



Euroopa Maaelu Arengu  
Põllumajandusfond:  
Euroopa Investeeringud  
maapiirkondadesse

## Pärmseened piimas ja piimatoodetes

*Yeasts in milk and dairy products*

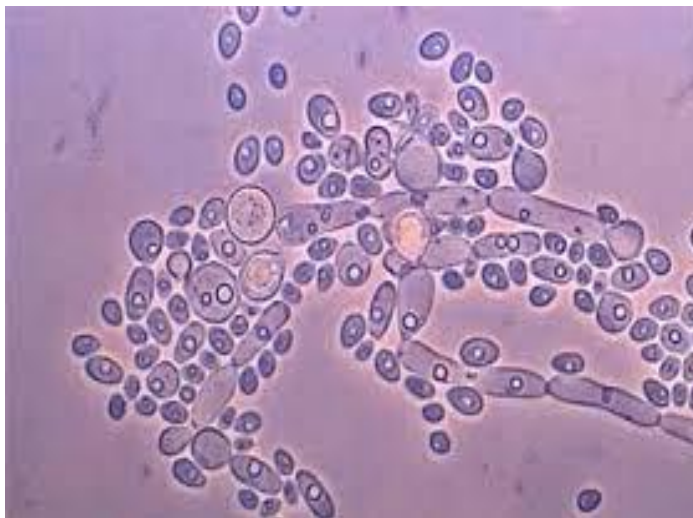
DSc. Priit Elias  
BioCC

### Pärmseentest üldiselt

- Pärmseened:
  - arenesid välja 1,6-2,1 biljonit aastat tagasi;
  - avastati Antonie van Leeuwenhoek poolt 1680 .a.;
  - Louis Pasteur näitas nende suhkru kääritamise võimet;
  - Robert Kochi tahked söötmed panid aluse isoleerida üksikuid tüvesid lähtudes nende fermentatiivsetest karakteristikutest;
  - nad on eukariootsed organismid;
  - neid on nii askomütseete kui ka basidiomütseete

## Üks „tüüpiline“ pärmseen on:

- üherakuline;
- saprofüüt, fermenteerib erinevaid karbohüdraate;
- paljunevad:
  - aseksuaalselt pungumisel;
  - aseksuaalselt pooldumisel;
  - vahel ka askosporidega;
- rakud on mitmeid  $\mu\text{m}$  suuremad kui bakteritel



- Joonis 1. Pärmseened

- Pärmseeni tuntakse üle 800 liigi
- Kasutatud neist on ainult väheseid (leib, vein, õlu, keefir ja viimasel ajal kütus ning farmatseutilised preparaadid)
- Pärmseened on väga **kohanemisvõimelised** ja neid võib leida:
  - Paljudest bioloogilistest toormaterjalidest nagu:
    - puu- ja juurviljadelt ning nende saadustest
    - piimast ja piimatoodetest
    - teraviljatoodetest
    - toiduainete töötlemisel kasutatavatel seadmetel jne.

### **Pärmseened piimas**

- Võivad sattuda piima kogu tootmisahelas
- Nende hulgas on liike, mis toimivad:
  - sihipäraselt toodete omadustele,
  - riknemist esile kutsuvalt
  - potentsiaalselt haigustekitavalt
- Pärmseente vältimiseks piimas on oluline täita kõiki sanitaar-hügieenilisi tingimusi
- Pärmseente arv piimas on suhteliselt väike kõikides  $10^1$ – $10^3$  pmü/ml

Piimast võib leida järgmisi pärmseente liike:

*Debaryomyces hansenii* 'd,  
*Cryptococcus albidus* 'st,  
*Cr. flavus* 'st,  
*Cr. curvatus* 'st,  
*Cr. diffluenses* 'st,  
*Cr. humicola* 't,  
*Kluyveromyces marxianus* 't,  
*Picha* spp,  
*Rhodotorula glutinis* 't,  
*Rh. mucilaginosa* 't,  
*Trichosporon* spp.,  
*Torulaspota delbrueckii*,  
*Yarrowia lipolytica* 't,  
*Saccharomyces cerevisiae* jt.

- Toorpiimast toodete valmistamisel lähevad nad üle toodetesse, kus neil võib olla nii positiivne kui ka negatiivne mõju kvaliteedile.
- Nende kasulik osa toodetes on:
  - inhibeerida ebasoovitavate mikroorganismide kasvu näiteks patogeene (*Clostridium butyricum*, *C. tyrobutyricum*),
  - avaldada sünergilist mõju tehnoloogilistes protsessides vajalikele piimhappebakteritele,
  - osaleda fermentatiivsetes protsessides

- Pärmseente areng mõjub aga üldjuhul kas kahjulikult piima ja piimatoodete kvaliteedile või kutsub esile nende riknemise
- Toodetesse sattunud pärmseente arengu kõrvaldamine osutub keeruliseks, sest nad on:
  - võimelised kasvama madalatel temperatuuridel,
  - võimelised kasvama madalatel pH väärtustel,
  - taluma füüsikalisi-keemilistest teguritest põhjustatud stressi

- Pärmseened hävivad pastöriseerimisel kuid võivad jääda eluvõimelisteks spooridena
- Stressi tingimustes (näit. madal  $a_w$  väärtus) nad moodustavad spoore ja siis on termotöötamise efektiivsus väiksem
- Pärmseened satuvad piima ja piimatoodetesse enamasti sekundaarselt saastest (lisandid, seadmed, õhk, pakkematerjalid, töötajad jne.)

## Rõõsk- ja hapukoor

- Rõõsk- ja hapukoor on sobivateks keskkondadeks pärmseentele;
  - pole toodetesse oodatud,
  - arv peaks olema vähem kui 10 pmü g<sup>-1</sup> ,
  - satuvad toodetesse sekundaarsest saastest,
  - nende arengul tekib toodetel vahutav konsistents ja selgesti tuntav ebameeldiv pärmi lõhn,
  - tooted riknevad

- Rõõsast- ja hapukoorest on leitud eelkõige lipolüütilisi pärmseeni nagu:
  - *Debaryomyces hansenii*’d,
  - *Cryptococcus diffluens*’ist,
  - *Cr. laurentii*’d,
  - *Rhodotorula glutinis*’t ,
  - *Rh. tubra*’t
  - *Yarrowia lipolytica* ’t ja
  - *Torulopsis* spp.,

## Või

- Või valmistamisel pärmseeni ei kasutata
- Või riknemine pärmseente elutegevuse tõttu on suhteliselt harv nähtus sest:
  - koore termilisel töötlusel nad hävivad ,
  - kasutatav juuretis ja võimalikud lisandid hapukoorevõi valmistamisel peavad olema pärmide vabad
- Nad võivad sattuda võisse ainult sekundaarsest saastest
- Kõige ohtlikemateks liikideks võis on lipolüütilised liigid

## Keefir

- Keefiri valmistatakse kas keefiri seente või nende seente baasil valmistatud juuretistega
- Keefiris on pärmseened üheks normaalse mikrofloora osaks
- Keefiri seened ise on mikroorganismide elutegevuse tulemusel moodustunud riisitera suurused bioloogiliselt iseseisvad moodustised



- Keefiri seemed

- Keefiri seeni moodustavatesse sümbiootilisse mikrofloorasse kuuluvad:
  - **laktokokid** (*Lactococcus latis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus latis* subsp. *diacetylactis*);
  - **laktobatsillid** (*Lactobacillus brevis*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. kefir*);
  - **mesofiilsed heterofermentatiivsed piimhappebakterid** (*Leuconostoc mesenteroides* jt.);
  - **pärmseened** (*Kluyveromyces marxianus*, *Pichia fermentas*, *Saccharomyces cerevisiae*);
  - **äädikhapebakterid** (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus*).



- Keefiri seentest on isoleeritud 29 erinevat mikroobi liiki
- nende kasv mikrokolooniates tekitab keefiri seente massi kefiraani
- Kefiraani on võimeline produtseerima keefiri seente mikrofloorasse kuuluv *Lactobacillus kefir* koos pärmseen *Torulaspora delbrueckii* ga
- Mikrofloora koosluse muutus, milles on oluline mõju nii juuretisel kui ka tehnoloogial, mõjub enamasti negatiivselt toote organoleptilistele omadustele ja kvaliteedile

### Jogurt, hapendatud pett, hapu piim

- Need tooted peaksid olema pärmseentest vabad
- Pärmseened satuvad toodetesse lisanditest või sekundaarsest saastest
- Puuvilju sisaldavad tooted koos fruktoosi ja sahharoosiga soodustavad pärmseente fermentatsiooni
- Pärmseente arengut ei pidurda.
  - madal pH väärtus (jogurtil 3,8-4,5)
  - madal temperatuur (võivad kasvada ka 0 °C juures)
- Pärmseente fermentatsioonil, moodustub CO<sub>2</sub> toimub proteolüüs ja lipolüüs ning tooted riknevad

- *Sac. cerevisiae* arvu kahekordistumise aeg loksutamata puuvilja jogurtis on:
  - D 30 °C = ~5 h
  - D 20 °C = ~10 h
  - D 10 °C = ~62 h
  - D 4 °C = ~84h
- **Toodete rikkemise tunnused on :**
  - pakendite paisumine
  - muutused tekstuuris
  - ebameeldiv lõhn ja maitse

- **Rikkemisel osalevad mitte ainult laktoosi fermenteerivad pärmseente liigid nagu:**
  - *Kluyveromyces marxianus* ja
  - *Kluyveromyces latis*
- **vaid ka laktoosi mitte fermenteerivad liigid nagu:**
  - *Hansenula* spp.
  - *Saccharomyces cerevisiae*,
  - *Pichia membranifaciens*,
  - *P. guilliermondi* ,
  - *Geotrichum candidum* jt.

## Juustud

- Juustus olemasolevate mikroorganismide (kaasa arvatud pärmseened) arv ja bioloogiline mitmekesisus sõltub:
  - toorpiima mikrobioloogilisest kvaliteedist;
  - piima käsitlest farmis ja transpordil;
  - piima termilisest töötlemisest ja kalgendi käsitlemise viisidest;
  - temperatuurist ja niiskusesisaldusest juustude valmistamisel;
  - soolamise viisist ja soola kogusest juustus;
  - juustude kättesaadavusest eksogeensetele mikroorganismidele nii töötlemisel kui ka valmistamisel

- Juustude mikrobiota mõjutab juustude maitset, lõhna, tekstuuri ja välimust
- pärmseened võivad olla ühtede juustude juures kasuliku toimega, samas teiste liikide juures kutsuda esile riknemist
- värsketes, kõvades ja poolkõvades lõikejuustude on pärmseened ebasoovitav nähtus
- pärmseente olemasolu juustus sõltub nii juustuvalmistamise tehnoloogiast, sanitaarhügieenilistest tingimustest kui ka kasutatavatest lisanditest

- peale lisandite, tootmistingimuste ja seadmete on oluliseks juustude pärmseentega saastumise allikaks soolvesi vaatamata sellele, et selle:
  - pH on 4,5 piires,
  - temperatuur kõigub vahemikus 12-19 °C,
  - sisaldab enamasti ligikaudu 22% NaCl
- Soolveest on leitud järgmisi pärmseeni:
  - *Debaryomyces hansenii*’d,
  - *Candida versatilis*’t
  - *Kluyveromyces marxianus*’t,
  - *Toluraspora delbrueckii*’d,
  - *Saccharomyces cerevisiae*’d,
  - *Yarrowia lipolytica*’t jt

- Pärmseeni võidakse kaasata lima- ja hallitusjuustude valmistamisel, kus nad on mikrofloora koosluses, osalevad tekstuuri muutustes ning aroomainete ja hapete biosünteesis
- Pinnalt valmivatel juustudel kasutab pärmseen (näit. *Debaryomyces hansenii*) piimhapet:
  - suureneb juustude pH väärtus,
  - paraneb lima tekitava *Brevibacterium linens*’i kasv
  - kiireneb lima all valmivate juustude valmimine

- Alates valmimise esimestest päevadest **suureneb pinnalt valmivate hallitusjuustude** (pH pärast pressimist 4,5-4,6) **pärmseente arv kiiresti** ja saavutab pinnal 10. päevaks maksimumi  $10^6$ - $10^9$  pmü g<sup>-1</sup>:
  - juustude sisemuses on see arv tuhandeid korda väiksem,
  - pH väärtus suureneb,
  - juustu NaCl sisaldus ühtlustub,
  - kiireneb valkude ja rasva lõhustumine.
- Edasisel valmimisel pärmide arv aeglaselt väheneb

- **Pärmseened on lahutumatuks osaks sinihallitusjuustude (näit. roqueforti) mikroflooras**, kuna mõjuvad positiivselt hallitusjuustudele omase maitse ja tekstuuri kujunemisele
- Neid **esineb nii sisemises kui ka pinna mikroflooras**
- Nad soodustavad juustus:
  - heterofermentatiivsete piimhappebakterite arengut
  - gaasi moodustumist
  - lipolüüsi ja proteolüüsi
  - *Penicilliumi* spp kasvu

- Tulemuseks on juustuliigile omane spetsiifiline maitse ja tekstuur
- *Yarrowia lipolytica* l on siin tugev sünergia *Penicillium roqueforti* ga, ja see suurendab sinihallitusjuustudele omaste aromaatsete komponentide produktsiooni
- Kui enamike piimatoodete riknemistunnused ilmnevad pärmseente arvukusel  $10^5$ – $10^6$  pmü  $g^{-1}$ , siis  $10^8$  pmü  $g^{-1}$  sinihallitusjuustude juures ei põhjusta veel märkimisväärseid defekte

- **Gouda tüüpi juustude valmistamisel domineerivad piimhappebakterid**
- Valmimise viimastel etappidel võib neis pärmseente arv tõusta  $10^5$ –  $10^6$  pmü  $g^{-1}$ .
- Enamlevinenumaks liigiks gouda tüüpi juustus osutub *Debaryomyces hansenii*.
- Esinevad veel:
  - *Saccharomyces cerevisiae*,
  - *Yarrowia lipolytica*,
  - *Kluyveromyces marxianus*,
  - *Torulaspora delbrueckii*,
  - *Rhodotorula glutinis*,
  - *Cryptococcus albidus* ja
  - *Candida catenulata*

- Gouda juustu pärmseened pärinevad sekundaarsest saastest
- Olulisemateks saasteallikateks on:
  - seadmete pinnad,
  - soolveevann ja soolvesi,
  - õhk,
  - ruumide sanitaarhügieeniline olukord,
  - inimene
- Pärmseente sisaldusel juustus üle  $10^5$  pmü  $g^{-1}$  ilmnevad esimesed riknemise tunnused

- Riknemisega kaasneb:
  - intensiivne gaasi teke,
  - pH väärtuse tõus,
  - tekstuuri muutused,
  - puuvilja, kibeda ning rääsunud lõhna ja maitse teke

- Pärmseentest *Yarrowia lipolytica*’t on kasutatud ka hollandi ja tšedari tüüpi juustude valmistamisel:
  - lisati piimale juuretiste koostises,
  - pärmide sisaldus piimas enne laapi oli  $10^5$  pmü ml<sup>-1</sup> ,
  - 6 nädala vanustes juustudes oli nende maksimum 7,9 log pmü g<sup>-1</sup> ,
  - 8. nädalal oli pärmidega ja pärmide lisandita juustude pH vastavalt 6,37 ja 5,47

- *Yarrowia lipolytica* kasutamine:
  - suurendas hapete kasutust,
  - tõstis lahustuva lämmastiku ja vabade aminohapete sisaldust 2 korda ning
  - suurendas lühiahelaliste rasvhapete või- ja kaproonhappe sisaldust vastavalt 3,6 ja 3,2 korda.

(Szołtysik jt., 2013)



- Pärmseened võivad assotsieeruda ka toidust tingitud infektsioonides
- Juustudest on leitud haigustekitajate gruppi kuuluvatest:
  - *Candida albicans*,
  - *Candida tropicalis*,
  - *C. krusei* ja
  - *C. glabrata*
  - *Cryptococcus* spp.

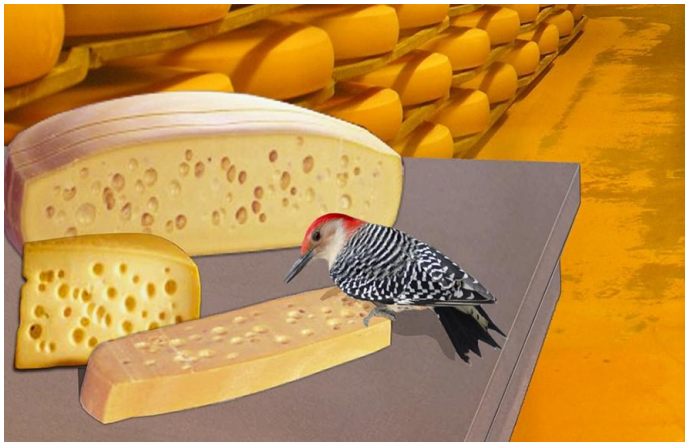
(Wanderley jt., 2013.)

## Kokkuvõte

- Pärmseeni võib leida nii piimast kui ka paljudest piimatoodetest
- Piimas, koores, hapupiimatoodetes, võis, kodujuustus ja kondenseeritud piimatoodetes on pärmseente esinemine ja areng ebasoovitav
- Vajalikud on nad keefiri valmistamisel toimuvates fermentatiivsetes protsessides, kus nad kuuluvad keefiri seente lahutumatasse mikrofloora koostisesse.

- Nii hallitusjuustude ning lima all valmivate juustude valmistamisel on nad:
  - sünergilistes suhetes juuretiste kultuuridega,
  - kiirendavad juustude valmimist,
  - soodustavad tüüpiliste, juustu liikidele omaste organoleptiliste näitajate moodustumist

- Kõvade ja poolkõvade lõikejuustude valmistamisel pärmseened juuretiste mikrofloorasse üldjuhul ei kuulu
- Juustudesse sattuvad nad toorpiima kasutuse korral piimast ja pastöriseeritud piima kasutusel sekundaarsest saastest
- Pärmseente esinemine ja areng kõvades ning poolkõvades lõikejuustudes mõjub negatiivselt juustude kvaliteedile või halvemal juhul kutsub esile riknemise.
- Pärmseente teatud liigid võivad assotsieeruda ka toidust tingitud infektsioonides.



TÄNAN TÄHELEPANU EEST!