

Peynir Teknolojisinde Enterokoklar –I: Biyokimyasal Özellikleri ve Peynir Teknolojisindeki Önemleri

Oğuz GÜRSOY¹

Özer KINIK²

Summary

Enterococci in Cheese Technology-I: Biochemical Properties and Their Importance in Cheese Technology

The enterococci constitute a major genus of the lactic acid bacteria (LAB). Their robust nature and adaptability are indicated by their association with a wide variety of habitats, e.g. waters, soil, plants, and in the gastrointestinal system of humans and animals. They are also associated with foods, most likely as a result of contamination from plant and animal sources, but also seem to play important roles in numerous fermented foods especially cheeses. This paper will first outline biochemical properties of enterococci and give some of the main important aspects for cheese technology under new literature data.

Key words: Enterococci, ripening, cheese

Giriş

Streptokoklar ilk olarak 1899 yılında Thiercelin tarafından tanımlanmıştır (Klein, 2003). Streptokoklar; Gram (+), kok veya hafif oval şekilli, sporsuz, hareketsiz, diplokok yada zincirler oluşturan, çoğu fakültatif anaerop, bir kısmı mutlak anaerop, katalaz negatif bakterilerdir. Oldukça heterojen bir grup oldukları için sınıflandırılmaları kolay olmamakla birlikte, kanlı agarda hemoliz

¹: Araş. Gör., Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir
e-mail: ogursoy@yahoo.com

²: Prof. Dr., Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir

oluşturma, üreme özellikleri ve biyokimyasal reaksiyonlara göre sınıflandırmalar mevcuttur. Bunlar içinde en pratik ve kolay olanı streptokokların hemoliz şekillerine göre yapılan sınıflandırmadır (Söyletir ve Çerikçioğlu, 1996). Fekal streptokoklar ya da D-Streptokoklar olarak gruplandırılan *Streptococcus* cinsinin üyeleri modern sınıflandırma teknikleri ve serolojik çalışmalar ile *Streptococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* olarak 3 alt gruba ayrılmışlardır (Franz et al., 2003). Genel olarak enterokoklar; taksonomik olarak *Enterococcus*, serolojik olarak D-streptokoklar ve ekolojik olarak da fekal streptokoklar şeklinde isimlendirilmektedirler (Kavas ve Kınık, 2003). Enterokokların en belirgin özelliği birçok antibiyotiğe dirençli olmalarıdır (Söyletir ve Çerikçioğlu, 1996; Holzapfel et al., 2002; Çıtak et al., 2004).

Bir çok sebze, bitkisel materyal, gıda ve özellikle süt ve süt ürünlerinde sıklıkla bulunan enterokokların günümüzde 20'den (halen onaylı 26 tür olduğu bildirilmektedir) fazla türü bilinmektedir (Franz et al., 1999; Schleifer and Klein, 2002; Giraffa, 2003; Klein, 2003). Bu türlerden *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* en çok bilinen türler olup insanlarda patojeniteye sebep olmaları yanında, fermente gıdaların üretimi ve probiyotik ürün teknolojisinde önemli rollere sahiptirler (Franz et al., 2003). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'de (1994) *Streptococcus* cinsinden yapılandırılan yeni bir cins olarak gösterilen enterokokların identifikasyonlarında genellikle çeşitli problemler yaşanmaktadır. Özellikle çevresel kaynaklardan izole edilen çok sayıda enterokok izolatu yalnızca fenotipik özellikler dikkate alınarak identifiye edilmeye çalışıldığında söz konusu işlem başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Fizyolojik testler kullanılarak bir *Enterococcus* türü içersindeki izolatların açık bir şekilde karakterize edilmesi fenotipik özelliklerdeki yüksek heterojenite nedeniyle oldukça zordur (Giraffa, 2003). Konu ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda RAPD-polimeraz zincir reaksiyon analizi, plazmid profili ve indüklenmiş alan (pulsed field) tekniklerinin tanımlama için kullanımları değerlendirilmektedir (Manu et al., 1999; Lund et al., 2002; Vancanneyt et al., 2002). Manu et al. (1999), indüklenmiş alan jel elektroforezin oldukça etkin ve tekrar edilebilir bir yöntem olduğunu ve bu yöntemin sonuçlarının plazmid profil analizi ile kombinasyonunun tanımlamada kullanılabileceğini bildirmiştir. Yine fenotipik analizler için PhenePlate™ sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır (Lund et al., 2002).

Fekal kaynaklı patojenler sınıfına dahil edilen enterokokların insan sağlığı üzerine çok sayıda olumsuz etkileri vardır. Enterokoklar yaşlı erkeklerde daha fazla olmak üzere endokardit, genç sağlıklı kadınlarda üriner infeksiyon, antibiyotik kullanan ve yoğun bakımda yatanlarda fazla olmak kaydıyla nozokomiyal üriner infeksiyon, nozokomiyal bakteriyemi gibi infeksiyonlara yol açmaktadırlar (Söyletir ve Çerikçioğlu, 1996; Holzapfel et al., 2002; Koch et al., 2004). Özellikle gıda kaynaklı zehirlenmelerde de enterokoklar rol oynayabilmektedir ve bunların fekal kontaminasyon indikatörü oldukları belirtilmektedir (İnal, 1990). Enterokoklar, insan dışkısında genellikle *Escherichia coli*'den daha az sayıda bulunan, suda iyi üreyemeyen ancak koliformlardan daha uzun süre canlılıklarını koruyan bakterilerdir (Kavas ve Kınık, 2003). Bundan dolayı enterokoklar fekal kontaminasyonun göstergesi (Lopez-Diaz et al., 1995) ve özellikle sularda hijyen indikatörü olarak değerlendirilmektedirler (Arizcun et al., 1997). 4 Avrupa ülkesinde 2868 örnekte yapılan bir çalışmada enterokokların gıda zincirinin bir çok bölümünde yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir (Kühn et al., 2003).

Genel olarak Enterokoklar % 6.5 tuz konsantrasyonuna dayanıklı ve bu tip yüksek tuz konsantrasyonlarında ve 10-45°C'lerde iyi gelişim gösteren mikroorganizmalardır (Wood and Holzapfel, 1995). Enterokoklar 4-9.6 gibi geniş bir pH aralığında gelişebilmektedirler. 50 °C'de iyi gelişmekte, bununla beraber bazı suşlar 52 °C'de gelişmemektedir. Bir çok suş fruktoz, galaktoz, maltoz, mellebiyoz, sellebiyoz ve laktoz'dan asit üretmektedir. Arginin'den amonyak üreterek enerji kaynağı olarak kullanırlar. Tirozin dekarboksilasyonları suşlara göre farklılık göstermektedir (Buchanan and Gibbons, 1974; Kılıç, 2001). Son yıllarda yapılan çalışmalarla çevre şartlarına oldukça dayanıklı olan enterokokların bazı gıdaların mikroflorasında bulunduğu ve gıda kalitesi üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesinin ardından enterokokların yalnızca hijyen indikatörü olarak değerlendirilmemesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu makalede enterokokların biyokimyasal özellikleri özetlenerek, peynir teknolojisindeki önemleri ve probiyotik olarak kullanımları irdelenmiştir.

Enterokokların Önemli Biyokimyasal Özellikleri

Genel olarak enterokoklar sütü asitleştirme kabiliyeti açısından zayıf bir yapı sergilemektedirler. Sarantinopoulos et al. (2001) çeşitli kaynaklardan izole ettikleri 129 enterokok'un (*E. faecium*, *E. faecalis*

ve *E. durans*) biyokimyasal ve teknolojik özelliklerini incelemiştir. Çalışmada genel olarak enterokokların asidifikasyon kabiliyetleri açısından zayıf olduğu ve en etkin türün *E. faecalis* olduğu belirlenmiştir. Morea et al. (1999), Mozeralla peynirinden izole ettikleri suşlar ile inokulasyondan 24 saat sonra süt asitliğinin 5.5'in altına düşmediğini belirlemiştir. Yine son yıllarda yapılan bir çalışmada El Soda (2002) Mısır'daki farklı süt ürünlerinden izole ettiği 500 enterokok'un asidifikasyon özelliklerinin zayıf olduğunu bildirmiştir. Süt orijinli enterokoklar üzerine yapılan yeni çalışmalar bu mikroorganizmaların sütü asitleştirme özelliklerinin zayıf olduğunu doğrulamıştır. Bu çalışmaların bir kaçında 37°C'de 16-24 saat inkübasyondan sonra pH'nın 5.0-5.2 değerlerinin altına düştüğü tespit edilmiştir (Durlu-Ozkaya et al., 2001; Sarantinopoulus et al., 2001).

Peynir teknolojisinde starter ve starter olmayan mikroorganizmaların proteolitik ve peptidolitik aktiviteleriyle ilintili olan kazeinin parçalanması peynir olgunlaşmasında oldukça önemli bir role sahiptir (Gürsoy ve ark., 2000). Enterokokların kazeini proteoliz edebilme yetisi çoğunlukla suştan suşa farklılık göstermektedir (Arizcun et al., 1997; Durlu-Ozkaya et al., 2001). Bazı araştırmacılar farklı tip peynirlerden izole edilen *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans* suşlarının proteolitik aktivitelerinin yararlı ve yerinde olduğunu bildirmelerine rağmen, genel olarak enterokokların proteinaz ve peptidaz aktiviteleri zayıftır. *E. faecalis* ise bu açıdan en aktif türdür (Arizcun et al., 1997; Tsakalidou et al., 1994; Andrighetto et al., 2001; Sarantinopoulus et al., 2001). Sarantinopoulos et al. (2001) yaptıkları çalışmada enterokokların hücre dışı proteolitik aktivitelerini zayıf bulmuş, bu açıdan en etkin türün *E. faecalis* olduğunu bildirmiştir. Yine aynı çalışmada peptidaz aktiviteleri de düşük bulunmuş, peptidazların özellikle glisin-prolin ve glutamat-4-nitroanilid spesifik oldukları tespit edilmiştir. El Soda (2002)'nin *E. faecium*'un lösil 4-nitroanilid'i, arginil, alanil, prolil ve glisil türevlerine göre daha hızlı hidrolize ettiği şeklindeki bulgusu yukarıdaki sonuca paralel niteliktedir. Bu iki çalışmanın aksine Wessels et al. (1990), enterokokların proteolitik aktivitelerinin lipolitik aktivitelerinden daha güçlü olduğunu bildirmektedir. Enterokokların proteolitik özellikleri ile asitleştirme özellikleri arasında net bir ilişki gözlenirse de, bu iki özellik arasında zaman zaman pozitif korelasyon olabilmektedir ve proteolitik özelliği güçlü olan suşların asitleştirme özellikleri de yüksek çıkmaktadır (Giraffa, 2003).

Esterazlar, ester substratları üzerine sahip oldukları hidrolitik aktiviteleri ile bilinen bir çeşit enzim grubudur (Giraffa, 2003; Holland, 2004). Peynir olgunlaşmasında lipaz ve esterazların olası katkılarının tam olarak tanımlanamamasına rağmen, esterazlar lezzet gelişimi ve peynir tekstürü oluşumu ile ilgilidirler. Buradaki etkileri süt yağının lipolizi ve metilketon ile tiyol esterlerinin (peynirlerde muhtemel lezzet bileşikleri) oluşumunu sağlayan yağ asitlerinin ileri parçalanması reaksiyonları ile mümkün olabilmektedir (Giraffa, 2003). Peynir ve diğer süt ürünlerinde ester sentezi (i) süt yağının hidrolizi ile serbest yağ asitlerinin ortaya çıkması ve (ii) bir alkol ile serbest yağ asitlerinin esterifikasyonu ve sonrası olarak 2 farklı aşamada değerlendirilmektedir. Bununla beraber son yapılan bazı çalışmalarda çok sayıda laktik asit bakterisi esterazının lezzet üzerine etkili esterlerinin, alkolün yükseltgeyici (akseptör) olduğu ortamlarda tek basamaklı trans esterifikasyon reaksiyonu ile oluştuğu belirlenmiştir (Holland, 2004). Lipoliz direkt olarak peynir reolojisi ile ilgili değildir. Bununla beraber, gliseridler kısmen moleküler organizasyonu etkileyen bileşiklerdir. Bundan dolayı peynir tektürünü etkilemektedirler (Giraffa, 2003).

Yapılan çalışmalarda, proteolitik aktiviteye zıt olarak enterokokların lipolitik aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Sarantinopoulos et al., 2001). *E. faecalis* ve kısmen de *E. faecium* ve *E. durans*'ın en lipolitik türler olduğu tespit edilmiştir (Sarantinopoulos et al., 2001; Durlu-Ozkaya et al., 2001). Diğer taraftan, süt orijinli enterokokların sütteki düşük ve çoğunlukla suşa bağlı lipolitik aktivitesi diğer bazı çalışmalarda araştırılmıştır. Enterokokların esterolitik enzim aktiviteleri daha gelişmiş olup ve lipolitik enzim sistemlerine göre daha etkilidir. Enterokoklar diğer laktik asit bakterilerinin bir çok türünden daha yüksek esterolitik aktivite göstermektedir ve *E. faecium* enterokok türleri içerisinde en esterolitik tür olarak karşımıza çıkmaktadır (Giraffa, 2003). El Soda (2002) *E. faecium*'un yağ asitlerinin 4-nitrofenil ve 2-nitrofenil türevlerine karşı esterolitik aktivite gösterdiğini bildirmektedir.

Sitrat metabolizması laktik asit bakterilerinin önemli bir teknolojik özelliğidir (Rea and Cogan, 2002). Sütte bulunan sitrat bir çok laktik asit bakterisi tarafından asetat, asetaldehit ve diasetil gibi lezzet bileşiklerine metabolize edilmektedir (Rea and Cogan, 2003). Enterokoklar şekerleri temel olarak laktat'a metabolize eden homofermantatif laktik asit bakterileridir. Ancak gelişme koşullarına bağlı olarak önemli miktarlarda asetat, format ve etanol üretebilirler. Pirüvat bu bileşiklerin ön bileşigidir. Enterokokların pirüvat

metabolizması hakkında çok sayıda çalışma yapılmış iken (Rea and Cogan, 2003) enterokokların sitrat metabolizması ile ilgili oldukça az bilgi mevcuttur (Rea and Cogan, 2002). Yapılan bir araştırmada, gıdalardan izole edilen *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* tek karbon kaynağı olarak sitrat ve pürivatı kullanma açısından farklılık göstermiş ve *E. faecalis* organik asitleri kullanma açısından diğer iki türe göre daha aktif bulunmuştur (Sarantinopoulus et al., 2001). Freitas et al. (1999) Picante peynirinden izole edilen *E. faecalis* ve aynı peynirden daha az sayıda izole edilen *E. faecium*'un sütteki sitrat metabolizmasındaki rolünün belirgin olduğunu saptamışlardır. *E. faecalis* FAIR-E 229'un sitrat metabolizması tek karbon kaynağı olarak glukoz yada laktoz'un varlığında sitrat içeren gelişme ortamlarında çalışılmıştır. Çalışmada laktoz yada glukoz içeren MRS broth'da mikrobiyal gelişme sitrat tarafından stimüle edilmişken sitrat katabolize olmamıştır. Tek karbon kaynağı olarak bulunduğu durumda, sitrat katabolize olmuş ve katabolizmanın başlıca son ürünleri asetat ve format olmuştur (Sarantinopoulus et al., 20001). Yine Rea and Cogan (2002; 2003) sitrat içeren besi yeri ortamında *E. faecalis* FAIR E-239'un sitrat içermeyen ortamdan daha iyi geliştiğini ve söz konusu bakterinin sitratı karbon kaynağı olarak kullanabildiğini bildirmiştir. Yine aynı çalışmada fermente edilebilir karbonhidratların varlığında enterokokların sitratı kullanmadığı görülmüştür. Konu ile ilgili son yapılan bir çalışmada *E. faecium* FAIR-E 198'in gerek tek karbon kaynağı olarak gerekse glukoz varlığında sitrat'ı metabolize ederek aroma bileşikleri oluşturduğu bulunmuştur (Sarantinopoulus et al., 2003).

Peynir olgunlaşması sırasında sitrat ve laktozun parçalanması asetaldehit, etanol, diasetil, aseton ve asetoin gibi lezzete katkıda bulunan bir seri uçucu bileşiğin açığa çıkmasını sağlamaktadır (Rea and Cogan, 2003; Sarantinopoulus et al., 2003). Bu bağlamda, süt ürünlerinden izole edilen bir çok *E. faecalis* ve *E. faecium* suşu sütte geliştiklerinde asetaldehit, etanol, diasetil ve asetoin'in iyi üreticileri olarak görülmektedir ve bu bileşikler peynirin aroma ve lezzetine katkıda bulunmaktadır (Hagrass et al., 1991; Andrighetto et al., 2001; Sarantinopoulus et al., 2001). Bu bulgular enterokokların fermente süt ürünlerindeki lezzet gelişimine katkıda bulunabilecek bir metabolik potansiyele sahip mikroorganizmalar olduğunu göstermektedir.

Peynir Teknolojisinde Enterokoklar

Süt ve peynirde bulunan enterokokların muhtemel kaynakları; süt ineklerinin memeleri, insan ve hayvan dışkıları, kontamine sular, süt sağım ekipmanları ile taşıma ve depolama tankları olarak sıralanabilir (Gelsomino et al., 2001; Franz et al., 2003). İnsan dışkısında en fazla bulunan tür *E. faecalis* (10^5 - 10^7 /g) iken hayvan dışkısında *E. faecium* en çok bulunan türdür (Franz et al., 2003).

Enterokoklar çiğ ve pastörize süttten yapılan geleneksel peynirlerin olgunlaşma ve aroma gelişimde önemli rol oynayan ve peynire ilave edildiğinde duyuşal özellikler üzerine pozitif etkileri olabilen mikroorganizmalardır (Franz et al., 2003). Enterokoklar geleneksel olarak üretilen bir çok peynir türünün mikroflorasında starter olmayan mikroflora olarak bulunmaktadır (Beresford, 2003). Örneğın; inek, koyun yada inek-koyun sütü karışımlarından üretilen İtalyan Sagliano al Rubicone peynirinin olgunlaşma florasının temelde laktobasiller ve enterokoklardan oluştuğuş ve enterokokların son ürünün kalitesi üzerinde oldukça önemli bir rolü olduğuş bildirilmiştir (Trovatelli et al., 1987). Mannu et al. (1999) pıhtısı ısıl işleml görmüş bir peynir tipi olan İtalyan Pecorino Sardo peynirinin üretimi sırasında pıhtılaşmadan 24 saat sonra peynirdeki mikroorganizma sayısının 10^9 cfu/g'a yükseldiğuş ve mikrofloranın sadece laktokok ve enterokoklardan oluştuğuşunu belirlemiştir. Yine çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda; Beyaz peynir (Çıtak et al., 2004), Ras (El Soda, 2002), Domiatti (El Soda, 2002), Roncal (Arizcun et al., 1997), Idiazabal (Arizcun et al., 1997), Cebreiro (Centeno et al., 1996) ve Tafi (Saavedra et al., 2003) gibi bir çok peynir türünün mikroflorasında enterokokların bulunduğuş bildirilmektedir.

Peynirde bulunan mikroorganizmaların ve bu mikroorganizmaların peynir olgunlaşmasına katkılarının bilinmesi uygun olgunlaşma teknolojilerinin geliştirilmesi için gereklidir. Bu temel prensipten hareketle farklı tip peynirlerin kalitesinde önemli olan mikrofloralarının belirlenmesine yönelik çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Örneğın Arizcun et al. (1997) koyun sütünden yapılan Roncal ve Idiazabal peynirlerinde 282 enterokok suşu izole etmiştir. Roncal peynirinde bulunanların %87'sinin *E. faecalis*, %7'sinin *E. faecium* ve %6'sının *E. avium* olduğuş ve yine benzer şekilde Idiazabal peynirinde de %85 *E. faecalis*, %10.2 *E. faecium*, %1.0 *E. durans* ve %3.1 *E. avium* bulunduğuş belirlenmiştir. İzole edilen enterokokların proteinaş ve aminopeptidazaş aktivitesinin düşük olduğuş ve suşlar arasında önemli farklılıklar olduğuş bildirilmiştir. Bu durumda da starter

olarak kullanılacak bir suşun, peynir üretiminde enzim aktivitesi açısından incelenmesinin gerekliliği belirtilmiştir. Yine El Soda (2002) Ras ve Domiatti peynirlerinden izole ettiği enterokok'ların söz konusu peynirlerin olgunlaşmasında son derece önemli rolleri bulunduğunu ve son ürün kalitesi üzerine olumlu etkileri olduğunu bildirmiştir. Enterokokların peynirlerin kalitesi ve lezzeti üzerine etkilerinin çoğunlukla olumlu olduğu bildirilmesine karşın, bu mikroorganizmaların peynir kalitesini olumsuz yönde etkileyebileceğine ilişkin bazı çalışmalar da bulunmaktadır (Lopez-Diaz et al., 1995).

Enterokoklar geleneksel olarak İspanyol Cebreiro peyniri gibi pastörize olmayan süttten yapılan peynirlerde dominant bakteri cinsi olarak bulunabilmektedir (Centeno et al., 1996). Söz konusu mikroorganizmalar bu tip peynirlerin geleneksel lezzetinin oluşmasında da son derece önemli rollere sahiptirler. Bundan dolayı söz konusu peynir tiplerinin endüstriyel çapta pastörize süt kullanılarak üretiminde geleneksel yöntemle üretilmiş peynirlerden izole edilen bu mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanımı oldukça kabul gören bir yaklaşımdır. Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada Cebreiro peyniri üretiminde destek starter olarak kullanılan *E. faecalis*'in peynirin olgunlaşma ve kalite parametrelerine etkileri incelenmiştir (Centeno et al., 1997). Çalışma sonucunda enterokok ilave edilen bütün peynirlerde suda çözünen azot, uçucu serbest yağ asitleri, uzun zincirli serbest yağ asitleri ve aseton içeriği'nin kontrol peynirinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmada incelenen bütün peynirlerde asetik asit başlıca yağ asidi olarak belirlenmiş, kontrol peynirinde bulunmayan bütirik ve kaproik asitlerin enterokok ile üretilen peynirlerin hemen hemen hepsinde olduğu tespit edilmiştir. Yine enterokok ile üretilen peynirlerde acı tat olduğu, peynir veriminin düşük olduğu gözlemlenmiş, bu durumun söz konusu mikroorganizmaların spesifik olmayan yüksek seviyedeki proteolizinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Salamurada olgunlaştırılan bir peynir tipi olan Feta peyniri üretiminde *E. faecium* FAIR-E 198, *E. faecium* FAIR-E 243 ve bu iki suşun kombinasyonu destek starter kültürler olarak kullanılmıştır (Sarantinopoulos et al., 2002). Destek kültür olarak kullanılan *E. faecium*'ların sayıları olgunlaşmanın ilk 15 gününe kadar hızlı bir şekilde artmış, daha sonra azalarak sabitleşmiştir. Destek kültür kullanımı peynirin genel kompozisyonunu önemli bir şekilde etkilememiş fakat olgunlaşma ile ilgili bazı özellikleri değiştirmiştir. *E.*

faecium'un her iki suşu da peynirlerde proteolitik indeksi, serbest amino grupları konsantrasyonu ile α -s₁ ve β -kazein parçalanmasını arttırmıştır. Etanol, asetat, aseton, asetaldehit, asetoin ve diasetil peynirlerde başlıca aroma bileşikleri olarak tespit edilmiş, sırasıyla etanol ve asetat'ın en yüksek konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonuçları genel olarak destek kültür olarak kullanılan *E. faecium* suşlarının Feta peynirinin duyuşal özelliklerini pozitif olarak etkilediğini ve bu kültürlerin Feta peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanımının teknolojik öneme sahip olduğunu göstermiştir.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda Enterokokların fekal kontaminasyon indikatörü olarak değerlendirildiği, ancak bunların peynir olgunlaşmasındaki muhtemel rollerini tanımlayabilecek detaylı çalışmaların olmadığı görülmektedir. Çıtak et al. (2004), Temmuz 2000-Haziran 2001 tarihleri arasında Ankara piyasasından topladıkları 30 beyaz peynir örneğinde Enterococcus cinsi bakterilerin varlığını araştırmışlardır. Peynirlerden 101 Enterokok izole edilmiş, bunların 62'sinin *E. faecalis* (%61.3), 25'inin *E. faecium* (%24.7), 7'sinin *E. durans* (%6.9), 5'inin *E. mundtii* (%4.9) ve 2'sinin de *E. hirae/dispar* (%1.9) olduğu belirlenmiştir.

Sonuç

Bir çok sebze, bitkisel materyal ve gıdalar gibi çeşitli kaynaklarda sıklıkla bulunan enterokokların günümüzde onaylı 26 türü vardır. Bu türlerden *E. faecalis* ve *E. faecium* en çok bilinen türler olup gıda fermantasyonları ve probiyotik olarak kullanım konularında önemli rollere sahiptirler. Enterokoklar çiğ ve pastörize süttten yapılan geleneksel peynirlerin olgunlaşma ve aroma gelişiminde önemli rol oynayan ve peynire ilave edildiğinde duyuşal özellikler üzerine pozitif etkileri olabilen mikroorganizmalardır. Enterokokların zayıf asidifikasyon ve proteolitik aktivilerinin aksine esterolitik aktiviteleri yüksektir. Ancak hemen hemen bütün biyokimyasal özellikler suştan suşa farklılık gösterebilmektedir. Enterokoklarca sitratın metabolize edilmesi asetaldehit, etanol, diasetil, aseton ve asetoin gibi lezzete katkıda bulunan bir seri uçucu bileşiğin açığa çıkmasını sağlamaktadır. Bu bilgilerden hareketle son yıllarda yapılan çalışmalar enterokokların peynir üretiminde kültür (ve/veya destek kültür) olarak kullanımına yönelmiştir. Bu bağlamda ülkemizde üretilip tüketilen peynir çeşitlerinin kalitesi üzerine enterokokların olası etkilerinin belirlenmesi için detaylı çalışmaların yapılması gerekli görülmektedir.

Özet

Enterokoklar laktik asit bakterilerinin (LAB) başlıca cinslerinden birini oluşturmaktadır. Çevre şartlarına dirençli olmaları ve adaptasyon kabiliyetlerinden dolayı su, toprak, bitkiler ile insan ve hayvanların gastrointestinal sistemleri gibi oldukça geniş bir çevrede bulunabilmektedirler. Enterokoklar çoğunlukla bitkisel ve hayvansal kaynaklardan kontaminasyon sonucu gıdalarda bulunabilmekle beraber peynirler gibi çok sayıda fermente gıdanın üretim ve olgunlaşmasında da önemli roller oynamaktadırlar. Bu makalede öncelikle enterokokların biyokimyasal özellikleri özetlenerek peynir teknolojisindeki önemleri yeni bulguların ışığında değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Enterokok, olgunlaşma, peynir,

Kaynaklar

- Andrighetto, C., Knijff, E., Lombardi, A., Torriani, S., Vancanneyt, M., Kersters, K., Swings, J., Dellaglio, F., 2001. Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses. *J. Dairy Res.* 68: 303-316.
- Arizcun, C., Barcina, Y., Torre, P., 1997. Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus* spp. isolated from milk and Roncal and Idiazabal cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 38: 17-24.
- Beresford, T.P., 2003. Non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and cheese quality. *Dairy Processing: Improving Quality*, Edited by G. Smit, CRC Pres, Woodhead Publishing Limited, England, 448-469p.
- Buchanan, R.E, Gibbons, N.E., 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Waver'y Press, Inc., Mt. Royal and Guilford Aves. Baltimores, Md., U.S.A., 21202, 1268p.
- Centeno, J.A., Menendez, S., Rodriguez-Otero, J.L., 1996. Main microbial flora present as natural starters in Cebreiro raw-cow's milk cheese (Northwest Spain). *Int. J. Food Microbiol.* 33: 307-313.
- Centeno, J.A., Menendez, S., Hermida, Ma., Rodriguez-Otero, J.L., 1997. Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. *Int. J. Food Microbiol.* 48: 97-111.
- Çıtak, S., Yücel, N., Orhan, S., 2004. Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. *Int. J. Dairy Technol.* 57(1): 27-31.
- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., 2001. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese from raw ewe's milk. *J. Appl. Microbiol.* 91: 861-870.
- El Soda, M., 2002. Selection of *Enterococcus faecium* strains for Egyptian cheesemaking. Presentations: *Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects*, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E., 1999. Enterococci at the crossroads of food safety. *Int. J. Food Microbiology*, 47: 1-24.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzapfel, W.H., 2003. Enterococci in foods-a conundrum for food safety. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 105-122.

- Freitas, A.C., Pintado, A.E., Pintado, M.E., Malcata, F.X., 1999. Organic acids produced by lactobacilli, enterococci and yeasts isolated from Picante cheese. *Eur. Food Res. Technol.* 209: 434-438.
- Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Condon, S., Swings, J., Cogan, T.M., 2001. Enterococcal diversity in the environment of an Irish Cheddar-type cheesemaking factory. *Int. J. Food Microbiol.* 71: 177-188.
- Giraffa, G., 2003. Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 215-222.
- Gürsoy, O., Gökçe, R., Gökçalp, H.Y., 2000. Fermente Süt Ürünlerinde Proteoliz I: Peynirde Proteoliz. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi* 5(4):34-42.
- Hagrass, A.E., Fayed, E.O., Aly, A.A., el-Samragy, Y.A., 1991. Growth characteristics of enterococci isolated from Laban Rayeb. *Nahrung* 35: 209-213.
- Holland, R., 2004. Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavour. IDF Symposium on Cheese: Ripening, Characterization & Technology, March 21-25, 2004, Book of Abstracts, Page: 24 (via www.cheese2008.ch/).
- Holzäpfel, W.H., Guidas, C., Franz, C.M.A.P., 2002. General overview of the enterococci. Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- İnal., T., 1990. Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset, İstanbul, 1108s.
- Kavas, G., Kınık, Ö., 2003. Hayvan beslenmesi ve gıda güvenliği açısından enterokoklar. *Türk Tarım* 152: 30-37.
- Kılıç, S., 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.
- Klein, G., 2003. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 123-131.
- Koch, S., Hufnagel, M., Theilacker, C., Huebner, J., 2004. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine* 22: 822-830.
- Kühn, I., Iversen, A., Burman, L.G., Olsson-Liljequist, B., Franklin, A., Finn, M., Aarestrup, F., Seyfarth, A.M., Blanch, A.R., Vilanova, X., Taylor, H., Caplin, J., Moreno, M.A., Dominguez, L., Herrero, I.A., Möllby, R., 2003. Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and environment-a European study. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 133-145.
- Lopez-Diaz, T.M., Santos, J.A., Gonzales, C.J., Moreno, B., Garcia, M.L., 1995. Bacteriological quality of a traditional Spanish blue cheese. *Milchwissenschaft* 50(9): 503-505.
- Lund, B., Adamson, I., Edlund, C., 2002. Gastrointestinal transit survival of an *Enterococcus faecium* probiotic strain administered with or without vancomycin. *Int. J. Food Microbiol.* 77: 109-115.
- Mannu, L., Paba, A., Pes, M., Floris, R., Scintu, M.F., Morelli, L., 1999. Strain typing among enterococci isolated from home-made Pecorino Sardo cheese. *FEMS Microbiology Letters* 170: 25-30.
- Morea, M., Baruzzi, F., Cocconcelli, P.S., 1999. Molecular and physiological characterization of dominant bacterial populations in traditional Mozzarella cheese processing. *J. Appl. Microbiol.* 87: 574-582.

- Rea, M.C., Cogan, T.M., 2002. Citrate and pyruvate metabolism in enterococci. Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- Rea, M.C., Cogan, T.M., 2003. Glucose prevents citrate metabolism by enterococci. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 201-206.
- Saavedra, L., Taranto, M.P., Sesma, F., Valdez, G.F., 2003. Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic *Enterococcus faecium* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 241-245.
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T.M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 2001. Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *Int. Dairy J.* 11: 621-647.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 2002. Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 76: 93-105.
- Sarantinopoulos, P., Makras, L., Vaningelgem, F., Kalantzopoulos, G., De Vuyst, L., Tsakalidou, E., 2003. Growth and energy generation of *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 during citrate metabolism. *Int. J. Food Microbiol.* 84: 197-206.
- Schleifer, K.H., Klein, G., 2002. Ecology, taxonomy and physiology of enterococci. Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- Söyletir, G., Çerikçioğlu, N., 1996. Streptokok infeksiyonları. Enfeksiyon Hastalıkları. Editörler: A. Willke, G. Söyletir & M. Doğanay. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. S:329-339.
- Trovatelli, L.D., Schiesser, A., Massa, S., 1987. Identification and significance of enterococci in hard cheese made from raw and sheep milk. *Milchwissenschaft* 42(11): 717-719.
- Tsaikalidou, E., Monolopoulou, E., Kabaraki, E., Zoidou, E., Pot, B., Kersters, K., Kalantzopoulos, G., 1994. The combined use of whole cell protein extracts for the identification and enzyme activity screening of lactic acid bacteria isolated from traditional Greek dairy products. *Sys. Appl. Microbiol.* 84: 444-458.
- Vancanneyt, M., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., Holzapfel, W., Dellaglio, F., Cogan, T., De Vuyst, L., Lombardi, A., Kerster, K., Swings, J., 2002. Genotypic characterization of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains and correlation with their origin and functional and safety properties. Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- Wessels, D., Jooste, P.J., Mostert, J.F., 1990. Technologically important characteristics of *Enterococcus* isolates from milk and dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 10 (3-4): 349-352.
- Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H., 1995. The Genera of Lactic Acid Bacteria (The Lactic Acid Bacteria Volume: 2). Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman&Hall, Wester Cleddens Road, Bishopbriggs, Glasgow G64 2NZ, UK, 398p.