eine wichtige Rolle. Dabei entstehen die Löcher der Käse CO₂ nach der Käsesorten. In diesem Rahmen müssen bei der Käseherstel-

lung verwendeten ...Milchsäurekulturen mit den anderen Mikroorganismenarten und Stämmen gut mit einander übereinstimmen.

1. GİRİŞ

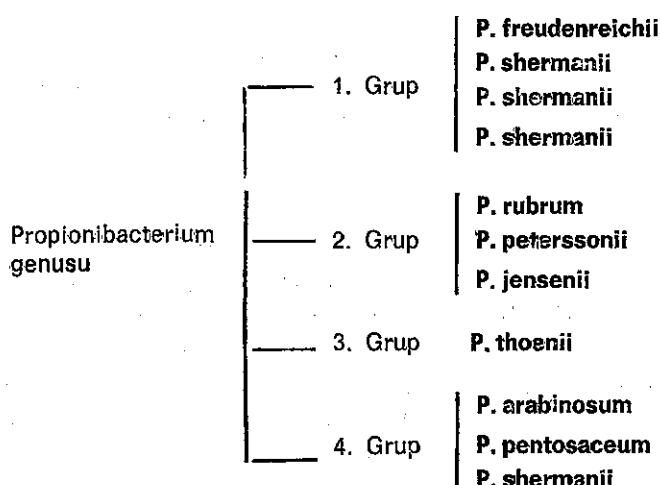
Propionibacteriaceae familyasında yer alan **propionibacterium** genusu peynircilik yönünden önemli bazı türleri içine alır. Bu türler yalnızca peynirlerde kültür olarak kullanıldıkları için değil aynı zamanda besleyici değerleri ve koruyuculuğunu özelliklerinden dolayı önemlidir. Süt kökenli içeceklerde ve B₁₂ vitamini kaynağı ve propiyonik asit üreticisi oldukları kadar yağıda oksidatif bozulmayı azaltıcı etkileriyle de ekonomik açıdan değerlidirler (MAURER, 1974; REINBOLD, 1985).

Ülkemizde özellikle bazı büyük süt işletmeleri geleneksel olarak bilinen peynirlerin yanı sıra batı ülkelerinde yapılmakta olan sert peynir çeşitlerinden birkaçını üretmeye başlamışlardır. Bunlar İsviçre tipi sert peynirlerdir. Bu peynirler bilinen peynir çeşitlerinden daha farklı bir teknik ile yapılmaktadır. Kültür olarak laktik asit bakterileri ile birlikte propiyonik asit bakterileri de kullanılmaktadır. Aslında geleneksel peynirlerimizden olan mihaliç peyniri üzerinde yapılan bir çalışmada, söz konusu bakterilerin bu peynirin olgunlaşmasında rol oynadığı belirtilmiştir. Bu nedenle gerçek batı kökenli bazı peynirlerin gerekse mihaliç peynirinin olgunlaşmasında etkisi olan bu bakterilerin kısaca özelliklerinin ve peynir olgunlaşmasındaki rollerin bilinmesinde yarar vardır.

2. Propiyonik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'de **Propionibacteriaceae** familyası üç ayrı grubu içermektedir. Ancak sütçülük yönünden ve ekonomik açıdan **Propionibacterium** genusu önemlidir. Ve bu genusta şimdiden kadar izole edilen 11 tür vardır. Çizelge 1 de görüleceği üzere bu türler 4 grupta toplanmıştır.

Çizge 1: Kullanılmakta olan propiyonik asit bakteri türlerinin sadeleştirilmiş durumu ile gruplandırılması



Propionibacterium genüsuna giren türler G+, spor oluşturmayan, hareketsiz ve çubuk bakterilerdir. Çoğunlukla pleomorfik, difteroid veya bir ucu yumru sopa şeklinde bir ucu yuvarlak veya sivridir. Kimi kültürlerde hücreler uzun, kokoid, bifid hatta dallanmış olabilir. Kısaca çin harfleri gibidirler (BUCHANON ve GIBBUNS 1974; LANGSAUD ve REINBOLD 1973; REINBOLD 1985).

Bu bakteriler genelde fakultatif anaerob olmalarına karşın anaerobtan aeroba kadar farklı atmosferde yaşarlar. Gelişme ortamlarının çoğu Na-laktat, hayvansal ve bitkisel proteinlerden elde edilmiş azot ile vitamin olarak maya ekstraktı ve ikinci gelişme koşullarına dayanır. Ancak yüksek laktat konsantrasyonu gelişmeyi engeller. Biyotin, pantotenik asit ve tiamin vazgeçilmez vitaminlerdir. Basit bir şeker ile ve maya ekstraktı ile zenginleştirilmiş yağısız süt de gelişmeleri için iyi bir ortamdır.

Bu bakteri grubunun optimum gelişme pH'sı 6,5 - 7,0 dir. Fakat peynir pihtısında diğer faktörlerin devreye girmesi ile 5,2 - 5,1 pH ya kadar gelişme ve faaliyet göstermektedirler.

Optimum gelişme sıcaklıklarları 30 - 37°C dir. Peynir yapımında kullanılacak türler için en uygunu ise, 30 - 32°C dir. Bununla birlikte

25 - 45°C arasında gelişen ve optimum faaliyet gösteren suşlar da vardır.

Genelde kültür olarak kullanılan propiyonik asit bakteri türleri % 3 - 5 in üstündeki Na-klorür konsantrasyonunda yavaş gelişirler. Bu durum, pihtıdaki mevcut taktat miktarı ve fermentasyonu ile yakından ilgilidir. Laktatı yavaş fermente eden türlerin veya suşların % 3 ün üzerindeki NaCl konsantrasyonuna daha dayanıklı olduğu belirtilmiştir (LANGSRUR ve REINBOLD 1973, MAURER 1974, REINBOLD 1985). Propiyonik asit bakterileri 5,0°C de saklandıklarında 8 hafta boyunca aktivite ve canlılıkların yüksek oranda koruyabilirler. 25°C de ise, biyokimyasal aktivitelerinin daha hızlı olmasından dolayı sayıları azalır. Sıcaklığa dayanıklıkları konusunda yapılan çalışmalar, 76°C de 10 saniyede bazı suşların canlılıklarını korudukları, 20 saniyede ise, hiç birinin canlı kalmadığını ortaya koymustur (HETTINGA ve REINBOLD, 1972).

Propiyonik asit bakterilerinin sümüksü yapısı ve kapsül oluşturması kültür olarak kullanılanlar için karakteristik olup sustan suşa bu özellik deşifre edilebilir. Ancak bu oluşumun etkenleri kesin olarak bilinmemektedir.

Karbonhidrat, peptin, piruvat ve laktati metabolize ederler. Fermentasyon ürünleri propi-

yonik ve asetik asit kombinasyonları ve çoğunlukla daha az miktarlarda izovalerik, formik, süksinik veya laktik asit ile karbondioksittir. Bu genenin bütün türleri glikozdan asit üretirler.

3. Metabolik Aktiviteleri

Propiyonik asit bakterilerinin biyokimyasal özellikleri kader peynirde faaliyetleri sırasında oluşturdukları maddeler de değişiktir. Emmental, gruyer gibi sert İsviçre peynirlerinin yapı, tat ve aroma oluşumunda bu maddelerin önemli rolleri vardır. Propiyonik asit bakterileri arasında kültür olarak en çok kullanılan türler *P. freudenreichii* var. *freudenreichii*, *P. globosum*, *P. shermanii*, *P. petersonii* ve *P. arabinosum*'dur.

Bu bakterilerin metabolik aktiviteleri HETTINGA ve REINBOLD tarafından detaylı olarak incelenmiştir. ORLA JENSEN ve von FREUDENREICH ise, ilk defa İsviçre peynirlerinde propiyonik asit ve asetik asit fermentasyonundan onların sorumlu olduklarıını belirtmişlerdir. O zaman bu peynirlerde önemli miktarda prolin amino asitinin de meydana geldiğini bildirmiştirler. Bilinen maddelerin yanında açığa çıkan daha bir çok bileşikler İsviçre peynirinin yapı, tat ve aromasının teşekkülünde önemli etkenlerdir. Bunlar belli başlı yağ, su-da eriyen uçucu maddeler ve suda eriyen fakat amino asit, laktik asit, peptit ve tuz gibi uçucu olmayan maddelerdir. Bunların Ca ve Mg iyonları ile etkileşimleri sonucu tipik tadın ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Yağ fazında, serbest yağ asitlerinin tadı laktonların, karbonillerin ve fenol bileşiklerinin varlığı ile değişmektedir. Propiyonik asit bakterileri piruvat ve laktatları kullanarak tat ve aroniada etkili olan düşük karbonlu uçucu asitlerle CO₂ in açığa çıkışını sağlarlar. Bu işlem bir dizi ara basamaklar üzerinden yapılır. Genelde reaksiyon aşağıdaki gibi özetlenebilir .3CH₃CHOH COOH→

$2 \text{CH}_3 \rightarrow \text{CH}_2 \text{COOH} + \text{OH}_3 \text{COOH} + \text{CO}_2$
+ H₂O oluşan propiyonik asit, sirke asiti ve CO₂ arasındaki oranın 2 : 1 : 1 olması istenir. Özellikle propiyonatın asetata oranı peynirde tat ve aroma üzerinde çok etkilidir.

Olgunlaşma devresinde meydana gelen fermentasyonlarda laktik asit bakterilerinin kompleks roller üstlendiği bilinmektedir. Bu bakteriler kısaca süt şekerini ferment ederek ortamı asitlendirir, hafif fakat gerekli protein hidrolizini mümkün kılar ve istenmeyen fermentasyonları kontrolü altında tutarlar. Propiyonik asit bakterileri ile birlikte bulunduklarında onların gelişimine katkıda bulunırlar. Tat oluşumunu yönlendirirler. Aslında peynirde olgunlaşmayı sağlayan *L. bulgaricus*, *L. helveticus* ve *S. thermophilus* gibi bakterilerle propiyonik asit bakterileri arasında sınırlı bir simbiyoz yaşam söz konusudur. Ve tipik peynir tat ve aromasının oluşumunda bu karşılıklı etkileşim önemlidir. Kültür olarak *S. lactis* ve *S. cremoris*'in kullanımı durumunda ise, propiyonik asit: asetik asit oranında değişimler olduğundan tipik tat ve aroma meydana gelmemektedir. Bu bakımdan propiyonik asit bakterileri ile birlikte kültürde yer alacak diğer bakterilerin seçimi özen gösterilmesi gerekmektedir.

Propiyonik asit bakterileri az da olsa, proteotik aktiviteye sahiptirler. LANGSRUD ve REINBOLD söz konusu bakterilerin oluşturduğu prolin üzerindeki çalışmalarda, elektroforez ile ayırtılabilen ve *P. shermanii*'nin hücresel ekstrelerinde bulunan 12 proteinaz ve 7 peptidazdan bahsetmişlerdir. Prolin aminoasiti İsviçre peynirinin hoşluğununa, tatlılığını olan büyük katkısı ile bilinir ve olgunlaşmada kullanılan propiyonik asit bakterilerinin gelişimine bağlanır. KIURU bu bakterilerin serbest aminoasitleri birleştirildiklerini daha sonra yeniden bunları parçalayabildiklerini bu olaylarla da emmental peynirindeki gibi bir tadın ortaya çıkarabileceğini kanıtlamıştır.

Genelde propiyonik asit bakterilerinin lipolitik aktiviteleri zayıftır. Ancak peynirlerde çok uçucu ve kısa zincirli yağ asitlerinin yanısıra daha uzun zincirli olanlarının bulunması tipik tat ve aromanın meydana gelmesinde önemlidir. Bu bakımdan suşların seçiminde bu özelliğin de dikkate alınması gereklidir.

Bunların dışında çeşitli araştırmacılar propiyonik asit bakterilerinin diasetil ve asetoin üretimine katkıda bulunduklarını bildirmiştir. Tat oluşumunda etkili olan asetaldehit, propiyonal aldehit, etanol, propanol, dimetilsüfit ve izovalerik asitler de söz konusu bakteriler tarafından üretilmektedir.

Propiyonik asit bakterilerinin peynir kültüründe yer almalarının bir diğer nedeni de peynirde göz oluşumuna etkilerinden dolayıdır. 1904 yılında ORLA - JENSEN emmental peynirlerinde göz oluşumunu sağlayan bakteriyi izole etmiştir. Bu bakterinin izolasyondan uzun bir süre sonra propiyonik asit bakteri kültürünün İsviçre'de emmental peynirliğinde nasıl kullanıldığına dair bilgiler verilmiştir. Peynirde özel tat ve aramanın yanısıra belirli büyülüklükte ve sayıda gözün olması istenir. Bu durum bakteri tür ve suşları ile bakterilerin bulunduğu ortam, yeni peynir kitlesinin pH'sı ile kazein'in parçalanma seviyesine bağlıdır. CO_2 oluşumunun kazein'in kısmen de olsa protein hidrolizasyonunun heri devresinde meydana gelmesi, göz çaplarının arzulanan ölçüde kalmasını sağlar, gözler küçük olur.

Peynirde CO_2 oluşumu dolayısıyla göz teşkili peynirin işlendiği kapların materyaline de bağlıdır. Eskiden olduğu gibi, bakır kapların peynir yapımında kullanılması yarar yanında zarar da verir. Bu da bazı propiyonik asit bakteri türlerinin gelişmesinin bakır bulunan ortamlardan etkilenmesine dayanır. Her tür veya suşun bakır iyonuna toleransı değişiktir. Genel

olarak 5 mg/kg'a kadar bakır içeren peynirlerde sayı ve büyülüklük itibarıyle istenen düzeyde göz oluştuğu, peynirde tat ve aramanın arzulanan şekilde geliştiği araştırmalarla saptanmıştır.

Göz oluşumuna peynirlerin depolanma ve ya olgunlaştırma sıcaklıklarına da etki eder. Bılındığı gibi peynir yapımında kullanılacak kültürlerin gelişmesi için en uygun sıcaklık 30 - 32°C dir. 20 - 26°C arasında da normal gelişebilirler. Fakat bu tür suşların 3 - 7°C de gelişebilmeleri ve aktif olmaları ekonomik yönden çok önemlidir. Bu durumda propiyonat : asetat : CO_2 oranı yaklaşık olarak istenilen düzeyde olur. Bu bakımdan söz konusu sıcaklık derecelerine uyum gösterebilen bakterilerin seçimi, elde edilecek peynirin kalitesini etkisi altında bulundurur.

4. Propiyonik Asit Bakterilerinin Gelişmesini Etkileyen Faktörler

Söz konusu bakteriler genelde hassas bakterilerdir. Bulundukları ortamlarda yabancı bakteri konsantrasyonunun düşük olması gereklidir. Sporlu, gaz oluşturan ve psikrotrof bakterilerin ortamdan mümkün olduğunda arıtılmasıının önemi büyütür. Bu yüzde asit ve tat üretken kültür bakterilerinin gelişimini optimum düzeyde sağlamak için peynir sütünün pastörize edilmesinde yarar vardır. Önceleri Clostridium'lar için inhibitör olarak kullanılan nisin, kültür bakterisi olan *L. helveticus* ve propiyonik asit bakterileri için de antibakteriyel etkiye sahiptir.

Pseudomonas, *Bacillus* ve *Lactobacillus* türlerinin bazı metabolik ürünleri bu bakterilerin gelişimini engelleyebilir. Fazla aktif laktik asit bakterileri üretikleri laktik asit ve diğer maddelerden dolayı inhibitör etki yapabilirler.

Bugüne kadar propiyonik asit bakterilerinin fajına rastlanmamıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarla başarısız sonuçlar alınmıştır. Ancak bunun sebepleri ve koşulları anlaşılamamıştır.

SONUÇ

İsviçre tipi sert peynirlerin olgunlaştırılmasında laktik asit bakterilerinin yanısıra propiyonik asit bakterileri kullanılmaktadır. Ülke-

mizde son yıllarda bu tip peynir üretimine başlanmıştır. Bilinen peynir çeşitlerinin yapımlarından farklı bir yöntem ile yapılan bu peynirlerin olgunlaşmasında kullanılacak propiyonik asit bakterilerinin özenle seçilmesi gereklidir. Kültür hazırlama aşamasında birbirine uyan bakteri tür ve suşlarının biraraya getirilmesine özen gösterilmelidir. Kaliteli ve Avrupa standartına uygun İsviçre tipi peynir yapmak için bunun önemi büyktür.

K A Y N A K L A R

BUCHANAN, R.E. and GIBBONS, N.E. : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th - ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 633, 1974.

BIEDE, S.L., PAULSEN, P.V., HAMMOND, E.G. et al : The flavor of Swiss cheese, in Developments in Industrial Mikrobiology, Society for Industrial Mikrobiology, Arlington, Va, chap. 18, 1979.

ERALP, M. : Peynir teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Yayın 533, Ders Kitab 178, 331 - 1974.

HETTINGA, D.H. and REINBOLD, G.W. : The propionic acid bacteria : a review. I. Growth. J. Milk Food Technol., 35, 295, 1972.

HETTINGA, D.H. and REINBOLD, G.W. : The propionic acid bacteria : a review. II. Metabolism. J. Milk Food Technol., 35, 358, 1972.

KIURU, V.J.T. : The decomposition of amino-acids with propionic acid bacteria. 12-th. Int. Dairy Congres (Stockholm), 5, 30 - 34, 1939.

LANGSRUD, T., REINBOLD, G.W. and HAMMOND, E.G. : Free Proline Production by strains of Propionik bacteria, J. Dairy Sci. 61, 303, 1978.

LANGSRUD, T. and REINBOLD, G.W. : Flavor development and microbiology of Swiss cheese : a review. II. Starters, manufacturing processes and procedures, J. Milk Food Technol., 36, 531, 1973.

MAURER, L. : Die Bedeutung der Propionsäure-bakterien in der mikrobiellen Technologie. Össterreichischer Milchwirtschaft 1 (4), 1-3, 1974.

REINBOLD, G.W. : The propionibacteria : Milk Products, Bacterial Starter Cultures for Foods'tan alınmıştır (73-84), 205. C.R.C. Press Inc. Boca Raton, Florida, 1985.