



Peynirlerde Olgunlaşma Sürecinin Hızlandırılmasına Yönelik Stratejiler

Mehtap ÇELİK^{1*}, Metin YILDIRIM²

¹Hitit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çorum, Türkiye.

²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye.

Mehtap ÇELİK, ORCID No: [0000-0001-6929-1879](https://orcid.org/0000-0001-6929-1879), Metin YILDIRIM, ORCID No: [0000-0002-6637-916X](https://orcid.org/0000-0002-6637-916X)

MAKALE BİLGİSİ

ÖZ

Derleme

Geliş: 02.04.2024

Kabul: 27.01.2025

Anahtar Kelimeler

Peynir

Hızlandırılmış olgunlaşma

Glikoliz

Lipoliz

Proteoliz

* Sorumlu Yazar

mehtapcelik@hitit.edu.tr

Dünyada binin üzerinde peynir çeşidi bulunmakta ve Türk Gıda Kodeksine göre peynir, pıhtılaştırıcı kullanılarak süt ve türevlerinden elde edilen farklı sertlik ve yağ içeriğine sahip, çeşidine özgü özellikler taşıyan bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır. Peynirin duysal, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin şekillenmesinde kritik bir rol oynayan olgunlaşma süreci, mikroorganizmalar ve enzimlerin etkisiyle gerçekleşmektedir. Olgunlaşma sırasında glikoliz, lipoliz ve proteoliz gibi reaksiyonlar meydana gelmekte, bu reaksiyonların hızı ve seviyesi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu süreçte ortaya çıkan çeşitli kimyasal bileşikler, her peynir çeşidine özgü lezzet ve dokunun oluşmasını sağlamaktadır. Ancak olgunlaşma süreci, özellikle yüksek kuru madde içeriğine sahip peynirlerde yavaş ve maliyetli bir işlem olduğundan, peynir endüstrisinde bu süreci kısaltmaya yönelik stratejiler geliştirilmiştir. Olgunlaşmayı hızlandırmak için sıcaklık artırımı, enzim ilavesi, modifiye mikroorganizma kültürleri eklenmesi, yüksek basınç uygulamaları ve peynir bulamacı gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu makalede, söz konusu yöntemlerin avantajları, dezavantajları ve ticari potansiyelleri incelenmiştir.

Strategies to Accelerate the Ripening Process in Cheeses

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Review

Received : 02.04.2024

Accepted : 27.01.2025

Keywords

Cheese

Accelerated ripening

Glycolysis

Lipolysis

Proteolysis

* Corresponding Author

mehtapcelik@hitit.edu.tr

There are over a thousand types of cheese worldwide, and according to the Turkish Food Codex, cheese is defined as a dairy product with varying firmness and fat content, produced from milk and its derivatives using a coagulant, and characterized by features specific to its type. The ripening process plays a critical role in shaping the sensory, physical, and chemical properties of cheese, primarily influenced by the activity of microorganisms and enzymes. During maturation, reactions such as glycolysis, lipolysis, and proteolysis occur, with their rates and extents being influenced by numerous factors. These reactions lead to the formation of various chemical compounds that contribute to the unique taste and texture of each cheese type. However, the ripening process, particularly in cheeses with high dry matter content, is a slow and costly operation. This has driven the cheese industry to develop strategies to accelerate the ripening process. Methods such as elevated ripening temperatures, enzyme addition, the use of modified microbial cultures, high-pressure treatments, and cheese slurry additions have been employed to expedite cheese ripening. This article examines the advantages, disadvantages, and commercial potential of these methods in detail.

Lütfen aşağıdaki şekilde atıf yapınız / Please cite this paper as following;

Çelik, M., Yıldırım, M., 2025. Peynirlerde olgunlaşma sürecinin hızlandırılmasına yönelik stratejiler, Journal of Animal Science and Products (JASP) 8 (1):48-72. DOI: [10.51970/jasp.1463642](https://doi.org/10.51970/jasp.1463642)

Giriş

Kaynaklara göre farklılık göstermekle birlikte dünyada çok değişik lezzet, doku ve şekle sahip binden fazla peynir çeşidi bulunmaktadır (Fox ve ark., 2017). Türk Gıda Kodeksine göre peynir "Hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peynir altı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz, tekniğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünüdür" şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim, 2015).

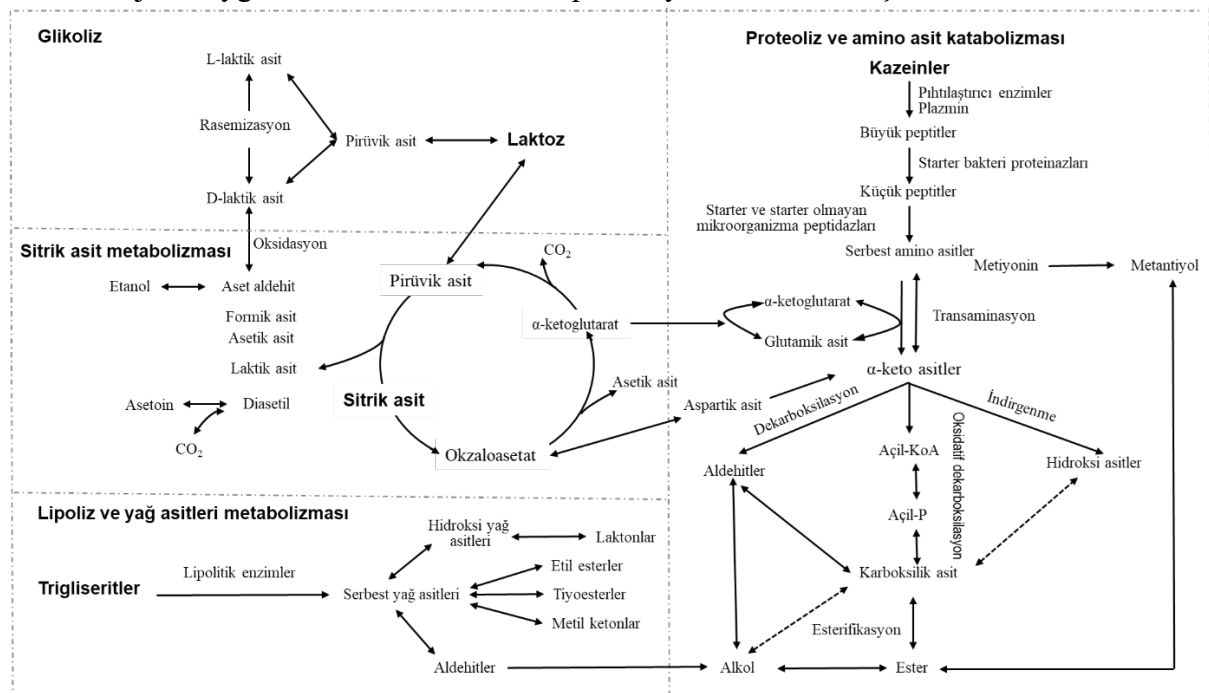
Olgun peynirle karşılaştırıldığında taze peynir, kazein, çok az peynir altı suyu proteini (ultrafiltre süttten yapılan peynirler hariç), yağ, çok az laktoz (süzme aşamasında ~%1), laktik asit (~%1), sitrik asit (%0.2), NaCl (%0.7-6.0) ve su içeren nispeten basit bir karışımdır (Fox ve ark., 2017). Peynirde olgunlaşma; her peynir çeşidinin kendine özgü duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri kazanabilmesi için belirli şartlar altında ve belirli sürelerde geçirdiği fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve enzimatik değişikliklerin toplamı olarak tanımlanabilir. Bu süreçte en etkin görevi mikroorganizmalar, özellikle de laktik asit bakterileri üstlenmektedir. (Fox ve McSweeney, 1996; Upadhyay ve McSweeney, 2003).

Boyut, mikrobiyal flora ve asitlik düzeyindeki farklılıklar nedeniyle peynirlerin olgunlaşma koşulları da farklılık göstermektedir. Tüm peynir çeşitlerinde ilk gerçekleşen olay asit üretimidir. Olgunlaşma işlemi, yumuşak peynirlerde dıştan içe doğru, sert ve yarı sert peynirlerde ise peynirin tüm kitlesinde eşit bir şekilde gerçekleşmektedir (Azarnia ve ark., 2010; Fox ve ark., 2017). Peynir, süt, starter kültür ve çevresel bulaşmalar gibi farklı kaynaklardan gelen mikroorganizma gruplarının oluşturduğu karmaşık bir ekosistem olarak değerlendirilebilir. Bu mikroorganizma gruplarının olgunlaşma döneminde laktoz, protein ve yağı kullanma şekilleri her peynir çeşidinin kendine özgü duysal özelliklerinin oluşumunda temel katkı sağlayan faktördür. Olgunlaşma sırasında gerçekleşen glikoliz, lipoliz ve proteolizin (Şekil 1) hızı ve düzeyi pıhtılaştırıcı enzimin çeşidi ve peynirde kalan miktarı, starter olan ve olmayan mikroorganizmaların durumu, enzim ilavesi, üretim teknolojisi, üretim ve olgunlaşma sırasındaki çevre koşulları gibi birçok faktörden etkilenir (Forde ve Fitzgerald, 2000; Upadhyay ve McSweeney, 2003). Bu birincil reaksiyonlar sonucu oluşan ürünlerin ileri düzeyde dönüşüme uğraması ile her peynirin kendine özgü lezzeti ortaya çıkar (McSweeney ve Sousa, 2000; Azarnia ve ark., 2010). Peynir çeşitlerinin çoğunluğu üretimin hemen sonrasında kimyasal bileşim ve doku açısından temel olarak benzerlik göstermekle birlikte olgunlaşma aşamasında peynirin maruz kaldığı koşullar her peynir çeşidi için farklı lezzet ve dokunun gelişmesine yol açar. Bu süreçte; peptitler, amino asitler, aminler, tiyoller, tiyoesterler, yağ asitleri, yağ asidi esterleri, laktonlar, metil ketonlar, asetik asit, propiyonik asit gibi organik asitler, alkoller ve karbon dioksit oluşmaktadır (El Soda, 1993; Forde ve Fitzgerald, 2000; Upadhyay ve McSweeney, 2003; McSweeney, 2004; Üçüncü, 2008).

Peynirin olgunlaşması tam olarak kontrol edilemeyen, yavaş (özellikle de düşük su içerikli peynirlerde) ve pahalı bir süreçtir. Soğutma, işçilik ve diğer işletme giderlerini azaltmak ve sınırlı üretim alanından optimum düzeyde yararlanmak için olgunlaşma süresinin kısaltılması peynir endüstrisi açısından çok önemlidir (Azarnia ve ark., 2006). Olgunlaşma

sürecini hızlandırmak için olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi, enzim ilavesi, genetik, kimyasal ya da fiziksel yöntemlerle modifiye edilmiş mikroorganizma kültürlerinin ilavesi, yüksek basınç uygulaması ve peynir bulamacı ilavesi gibi yöntemler kullanılmıştır (Fox ve McSweeney, 1996; Calasso ve ark., 2015; Özer ve Hayaloğlu, 2021; Vélez ve ark., 2023). Bu yöntemlerin tamamında amaç, peynirdeki enzimatik aktiviteyi arttırmaktır (Kosikowski, 1978; Calasso ve ark., 2015). Olgunlaşmayı hızlandırmak için çok sayıda seçenek bulunmasına karşın, her bir yöntemin sahip olduğu avantaj ve dezavantajlar nedeniyle genel olarak kabul gören tek bir yöntem söz konusu değildir (Calasso ve ark., 2015).

Bu makalede, olgunlaşmayı hızlandırmak için kullanılan stratejilerin avantajları, dezavantajları, uygulanabilirlikleri ve ticari potansiyelleri incelenmiştir.



Şekil 1. Olgunlaşma sırasında gerçekleşen glikoliz, lipoliz ve proteoliz reaksiyonları ile bunlar arasındaki etkileşim (Blaya ve ark., 2018)

Figure 1. Glycolysis, lipolysis and proteolysis reactions that occur during ripening and the interaction between them (Blaya et al., 2018)

Olgunlaşmayı Hızlandırmaya Yönelik Stratejiler

Olgunlaşma, peynir çeşidine göre 3-24 ay süren pahalı bir süreç olduğundan bu süreci hızlandırıp masrafları azaltmak için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin temel amacı olgunlaşma süresini kısaltarak masrafları minimuma indirmek olmakla birlikte her zaman aynı lezzet ve yapıya sahip ürün elde edilmesini sağlamak da aynı derecede önemlidir. Peynirde gerçekleşen biyokimyasal olaylardan glikolizin hızlandırılmasının olgunlaşma süresinin kısaltılmasına çok önemli bir katkısı bulunmamaktadır. Lipolizin hızlandırılması ise sadece Mavi küflü ve İtalyan tipi peynirlerde yarar sağlamaktadır. Ancak proteolizin hızlandırılması bütün peynir çeşitlerinde olgunlaşmanın hızlanmasına katkı sağlayabilmektedir (Fox, 1993; Azarnia ve ark., 2006). Olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi, enzim ilavesi, kimyasal, fiziksel ya da genetik olarak modifiye edilmiş mikroorganizma kültürlerinin ilavesi,

yüksek basınç uygulaması ve peynir bulamacı ilavesi gibi stratejiler ile enzimatik aktivitenin artırılarak olgunlaşmanın hızlandırılması hedeflenmektedir (Fox ve McSweeney, 1996; Calasso ve ark., 2015). Tablo 1’de bu stratejilerin avantaj ve dezavantajları özetlenmiştir.

Tablo 1. Olgunlaşma süresini kısaltmak için kullanılan stratejilerin avantaj ve dezavantajları
Table 1. Advantages and disadvantages of strategies used to shorten ripening time.

Stratejiler	Avantajlar	Dezavantajlar
Fiziksel Stratejiler		
<i>Olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi</i>	- Basit, ucuz ve etkilidir. - Yasal bir sınırlama mevcut değildir. - Glikoliz, proteoliz ve lipoliz dikkate değer ölçüde hızlanır.	- Mikrobiyal bulaşmalar hem insan sağlığı hem de peynir kalitesi açısından büyük bir risk oluşturur. - Bütün biyokimyasal reaksiyonlar hızlandığı için lezzet gelişimi dengesiz hale gelebilir. - Bütün peynir çeşitlerine uygulanamaz. - Biyojenik aminlerin miktarında artış görülebilir. - Peynir dokusunun bozulması ve yağ sızması görülebilir. - Yüksek düzeyde D-laktik asit oluşumu gerçekleşebilir.
<i>Peynir işlenecek sütün düşük basınçta homojenizasyonu</i>	- Pıhtılaşma süresini kısaltır. - Peynirde verim artışı sağlar. - Peynir kitlesinin beyazlığını artırır. - Yağın hidrolizini teşvik edip metil keton oluşumunu artırır. - Peynir altı suyu ile yağ kaybını azaltır.	- Zayıf pıhtı oluşturur. - Sinerezi azaltır. - Aşırı miktarda serbest yağ asidi oluşumuna yol açar. - Süt proteinleri üzerinde olumsuz etkiye sahiptir.
<i>Peynir işlenecek sütün yüksek basınçta homojenizasyonu</i>	- Enzim aktivitesinin kontrol edilmesini sağlar. - Sütün rennet ve asitle pıhtılaşmasını kolaylaştırır. - Peynirde verim artışı sağlar. - Peynirde daha sert, daha elastik ve daha az kırılgan bir dokuya yol açar. - Kazeinin proteolitik enzimlere duyarlılığını artırması nedeniyle proteolizin hızlanmasına yol açar.	- Peynir kitlesinde tutulan su miktarında artışa yol açar. - Kazein misel yapısı bozulabilir. - 200 MPa ve üzerindeki basınçlar lipoprotein lipazını inaktive ettiğinden daha düşük lipoliz düzeyi görülür.
<i>Telemeye/Peynir yüksek (hidrostatik) basınç uygulanması</i>	- Patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların çoğunluğu imha edilir. - Uygulanan basınca bağlı olarak enzimlerin aktivitesi artar veya azalır. - Mikroorganizmaların zarar görmesi nedeniyle hücre içi enzimleri peynir kitlesine salınır.	- Peynir kitlesinde tutulan su miktarı artar. - Peynirin mikro-yapısı ve dokusunda değişime neden olur. - Kazein misel yapısı bozulabilir. - β-laktoglobulin ve α-laktalbumin denatüre olabilir.
Modifiye edilmiş kültür kullanımına yönelik stratejiler		
<i>Fiziksel, kimyasal veya enzimatik olarak modifiye edilmiş starter kültür ilavesi</i>	- Isıl işlem, dondurma-çözme, donuk veya püskürtürerek kurutma, lizozim, faj ve kimyasal çözeltilere maruz bırakma ve ultra ses uygulaması yardımıyla mikrobiyal enzim sistemlerinin etkinliği değiştirilir.	- Bazı kimyasalların kullanımı yasal değildir. - Modifiye edilmiş ve edilmemiş kültür hücreleri arasındaki dengenin korunmaması sorun oluşturabilir.
<i>Genetik olarak modifiye edilmiş starter kültür ilavesi</i>	- Doğal veya müdahale yoluyla genetik modifikasyon mikroorganizma enzim sistemlerinin etkinliğini artırır. - Starter kültür oranı artırılarak hem proteolizin daha hızlı gerçekleşmesi hem de normal asitlik gelişiminin sağlanması mümkün olmaktadır.	- Genetik modifikasyona karşı tüketici tepkisi söz konusudur. - Bazı ülkelerde izin verilmemektedir.
Bulamaç sistemi stratejisi	- Proteoliz ve lipoliz hızı artar. - Duyusal ve dokusal özellikler iyileşir.	- Mikrobiyal bulaşmaya yol açabilmektedir. - Anormal lezzet gelişimi görülebilmektedir.
Enzim ilavesine yönelik stratejiler	- Enzimler substrat spesifik olduklarından sadece istenilen reaksiyonun hızlanmasını sağlarlar.	- Tedariki zor ve pahalıdır. - Bazı ülkelere yasaklanmıştır. - Peynir kitlesindeki enzim aktivitesini kontrol etmek çok mümkün değildir. - Peynir kitlesinde homojen dağılımı zordur. - Peynir altı suyu enzimle kontamine olur. - Aşırı proteoliz verim kaybına yol açabilir. - Peynirlerde lezzet ve doku kusurlarına neden olabilir.

Fiziksel Stratejiler

Olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi

Sıcaklığı yükselterek olgunlaşmanın hızlandırılmasına yönelik uygulamalar 1980’li yıllarda başlamış olup teknolojik açıdan basit ve ucuz bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca herhangi bir yasal engelin bulunmaması da önemli bir avantajdır (Vélez ve ark., 2023). Enzimatik ve kimyasal reaksiyonlar, belirli bir değere kadar sıcaklık arttıkça hızlandığından, lezzet bileşiklerinin oluşumundan sorumlu biyokimyasal reaksiyonlar da hızlanmakta ve böylece olgunlaşma daha kısa sürede tamamlanabilmektedir (Fox, 1993).

Olgunlaşma odalarındaki sıcaklık, peynir çeşidine göre değişmekle birlikte genel olarak 6-8°C’dir. Olgunlaşmanın 10°C’nin altında gerçekleştirilmesi peynirin kalitesi ve mikrobiyal güvenliği açısından oldukça önemlidir (Fox, 1988; Azarnia ve ark., 2006). Bununla birlikte olgunlaşma sıcaklığının yükselmesi proteinlerin parçalanmasını hızlandırdığından olgunlaşma süresi belirgin bir şekilde kısalmaktadır. Ancak olgunlaşmanın sorunsuz bir şekilde gerçekleşmesi için mikrobiyal bulaşma olmaması, sütün ve ilave edilen diğer maddelerin istenilen nitelikte olması gerekmektedir (El Soda, 1986; Üçüncü, 2008). Ayrıca bu işlem sonucunda bütün biyokimyasal reaksiyonlar hızlandığı için peynirde dengesiz bir lezzet gelişimi de gerçekleşebilmektedir (Law, 2001; Azarnia ve ark., 2006). Yüksek nem, düşük tuz veya yüksek pH değerlerine sahip peynir çeşitleri çoğunlukla yüksek sıcaklıklarda olgunlaşmaya pek uygun değildir. Peynir kalitesinin bozulmaması, intoksikasyon veya enfeksiyona yol açabilen mikroorganizmaların sorun oluşturmaması için bu yöntemde hijyen kurallarının çok titizlikle uygulanması zorunludur (Azarnia ve ark., 2006; Sihufe ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda, 8°C’nin üzerinde olgunlaştırılan peynirlerde daha yüksek toplam bakteri sayısı tespit edilmiştir (Azarnia ve ark., 2006).

Sıcaklığın yükseltilmesi laktik asit bakterilerinin dekarboksilaz aktivitesini arttırdığı için histamin, tiramin, pütresin ve kadaverin gibi biyojenik aminlerin miktarında da artış görülebilmekte ve sonuçta da bu aminlere duyarlı kişiler sağlık sorunları yaşayabilmektedir. Örneğin histamin zehirlenmesi veya yüksek tiramin içeriğine bağlı olarak gelişen ve “peynir reaksiyonu” olarak adlandırılan yüksek tansiyon görülebilmektedir (Stratton ve ark., 1991). Olgunlaşma sıcaklığının 20°C’nin üzerine çıkması peynir dokusunun bozulmasına ve yağ sızmasına neden olabilmektedir. Bu durum olgunlaşmayı hızlandırmak için en basit yol olmasına karşın sıcaklığın arttırılması yönteminin kullanımını önemli ölçüde sınırlandırmaktadır (Fox ve McSweeney, 1996).

Yüksek olgunlaşma sıcaklıkları, starter olmayan laktik asit bakterilerinin aşırı gelişimi sonucunda yüksek düzeyde D-laktik asit oluşumuna yol açabilmektedir. D-laktat, kısmen peynirde kalan laktozun bu bakteriler tarafından fermente edilmesi kısmen de L-laktatın izomere edilmesi sonucunda oluşmaktadır. L-laktatın izomere edilmesi lezzet açısından çok önemli bir sorun olmamakla birlikte D-laktat özellikle bebeklerde beslenme açısından istenmeyen sonuçlar doğurabilmektedir. Kalsiyum D-laktatın çözünürlüğü kalsiyum L-laktata oranla daha düşük olduğundan özellikle yeni kesilen peynir yüzeylerinde kalsiyum D-laktat istenmeyen beyaz benekler şeklinde kristallere dönüşebilmektedir (Fox ve ark., 1990).

Nunez ve ark. (1986), Manchego peynirini 20°C’de olgunlaştırdıklarında fosfatogustik asitte çözünür azot ve serbest yağ asidi içeriğinin 5°C’de olgunlaştırmaya göre %90 kadar daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Fedrick ve ark. (1986) tarafından yapılan çalışmada,

Cheddar peyniri üretiminde olgunlaşmayı hızlandırmak için peynir pıhtısına laktoz-negatif (Lac⁻), proteinaz negatif (Prt⁻) starter ve Neutrase enzimi ilave ederek olgunlaşma sıcaklığını 8°C'den 16°C'ye yükseltmişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda olgunlaşma süresinin yarıya indiğini belirlemiştir.

Olgunlaşma sıcaklığının 5-8°C'den 13-15°C'ye çıkartılması gibi basit bir yöntemle yasal engeller olmaksızın iyi bir bileşime ve mikrobiyal kaliteye sahip peynir elde edilebildiği saptanmıştır (Fox, 1993). Yüksek olgunlaşma sıcaklıklarında hızla ortaya çıkabilen yumuşak ve pütürlü yapı sorunu olmaksızın Cheddar peynirinin olgunlaşma süresini %60-75 oranında kısaltan 12°C'de olgunlaştırma işlemi endüstriyel boyutta da kabul görmüş bir uygulamadır (Law, 2001). Ancak böyle bir uygulamaya tabi tutulacak peynirin iyi bir kimyasal ve mikrobiyolojik kaliteye sahip olması gerektiği önemle vurgulanmıştır (Fedrick ve ark., 1986; Fox, 1993).

Peynir işlenecek sütün düşük basınçta homojenizasyonu

Lipoliz, birçok peynir çeşidi için çok önemli bir reaksiyon olmamakla birlikte küfle olgunlaştırılan Mavi küflü, Brie, Roquefort gibi peynirler ile Parmesan, Grana Padano gibi sert İtalyan peynirlerinde lezzet gelişiminde lipolizin önemi büyüktür. Bu tip peynirlerde, süt kaynaklı lipoprotein lipazı, starter ve starter olmayan laktik asit bakterileri ile küf kaynaklı esteraz enzimleri lipolize yol açar. Kısa zincirli yağ asitlerince zengin olması nedeniyle peynirde lezzet gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunan süt yağı, koruyucu globül membranı nedeniyle normal koşullarda lipoprotein lipazı tarafından hidrolize edilemez. Hidrolizasyon için süt yağı globül membranının homojenizasyon, çalkalama, dondurma gibi işlemlerle parçalanması gerekir (Collins ve ark., 2003).

Homojenizasyon işlemiyle sütteki yağ kürecikleri parçalanarak yüzey alanlarının 5-10 kat artması sağlanır. Patojen mikroorganizmaları ve ransit tada neden olan lipoprotein lipazını imha etmek için içme sütü üretiminde homojenizasyon işlemi daima ısıl işlemle birlikte uygulanır. Peynir altı suyu ile yağ kaybını azaltmak, yağ ayrılmasını engellemek ve duyu nitelikleri geliştirmek gibi amaçlarla peynir üretiminde kullanılacak süte homojenizasyon işlemi uygulanır. Ancak homojenizasyon işlemi, peynir mayasıyla pıhtılaşma süresinin kısalması, sinerezin azalması, zayıf pıhtı oluşumu, verimin artması ve aşırı miktarda serbest yağ asitleri oluşumu gibi etkilere de sahiptir (Vélez ve ark., 2023).

Mavi küflü peynir üretiminde sütün homojenizasyonu, yağın hidrolizini teşvik eder. Hidroliz sonucunda meydana gelen serbest yağ asitlerinin katabolizmasıyla metil keton gibi uçucu bileşiklerin oluşumu peynirde lezzet gelişimini sağlar. Ayrıca homojenizasyon işlemi peynir kitlesinin beyazlığını ve opaklığını da artırır. Bu durum Mavi küflü peynirde arzu edilen beyaz arka plan ile mavi damarlar arasındaki karşıtlığın artmasını sağlar (Johnson, 2011).

Homojenizasyon işlemi, peynir olgunlaşmasının hızlandırılmasına yönelik çalışmalarda da kullanılmıştır. Deegan ve McSweeney (2013) farklı basınçlarda (0.5 ve 10 MPa) homojenize edilip 37°C'de 1 saat bekletilen ve sonra 63°C'de 30 dakika pastörize edilen süttten ürettikleri Cheddar peynirinde lipoliz düzeyini incelemiştir. Olgunlaşma boyunca en yüksek serbest yağ asitleri 10 MPa basınçta homojenize edilen süttten üretilen Cheddar peynirinde tespit edilmiştir. Homojenize edilmeyen süttten üretilen peynirlerde α_{s1} -kazeinin; homojenize edilen süttten üretilen peynirlerde ise β -kazeinin daha fazla hidrolize uğradığı gözlenmiştir.

Homojenizasyon işleminin süt proteinleri üzerindeki olumsuz etkilerini engellemek amacıyla %14 yağlı kremanın 13.8 MPa (birinci aşama 10.3 MPa ve ikinci aşama 3.5 MPa) basınçta homojenizasyonu, %9,5 yağ içerecek şekilde yağsız süt ile standardizasyonu, pastörizasyonu ve sonrasında farklı oranlarda lipaz enzimi ilavesiyle Mavi küflü peynir üretimi gerçekleştirilmiştir (Cao ve ark., 2014). Araştırmacılar homojenizasyon işlemi ve lipaz ilavesinin daha yüksek serbest yağ asitleri ve metil keton oluşumuna yol açtığını saptamıştır.

Peynirle işlenecek sütün yüksek basınçta homojenizasyonu

Günümüzde, yüksek basınç homojenizatörleri ve mikro sıvılaştırıcılar gibi yeni homojenizasyon araçları geliştirilmiştir. Bu araçlarla yüzlerce MPa basınca çıkılabilmekte ve sonuçta da yağ küreciklerinin çok daha küçük boyutlara indirilmesi mümkün olabilmektedir. (Guamis ve ark., 2000; Kavinila ve ark., 2023). Kullanılan basınca bağlı olarak bu teknik, yüksek basınç (YB) homojenizasyonu (150-200 MPa) ya da ultra yüksek basınç (UYB) homojenizasyonu (350-400 MPa) ismini almaktadır. Literatürde bu tür uygulamalara yüksek dinamik basınç uygulaması ismi de verilmektedir. Çok daha yüksek basınç uygulanmasının dışında her iki teknik de süt endüstrisinde kullanılan geleneksel homojenizasyona benzerlik göstermektedir. Yüksek ve ultra yüksek basınç homojenizasyon işlemleri minimum düzeyde işlenmiş güvenli ve besleyici gıda üretmek için geliştirilmiştir. Bu homojenizasyon teknikleri sütteki mikroorganizmaları imha etmek, çok ince ve kararlı emülsiyonlar oluşturmak, süt ve süt ürünlerinin pıhtılaşma ve reolojik özelliklerini modifiye etmek gibi amaçlarla kullanılmıştır. Yüksek basınç uygulamasının, enzim aktivitesini kontrol edilmesini sağladığı, sütün rennet ve asitle pıhtılaşmasını kolaylaştırdığı ve peynir verimini arttırdığı bildirilmiştir (Vélez ve ark., 2023).

Kheadr ve ark. (2002), 200 MPa basınçta 28°C giriş sıcaklığında ve birer dakikalık 5 tekrarlar homojenize edilen süttten üretilen Cheddar peynirinin reolojik özelliklerini ve mikroyapısını incelemiştir. Bu amaçla %3.4 yağlı, yağsız (peynir üretiminden önce pastörize krema ile %3.4 yağ içerecek şekilde standardize edilen) ve %2 yağlı sütleri homojenize edip peynir üretmişlerdir. Kontrol olarak 72°C'de 15 saniye pastörize edilen %3.4 yağlı süttten üretilen peynir kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, homojenizasyon işlemi ile kazein miselleri ve yağ küreciklerinin boyutunda dikkate değer bir azalma gözlenmiştir. Homojenize süttten üretilen peynirlerin pastörize süt peynirlerine oranla daha fazla su ve protein içeriğine ve daha yüksek verime sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca homojenize yağlı süt ve homojenize %2 yağlı süttten üretilen peynirler pastörize süt peynirine oranla çok sıkı (çok sayıda oldukça küçük yağ kürecikleri içeren) ve düzenli bir kazein matrisi oluşumu nedeniyle daha sert, daha elastik ve daha az kırılğan bir dokuya sahip olmuştur. Homojenize yağsız süttten (üretim öncesi pastörize krema ile standardize edilen) üretilen peynirin ise pastörize süt peynirine yakın dokusal özellikler sergilediği saptanmıştır.

Yüksek basınç uygulamalarında temel amaç olgunlaşmayı hızlandırmak olmamakla birlikte homojenizasyon işlemiyle lipolizin arttığı, lipoliz düzeyinin kullanılan basınca bağlı olarak değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Basıncın 100 MPa'dan 200 MPa seviyelerine çıkartılması lipoprotein lipazının inaktivasyonuna yol açabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, 200 MPa basınçta (giriş sıcaklığı 30°C) homojenize edilen keçi süttünden üretilen peynirlerdeki lipoliz ve proteoliz düzeyi düşük basınçta (birinci aşama 18 MPa ve ikinci aşama 2 MPa) homojenizasyon sonrasında pastörize edilen (72°C'de 15 saniye) süttten üretilen peynir ve

sadece pastörize edilen (72°C’de 15 saniye) süttten üretilen peynir ile karşılaştırılmıştır. Yüksek basınçta homojenize edilen süttten üretilen peynirdeki lipoliz düzeyinin sadece pastörize süttten üretilen peynire benzer olduğu, ancak düşük basınçta homojenize edilen süttten üretilen peynirde lipoliz düzeyinin çok daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Yüksek basınçta homojenize edilen süttten üretilen peynirin düşük basınçta homojenize edilen süttten üretilen peynire oranla daha düşük bir lipoliz düzeyine sahip olması hem yüksek basınç uygulamasının hem de sıcaklığın çok kısa bir süre için (≤ 0.7 saniye) 82.75°C’ye kadar yükselmesinin etkisiyle lipoprotein lipazının imha olmasına bağlanmıştır. Yüksek basınç uygulanmış pastörize süttten elde edilen peynirlerde, sadece pastörizasyon uygulanan süttten üretilen peynirlere oranla α_{s2} -kazein, β -kazein ve para- κ -kazeinin daha yüksek düzeyde hidrolize uğradığı saptanmıştır. Bu durumun homojenizasyon sonucunda kazeinlerin proteolitik enzimlere açık yüzey alanlarının artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Juan ve ark., 2015; Juan ve ark., 2016).

Telemeye/Peynir yüksek (hidrostatik) basınç uygulanması

Yüksek hidrostatik basınç teknolojisi olarak da adlandırılan yüksek basınç uygulaması termal olmayan ancak ısı işleme benzer faydalar sağlarken gıda kalitesine minimum düzeyde zarar veren bir tekniktir. Bu teknikte, gıdalardaki birçok mikroorganizmayı oda sıcaklığında bile imha eden ancak vitamin, lezzet ve renk moleküllerine önemli bir zarar vermeyen 900 MPa (yaklaşık 9000 atm) kadar yüksek basınçlar kullanılır. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması kesikli bir işlem olup genellikle 35-350 L kapasiteli tanklarda uygulanır. Bu amaçla paketlenmiş gıda maddesi yüksek basınç uygulanacak tanka yerleştirilir ve ardından yüksek basınç ortamı olarak genellikle su pompalanarak istenilen basınca ulaşılır. Basınç isostatik olarak uygulandığı için boyut ve şekilden bağımsız olarak gıdanın her tarafı eşit basınca maruz kalır. Yüksek basınç uygulaması sırasında her 100 MPa’lık basınca karşılık sıcaklık 3-9°C’lik bir artış gösterirken basıncın kaldırılması sırasında sıcaklık daha düşük bir oranda azalma gösterir. Yaygın olarak kullanılan yüksek basınç uygulama koşullarda patojen ve bozukluk yapan mikroorganizmaların çoğunluğu imha edilir. *Clostridium botulinum* gibi spor oluşturan bakterilerin sporlarının imhası daha aşırı koşullara veya kombine uygulamalara ihtiyaç gösterir. Yüksek basınç uygulamasının laktik asit bakterileri üzerindeki etkinliği suşa bağlı olarak değişirken bu uygulama enzimleri de inaktive edebilir. Konu edilen uygulamadan protein ve lipitler de etkilendiği için peynirin mikro-yapısı ve dokusu da değişime uğrayabilir. Kazein misel yapısının parçalanması ve β -laktoglobulin ile α -laktalbuminin denatürasyonu gerçekleşebilir. Yağ küreciklerinin boyutu 20°C’de 30 dakika süreyle uygulanan 100-600 MPa arasındaki basınçtan önemli ölçüde etkilenmemektedir. (Huppertz ve ark., 2002; Xia ve ark., 2020).

Süütün raf ömrünün yüksek basınç uygulamasıyla uzatılabileceği 19. yüzyıl sonlarında gösterilmiş olmasına karşın uygun ekipmanın kolaylıkla bulunamaması nedeniyle daha ileri çalışmalar 20. yüzyılın ortalarına kadar yapılamamıştır. Yüksek basıncın peynire uygulanmasına ilişkin ilk bilgiler Yokoyama ve ark. (1992) tarafından alınan patentte yer almıştır. Söz konusu patentte, yüksek aktiviteye sahip proteolitik enzim ilavesi ve yüksek basınç (50 MPa, 3 gün 25°C) uygulaması birlikte gerçekleştirildiğinde 3 gün içerisinde tat ve serbest amino asit miktarı açısından Cheddar peynirinde 6 aylık olgunlaşmaya eşdeğer bir düzeye ulaşıldığı belirtilmiştir. Reps ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada, 50 MPa basıncın Camembert peynirinde yüksek bir proteoliz düzeyine yol açtığı ancak Gouda ve Kurpiowski peynirlerinde önemli bir etki oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Yüksek basınç (400 MPa) uygulanan keçi peynirinin daha iyi su tutma yeteneğine ve olgunlaşmanın bütün dönemlerinde kontrol peynirine oranla daha yüksek su içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Uygulanan 400 MPa'lık basınç sonucunda keçi peynirinde görülen yüksek nem ve pH, proteolizin artmasına yol açmıştır. Bu nedenle tam olgunlaşmaya ulaşmak için gerekli olan sürenin 400 MPa basınç uygulamasıyla %50 oranında kısaltılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Saldo ve ark., 2000).

Cheddar, Gouda gibi peynirler üzerinde yapılan çalışmalar yüksek basınç uygulamasının olgunlaşmayı hızlandırmada sınırlı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca yüksek basınç uygulamasının olgunlaşmayı durdurmak veya yavaşlatmak için de yararlı olabileceği belirtilmiştir (Vélez ve ark., 2023).

Yüksek basınç uygulamasıyla peynir olgunlaşmasında gözlenen hızlanmanın, peynir kitlesinde tutulan su miktarının artması, bakteri enzimlerinin peynir kitlesine salınması ve basınç altında enzim aktivitesinin artmasından kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Peynir teknolojisinde yüksek basınç uygulaması peynirin raf ömrünü uzatmak ve dokusunu geliştirmek amaçlarıyla da kullanılmıştır (Guamis ve ark., 2000).

Modifiye Edilmiş Mikroorganizma Kültürleri Kullanımına Yönelik Stratejiler

Fiziksel, kimyasal veya enzimatik olarak modifiye edilmiş starter kültür kullanımı

Küçük peptitlerin ve serbest amino asitlerin oluşumunu sağlayan starter bakterilerindeki proteolitik enzim sistemi peynirin olgunlaşmasından ve lezzetinden sorumludur. Bu enzimlerin konsantrasyonunu yükseltmek amacıyla kullanılan starter bakteri oranının artırılması yönündeki çalışmalar aşırı asitlik gelişimi nedeniyle peynirde kusurlara yol açtığı için başarılı olamamıştır (Johnson ve ark., 1995; Law, 2001). Bu sorunu çözmek için kullanılan yöntemlerden bazıları, olgunlaşma sırasında çoğalamayan ve önemli miktarda laktik asit üretemeyen ancak aktif enzim salgılayabilen zayıflatılmış laktik asit bakteri hücreleri oluşturulmasını hedeflemiştir. Isıl işlem, dondurma-çözme (genellikle -20°C'de dondurup sonra çözme şeklindeki döngünün birkaç kez uygulanması), donuk veya püskürterek kurutma, lizozim ile muamele, kimyasal çözeltilere maruz bırakma ve doğal veya müdahale yoluyla genetik modifikasyon (otolizi arttırmak gibi) zayıflatıcı yöntemler olarak kullanılmıştır (Klein ve Lortal, 1999; Madkor ve ark., 2000; Law, 2001).

Mikroorganizmaların lize ve permeabilize işlemlerine dirençleri, mikroorganizma tipi, ortamın bileşimi, sıcaklığı ve gelişme fazı gibi koşullara bağlıdır. Uygulamanın hücre duvarı ve membranı üzerindeki etkisi kullanılan kimyasal, enzimatik, fiziksel veya mekanik işlemin şiddetine ve süresine bağlı olarak değişiklik gösterir (Geciova ve ark., 2002).

Proteolizi hızlandırmak ve olgunlaşma süresini kısaltmak amacıyla zayıflatılmış starter kullanımı ile ilgili ilk çalışma PetterssWilkinsonon ve Sjöström (1975) tarafından yarı sert peynir (Svecia, İsveç peyniri) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar tarafından mezofilik ve termofilik kültürlerle sırasıyla 59°C ve 69°C'de 15 saniye süreyle ısıl şok (sub-lethal) uygulanan bu çalışma ısıl şokun zayıflatılmış starter üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir. Isıl işlemin etkisi tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte hücre duvarı ve membranından substratların taşınmasını sağlayan enzimlerin zarar görmesi, hücre membranının fiziksel olarak hasara uğraması veya β -galaktozidaz enziminin denatürasyonu muhtemel etkenler olarak sıralanmıştır. Isıl şok sonucunda bakteri hücrelerinin %0.3-30.0 arasında değişen oranlarda

canlı kaldıkları saptanmıştır (Klein ve Lortal, 1999). Daha sonraları ısı şoku ve dondurma şokuna maruz bırakılmış kültürler, Gouda (Bartels, 1987; Bartels ve ark., 1987), Ras (Abdel Baky ve ark., 1986) ve Cheddar peynirinin (Johnson ve ark., 1995) olgunlaşmasını hızlandırmak için de kullanılmıştır. Abdel Baky ve ark. (1986), ısı şoku ile zayıflatılmış laktobasil kültürü ilavesiyle üretilen peynirin kontrol peynirinden 1-2 ay önce arzu edilen lezzet ve dokuya ulaştığını tespit etmişlerdir.

Lactobacillus casei ve *Lactobacillus helveticus* hücrelerine 67°C'de 22 saniye süreyle uygulanan ısıl işlemin asit üretme yeteneğinde en yüksek, proteolitik enzimlerde ise en az zarara yol açtığı saptanmıştır. Cheddar peyniri üretiminde bu şekilde ısı şokuna maruz bırakılan laktobasillerin %1 düzeyinde kullanılmasının kontrol peynirine göre lezzet gelişimini %50 düzeyinde arttırdığı görülmüştür (El Abboudi ve ark., 1991). Daha yakın bir geçmişte, Garbowska ve ark. (2021), ısıl işlem uygulanmış *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *Lactobacillus helveticus* kültürlerinin Hollanda tipi peynir modelinde olgunlaşmanın hızlandığını gösteren birincil ve ikincil proteolizi arttırdığını saptamışlardır. Ardo ve Petterson (1988), ısı şokuna maruz kalan bakteri hücrelerinin kazein hidrolizinden daha çok peptitlerin parçalanmasını hızlandığını; Neutrase enzim ilavesiyle oluşan acı peptitleri giderdiğini belirlemişlerdir.

Ultra ses uygulaması da laktik asit bakterilerinin zayıflatılmasında kullanılmıştır. Ultra ses dalgaları akustik kavitasyon olarak adlandırılan ve bakteri hücre duvarı ve membranına zarar veren bir etki oluşturmaktadır (Vélez ve ark., 2023).

Yüksek basınç uygulamaları bakteri hücre duvarı ve membranına zarar vermektedir. Laktokok ve mezofilik laktobasillere yüksek basınç uygulanması sonucunda, acılığa yol açan β -kazeinin karboksil ucu kaynaklı peptitlerin miktarının arttığı saptanmıştır (Casal ve Gómez, 1999). Yüksek basınç uygulanan bakterilerin, (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* HP ve *L. lactis* subsp. *cremoris* 303, 200 MPa basınç ve 20°C sıcaklıkta 20 dakika) Cheddar peynirindeki ikincil proteolizi arttırdığı gözlenmiştir (Upadhyay ve ark., 2007).

Etanol, bütanol, izopropanol gibi alkoller ile sodyum dodesil sülfat ve hegzadesiltrimetil amonyum bromid gibi deterjanların hücre geçirgenliğinin artırılmasında etkili kimyasallar olduğu belirlenmiştir. Sodyum dodesil sülfat ile muamele edilen starter kültürün olgunlaşmayı hızlandırmak amacıyla kullanılmasına yönelik bir patent Smith ve ark. (2003) tarafından alınmıştır. Ayrıca nisin (bir bakteriyosin) gibi antibakteriyel maddeler, bakteriyofaj gibi virüsler, mutanolisin ve lizozim gibi litik enzimlerle muamele edilen bakterilerin de peynirin olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla kullanıldığı bilinmektedir (Crow ve ark., 1995a; Klein ve Lortal, 1999). Ancak Law ve ark. (1976), peynire lizozim ile muamele edilmiş 10^{10} kob/g düzeyinde bakteri hücresi ilave ettiklerinde serbest amino asit miktarının 3 kat artmasına karşın Cheddar peynirinin lezzetinde çok küçük bir değişiklik olduğunu belirlemişlerdir.

Cheddar peyniri üretiminde bakteriyosin üreten bakteri suşları ilave edilmiş ve böylece starter hücrelerinin lize olması sağlanarak peynirin olgunlaşması hızlandırılmıştır. Bakteriyosin üreten bakterinin ilavesiyle birlikte acılaşmanın azaldığı; ancak starter olmayan laktik asit bakterilerinin gelişiminde herhangi bir azalmanın olmadığı bildirilmiştir (Fox ve McSweeney, 1996).

Bakteriyofajlar Camembert (Martley, 1975) ve Cheddar (Lowrie ve ark., 1974) peynirlerinde acılık gelişimini sınırlamak için kullanılmıştır. Crow ve ark. (1995a), süte artan

oranlarda faj ilavesinin olgunlaşmanın başlangıcında Cheddar peynirinde starter bakteri hücrelerinin de artan seviyelerde lize olmasına yol açtığını saptamışlardır. Hücrede lize olma oranı arttıkça peynirde serbest amino asit ve amonyak oluşumu da artmış ancak laktozun kullanım oranı azalmıştır. Yüksek oranda pıhtılaştırıcı enzim ilavesiyle ortaya çıkan belirgin acılığın bakteri hücrelerinin yüksek düzeyde lize edilmesi durumunda giderildiği saptanmıştır. Bu sonuçlar, lize olmuş ve olmamış starter hücreleri arasındaki dengenin önemli olduğunu; lize olan hücrelerden serbest kalan enzimlerin olgunlaşma hızını sınırlayan proteolizi hızlandırmakta etkili olduğunu ortaya koymuştur.

Bazı bakteri türleri, genetik mühendisliği teknikleriyle müdahaleye gerek olmadan kendiliğinden laktozu kullanma (Lac⁻) yeteneklerini kaybedebilmektedir. Bu bakteriler, laktozu kullanamadıkları için süt ve peynirde asitlik gelişimine katkı sağlayamamaktadır. Laktozu kullanamayan bu varyantlar ayrıca çoğunlukla proteinaz negatif (Prt⁻) de olmaktadır. Söz konusu iki özellik de plazmidler tarafından kodlandığı için bu tür bakterileri doğadan izole etmek mümkün olabilmektedir (Klein ve Lortal, 1999).

Zayıflatılmış hücrelerin endüstriyel boyutta uygulanması çok yaygın değildir. Bunun önemli nedenleri, peynir olgunlaşmasında etkili olan minimum bakteri hücre sayısı ve ölü/canlı hücre oranları konusunda kabul gören bir standardın bulunmamasıdır (Klein ve Lortal, 1999).

Genetik olarak modifiye edilmiş starter kültür ilavesi

Süt endüstrisinde kullanılan laktik asit bakterilerinin genetik olarak modifikasyonunda dikkate değer ölçüde ilerleme sağlanmış olmakla birlikte bazı sağlık endişeleri nedeniyle endüstri ve tüketici kabulü konuları bu uygulamaların olgunlaşmanın hızlandırılmasında kullanılmasına önemli bir engel teşkil etmektedir. Genetik mühendisliği teknikleri 4 farklı şekilde uygulanabilmektedir: (i) Peptidazlar, esterazlar ve amino asitleri katabolize eden enzimleri rekombinant tekniği ile üreten mikroorganizmaların oluşturulması; (ii) Seçilmiş bazı peptidaz, esteraz ve katabolik enzimleri aşırı üreten genetik olarak tasarlanmış starter laktik asit bakterilerinin oluşturulması; (iii) Otolizin enzimini üreten genin starter laktik asit bakterilerine aktarılması ve (iv) Starter laktik asit bakterilerinin metabolizmalarının düzenlenmesi (Azarnia ve ark., 2006; Law, 2010).

Yapılan çalışmalarda kolaylıkla otolize uğrayan starter kültürle üretilen peynirlerin daha hızlı olgunlaştığı saptanmıştır. Otolitik bakteri suşları, peynir üretim işleminin başlangıcında lize olarak hücre içi enzimlerini peynir pıhtısına salacak; olgunlaşmada etkili proteinaz, peptidaz, lipaz, esteraz gibi bu hücre içi enzimler de peynir lezzetinin gelişimini hızlandıracaktır (Crow ve ark., 1995b). Proteolizde hücrenin otolizi önemli olmakla birlikte peynir yapımında laktik asit üretimi ve bazı lezzet bileşiklerinin oluşumunda otolize uğramamış hücrelerin metabolik aktivitelerine de ihtiyaç duyulmaktadır (Crow ve ark., 1995a).

Laktoz-negatif (Lac⁻) ve proteinaz-negatif (Prt⁻) laktik asit bakterileri, genetiği değiştirilmiş ilk bakterilerdir. Starter kültürlerin genetik modifikasyonu sonucunda peynirdeki starter kültür sayısı artırılarak proteolizin ve diğer değişikliklerin daha hızlı gerçekleşmesi sağlanırken normal asitlik gelişiminin garanti altına alınması da mümkün olmaktadır (Fox, 1993; Fox ve McSweeney, 1996; Azarnia ve ark., 2010). Starter bakterilerin laktoz-negatif mutantları, peynirde küçük peptitlerin ve serbest amino asitlerin üretimini arttırmak için kullanıldığında bu hücrelerin peynir üretimi süresince asitlik gelişimine engel olmadığı belirtilmiştir (Fox, 1993).

Bulamaç sistemi kullanımına yönelik stratejiler

İlk kez Kristoffersen ve ark. (1967) tarafından Cheddar peyniri için geliştirilen bulamaç sistemi, olgunlaşmayı hızlandırmak amacıyla enzim, mikroorganizma ve lezzet öncülerinin kaynağı olarak birçok çalışmada kullanılmıştır. Bu yöntem bir Mısır peyniri olan Ras peynirinde uygulandığında ultrafiltrasyonla üretim sonucunda karşılaşılan yetersiz lezzet, tipik olmayan doku ve artan olgunlaşma süresi gibi problemlerin kısmen giderilebildiği belirtilmiştir (Hamdy ve ark., 2017). Bu amaçla 12 ay olgunlaştırılmış Cheddar peyniri 2 kat konsantre inek sütü ile 2:1 oranında 45°C'de 5 dakika karıştırılarak bulamaç haline getirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan bulamacın %2-3 düzeyinde ultrafiltre süte ilavesiyle üretilen Ras peynirinde proteoliz (olgunlaşma indeksinde yaklaşık iki katlık artış) ve lipolizin arttığı, duysal ve dokusal özelliklerin iyileştiği saptanmıştır. Araştırmacılar %2-3 düzeyinde olgun Cheddar peyniri bulamacının ultrafiltre sütle üretilen Ras peynirinde olgunlaşmayı hızlandırmak ve kaliteyi iyileştirmek için kullanımını önermişlerdir. Ancak yeterli özenin gösterilmemesi durumunda bulamaç sistemi önemli bir mikrobiyal bulaşma kaynağı haline gelebilmektedir (El Soda, 1986).

Cheddar peynirinin olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla Dulley (1976), tuzlama sırasında peynir telemesine enzimatik olarak aktif Cheddar peyniri bulamacı eklemiştir. Peynir bulamacı, 2 kısım tuzlanmış teleme ile 1 kısım %5'lik NaCl veya %0.3'lük potasyum sorbat çözeltilerinin karıştırılıp 1 hafta boyunca 30°C'de inkübasyonu sonucunda hazırlanmıştır. Peynir bulamacının süte veya tuzlanmış telemeye (100 g tuzlanmış teleme için 6 g bulamaç) eklenmesi, 3 aylık olgunlaşma sonunda daha yüksek su içeriği (%2 kadar) ve laktobasil sayısı ile lezzet ve doku gelişiminde önemli bir artış sağlamıştır. Peynir bulamacı ilavesi, İsviçre peynirinde (Singh ve Kristoffersen, 1971), Ras peynirinde (Abdel Baky ve ark., 1982; Bakr ve ark., 2024) ve Mavi küflü peynirde (Rabie, 1989) de olgunlaşmanın hızlanmasını sağlamıştır.

Peynir bulamaç sisteminin geliştirilmiş bir şekli olan enzimle modifiye edilmiş peynir bulamacı teknolojisinde, değişik enzimler yardımıyla yağın ve proteinin eş zamanlı olarak hidrolizi sonucu elde edilen bulamaç ısıt işlem uygulanıp kurutulduktan sonra peynir telemesine ilave edilmektedir. Bu şekilde hazırlanan bulamaç yüksek miktarda serbest amino asit, peptit, serbest yağ asitleri ve peynir lezzetiyle ilişkili diğer katabolik ürünleri içermektedir. Ancak ısıt işlem uygulandığı için enzim ile modifiye edilmiş peynir bulamaçları hemen hemen hiç aktif enzim içermemektedir (Kilcawley ve ark., 1998; Hannon ve ark., 2006). Bu sistem kullanılarak Cheddar peynirinin olgunlaşması yaklaşık 2 ay kadar hızlandırılmıştır. Tuzlama aşamasında Cheddar peyniri telemesine %1 düzeyinde eklenen enzim ile modifiye edilmiş peynir bulamacı tozu lezzet gelişimini ve ikincil proteolizi arttırmıştır. Bununla birlikte olgunlaşmanın ilerlemesiyle peynirde anormal Cheddar lezzeti gözlenmiştir. Kullanılan peynir bulamacı, rendelenmiş teleme, emülsifiye edici tuzlar (disodyum fosfat, trisodyum fosfat ve trisodyum sitrat), su, tuz, aminopeptidaz, glutaminaz, pankreatik lipaz ve proteinaz karışımının 45°C'de 30 saat inkübasyonu ve 80°C'de 40 dakikalık ısıt işlemi takiben püskürtülerek kurutulması sonucunda hazırlanmıştır (Hannon ve ark., 2006). Bu çalışma, enzim ile modifiye edilmiş peynir bulamacı tozu kullanılarak hızlı olgunlaşan Cheddar peyniri üretiminin mümkün olabileceğini göstermiştir.

Enzim İlavesine Yönelik Stratejiler

Olgunlaşmada anahtar niteliğinde rol oynayan enzimlerin aktivitesini arttırarak peynirin olgunlaşmasını hızlandırmak mümkündür. Enzim ilavesi daha özgün bir işlem olduğundan, sıcaklık yükseltilmesi ile karşılaştırıldığında peynirin olgunlaşmasının hızlanmasında daha fazla avantaja sahiptir. Bu nedenle serbest veya kapsüllenmiş (tutuklanmış) enzimlerin ilavesi en çok incelenen ve kabul gören olgunlaşma hızlandırma yöntemidir. Ancak temin edilmesinin zor ve pahalı olması, bütün ülkelerde kullanımına izin verilmemesi, peynir matrisinde homojen dağılımının zor olması, peynir sütüne ilave edildiğinde yaklaşık %90'ının peynir altı suyu ile kaybolması, onay almış ticari enzimlerin yetersizliği ve sütün peynire dönüşümü sırasında gerçekleşen proteoliz sonucunda verimin düşmesi gibi serbest enzim kullanımının dezavantajları vardır (Fox, 1993; Azarnia ve ark., 2006). Serbest enzim kullanımının yol açtığı randıman kaybı, aşırı lipoliz veya proteoliz kaynaklı lezzet kusurları ve peynir altı suyunun enzimlerle kontamine olması gibi olumsuzlukların önlenmesinde kapsüllenmiş enzim teknolojisi yararlı olabilmektedir (Fox ve McSweeney, 1996; Vélez ve ark., 2023). Ancak kapsüllenmiş enzimlerde yaşanan kontrolsüz serbest kalma sorunları enzimlerin çoğunlukla olgunlaşma aşamasında değil üretim aşamasında serbest kalmasına yol açtığından peynirlerde lezzet ve doku kusurları ortaya çıkabilmektedir (Li ve ark., 2024).

Endoproteinaz, ekzoproteinaz ve lipaz gibi enzimleri içeren Accelase, NaturAge, FlavorAge, Rulactine ve DC50 gibi ticari ürünler günümüzde peynir endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Fox ve ark., 2017; Vélez ve ark., 2023).

Lipolitik enzimlerin ilavesi

Lipolitik enzimler, lipazlar ve esterazları içeren EC 3.1.1.- kodlu enzim grubunu oluşturur. Bu gruptaki enzimler ester bağının hem parçalanmasını ve hem de yeniden oluşmasını sağlar. Lipolitik enzimler hayvan, bitki veya mikroorganizma kaynaklı olabilir. Kolay üretilebilir, ucuz ve aktivitelerinin daha iyi kontrol edilebilir olması nedeniyle mikroorganizma kaynaklı lipolitik enzimler ticari öneme sahiptir. Süt yağının seçici bir şekilde kısmen parçalanması olan lipoliz sonucunda serbest yağ asitleri ve serbest yağ asitlerinin katabolizması ile de esterler, ketonlar, alkoller gibi aromatik bileşiklerin oluşumu gerçekleşir (Vélez ve ark., 2023). Olgunlaşma sırasında serbest C4 ve C6 yağ asitlerinin konsantrasyonunun lezzet gelişimi için iyi bir gösterge olduğu belirtilmiştir (Lin ve Jeon, 1987). Bütanoik (C4), hekzanoik (C6), oktanoik (C8) ve dekanoik (C10) asit gibi yağ asitleri peynir tat ve kokusuna katkıda bulunmaktadır. Bütanoik asit ransit ve peynirimsi, hekzanoik asit terimsi, acı ve ransit, oktanoik asit mumumsu, keçimsi, sabunumsu, küfümsü ve dekanoik asit yağımsı ve narenciyemsi kokudan sorumludur (Gan ve ark., 2016). Uzun zincirli yağ asitleri sabunsu bir tat verdikleri için bunların peynirdeki konsantrasyonun düşük olması istenir (Peng ve ark., 2014).

Serbest yağ asitlerinin tat ve koku üzerindeki bu direkt etkilerinin yanı sıra metilketonlar, alkoller, esterler ve laktonlara dönüştürülmeleri nedeniyle tat ve kokuya dolaylı yoldan da katkı sağlarlar (Smit ve ark., 2005). Serbest yağ asitlerinin alkollerle reaksiyonu sonucunda esterler oluşabilir. Peynirde en fazla bulunan alkol genellikle etil alkol olduğu için etil bütanoat (bütirat), etil hekzanoat, etil asetat ve etil oktanoat baskın esterlerdir. Etil alkol, amino asit katabolizması veya laktoz fermentasyonu sonucunda oluşur (McSweeney, 2011).

Serbest yağ asitlerinin metiyonal ($\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$) gibi sülfidril gruplarıyla reaksiyonu, S-metil tiyoasetat, tiyoetil-2-metilpropiyonat ve S-metil tiyobütirat gibi tiyoesterlerin oluşumuna; bu esterler de sarımsak, sülfür ve yumurtamsı lezzete yol açar (Iwasawa ve ark., 2014). Hidroksi yağ asitlerinin molekül içi esterleşmesi sonucunda nonalakton (kremamsı veya tereyağımsı lezzet) gibi laktonlar oluşur. İlâveten serbest yağ asitlerinin beta oksidasyonu ve devamında dekarboksilasyonu özellikle heptanon ve nonanon gibi metil ketonların üretilmesine yol açar (McSweeney ve ark., 2004).

Piccantase (*Mucor miehei*), Palatase (*Aspergillus niger* ve *Mucor meihei*), Capalase/Italase ve oğlak/kuzu kaynaklı enzimler peynir endüstrisinde kullanılan lipazlardan bazılarıdır. Ancak lipazların kullanımı sonucunda acılık, ransidite, zayıf yapı ve tipik olmayan lezzet gibi problemler ortaya çıkabilmektedir (Law, 2001).

Romano, Mavi küflü ve Beyaz peynir gibi peynir çeşitlerinde lipolizin lezzete katkısı önemlidir (Fox, 1993). El-Shibiny ve ark. (1978), Ras peyniri üzerinde yaptıkları çalışmada, lipaz ilavesinin peynirde olgunlaşmayı hızlandırarak lezzet gelişimine katkıda bulunduğunu belirlemişlerdir. Altı aylık depolama süresi sonunda lezzette bir kusur olmadığını ve toplam uçucu yağ asidi kompozisyonunda artış olduğunu saptamışlardır.

El Neshawy ve ark. (1982), Domiati peynirinin lezzeti üzerine lipaz enzimi ilavesinin etkisini inceledikleri çalışmada, lipaz ilave edilip 4 hafta olgunlaştırılan peynirin lezzetinin kontrol grubu olarak üretilen 8 haftalık peynirin lezzetine eşdeğer olduğunu ve lipaz ilave edilmiş peynirde 8 haftanın sonunda ransit lezzet geliştiğini tespit etmişlerdir.

Manchego peynirinde lipolizin iki farklı küften (*Mucor miehei* ve *Aspergillus niger*) elde edilen lipaz enziminin ilavesiyle arttığı gözlenmiştir (Fernandez-Garcia ve ark., 1994). Duyusal analiz sonucunda *Aspergillus niger* lipazı (kısa ve uzun zincirli yağ asitlerini eşit şekilde oluşturur) ilavesiyle üretilen peynirlerde olgunlaşmanın hızlandığı, bu peynirlerde tipik keskin Manchego lezzetinin algılandığı saptanmıştır. *Mucor miehei* lipazı (esas olarak trigliseritlerden uzun zincirli yağ asitlerini açığa çıkartır) ilavesiyle üretilen peynirlerde muhtemelen uzun zincirli yağ asitlerinin fazla miktarda serbest kalması nedeniyle sabunsu lezzet geliştiği belirlenmiştir.

Salamura Beyaz peynir üretiminde kullanılan inek sütüne lipaz enzimi ilavesinin, peynirde kısa zincirli serbest yağ asitleri (C4-C8) düzeyini arttırdığı, bu yağ asitlerinin etil alkol ile kısmen esterler oluşturduğu ve peynirin duyusal niteliklerini geliştirdiği saptanmıştır (Akın ve ark., 2003). Koçak ve ark. (1995) tarafından yapılan çalışmada Tulum peynirinin olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla lipaz (Palatase A75 L, Novo Nordisk) enziminin kullanılabileceği saptanmıştır.

Mavi küflü peynire tuzlama aşamasında *Penicillium roqueforti* lipazı, buzağı pregastrik esterazı ve domuz pankreatik lipazı ilave edilerek üretilen Mavi küflü peynirlerde metil keton ve peynir aroması oluşumu Cao ve ark. (2014) tarafından incelenmiştir. Çalışma sonucunda, *Penicillium roqueforti* lipazının metil keton ve peynir aroması oluşumunda buzağı pregastrik esterazı ile pankreatik lipazdan çok daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu veriler kullanılacak lipolitik enzimin seçiminde dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir.

Karaca ve Güven (2018) tarafından yapılan çalışmada, Beyaz peynir üretiminde *Bacillus subtilis* kaynaklı Neutrased (proteinaz) ve *Mucor miehei* kaynaklı Piccantase A (lipaz) enzimi kullanılmıştır. Peynir sütüne 0.20 g/100 L Neutrased ve 0.05 g/100 L Piccantase A enzimi ilavesinin olgunlaşma süresinin kısaltılmasında etkili olduğu saptanmıştır. Bu enzimlerin

kullanılan miktarının arttırılması durumunda Beyaz peynirde sert ve kırılgan bir yapı oluştuğu ve acılık geliştiği belirlenmiştir.

Swiss peynirinin olgunlaşma süresini kısaltmak için *Bacillus tequilensis* tarafından üretilen lipaz enzimi kullanılmıştır. Peynir sütüne lipaz enzimi (30 L süte 200 U) ilavesiyle duysal ve fizikokimyasal özelliklerde herhangi bir kayıp olmaksızın peynirin olgunlaşma süresi 3 aydan 2 aya indirilmiştir. Ancak daha yüksek (30 L süte 800 U) oranlarda ilave edilen lipaz enzimi peynirin kalitesinde ve duysal niteliklerinde önemli bir gelişme oluşturmamıştır. Taramalı elektron mikroskobu ile yapılan incelemede, lipaz enziminin peynirdeki yağ küreciklerinin sayısını ve boyutunu azalttığı saptanmıştır. Plastikleştirici etkiye sahip yağ fazı ile kazein miselleri arasındaki etkileşimin değişmesi nedeniyle lipaz ilavesi peynir sertliğinde artışa yol açmıştır (Rani ve Jagtap, 2019).

Proteolitik enzimlerin ilavesi

Peynir olgunlaşmasında en önemli biyokimyasal reaksiyon olan proteoliz, pıhtılaştırıcı enzim (rennet), sütün doğal enzimleri, starter veya starter olmayan mikroorganizma kaynaklı ve sonradan ilave edilen proteolitik enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. Proteoliz peynirin olgunlaşmasına en az dört yolla katkı sağlamaktadır. i) Proteoliz sonucu oluşan amino asit ve peptitler lezzete doğrudan, amino asitlerin aminlere, asitlere, tiyollere ve tiyoesterlere katabolizması ise dolaylı yoldan katkı sağlar. ii) Olgunlaşma sırasında daha fazla hoş aromalı bileşiklerin serbest bırakılmasını sağlar. iii) Amonyak oluşumu ile peynir pH'sının değişmesini sağlar. iv). Protein ağ yapısının parçalanması, pH değerinin yükselmesi ve yeni açığa çıkan amino ve karboksil gruplarının daha fazla su bağlamasıyla dokusal değişimin gerçekleşmesini sağlar (Forde ve Fitzgerald, 2000).

Kazeinin özellikle de α_{s1} -kazein ve β -kazeinin parçalanmasına (birinci aşama) çoğunlukla pıhtılaştırıcı enzimler ve plazmin gibi sütün doğal enzimleri yol açar. Birinci aşamada kazeinden üretilen peptitlerin daha ileri parçalanması esas olarak mikroorganizma enzimleri yoluyla ikinci aşamada gerçekleşir. Bu aşamada meydana gelen ürünler her peynir çeşidinin kendine özgü lezzet ve dokusunun oluşmasında etkin rol oynar. Örneğin kısa zincirli hidrofobik peptidler peynirde acı tada, serbest amino asitler ise tatlı (Gly, Ser, Thr, Ala, Pro), ekşi (His, Glu, Asp) veya acı (Arg, Met, Val, Leu, Phe, Tyr, Ile, Trp) tada yol açmaktadır (McSweeney, 2004; Fox ve ark., 2017). Bu ikincil proteolizin temel işlevi aroma gelişimi için gerekli olan serbest amino asitleri üretmektir. Son aşamada serbest amino asitler ve küçük peptitler mikroorganizmalar tarafından üretilen aminotransferaz, dekarboksilaz gibi enzimlerle dönüşüme uğratarak aminler, aldehytler, organik asitler ve kükürtlü bileşiklerin oluşumu sağlanır. Ayrıca serbest amino asitlerin diğer bileşiklerle reaksiyonu da söz konusudur. Bakteri aktivitesiyle olgunlaşan peynirlerde aroma maddelerinin %50'sinden fazlası amino asitlerin katabolize edilmesiyle üretilir (Fox ve McSweeney, 1996; Law, 2001; Azarnia ve ark., 2006; Vélez ve ark., 2023).

Dallanmış yan gruba sahip lösin, izolösin ve valin amino asitleri, deaminasyon reaksiyonu sonucunda baskın kötü kokulu sırasıyla ketoizokaproik asit, α -keto-L-metil valerik asit ve α -keto-izovalerik asit oluşturur. Aromatik amino asitler de karşılıkları olan α -keto asitlere dönüştürülebilmektedir. Örneğin triptofan, indol-3-pirüvata ve bu da asetik aside dönüştürülür. Tirozin, hidroksibenzaldehite ve fenilalanin ise acı badem lezzeti oluşturan benzaldehite dönüştürülür (McSweeney, 2004). Kükürt içeren amino asitlerden metiyonin,

metiyonal (pişmiş patetes/et benzeri koku), metantiyol (ransit) ve dimetil sülfid (sarımsak) gibi kükürt içeren diğer kokulu bileşiklerin başlangıç maddesi olarak rol oynar (Smit ve ark., 2005).

Amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucunda peynirde histamin, tiramin ve pütresin gibi biyojenik aminler oluşabilmektedir. Bunlar peynir tüketiminden sonra ortaya çıkan histamin zehirlenmesi gibi olumsuzluklara neden olabilir. Yüksek tiramin içeriğine sahip peynirlerin tüketimi “peynir reaksiyonu” olarak adlandırılan yüksek tansiyona neden olabilmektedir (Stratton ve ark., 1991).

Peynirde birincil proteolizden sorumlu olan kimozen miktarı artırılarak, olgunlaşmanın hızlandırılabilmesi düşünülmüştür. Ancak yapılan birkaç çalışma sonucunda, olgunlaşmanın hızlanmadığı ve peynirlerde acılaşıma meydana geldiği görülmüştür (Guinee ve ark., 1991; Johnston ve ark., 1994). Kimozen, yüksek pişirme/haşlama sıcaklığı uygulanan peynir çeşitlerinde inaktif olmasına rağmen, ısıya dayanıklı ve tripsin benzeri doğal bir süt enzimi olan plazminin tamamı peynir kitlesinde kalmakta ve proteolize katkıda bulunmaktadır. Peynir pıhtısına homojen bir şekilde ilave edilen plazmin, peynir olgunlaşmasını hızlandırmak için eklenen proteinazların sebep olduğu sorunları engellemektedir. Yapılan çalışmalarda enzimin tuz ile seyreltilerek pıhtıya ilave edilmesinin homojen karışmaya yardımcı olduğu saptanmıştır (Fox ve McSweeney, 1996).

Mikrobiyal asit proteinazlar küf kaynaklı rennetlerle birlikte kullanıldıklarında orta yoğunlukta lezzet gelişimi sağlarken peynirde bariz bir acılığa yol açmıştır. Nötral proteinazlar, mikrobiyal peptidazlar ve mikrobiyal rennetlerin bir arada kullanılması durumunda rennetin yol açtığı acılığın yoğunluğu azalmıştır. Çalışma sonucunda asit proteinazların yoğun bir acılığa yol açtıkları saptanmıştır (Wilkinson, 1993).

Gıdalara katılabilir nitelikteki bazı ticari proteinazlar, özgün olmayan etkileri ve yeterince saf olmamaları nedeniyle peynirde hatalı doku oluşumu ve dengesiz lezzete yol açabilmektedir. Peynir üretimi sırasında ilave proteinazlar tarafından kazeinlerin aşırı hidrolizi peynir altı suyu ile peptitlerin kaybolmasına yol açabileceğinden randıman kayıpları ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle araştırmacıların çoğunluğu enzimleri tuzla karıştırıp tuzlama aşamasında peynir telemesine eklemeyi tercih etmiştir. Proteinaz, lipaz gibi büyük moleküllerin difüzyon katsayıları çok küçük olduğundan bu yöntem sadece Cheddar peynirinde olduğu gibi parçalanmış telemin tuzlandığı peynir çeşitlerine uygundur. Bu durumda bile ilave edilen enzimler teleme parçalarının yüzeyinde konsantre olabilmektedir. Tuz-enzim karışımının homojen bir şekilde ilave edilmemesi durumunda peynir kitlesinde aşırı lipoliz ve/veya proteolizin gerçekleştiği, dolayısıyla kötü lezzetin geliştiği bölgeler oluşabilecektir (Law, 2010). Bu gibi olumsuz sonuçlarla karşılaşmamak için kullanılacak enzim çeşidinin, konsantrasyonunun, ilave edileceği zamanın ve peynir bileşiminin önceden belirlenmesi çok büyük öneme sahiptir.

Bir metalloproteinaz olan rulaktin, sert peynir üretiminde süte ilave edildiğinde acı lezzet oluşturmada katkıda bulunmuştur. Ancak rulaktin miktarı artırılarak üretilen peynirlerde acı lezzet ile birlikte verim düşüşü de gözlenmiştir (El Soda, 1986).

Aspergillus oryzae’dan elde edilen bir nötral proteinazın parçalanmış Cheddar telemesine ilavesinin 10°C’de 6 aylık olgunlaşma boyunca peynirin özellikleri üzerine etkisini inceleyen Fedrick ve ark. (1986), olgunlaşma süresinin ve enzim ilave oranının artışına paralel olarak proteoliz düzeyinin de artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Kontrol peynirinin 6 ayda ulaştığı proteoliz düzeyine %0.1 oranında enzim ilave edilen örnekler 2 ay içerisinde ulaşmıştır.

İlerleyen olgunlaşma süresi ve enzim ilave oranının %0.005'in üzerine çıkmasıyla birlikte olgunlaşma seviyesinin ve acılığın arttığı saptanmıştır. Enzim ilave oranının ve olgunlaşma süresinin artmasıyla peynirlerin daha yumuşak, daha kolay parçalanabilir ve daha az esnek olduğu tespit edilmiştir.

Haard ve Patel (1987), Cheddar peyniri üretiminde tek başına ya da pıhtılaştırıcı enzim ile birlikte peynir sütüne *Pseudomonas fluorescens*'ten üretilen proteinazı ilave etmişlerdir. Peynir üretimi boyunca proteinaz aktivitesinin sabit kaldığı ve olgunlaşma süresince Cheddar peynirine özgü lezzet bileşiklerinin oluştuğu belirlenmiştir.

Peynirde olgunlaşmayı hızlandırmak amacıyla sütte doğal olarak bulunan proteolitik enzimlerden plazminin aktivitesini arttırmaya yönelik farklı bir yaklaşım urokinaz enzimini (EC 3.4.21.73) kullanmak olmuştur. Urokinaz, sütte inaktif halde bulunan plazminojeni (toplam plazmin aktivitesinin yaklaşık %90'lık kısmı) plazmine dönüştüren 54 kDa moleküler ağırlıkta, serin proteinazlar grubunda yer alan bir enzimdir. Barrett ve ark. (1999), urokinaz enzimi ilave edilen süttten üretilen Cheddar peynirinde plazmin aktivitesinin arttığını ve buna bağlı olarak serbest amino asit, γ -kazein ve suda çözünür protein düzeyindeki artış ve peptit profilindeki değişiklikler ile ölçülen proteolizin daha yüksek seviyelerde gerçekleştiğini saptamışlardır.

Karaca ve Güven (2018) tarafından yapılan çalışmada, Beyaz peynir üretiminde *Bacillus subtilis*'ten üretilen Neutrased ve *Mucor miehei*'den üretilen Piccantase A enzimi kullanılmıştır. Neutrased (0.20 g/100 L) ve Piccantase A (0.05 g/100 L) enzimleri kullanımının olgunlaşma süresini kısalttığı, söz konusu enzimlerin kullanım oranlarının artırılması durumunda ise Beyaz peynirde sert ve kırılgan bir yapının oluştuğu ve acılığın geliştiği saptanmıştır.

Cheddar peynirinin olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla *Penicillium candidum* PCA1/TT031 suşundan elde edilen proteolitik enzim, peynir telemesine farklı düzeylerde eklenmiştir. Çalışma sonucunda, ideal Cheddar peynirinin 3.12 kat saflaştırılmış enzimin %0.01 düzeyinde ilave edilip 10°C'de 0.6 ay olgunlaştırılması sonucunda elde edildiği saptanmıştır. Bu şartlarda elde edilen peynirin pH değeri 5.4, asit değeri (ADV) 6.6, kuru madde oranı %65, yağ oranı %34 ve toplam azot içerisindeki çözünebilir azot oranı ise %18.8 olarak belirlenmiştir (Alhelli ve ark., 2021).

Laktaz (β -galaktozidaz) enzimi ilavesi

Beta-galaktozidaz enzimi, laktozu glikoz ve galaktoza hidroliz edip serbest glikoz oluşturduğu için peynirde fermantasyonun daha hızlı gerçekleşmesini sağlamaktadır (Azarnia ve ark., 2006). Fermantasyonun hızlanmasına bakterilerin lag periyodunun kısılmasının neden olduğu belirtilmiştir (Wilkinson, 1993).

Yapılan çalışmalarda, laktozun β -galaktozidaz enzimi ile hidrolizi (%60'a kadar) sonucunda üretilen Cheddar peynirinde proteolizin arttığı ve olgunlaşmanın hızlandığı saptanmıştır. Laktozun monosakkaritlerine dönüştürülmesinin starter bakterilerini teşvik ederek sayılarının artmasına neden olduğu ve sayıları artan starter bakterilerinin de peynir kitlesindeki peptidaz aktivitesini artırarak proteolizin hızlanmasına yol açtığı belirtilmiştir (Gooda ve ark., 1983). Bununla birlikte starter hücre sayısındaki artışın mutlaka olgunlaşmanın hızlanmasına yol açmayacağı, bu durumun β -galaktozidaz enziminin proteinazlarla bulaşmış olmasından kaynaklanabileceği de belirtilmiştir (Wilkinson, 1993).

El-Zayat (1987), Domiati peyniri üretiminde kullanılan süte pıhtılaşmadan önce β -galaktozidaz enzimi ilavesinin peynirin kalitesini iyileştirdiğini ve bu şekilde üretilen peynirin kontrol peynirinden yaklaşık iki kat daha fazla serbest amino asit ve serbest yağ asidi içerdiğini saptamıştır. Beta-galaktozidazın, Cheddar peyniri üretiminde kullanılan süte ilavesi ile lezzetin iyileştiği ve olgunlaşmanın yaklaşık %50 oranında hızlandığı ifade edilmiştir. Kontrol peyniri ile karşılaştırıldığında proteolizin de arttığı belirtilmiştir (Wilkinson, 1993). Ras peynirinin olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla üretimde kullanılan süte β -galaktozidaz enzimi ilave edilmiştir. Ticari ismi Lactozym olan β -galaktozidaz enzimi 1 mL/kg süt düzeyinde ilave edildikten sonra süt 33°C'de 1 saat veya 4°C'de 18 saat bekletilerek Ras peyniri üretiminde kullanılmıştır. Beta-galaktozidaz ile muamele edilen süttten üretilen peynirlerde lezzet yoğunluğu, suda çözünebilir azot, serbest amino asit ve serbest yağ asitleri miktarı artış göstermiştir. Ayrıca olgunlaşma süresi de 4 aydan 2 aya inmiştir. Sütün 4°C veya 33°C'de β -galaktozidaz ile muamele edilmesi peynir niteliklerinde herhangi bir farklılık oluşturmamıştır (Farahat ve ark., 1985).

L-metiyonin γ -liyaz enzimi ilavesi

Brevibacterium linens bakterisinden elde edilen L-metiyonin γ -liyaz enzimi (EC 4.4.1.11) Cheddar peynirinin olgunlaşmasının hızlandırılmasında kullanılmıştır. Enzim, L-metiyonin amino asidini γ -eleminasyonu mekanizması ile α -ketobütirat, metantiyol (metil merkaptan) ve amonyağa dönüştürür. Bu enzimin metiyonin amino asidi ile birlikte kullanılmasının Cheddar peynirinde karakteristik aroma bileşiği olan metantiyol üretimini arttırdığı saptanmıştır (Dias ve Weimer, 1999).

Sonuç

Peynir olgunlaşması, peynirin kendine özgü lezzetinin gelişimini sağlayan birbiriyle ilişkili reaksiyonlar dizisi sonucunda gerçekleşir. Olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi, enzim ilavesi, kimyasal, fiziksel ya da genetik olarak modifiye edilmiş mikroorganizma kültürlerinin ilavesi, yüksek basınç uygulaması ve peynir bulamacı ilavesi gibi yöntemler peynirin tüketimine kadar geçen süreyi kısaltmayı ve depolama maliyetini azaltmayı amaçlamaktadır. Laktoz, süt yağı ve kazeinlerin parçalanması sonucunda değişik lezzet bileşiklerinin oluştuğu bilinmesine karşın amino asitlerin katabolizması gibi ikincil reaksiyonların ayrıntıları henüz tam olarak aydınlığa kavuşturulamamıştır. Her zaman aynı kaliteye sahip peynir üretmek ve olgunlaşma işlemini kontrol altına alıp hızlandırmak amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda sınırlı bir başarı sağlanabilmiştir. Bu nedenle, peynirde olgunlaşmanın daha hızlı ve etkili bir şekilde gerçekleşmesini sağlamak için sadece mevcut yöntemlerin optimize edilmesi değil, aynı zamanda yeni teknolojilerin geliştirilmesi ve uygulanması da büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, starter olarak kullanılan mikroorganizmaların metabolik aktivitelerinin ayrıntılı olarak belirlenmesi, yeni enzim sistemlerinin incelenmesi, farklı biyoteknolojik yaklaşımların değerlendirilmesi, olgunlaşma sürecinin daha iyi anlaşılabilmesi ve takip edilebilmesi için moleküler düzeyde araştırmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- Abdel Baky, A.A., El Fak, A.M., Rabie, A.M. ve El Neshawy, A.A. (1982). Utilisation of cheese slurry in the acceleration of Kefalotyri ‘Ras’ cheese ripening. *Dairy Ind. Int.*, 47, 21-25.
- Abdel Baky, A.A., El-Neshawy, A.A., Rabie, A.M. ve Ashour, M.M. (1986). Heat-shocked lactobacilli for accelerating flavour development of Ras cheese. *Food chemistry*, 21(4), 301-313.
- Akın, N., Aydemir, S., Koçak, C. ve Yıldız, M.A. (2003). Changes of free fatty acid contents and sensory properties of White Pickled cheese during ripening. *Food Chemistry*, 80(1), 77-83. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00242-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00242-X).
- Alhelli, A.M., Mohammed, N.K., Khalil, E.S. ve Hussin, A.S.M. (2021). Optimizing the acceleration of Cheddar cheese ripening using response surface methodology by microbial protease without altering its quality features. *AMB Express.*, 11(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01205-9>.
- Anonim, (2015). Türk Gıda Kodeksi. Peynir Tebliği (2015/6). *Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı*. 8 Şubat 2015 tarih ve 29261 sayılı Resmî Gazete, Ankara. Erişim tarihi: 27.03.2024.
- Ardo, Y. ve Pettersson, H.E. (1988). Accelerated cheese ripening with heat treated cells of *Lactobacillus helveticus* and a commercial proteolytic enzyme. *J. Dairy Res.*, 55(2), 239-245.
- Azarnia, S., Lee, B.H., St-Gelais, D., Champagne, C.P. ve Kilcawley, K.N. (2010). Effect of free or encapsulated recombinant aminopeptidase of *Lactobacillus rhamnosus* S93 on acceleration of cheddar cheese ripening. *Food Biotechnology*, 24(2), 135-149. <https://doi.org/10.1080/08905431003784853>.
- Azarnia, S., Robert, N. ve Lee, B. (2006). Biotechnological methods to accelerate Cheddar cheese ripening. *Critical Reviews in Biotechnology*, 26(3), 121-143. <https://doi.org/10.1080/07388550600840525>.
- Bakr, A., Ahmed, A., El-Daba, M., ve El-Hamshary, H. (2024). Acceleration ripening of Ras cheese using slurry mixture. *Journal of Sustainable Agricultural and Environmental Sciences*, 3(3), 67-74.
- Barrett, F.M., Kelly, A.L., McSweeney, P.L. ve Fox, P.F. (1999). Use of exogenous urokinase to accelerate proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 9(7), 421-427. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00047-3).
- Bartels, H.J. (1987). Accelerated ripening of Gouda cheese 1. Effect of Heat-shocked thermophilic lactobacilli and streptococci on proteolysis and flavour development. *Milchwissenschaft*, 42, 83-88.
- Bartels, H.J., Johnson, M.E. ve Olson, N.F. (1987). Accelerated ripening of Gouda cheese. 2. Effect of freeze-shocked *Lactobacillus helveticus* on proteolysis and flavor development. *Milchwissenschaft*, 42(3), 139-144.
- Blaya, J., Barzideh, Z. ve LaPointe, G. (2018). Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3611-3629. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345>.

- Calasso, M., Mancini, L., Di Cagno, R., Cardinali, G. ve Gobbetti, M. (2015). Microbial cell-free extracts as sources of enzyme activities to be used for enhancement flavor development of ewe milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 5874-5889. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9362>.
- Cao, M., Fonseca, L.M., Schoenfuss, T.C. ve Rankin, S. A. (2014). Homogenization and lipase treatment of milk and resulting methyl ketone generation in blue cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(25), 5726-5733. <https://doi.org/10.1021/jf4048786>.
- Casal, V. ve Gómez, R. (1999). Effect of high pressure on the viability and enzymatic activity of mesophilic lactic acid bacteria isolated from caprine cheese. *Journal of Dairy Science*, 82(6), 1092-1098. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75331-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75331-2).
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L. ve Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841-866. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2).
- Crow, V.L., Coolbear, T., Gopal, P.K., Martley, F.G., McKay, L.L. ve Riepe, H. (1995b). The role of autolysis of lactic acid bacteria in the ripening of cheese. *International Dairy Journal*, 5(8), 855-875. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00036-4](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00036-4).
- Crow, V.L., Martley, F.G., Coolbear, T. ve Roundhill, S.J. (1995a). The influence of phage-assisted lysis of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ML8 on Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 5(5), 451-472. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00022-U](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00022-U).
- Deegan, K.C. ve McSweeney, P.L. (2013). Effects of low-pressure homogenisation pre-treatment of cheesemilk on the ripening of Cheddar cheese. *Dairy Science & Technology*, 93, 641-655. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0139-0>.
- Dias, B. ve Weimer, B. (1999). Production of volatile sulfur compounds in Cheddar cheese slurries. *International Dairy Journal*, 9(9), 605-611. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00130-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00130-2).
- Dulley, J.R. (1976). The utilisation of cheese slurries to accelerate the ripening of Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, 31,143-148.
- El Abboudi, M., Pandian, S., Trepanier, G., Simard, R.E. ve Lee, B.H. (1991). Heat-shocked lactobacilli for acceleration of Cheddar cheese ripening. *Journal of Food Science*, 56(4), 948-949. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb14612.x>.
- El Neshawy, A.A., Abdel Baky, A.A. ve Farahat, S.M. (1982). Enhancement of Domiati cheese flavour with animal lipase preparations. *Dairy Industries International*, 47(2), 29-31.
- El Soda, M. (1986). Acceleration of cheese ripening: recent advances. *Journal of Food Protection*, 49(5), 395-399. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-49.5.395>.
- El Soda, M. (1993). Accelerated maturation of cheese. *International Dairy Journal*, 3(4-6), 531-544. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(93\)90030-4](https://doi.org/10.1016/0958-6946(93)90030-4).
- El-Shibiny, S., Soliman, M.A., El-Bagoury, E., Gad, A. ve El-Salam, M.H.A. (1978). Development of volatile fatty acids in Ras cheese. *Journal of Dairy Research*, 45(3), 497-500. <https://doi.org/10.1017/S002202990001671X>.
- El-Zayat, A.I. (1987). Microstructure, free amino acids and free fatty acids in Domiati cheese treated with β -galactosidase. *Food/Nahrung*, 31(1), 27-37. <https://doi.org/10.1002/food.19870310105>.

- Farahat, S.M., Rabie, A.M., Baky, A.A., El-Neshawy, A.A. ve Mobasher, S. (1985). β -Galactosidase in the acceleration of Ras cheese ripening. *Food/Nahrung*. 29(3), 247-254. <https://doi.org/10.1002/food.19850290307>.
- Fedrick, I.A., Aston, J.W., Nottingham, S.M. ve Dulley, J. R. (1986). The effect of a neutral fungal protease on Cheddar cheese ripening. *N.Z.J. Dairy Sci. Technol.*, 21, 9-19.
- Fernandez-Garcia, E., Lopez-Fandiño, R., Alonso, L. ve Ramos, M. (1994). The use of lipolytic and proteolytic enzymes in the manufacture of Manchego type cheese from ovine and bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 77(8), 2139-2149. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77156-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77156-3).
- Forde, A. ve Fitzgerald, G.F. (2000). Biotechnological approaches to the understanding and improvement of mature cheese flavour. *Current Opinion in Biotechnology*, 11(5), 484-489. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00130-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00130-0).
- Fox, P.F. (1988). Acceleration of cheese ripening, *Food Biotechnology*, 2:2, 133-185. <https://doi.org/10.1080/08905438809549685>.
<https://doi.org/10.1080/08905438809549685>.
- Fox, P.F. (1993). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1, *Springer-Science+Business Media*.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. ve McSweeney P.L.H. (2017). Fundamentals of cheese science. Second Ed., *Springer*.
- Fox, P.F., Lucey, J.A. ve Cogan, T.M. (1990). Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 29(4), 237-253. <https://doi.org/10.1080/10408399009527526>.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1996. Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*. 12(4): 457-509. <https://doi.org/10.1080/87559129609541091>.
- Gan, H.H., Yan, B., Linforth, R.S.T. ve Fisk, I.D. (2016). Development and validation of an APCI-MS/GC-MS approach for the classification and prediction of Cheddar cheese maturity. *Food Chemistry*. 190, 442-447. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.096>.
- Garbowska, M., Berthold-Pluta, A., Stasiak-Róžańska, L. ve Pluta, A. (2021). The impact of the adjunct heat-treated starter culture and *Lb. helveticus* LH-B01 on the proteolysis and ACE inhibitory activity in Dutch-type cheese model during ripening. *Animals*, 11(9), 2699. <https://doi.org/10.3390/ani11092699>.
- Geciova, J., Bury, D. ve Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. *International Dairy Journal*, 12(6), 541-553. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00038-9).
- Gooda, E., Bednarski, W. ve Ponznaoski, S. (1983). The protein degradation in Cheddar cheese manufactured from milk treated with lactase. *Milchwissenschaft*, 38, 83-86.
- Guamis, B., Trujillo, A.J., Sendra, E., Buffa, M. ve Saldo, J. (2000). High pressure applications in milk treatment for cheese-making and accelerated ripening. *International Journal of High Pressure Research*, 19,1-6. <https://doi.org/10.1080/08957950008202530>.
- Guinee, T.P., Wilkinson, M.G., Mulholland, E.O. ve Fox, P.F. (1991). Influence of ripening temperature, added commercial enzyme preparations and attenuated mutant (*Lac*⁻) *Lactococcus lactis* starter on the proteolysis and maturation of Cheddar cheese. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 15, 27-52.

- Haard, N.F. ve Patel, T.R. (1987). Bacterial enzyme used as cheese ripening aid. U.S. Patent No. 4,690,826. *U.S. Patent and Trademark Office*.
- Hamdy, S.M., Mahmoud, H.S. ve Abbas, K.A.H. (2017). Improving the Quality of Ultrafiltered Ras Cheese using Mature Cheddar Cheese Slurry. *International Journal of Dairy Science*, 12(5), 318-324.
- Hannon, J.A., Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G., Delahunty, C.M. ve Beresford, T.P. (2006). Production of ingredient-type cheddar cheese with accelerated flavor development by addition of enzyme-modified cheese powder. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 3749-3762. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72416-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72416-X).
- Huppertz, T., Kelly, A.L. ve Fox, P.F. (2002). Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *International Dairy Journal*, 12(7), 561-572. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00045-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00045-6).
- Iwasawa, A., Suzuki-Iwashima, A., Iida, F. ve Shiota, M. (2014). Effects of flavor and texture on the desirability of cheddar cheese during ripening. *Food Science and Technology Research*, 20(1), 23-29. <https://doi.org/10.3136/fstr.20.23>.
- Johnson, J.A.C., Etzel, M.R., Chen, C.M. ve Johnson, M.E. (1995). Accelerated ripening of reduced-fat Cheddar cheese using four attenuated *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 adjuncts. *Journal of Dairy Science*, 78(4), 769-776. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76688-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76688-7).
- Johnson, M.E. (2011). Preparation of cheese milk. In Encyclopedia of Dairy Sciences. Ed. J.W. Fuquay, P.F.Fox, P.L.H. McSweeney, *Elsevier Academic Press*.
- Johnston, K.A., Dunlop, F.P., Coker, C.J. ve Wards, S.M. (1994). Comparisons between the electrophoretic pattern and textural assessment of aged Cheddar cheese made using various levels of calf rennet or microbial coagulant (Rennilase 46L). *International Dairy Journal*, 4(4), 303-327. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(94\)90029-9](https://doi.org/10.1016/0958-6946(94)90029-9).
- Juan, B., Quevedo, J.M., Zamora, A., Guamis, B. ve Trujillo, A.J. (2015). Lipolysis of cheeses made from goat milk treated by ultra-high pressure homogenization. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1034-1038. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.003>.
- Juan, B., Zamora, A., Quevedo, J.M. ve Trujillo, A.J. (2016). Proteolysis of cheese made from goat milk treated by ultra high pressure homogenisation. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.013>.
- Karaca, O. ve Güven, M. (2018). Effects of proteolytic and lipolytic enzyme supplementations on lipolysis and proteolysis characteristics of White cheeses. *Foods*, 7(8), 125. <https://doi.org/10.3390/foods7080125>.
- Kavinila, S., Nimbkar, S., Moses, J. A. ve Anandharamakrishnan, C. (2023). Emerging applications of microfluidization in the food industry. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12, 100537. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100537>.
- Kheadr, E.E., Vachon, J.F., Paquin, P. ve Fliss, I. (2002). Effect of dynamic high pressure on microbiological, rheological and microstructural quality of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 12(5), 435-446. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00104-2).
- Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G. ve Fox, P.F. (1998). Enzyme modified cheese. *Int. Dairy J.*, 8, 1-10. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00010-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00010-7).

- Klein, N. ve Lortal, S. (1999). Attenuated starters: an efficient means to influence cheese ripening-a review. *International Dairy Journal*, 9(11), 751-762. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00155-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00155-7).
- Koçak, C., Gürsel, A., Avşar, Y.K. ve Semiz, A. (1995). Effect of lipase enzyme (Palatase A 750 L) on the ripening of Tulum cheese. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 19(3), 171-177.
- Kosikowski, F.V. (1978). Cheese and Fermented Milk Foods. Second Edition, *Cornell University*.
- Kristoffersen, T., Mikolajcik, E.M. ve Gould, I.A. (1967). Cheddar cheese flavor. IV. Directed and accelerated ripening process. *J. Dairy Sci.*, 50(3), 292-297. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(67\)87412-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(67)87412-5).
- Law, B.A. (2001). Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technology. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 383-398. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00067-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00067-X).
- Law, B.A. (2010). Cheese-Ripening and Cheese Flavour Technology. In Technology of cheesemaking (Second Edition) Law, B.A. and Tamime, A.Y. (Eds.), *John Wiley & Sons Ltd*.
- Law, B.A., Castañón, M.J. ve Sharpe, M.E. (1976). The contribution of starter streptococci to flavour development in Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 43(2), 301-311. <https://doi.org/10.1017/S0022029900015867>.
- Li, Z., Liu, T., Fan, K., Geng, L., Wang, P., Ren, F. ve Luo, J. (2024). Preparation of pH-responsive chitosan microspheres containing aminopeptidase and their application in accelerating cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 107(6), 3502-3514. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23982>.
- Lin, J.C.C. ve Jeon, I.J. (1987). Effects of commercial food grade enzymes on free fatty acid profiles in granular cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 52(1), 79-83. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb13976.x>.
- Lowrie, R.J., Lawrence, R.C. ve Peberdy, M.F. (1974). Cheddar cheese flavour. V. Influence of bacteriophage and cooking temperature on cheese made under controlled bacteriological conditions. *N.Z.J. Dairy Sci. Technol.*, 9, 116-121.
- Madkor, S.A., Tong, P.S. ve El Soda, M. (2000). Ripening of Cheddar cheese with added attenuated adjunct cultures of lactobacilli. *J. Dairy Sci.*, 83, 1684-1691. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75037-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75037-5).
- Martley, F.G. (1975). The behaviour and role of starter streptococci in Camembert cheesemaking. *N.Z.J. Dairy. Sci. Technol.*, 10, 12-17.
- McSweeney, P. L. ve Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293-324. <https://doi.org/10.1051/lait:2000127>.
- McSweeney, P. L.H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x>.
- McSweeney, P.L.H. (2011). Cheese: Biochemistry of cheese ripening. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 667–674).

- Nunez, M., Garcia-Aser, C., Rodriguez-Martin, M.A., Medina, M. ve Gaya, P. (1986). The effect of ripening and cooking temperatures on proteolysis and lipolysis in Manchego cheese. *Food Chemistry*, 21(2), 115-123. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(86\)90156-1](https://doi.org/10.1016/0308-8146(86)90156-1).
- Özer B. ve Hayaloğlu, A.A. (2021). Peynirde Olgunlaşmayı Hızlandırma Yöntemleri. 2. Basım, Editörler: Hayaloğlu, A.A., Özer, B. *Peynir Biliminin Temelleri*, 265-295.
- Peng, Q., Wang, X., Shang, M., Huang, J., Guan, G., Li Y. ve Shi, B. (2014). Isolation of novel alkaline-stable lipase from a metagenomic library and its specific application of milk fat flavour production. *Microb Cell Factories*, 13(1),1-6.
- Pettersson, H.E. ve Sjöström, G. (1975). Accelerated cheese ripening: a method for increasing the number of lactic starter bacteria in cheese without detrimental effect to the cheese-making process, and its effect on the cheese ripening. *Journal of Dairy Research*, 42(2), 313-326. <https://doi.org/10.1017/S002202990001534X>.
- Rabie, A.M. (1989). Acceleration of blue cheese ripening by cheese slurry and extracellular enzymes of *Penicillium roqueforti*. *Lait*, 69, 305-314. <https://doi.org/10.1051/lait:1989424>.
- Rani, S. ve Jagtap, S. (2019). Acceleration of Swiss cheese ripening by microbial lipase without affecting its quality characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 497-506. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3482-6>.
- Reps, A., Kolakowski, P. ve Dajnowiec, F. (1998). The effect of high pressure on microorganisms and enzymes of ripening cheeses. In: *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*. Neil, S. Isaacs (Ed.), pp. 265-270.
- Saldo, J., Sendra, E. ve Guamis, B. (2000). High hydrostatic pressure for ripening acceleration of goat's milk cheese. *Journal of Food Science*, 65(4), 636-640.
- Sihufe, G.A., Zorrilla, S.E., Perotti, M.C., Wolf, I.V., Zalazar, C.A. ve Sabbag, N.G. (2010). Acceleration of cheese ripening at elevated temperature. An estimation of the optimal ripening time of a traditional Argentinean hard cheese. *Food Chemistry*, 119(1), 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.001>.
- Singh, S. ve Kristoffersen, T. (1971). Influence of lactic cultures and curd milling acidity on flavor of Cheddar cheese slurries. *J. Dairy Sci.*, 54, 1589-1594. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(71\)86076-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(71)86076-9).
- Smit, G., Smit, B.A. ve Engels, W.J.M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 591-610. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.002>.
- Smith, M.R., Browning, P.D. ve Pawlett, D. (2003). Cheese ripening process. *United State Patent*, US 6,649,200 B2.
- Stratton, J.E., Hutkins, R.W. ve Taylor, S.L. (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods: A review. *Journal of Food Protection*, 54(6), 460-470. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.6.460>.
- Upadhyay, V.K., Huppertz, T., Kelly, A.L. ve McSweeney, P.L.H. (2007). Use of high pressure treatment to attenuate starter bacteria for use as adjuncts for Cheddar cheese manufacture. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(4), 485-492. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.04.013>.
- Upadhyay, V.K. ve McSweeney, P.L.H. (2003). Acceleration of cheese ripening. In Dairy processing: improving quality (Edited by G Smit), *Woodhead Publishing Limited*.

- Üçüncü, M. (2008). A' dan Z' ye Peynir Teknolojisi Cilt 2. *Sidas*.
- Vélez, M.A., Bergamini, C., Wolf, I. V., Peralta, G.H. ve Perotti, M.C. (2023). Cheese Ripening: An Overview of Technological Strategies Towards Process Acceleration. Handbook of Cheese Chemistry. Editör Michael H. Tunick, *Royal Society of Chemistry*.
- Wilkinson, M.G. (1993). Acceleration of cheese ripening. In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Volume 1 General Aspects. P.F. FOX Edt. Springer, pp. 523-555
- Xia, Q., Zheng, Y., Liu, Z., Cao, J., Chen, X., Liu, L., Yu, H., Barba, F.J. ve Pan, D. (2020). Nonthermally driven volatilome evolution of food matrices: The case of high-pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 365-381. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.026>.
- Yokoyama, H., Sawamura, N. ve Motobayashi, N. (1992). Method for accelerating cheese ripening. *European-Patent-Application* EP 0 469 851 A1.