

Süt Ve Süt Ürünlerinde Ester Sentezi Ve Biyosentezi

A. Akpınar , H.Uysal, Ö.Kınık
E.Ü. Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü

Süt ürünlerinin lezzetinin oluşmasında uçucu bileşikler ve uçucu olmayan bileşikler hem tada hem de aromaya etkili olmaktadır. Süt ürünlerinin aromasına katkıda bulunan bileşikler; alkol, aldehit, kısa zincirli yağ asitleri, metil, keton, laktöz ve sülfür bileşikleridir. Esterler ise peynir gibi bazı süt ürünlerinde sıkça rastlanan uçucu aktif koku bileşikleridir. Esterlerin süt ürünlerinin lezzetine olan katkısı konsantrasyonlarına bağımlı olarak değişiklik gösterir. Düşük konsantrasyonları lezzet dengesini olumsuz etkilemez iken yüksek konsantrasyonları tat hatalarına sebep olur. Bunlar; meyvemsi, sabunumsu, bozulmuş, keskin, acı, sert, ahır kokusu gibi tat hataları olabilir. Aynı zamanda esterler asidik, biberli, tuzlu ve silajlı lezzetler ile de ilişkili olmaktadır

Sütteki esterlere bakacak olduğumuzda; inek, koyun ve keçilerin çiğ sütlerinde 4C-10C arasındaki yağ asitlerinin etil esterleri bulunur. Bu esterler çiğ sütte bulunduğu gibi ayrıca pastörizasyon sonrasında mikrobiyal bulaşma ve aktivite sonucunda da sütlerde bulunabilir.

Peynirlerde ise esterler sıkça rastlanan uçucu bileşikler olup 2C-10C arasındaki yağ asitlerinin 5-etil esterleri daha sıklıkla bulunmaktadır. Bazı esterler daha düşük düzeyde bulunmasına rağmen farklı esterler arasındaki ve farklı esterler ile diğer uçucu bileşiklerin arasındaki sinerjik lezzet etkileşimleri peynirin tüm lezzet dengesine katkıda bulunmaktadır. Örneğin; 2C-10C arasında yağ asitlerinin etil esterleri Cheddar, Gouda ve Edam gibi Alman tipi peynirlerde ve Parmesan, Permigiano Reggiano gibi İtalyan peynirlerinin uçucu bileşenleri olup aromaya katkıda bulunurlar, ancak aşırı düzeyleri meyvemsi tad hatasına neden olur. Emmental ve Gruyère gibi İsveç tipi peynirlerde ise 2C-8C' lu yağ asitlerinin etil esterleri yanında etil propionat, 1-metil propil propionat ve bütül propionat gibi emsalsiz esterleri de içermektedir. Bu esterlerin miktarları peynirin olgunlaşma evresinde 4-20 misli daha fazla miktarda olmaktadır ve peynirlerin tatlı bir kokuya sahip olmasını sağlamaktadır. Bu esterler aynı zamanda propiyonik bakterilerin fermentasyonu sonucu da oluşabilmektedir

Aromanın bir bölümünü oluşturan esterler küfle olgunlaştırılmış peynirde ve yüzeyi olgunlaştırılmış peynirlerde yaygın olarak bulunur. Bu peynirlerde meyvemsi ve şeker kokularının oluşumu ile ester düzeyi arasında korelasyon vardır. Koyun ve keçi sütü ile yapılan peynirlerde bulunan esterlerin aromaya yaptığı katkı sayılarına ve tiplerine göre değişiklik gösterir. Örneğin; 4C-10C'lu yağ asitlerinin etil esterleri yumuşak keçi peynirlerinde bol miktarda bulunmaktadır. Koyun sütü ile yapılan peynirlerde ise asit esterlerin yaygın olarak

bulunması; özellikle çiğ süt kullanılıyorsa Enterococcus gibi bir floranın bu tip peynirleri olgunlaştırması ve kullanılan maya ile ilişkili olmaktadır.

Fermente Ürünlerde Ester Biyosentezinin Mekanizması

Fermente ürünlerde esterlerin biyosentezi iki adımda olmaktadır; ilk olarak süt yağında bulunan glukozid lipaz ile hidrolize olur ve serbest yağ asitleri oluşur, ikinci olarak da serbest yağ asitlerinin esterleşmesi ile ester katalizlenir ve alkol ortaya çıkar. Lipazlar suda çözünmez gliserid'e bağlı bulunan karboksil esterini hidrolize eder ve yağ asitleri ile gliserol' ün emülsiyonda serbest kalmasını sağlar. Esterleşme ise suda çözünebilir substratlara (gliseridler ve alifatik esterler) bağlı karboksil esterlerin enzimlerle hidrolizi olarak tanımlanır. Lipazlar ve esterleşme ile gliseridlerin ve esterlerin hidrolizleri katalize edilse de, bu enzimler aynı zamanda belirli koşullar altında esterleri sentezleyebilir. Esterleşme ve lipazlara ek olarak biyosenteze karışan başka enzimler vardır. Süt mikroorganizmaları ve diğer mikroorganizmalar da alkol açıl transferaz ve metil format gibi bir çok enzimle ester biyosentezine karışır. Önemli olan başka bir nokta ise; enzimatik sentez sonucu oluşan S-meilthioesterler' in enzimatik yol dışında da oluşmasıdır. Methanethiol ve asetil-CoA' dan sentezlenen ve kendiliğinden oluşan S-metilthioesterler' in peynir lezzetine katkısı enzimatik sentez sonucu oluşan esterler d,kadar önemli değildir. Çünkü enzimatik sentez sonucu oluşan esterler lezzete daha fazla etkili olmaktadır. ancak hem kendiliğinden oluşan hemde enzimatik sentez sonucu oluşan esterlerin formları o,peynirin lezzet oluşumuna katkıda bulunabilir fakat bunların peynire katkılarının miktarını belirlemek zordur.

Lipazlar İle Ester Biyosentezi

Lipazların fermente ürünlerde ki ilk rolü süt yağında bulunan trigliseritleri ayırıp içerisindeki yağ asitlerini serbest bırakmak ve lezzet bakımından bir üst sınıfa geçirmektedir. Lipazlar belirli koşullar altında esterlerin biyosentezini 4 tip reaksiyonla katalizler;

- Esterleşme
- Alkolozis
- Asidolizis
- Trans esterifikasyon

Süt ve süt ürünlerinde esterleşme yolu ile ve Alkolozis yolu ile üretilen esterler lezzet üzerine katkıda bulunurlar. Esterleşme ile ester sentezinde su aktivitesinin rolü oldukça önemlidir. Çünkü düşük su aktivitesinin olduğu sistemlerde esterleşme yolu ile ester sentezi olabilmektedir. Ancak bazı fungal lipazlar

esterleşme ile ester sentezini sulu bir ortamda yapabilir. Örneğin; *Candida cylindracea*'nın lipazı ile süt yağını hem sulu bir ortamda hemde susuz ortamda hidrolizleyerek etil esterler üretebilir fakat Alkolozis yolu ile ester sentezi tamamıyla sulu bir ortamda meydana gelir. Hem Alkolozis' in hemde hidrolizin sulu bir ortamda bulunan alkollerden meydana gelmesi ile ester biyosentezine katılan açıl transferaz' lar aktivitesini ya suda yada alkolde gerçekleştirebilir.

Lipazlar; esterleşme yada Alkolozis yolu ile lezzet esterlerinin sentezini katalizleyebilirler. Ancak lipazların esterleşme ile katalizlediği ester oluşumu, Alkolozis ile ester oluşu kadar önemli olmamaktadır. Örneğin; peynirde her iki yollada ester sentezi olabilmektedir ancak Alkolozis peynirlerde ester sentezinde daha büyük rol oynamaktadır.

Süt Kaynaklı Mikroorganizmaları İle Ester Sentezi

Süt mikroorganizmaları ile ester biyosentezinin oluşumunda 3 ana faktör vardır. Bunlar; enzimler, substratlar ve ortamdır. Sütte bulunan enzimlerin çeşitleri, mevcut bulunan mikroorganizmaların tipleri ve gelişme koşullarına göre değişiklik gösterir. Estersen çeşitlerinin üretiminde sütte mevcut bulunan enzimler etkilidir. Bu enzimlerden estersintetaz ile yada esteraz ile karbonhidratlardan yada aminoasitlerden ester üretilebilir. Enzimler olduktan sonra ester üretimi substrat' ın konsantrasyonuna ve ortama bağlı olmaktadır.

Süt Mayası İle Ester Biyosentezi

Mayalar tarafından oluşturulan esterler uçucu aroma bileşikleri içerirler. Mayalar tek olarak kullanıldığında yada bakteriler ile birlikte kullanıldığında alkol, asit ve etil bütonat gibi uçucu bileşikler belirli aralıklarda meydana getirirler. Örneğin; etil asit mayalar tarafından meydana getirilen önemli bir uçucu bileşiktir. Mayalar etil bütonat ve etil asit oluşturması ile meyvemsi aromanın oluşmasından sorumludur. Ayrıca yüzeyi olgunlaştırılan peynirlerde 2-fenil esterleri oluştururlar ve 2-fenil esterlerden de propionat, bütonat, izobütanol ve izovolerat da oluşturabilmektedirler. Süt mayaları S-metilthioester üretebilme kabiliyetine sahiptir. Ancak bu çok az miktarda ve kararsız bir şekilde olmaktadır. Methanethiol, S-metilthioester üretimi için limitleyici bir faktör olmaktadır. Bu yüzden mayalar tarafından methionin den methanethiol üretimi sınırlı ve değişken olmaktadır. mayalarda S-metilthioester sentezinden sorumlu enzimler methanethiol açıl transferaz yada alkol transferazlar olabilir.

Mayaların kullanıldığı fermentasyonlar da esterlerin biyosentezini katalizleyen iki enzim vardır. Bunlardan birisi esteraz ikincisi alkol açıl transferazlardır. Özellikle açıl transferazlar asit esterlerin biyosentezinden sorumludur. Açıl transferaz sülfid enzimler olup esterlerin oluşumu için asetil-CoA ve alkollerle tepkimeye girerler. Hem açıl transferaz hemde açıl transferaz enzimi etil asitin oluşumunu katalizler. Esteraz' ın aktivitesi alkol transferaz' a göre daha yüksek olmasına rağmen *Hansenula anomala*' da izoamil asitin ve etil asitin oluşumunda her iki enzimde sorumlu

olmaktadır. *Saccharomyces*' ler de ise alkol transferazlar izoamil asitlerin oluşumundan sorumlu olurken esterazlar kısa zincirli yağ asitlerinin biyosentezini katalizler.

Süt Küfleri İle Ester Biyosentezi

Küflü peynirlerde küf mikroorganizması ester üretimine karıştığı için ester bolluğu söz konusu olmaktadır. Jollivet, Belin ve Vayssier' in 1993 yılında yaptığı bir çalışmada *Penicillium camamberti*' nin 10 türünün, esterleri içeren uçucu komponentler arasından sadece etil asitin üretildiğini bulmuşlardır. Aynı şekilde *Penicillium caseifulvum* türünün de etil format, etil asit ve etil bütonat oluşturduğu bulunmuştur.(Larsen,1998) Maya benzeri bir küf olan *Geo.candidum*' un *Penicillium*' ların yanında meyvemsi aromada 7 etil ester, 5 metil propil ürettiği bulunmuştur. aynı zamanda 8 türünün de etil asit,izobutil asit ve fenil etil asit ürettiği yapılan çalışmalar da gösterilmiştir. *Geo.candidum*' un bu özellikleri yanında diğer bir önemli özelliği S-metilthioester üretme potansiyellerine sahip olmalarıdır. Bu özellik methanethiol üretebilme kabiliyetlerinden kaynaklanmaktadır.

Süt ürünlerinde küflerin lipazları genelde esterleşme yolu ile ,ester biyosentezine katılır. Alkol transferaz enzimleri ile de ester biyosentezi mümkündür. Ancak süt ürünlerinde kullanılan küflerde bu enzim varolmamaktadır. Örneğin; *Penicillium roqueforti*' nin lipazları esterleşme yolu ile yağ asidi esterlerinin biyosentezini yapabilmektedir. Aynı şekilde *Geo.candidum* ve *Penicillium camamberti*' nin de esterleşme yolu ile ester biyosentezine katıldığı gözlemlenmiştir.

Laktik Asit Bakterileri Tarafından Ester Biyosentezi

Laktik asit bakterileri (LAB) peynir ve fermente süt gibi fermente süt ürünlerinin yapımında starter kültür olarak kullanılırlar. LAB peynirlerin olgunlaşması esnasında glikoliz, proteoliz ve lipoliz' i gerçekleştirerek aromanın oluşmasını sağlamaktadırlar. Örneğin *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* türleri Cheddar peynirlerinde meyvemsi bir aromaya sebep olan ester bileşenlerini oluştururlar. Ester sentezi aktivitesi sonucunda etanol üretiminin yükseldiği de görülür. *Lc.lactis* gibi *Lactococcus lactis* subsp.*cremoris*' de değişik ester üretebilme kabiliyetine sahiptir. İki türde benzer esteraz aktivite düzeyinde olmasına rağmen *Lc.cremoris* türleri daha yüksek etil bütonat sentezi aktivitesine sahiptir. Ancak meyvemsi tat hatasından *Lc.lactis* türü sorumlu olmaktadır.

Geniş sayıdaki türleri içeren LAB' nin esterleşme yolu ilke etil bütanol oluşturması günümüzde halen araştırma konusu olmaktadır. Bunların arasından *Streptococcus thermophilus*' un yüksek esteraz aktivitesi ile tatlı ve meyvemsi aromanın oluşması arasındaki ilişki kanıtlanmıştır. *Streptococcus thermophilus* türleri Hisponico peynirlerinde etil bütonat ve etil heksonat oluşumunu arttırmakta olup bu artış etanol oluşumunun 2.5 katı kadar olmaktadır. Gouda peynirlerinde ise

Lactobacillus fermentum' un etil bütanol oluşturduğu gözlemlenmiştir. Her iki bakteride ester biyosentezini esteraz aktivitesi ile yapmaktadır. Laktoz, galaktoz ve asit aldehitten yüksek düzeyde etanol üretirler. homofermantatif LAB, heterofermantatif LAB ile karşılaştırıldığında etanol üretimleri şekerlerden dolayı limitli olmaktadır. yani şekerler limitleyici faktör olmaktadır.

Önemli başka bir nokta ise Lactococcus ve Leuconostoc türlerinin kısa zincirli yağ asitleri olan methionin den S-methylthioasit gibi S-metilthioasit üretebilmesi olmaktadır. methanethiol LAB tarafından methionin den üretilebilir ancak oksijen duyarlılığından dolayı bu thiol ler az miktarda bulunabilmektedir.

LAB' nin esterleşme yolu ile esteraz aktivitesi sonucunda ester biyosentezine ek olarak sulu ortamda alkollerden be gliseridler den transferaz reaksiyonu yolu ile ester sentezleyebilmektedir. Örneğin; Streptococcus thermophilus ile Lb.fermentum' un Alkolozis ile ester üretiminde yüksek transferaz aktivitesi sergilediği görülmüştür. Hatta transferaz yolu ile ester biyosentezini katalizleyen enzimlerin açıl transferaz aktivitesi sergileyen esterazlar olduğu öne sürülmüştür.

Sulu bir ortamda alkolozis yolu ile ester biyosentezi esterleşmeye oranla daha yüksek olmaktadır. Bu yüzden alkolozis en az sulu ortamda dahi LAB tarafından ester biyosentezinin baş mekanizması olmaktadır.

Sonuç

Açıkça esterler peynir, tereyağı, kefir, kıyma gibi fermente ürünlerin yapısında bulunan uçucu bileşenlerin bir parçası olmaktadır ve lezzet dengesinin oluşumunda önemli bir yere sahip olmaktadır. Örneğin; peynir de esterler tüm lezzet profilinin katkıda bulunmaktadır. Bu katkı ya kendisinin yaptığı etki ile yada diğer lezzet bileşenleri ile yaptığı sinerjik interaksiyonla olmaktadır. Ancak esterler peynirin duyuşal özellikleri ile korelasyona girdiğinde tedbirler alınmalıdır. Çünkü esterlerin konsantrasyonları her zaman pozitif yönde olan meyvemsi lezzet ile ilişkili olmamaktadır, ekşi,bozulmuş, acı gibi diğer lezzet bileşenleri ile de ilişkili olmaktadır.

Kaynaklar

1. Marilley, L., Casey, M.G.2003.Flavours Of Cheese Product: Metabolic Pathway, Analytical Tools And İdentification Of Producing Strains. International Journal of Food Microbiology,90(2004)139-159
2. Baresford, T.,Wallace, J., Aharne, S., Drinan, F., Eason, D., Corcoran, M., Mulholland, E., Hannon, J. 2000. İdentification Of The Key Compounds Responsible For Cheddar Cheese Flavour. The Dairy Products Reserch Centre. ISBN:1 84170 120 3, DPRC No:27
3. Margalith, Z.P. 1981. Flavor Microbiology. Ester-Forming Activity by Sonicates some Bakterial Cultures, Flavor Formation in Ripened Cheeses, Flavor Development in Cheddar Cheese.62-79
4. Liu, Q.S., Holland, R., Crow, L.W.2004. Esters and Their Biosynthesis in Fermented Dairy Product: a Review. International Dairy Journal 14(2004) 923-945
5. Paul, L.H., McSweeney-Maria, J.S.2000. Biochemical Pathways For The Production Of Flavour Compounds İn Cheeses During Ripening: A review. Lait 80 (2000) 293-324
6. Thierrya, A., Maillarda, M.B., Richouxb, R., Kerjeanb, J.R., Lortal, S. 2005. Propionibacterium Freudenreichii Strains Quantitatively Affect Production Of Volatile Compounds İn Swiss Cheese. Lait 85 (2005) 57-74
7. Smita, G., Smit, A.B., Engelsc, W.J.M. 2005. Flavour Formation By Lactic Acid Bacteria And Biochemical Flavour Profiling Of Cheese Products. FEMS Microbiology Reviews, Volume 29 Issue 3
8. Bardi, L., Crivelli, C., Marzona, M. 1998. Esterase Activity And Release Of Ethyl Esters Of Medium-Chain Fatty Acids By Saccharomyces Cerevisiae During Anaerobic Growth. Canadian Journal of Microbiology. 44(12): 1171-1176.

GIDALARDA DUYUSAL DEĞERLENDİRME

Prof.Dr.Tomris ALTUĞ
Yrd.Doç.Dr.Yeşim ELMACI

İzmir - 2005

KİTAP İSTEME ADRESİ

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi Kat: 3 D: 302 Çankaya - İZMİR
Tel: 0 232 441 60 01 - Fax: 0 232 441 61 06 - akademikgida@mynet.com