

KAŞAR PEYNİRİNİN HIZLI OLGUNLAŞTIRILMASINDA PROTEAZ VE LİPAZ ENZİMLERİNİN FARKLI METOTLARLA KULLANIMI*

1. Peynirlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

USE OF PROTEASE AND LIPASE ENZYMES BY DIFFERENT METHODS TO ACCELERATE KAŞAR CHEESE RIPENING

1. The effect on cheese physical and chemical properties.

Abdullah ÇAĞLAR, Songül ÇAKMAKÇI

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ERZURUM

ÖZET: Araştırmada kaşar peyniri üretiminde, pastörize inek sütüne, bir lipaz (Palatase M), bir proteaz (Neutrase) ve bu iki enzimin bir kombinasyonundan oluşan üç farklı enzim seviyesi (süt miktarı esas alınarak; %0,0001 Palatase M, %0,004 Neutrase, %0,0001 Palatase M + %0,004 Neutrase) iki ayrı metotta (direkt süte ilave ve mikroenkapsülasyon) uygulanmıştır. Peynirlerde olgunlaşma süresi boyunca (2, 30, 60 ve 90. gün) fiziksel ve kimyasal analizler yapılarak, çiğ sütnen üretilen Kontrol - I ve pastörize sütnen %1 oranında *Lactococcus lactis* ve *Streptococcus cremoris* kültürleri (1:1) katılarak üretilen Kontrol-II peynirleri ile karşılaştırılmıştır.

Deneme Şansa Bağlı Tam Bloklar deneme planına göre faktöriyel olarak düzenlenmiş ve iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Enzim ilave edilerek yapılan tüm kaşar peyniri ömeklerinde randıman, kontrol gruplarına göre düşük olmuşdur. Ancak, kontrol gruplarına en yakını değeri mikroenkapsülasyon teknigi ile %0,0001 Palatase M enzim ilavesi (Mik-L) vermiştir.

Enzim ilavesi; kurumadde, yağ, protein, tuz, asitlik, kurumaddede yağ, kurumaddede tuz ve olgunluk derecesi; olgunlaşma süresi ise kurumadde, yağ, protein, kül, tuz, asitlik, kurumaddede tuz, olgunlaşma derecesi üzerinde istatistikî olarak önemli ($P < 0.01$) derecede etkili olmuştur. Enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun kurumadde, yağ, protein, asitlik, kurumaddede yağ ve olgunluk derecesi üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.01$).

Kontrol grubu peynirlerin 90 günde ulaştığı olgunluk derecesine, süte direkt teknikle ilave edilen lipaz ve proteaz (Di-L+P) ve sadece proteaz (Di-P) enzim muamelesi peynirler 30-60 gün arasında ulaşmıştır. En yüksek olgunluk derecesi Di-L+P uygulaması ile elde edilmiştir.

ABSTRACT: In this study, pasteurized cow milk was used for Kaşar cheese processing. One lipase (Palatase M), one protease (Neutrase), and combination of both enzyme were added to milk which was processed into cheese. Three different enzyme with the levels (based on raw milk amount) of 0.0001% Palatase M, 0.004% Neutrase and 0.0001% Palatase M + 0.004% Neutrase were evaluated. Enzymes were added into milk samples by using two different methods; direct and microencapsulation. Cheese samples were evaluated for physical and chemical properties at 2nd, 30th, 60th and 90th day of the ripening periods. Enzyme added cheese samples were compared with the Control-I (from fresh milk) and Control-II (from pasteurized and starter added) cheese samples. The 1% starter composed of *Lactococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*(1:1) was added into the milk.

Experiment was set up according to random block design with factorial arrangement, and the analysis were carried out in duplicate.

Cheese yields of all the cheese samples produced with the enzyme addition were lower than the control groups. But, 0.0001% Palatase M(Mik-L) added with microencapsulation technique gave the higher cheese yield which is closer to the control groups.

With the enzyme addition, dry-matter, fat, protein, salt, acidity, fat in dry-matter, salt in dry-matter and the ripening degree; with the ripening period dry-matter, fat, protein, ash, salt, acidity, salt in dry-matter and the ripening degree gave statistically ($P < 0.01$) significant results. It was determined that the interaction of enzyme addition x ripened period had an significant influence on dry-matter, fat, protein, acidity, fat in dry-matter and ripening degree of the cheeses produced in this research ($P < 0.01$). The best ripened condition was achieved by adding lipase + protease enzymes together into milk with direct technique (Di - L+P). The same ripened state in the cheeses was reached in 30-60 days ripened period with the direct incorporation of lipase + protease enzymes together (Di+L+P) or protease only (Di-P), but in 90 days in control groups containing no enzymes.

GİRİŞ

Peynirde olgunlaşmanın hızlandırılması için ilk uygulanan yöntemler, depolama sıcaklığının yükseltilmesi, süte istenilen özellikle gelişme sağlayan mikroorganizmaları içeren starter kültürlerin ilave edilmesi veya bu iki yöntemin birlikte uygulanmasıdır.

* Bu makale TÜBİTAK (Ankara) tarafından desteklenen (VHAG-787) araştırmanın bir bölümündür.

Son yıllarda, sert peynirlerde istenilen tekstür ve lezzeti daha yoğun ve kısa sürede oluşturmak için, starter kültür yerine, bunların etkili unsurları olan enzimatik potansiyelleri daha çok kullanılmaktadır (ABDEL SALAM ve ark. 1978; EL SHIBINY ve ark. 1979; MOCKOWITZ ve NOELCK, 1987; ÇAĞLAR, 1992). Çeşitli mikroorganizmalardan elde edilen ham hücre ekstraktları (cell free extract) veya bunlardan izole edilen saf enzimler, doğrudan (Di) süte veya telemeye ya da mikroenkapsülasyon (Mik) ve lipozom tuzakları gibi yöntemlerle peynire işlenecek süte tatbik edilmekte ve peynirlerin hızlı olgunlaştırılması sağlanmaktadır (EL SODA, 1986; KOSIKOWISKI, 1988). Olgunlaşma süresini kısaltmada ana prensip, lezzet ve aroma oluşturan mikroorganizmaların veya enzimlerin faaliyetini hızlandırmaktır (KOSIKOWISKI, 1978).

Bugün peynirlerin hızlı olgunlaştırılmasında; lipaz, proteaz ve β -galaktosidaz enzimleri ayrı ayrı veya kombinasyonlar halinde başarı ile kullanılmaktadır (ABDEL SALAM ve ark. 1979; EL SHIBINY, 1979; SOOD ve KOSIKOWISKI, 1979; GRIEVE, 1982; LAW ve WIGMORE, 1983; FARAHAT ve ark. 1984; RIDHA ve ark. 1984; EL SODA, 1986; FEDRICK ve ark. 1986; LIN ve JEON, 1987; ARDO ve PETTERSON, 1988). *Bacillus subtilis*'ten elde edilen fungal bir proteaz olan Neutrase'in Cheddar peynirinin tekstürüni bozarak benekli ve zayıf bir bünye ile acı lezzet geliştirdiği (RIDHA ve ark. 1984), Cheddar peynirinde, neutrase'in az bir miktarının lezzeti geliştirdiği, yüksek dozlarının ise acı tat oluşturduğu ve peynirin yapısını bozduğu belirlenmiştir (LAW ve WIGMORE, 1983). Swedish peynirinde neutrase'in tek başına kullanıldığı zaman acı tat ortaya çıktıığı ancak, *Lactobacillus helveticus* ile birlikte ilave edildiğinde bu etkinin *L. helveticus* tarafından stimüle edildiği ve suda eriyebilir protein oranının da arttığı belirtilmiştir (ARDO ve PETTERSON; 1988). MAGEE ve OLSON (1981), lipazlar ile mikrobiyal nötral proteaz kombinasyonlarının en iyi sonucu verdienen tesbit etmiştir. Peynirlerin hızlı olgunlaştırılmasında proteazlar içinde en uygun olanın nötral proteazlar olduğu, asit proteazların acı çeşni geliştirmeleri nedeniyle istenmeyen ve fazla kullanılmayan proteaz grubunu teşkil ettikleri bildirilmektedir (KOSIKOWISKI ve IWASAKI, 1975; SOOD ve KOSIKOWISKI, 1979; KOSIKOWISKI, 1988).

Günümüzde peynir üreticiliği, büyük sabit yatırımlar, işletme giderleri ve depolama masrafları gibi büyük sermaye gerektirmektedir. Kısa sürede daha yoğun peynir lezzetinin geliştirilmesiyle bir çok ekonomik avantajlar elde edilmektedir. Bugün ülkemizde 40.9 bin ton Kaşar peyniri ürettiği belirtilmektedir (ANONYMOUS, 1995). Ancak, olgunlaşmış ve kaliteli Kaşar peyniri kavramı tüketici tarafından hala bilinmemektedir. Tüketicilerin satın aldığı Kaşar peynirinin kalitesini şansa bırakmaktadır. Bunun en önemli nedeni, olgunlaşma süresi boyunca ortaya çıkan masrafları karşılayamayan üreticinin, olgunlaşma süresini tamamlamamış, ancak yenebilir hale gelmiş Kaşar peynirini piyasaya sürmesinden kaynaklanmaktadır. Halbuki Kaşar Peyniri Standardı'nda (ANONYMOUS, 1989) Kaşar peynirlerinin üretildikleri tarihten itibaren 90 gün sonra tüketilebilecekleri belirtilmektedir. Bu nedenle bu peynirimizin hızlı olgunlaştırılmasıyla, olgunlaştırma odalarında peynire bağlı soğutma masrafları, işçilik giderleri, faiz yükü, fireler ve bazı sabit yatırım masraflarının oldukça azaltılabilceği düşünülmüş ve bu araştırma planlanmıştır. Araştırmada Kaşar peyniri üretiminde standardizasyonun sağlanmasına yardımcı olmak, tekstürü bozmaksızın olgunlaşma süresini kısaltmak ve bu sürede arzu edilen lezzeti yeterince oluşturmak amacıyla; bir lipaz (Palatase M) ve bir proteaz (Neutrase) enzimi esas alınarak, üç enzim seviyesi (%0.0001 Palatase M, %0,004 Neutrase ve %0.0001 Palatase M + %0,004 Neutrase), iki ayrı metotla (direkt süte ilave ve mikroenkapsülasyon) uygulanmıştır. Üretilen peynirler 13 °C'de 3 ay olgunlaştırılmış ve olgunlaşma süresi boyunca (2, 30, 60 ve 90. gün) fiziksel ve kimyasal analizleri yapılarak, enzim ilavesi ve olgunlaşma süresinin peynir kalitesi ve olgunlaşma derecesine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERİYAL VE METOT

1. Materyal

Araştırmada, Atatürk Üniversitesi Ziraat İşletmesi'nden temin edilen tat, koku, renk, kıvam gibi duyusal özellikleri yönünden peynir üretimine uygun olduğu anlaşılan ve Çizelge 1'de bazı özelliklerini verilen inek sütleri kullanılmıştır.

Starter kültürler Chr. Hansen's Laboratorium A/S (Danimarka)'dan Palatase M ve Neutrase enzimleri NOVO Industri A/S (Danimarka) temin edilmiştir.

Palatase M (PaM): *Mucor miehei*'den elde edilmiş fungal bir lipazdır. Aktivitesi 200 LU/g ve optimum aktivite sıcaklığı 54-60 °C'dir.

Neutrase (NEU): *Bacillus subtilis*'ten elde edilmiş nötral proteinazdır. Aktivitesi 0.5 AU/g, optimum aktivite sıcaklığı: 45-55 °C ve optimum pH isteği 5.5-7.5'dir.

Span -60 ve Glukomil -TS yüzey aktif maddeleri, kimyasal madde satıcı firmalar tarafından yurtdışından getirilmiştir.

Sütün mayalanmasında 1/11200 kuvvetindeki ticari sıvı şirden mayası kullanılmıştır. (KURT ve ark. 1993).

Deneme peynirleri Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Süt Fabrikası'nda üretilmiştir.

**Çizelge 1. Deneme Peynirlerinin Üretiminde
Kullanılan Çiğ Sütlerin Bazı Özellikleri**

Sütün Özelliği	Ortalama Değer	
	I. Tekerrür	II. Tekerrür
Kurumadde (%)	11,93	12,14
Yağ (%)	4,00	4,00
Protein (%)	2,44	3,34
Kül (%)	0,67	0,70
Asitlik derecesi (%)	0,18	0,19
Özgül ağırlık	1,030	1,032
Toplam aerobik mezofil bakteri sayısı/ml	$3,2 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
Toplam koliform bakteri sayısı/ml	$8,6 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$

Sütte; % kurumadde, yağ, protein, kül, asitlik miktarları ve özgül ağırlık ile peynirde %kurumadde, yağ, protein, kül ve asitlik tayinleri YÖNEY (1973) ve KURT ve ark. (1993)'nın verdikleri metotlarla yapılmıştır. Peynir verimi, 100 kg sütten elde edilen peynir miktarları tartılarak bulunmuştur. Peynirde % kurumaddede yağ ve % kurumaddede tuz miktarları hesaplanarak bulunmuştur. Proteinlerin parçalanma derecesi (olgunluk derecesi) spektrofotometrede işinsal metotla saptanmıştır (AKYÜZ, 1978).

2.2. Denemenin Düzenlenmesi

Deneme faktöriyel düzende, 2 farklı zamanda tekrarlanan Şansa Bağlı tam Bloklara göre kurulup, yürüttülmüş ve elde edilen veriler, istatistik olarak varyans analizine tabi tutularak muameleler arasındaki farklar belirlenmiştir (DÜZGÜNEŞ, 1963). Deneme deseni 8 farklı peynir grubu x 4 farklı olgunlaşma süresi x 2 tekerler şeklindeki 32 faktöriyel deneme desenidir.

2.3. Deneme Peynirlerin Üretimi

Çeşitli araştırmacıların (ÖZER, 1969; AKYÜZ, 1978; TEKİNSİN, 1978; ÖZTEK, 1981-1983; KURDAL, 1982) önerileri de dikkate alınarak **çiğ süt Kaşar peynirleri** şu şekilde üretilmiştir: 20 kg çiğ süt, steril bidonda 32°C'ye kadar ısıtıldıktan sonra 60 dakikada pihtlaşacak kadar peynir mayası ilave edilmiştir. Pihtının oluşumunu takiben pihti, pirinç tanesi iriliğinde parçalanıp peynir suyu süzülmüş ve 8 saat süreyle baskiya alınmıştır. Baskıdan çıkan teleme 10x20x40 cm'lik parçalar halinde kesilerek temiz bir bezle örtülmüş ve ilk olgunlaşmaya bırakılmıştır. Haşlama olgunluğuna (%1,35-1,46 asitlige) ulaşan peynirler el büyülüğünde ve yaklaşık

2. Metot

2.1 Analizler

Süt örneklerinde toplam aerobik mezofil bakteri ve toplam koliform bakteri sayıları belirlenmiş ve kültürlerin maya-küp ve koliform bakteri ile bulaşık olup olmadıkları araştırılmıştır. Kültürlerde maya - küp ve koliform bakteriye rastlanmamıştır.

Toplam aerobik mezofil bakteri, maya - küp ve koliform bakteri sayısının belirlenmesinde dökme plak yöntemi uygulanmıştır (HAUSLER, 1974; SPECK, 1984).

Liyofilize haldeki kültürlerin çoğaltılmaları ve Horral Ellikler Aktivite Testi ile belirlenen aktiviteleri KURT ve ark. (1993)'nın belirttiği şekilde yapılmıştır.

0,5 kalınlığında parçalanarak %4 tuzlu 70°C sıcaklığındaki suda 60 saniye haşlandıktan sonra işleme masa-sında hamur gibi yoğrularak ve göbek bağlatılarak 1,5 kg'lık temiz kalıplara yerleştirilmiştir. Bir gün kalıplarda bırakılarak belirli bir yapı kazandırılan peynirlerde randıman tespiti yapılarak tuzlama ve olgunlaşma odasına konulmuştur. Peynir tekerlerine %5'lük potasyum sorbat püskürtülerek, küp gelişiminin kontrol altına alınması ve böylece harici mikrofloraya bağlı kontaminasyonun kısmen önlemesi amaçlanmıştır. Kaşar peynirleri olgunlaşma odasında 10°C'de %80 nisbi nemde 3 ay olgunlaşmaya bırakılmıştır.

Kontrol II peynir grubunun üretimi: 65°C'de 30 dakika pastörize edilmiş süffen steril bidona 20 kg konularak 32°C'ye kadar soğutulmuş ve %1 oranında starter kültür ilave edilerek 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra süte, 60 dakikada pihtlaşacak miktarda maya ilave edilerek diğer işlemler kontrol I peynirinde olduğu gibi uygulanmıştır.

Süte enzimlerin direkt olarak ilave edilmesyle üretilen peynir grubu: 65°C'de 30 dakika pastörize edilerek 32°C'ye soğutulmuş ve her biri içinde 20 kg süt bulunan bidonlara maya ilavesinin 40. dakikasında, hazırlanan üç enzim (%0,0001 Palatase M, %0,004 Neutrase ve %0,0001 Palatase M + % 0,004 Neutrase karışımı) ilave edilerek pihtlaşmanın son 20 dakikalık bölümünün enzimli olarak gerçekleştirilmesi sağlanmıştır. Bu şekilde elde edilen enzimli telemelerin işlenisi Kontrol I örneğinde olduğu gibidir.

Enzimlerin süte Mik tekniği ile ilave edilmesi ve peynir üretimi: Bu teknikle Kaşar peyniri üretiminde MAGEE ve OLSON (1981)'un verdiği yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu amaçla ilk önce Mik'da kullanılacak tereyağı hazırlanmıştır; 5 kg taze tereyağı 65-70°C'de eritilmiş ve yağın ilk donan kısmı (doymuş yağı asitlerini fazla içeren ve erime noktası yüksek olan kısmı) alınmıştır. Daha önce belirtilen miktarda proteolitik ve lipolitik enzimler alınıp bir miktar steril saf su içinde seyretilmiştir. Proteolitik enzim için pepton, lipolitik enzim için ise kapsülsasyonda kullanılacak olan sadeyağ substrat olarak kullanılmıştır.

Sadece proteaz içeren peynirler için; belirtilen oranda proteaz, steril tüp içinde 15 ml steril saf su ile sulandırılmış ve üzerine 5 g pepton katılıp test tüp karıştırıcıda 2 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra sulu enzim-substrat karışımı 100 g sadeyağ içerisinde konularak üzerine 3 g Span-60 katılmıştır. Bu karışım 37°C'de 350 dev/dak'lık karıştırıcı ile 10 dakika karıştırılmış ve sonra karıştırıcının hızı 500 dev/dak'ya yükseltilecek 5 dakika tutulmuştur. Böylece, enzim + substrat + emülgator+ kapsül materyali (sadeyağ) emülsiyonu elde edilmiştir. Bu emülsiyon, pastörize edilmiş ve 15°C'ye kadar soğutulmuş 3 kg süt içine 0,4 mm çapındaki delikli havasız tip atomizörle püskürtülerek Mik'un gerçekleşmesi sağlanmıştır. Bu karışım, pastörize edilmiş, 32°C'ye soğutulmuş ve 30 dakika önce maya katılmış 17 kg süt olan gügüm'lere ilave edilmiştir. Toplam 20 kg olan karışım 32°C'de son 30 dakikalık pihtlaşmaya bırakılmıştır. Peynir üretiminin diğer işlem basamakları kontrol I örneğinde olduğu gibidir. Sadece lipaz enzimi içeren peynirlerin üretiminde ise proteaz enziminin substratı olan peptonun katılması haricindeki bütün işlemler aynen tekrarlanmıştır.

Proteaz ve lipaz enzimini birlikte içeren peynirlerin üretimi de, sadece proteaz enzimi içeren örneklerdeki gibi Aralarındaki tek fark, proteaz enzimi + substrat + emülgatör + kapsül materyali (sadeyağ) emülsiyonuna, lipaz enziminin de katılmasıdır.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

1. Peynir Verimi (Randıman)

Peynir randımanına ait araştırma bulguları Çizelge 2'de verilmiştir. En yüksek randıman ortalama %9,82 ile kontrol I, en düşük randıman ise %9,27 ile lipaz + proteaz enzimlerinin direkt olarak süte katılmasıyla elde edilen peynir grubunda belirlenmiştir.

Enzimli peynirlerde randımanın düşük olması; bu peynirlerde yağın yağı asitlerine, proteinlerin de amino asitlerine parçalanmalarının, kontrol grubu peynirlere göre daha fazla olması ve bu serbest parçalanma ürünlerinin haşlama suyuna fazla miktarda geçmesiyle açıklanabilir. Ayrıca, sadece lipaz ilavesinin randımda daha az kayba neden olduğu, hem mikroenkapsülasyon hem de direkt süte enzim katılması yönteminde

belirlenmiştir. Lipaz + proteaz enzimlerinin özellikle süte direkt ilavesinde, randımanın en düşük olmasının nedeni, her iki enzimin sütün yağ ve proteininde yaptığı parçalanmanın bir sonucu olabilir. Aynı enzimlerin aynı oranlarda telemeye katıldığı bir araştırmada (ÇAĞLAR, 1990), randıman, bu araştırmada bulunan değerlerden düşük olmuştur. Bunun nedeni, telemeye ağırlığının nisbi olarak azlığı nedeniyle enzim konsantrasyonunun fazla olması ve telemdeki yağın ve proteinin daha fazla parçalanarak haşlama suyuna geçmiş olmasından kaynaklanabilir.

Çizelge 2. Peynir Randımanına Ait Araştırma Bulguları (n=2)

Peynir Grubu	Peynir randımanı (%)		
	I. Tekerrür	II. Tekerrür	Ortalama
Kontrol I	9,74	9,90	9,82
Kontrol II	9,70	9,66	9,68
Mik-L	9,62	9,56	9,59
Mik-P	9,38	9,44	9,41
Mik - L+P	9,38	9,44	9,41
Di - L	9,56	9,48	9,52
Di - P	9,28	9,42	9,35
Di - L+P	9,34	9,20	9,27

Kurumaddenin Mik -L örneklerinde yüksek olması, kullanılan enzimin Mik tekniği ile yağın içinde hapsoğması ile açıklanabilir. Bunun nedeni, lipaz enzimi ile substrati tereyağın birbiri ile teması sonucu oluşan asitliğin, peynirdeki suyun uzaklaşmasına imkan sağlamış olmasından kaynaklanabilir. En düşük kurumadge miktarının Di -P örneklerinde olması ise kullanılan proteaz enziminin direkt olarak sütteki ve peynirdeki kazein ile temas etmesi sonucu kazeinin, amino asitlerine kadar parçalanarak, haşlama suyu ve depolamada sızan su ile kaybına bağlanabilir. Proteazın Mik tekniği ile uygulanması durumunda, proteaz ile substrati peptonun yağ kapsülü içinde hapsedilmesi, kazein ile direkt teması azaltmıştır. Bu nedenle, bu örnekler ile kontro I peynirlerinin kurumadge miktarları, istatistik olara farksız bulunmuştur.

Peynirlerde kurumadge miktarı olgunlaşma süresi boyunca önemli ($P<0.01$) derecede artmıştır. Bu artış, olgunlaşma döneminin başında hızlı, sonunda yavaş olmuştur (Çizelge 5).

Enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu peynirlerde kurumadge miktarı üzerinde önemli ($P<0.01$) bulunmuş (Çizelge 3), interaksiyon seyri Şekil 1'de gösterilmiştir.

Enzim ilavesi peynirlerin yağ oranı üzerinde önemli ($P<0.01$) artışlara neden olmuştur. En yüksek ortalama miktar Mik-P enzimli peynirlerde, en düşük miktar ise Kontrol -II ve Di-L ve peynirlerinde saptanmıştır (Çizelge 4). Yağ miktarı, proteaz enzimi içeren peynirlerde genellikle yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, proteazın proteinleri parçalama derecesine bağlı olarak yağ oranında nisbi bir artıştan kaynaklanmış olabilir. En düşük değerleri veren Di-L muamelelerinde lipazın direkt yağ ile teması sonucunda yağ oranının azaldığı söylenebilir. Ayrıca, Kontrol II örneklerinde protein miktarının yüksek olmasına bağlı olarak yağ miktarında nisbi bir azalma olmuştur (Çizelge 5). Enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu yağ oranı üzerinde önemli ($P<0.01$) bulunmuş (Çizelge 3), interaksiyon seyri Şekil 2'de gösterilmiştir.

Fiziksel ve Kimyasal Analiz Bulguları

Denevre peynirlerde yapılan fiziksel ve kimyasal analizlere ait bulguların varyans analizi sonuçları Çizelge 3 ve önemli bulunan ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları da Çizelge 4 ve 5'de özetlenmiştir.

Enzim ilavesi, kurumadge, yağ, protein, tuz, asitlik, kurumaddede yağ, kurumaddede tuz ve olgunluk derecesi üzerinde istatistik olara çok önemli ($P<0.01$), kül miktarı üzerinde ise önemli ($P<0.05$) derecede etkili olmuştur (Çizelge 3).

En yüksek ortalama kurumadge miktarı (%61,65) Mik -L, en düşük miktar (%57,16) ise Di -P örneklerinde tespit edilmiştir. Mik -L ve Di -P muameleleri dışındaki uygulamaların kurumadge üzerinde etkisi farksız ($P<0.01$) bulunmuştur (Çizelge 4).

Çizelge 3. Bazı Peynir Özelliklerine Ait Sonuçların Varyans Analizi Sonucu Elde Edilen "F" Değerleri ile Önemlilik Düzeyleri

Varyasyon Kaynakları	SD	F Değerleri							Olgunluk Derecesi	
		Kuru- madde	Yağ	Protein	Kül	Tuz	Asitlik	Kurumadde		
		Yağ	Tuz							
Enzim (E)	7	18.32**	120.87**	186.29**	3.03**	9.53**	92.78**	91.12**	8.03**	534.66**
Olgunlaşma Süresi	3	1555.95**	2252.71**	1187.58**	383.21**	1250.98**	369.36**	1.97	440.86**	2147.51**
E x S	21	3.96**	13.57**	12.01**	0.69		21.21**	4.73**	1.73	57.73**
Hata	31					2.12				

(*) P<0.05 seviyesinde, (**) P < 0.01 seviyesinde önemli

Çizelge 4. Bazı Peynir Özelliklerinin Enzim Faktöründe Ait Ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

(P<0.01)*

Enzimler	n	K.M'de							K.M'de Ol. Dere.	
		Kurum.	Protein	Yağ	Kül	Tuz	Asitlik	Yağ		
Çiğ Kontrol (I)	8	59,96 b	26,83 c	27,92 c	4,62 a	3,21 a	0,955 c	46,47 c	5,22 a	0,462 c
Star Kontrol (II)	8	59,30 b	28,02 a	26,57 d	4,31 b	3,13 ab	1,044 ab	44,92 d	5,17 ab	0,430 d
Mik-L	8	61,65 a	27,29 bc	29,16 b	4,27 b	3,07 abc	0,997 bc	47,36 c	4,87 cd	0,254 e
Mik-P	8	59,10 b	23,78 b	30,40 a	4,15 b	2,88 d	0,726 d	51,42 a	4,74 d	0,464 c
Mik-L+P	8	60,21 b	26,26 d	29,43 b	4,18 b	2,92 cd	0,772 d	48,88 b	4,74 d	0,423 d
Dİ-L	8	59,47 b	27,61 ab	26,93 d	4,16 b	2,90 d	1,075 a	45,38 d	4,78 d	0,228 f
Dİ-P	8	57,16 c	22,93 g	29,08 b	4,26 b	2,97 bcd	0,559 e	50,89 a	5,10 abc	0,567 b
Dİ-L+P	8	58,95 b	24,71 e	29,03 b	4,27 b	2,95 cd	0,943 c	49,30 b	4,91 bcd	0,592 a

(*) Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar, istatistik olarak birbirinden farklı değildir (P<0.01).

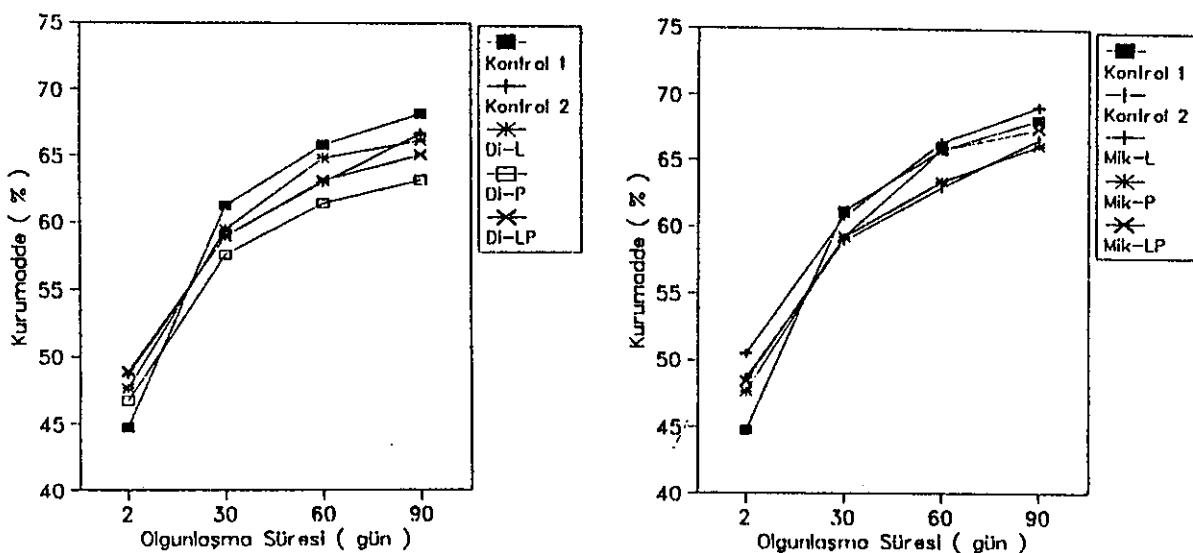
Çizelge 5. Bazı Peynir Özelliklerinin Olgunlaşma Süresi Faktöründe Ait Ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları (P<0.01)*

Olgunlaşma Süresi (Gün)								K.M'de Tuz	Olgunluk Derecesi
	n	Kurumad.	Protein	Yağ	Kül	Tuz	Asitlik		
2	16	47,85 a	21,09 a	23,03 a	2,67 a	1,67 a	0,574 a	3,50 a	0,193 a
30	16	59,39 b	26,18 b	28,36 b	4,09 b	2,96 b	0,818 b	4,98 b	0,374 b
60	16	64,21 c	27,84 c	30,75 c	4,93 c	3,53 c	0,965 c	5,50 c	0,533 c
90	16	66,45 d	28,60 d	32,12 d	4,93 c	3,84 d	1,177 d	5,78 d	0,610 d

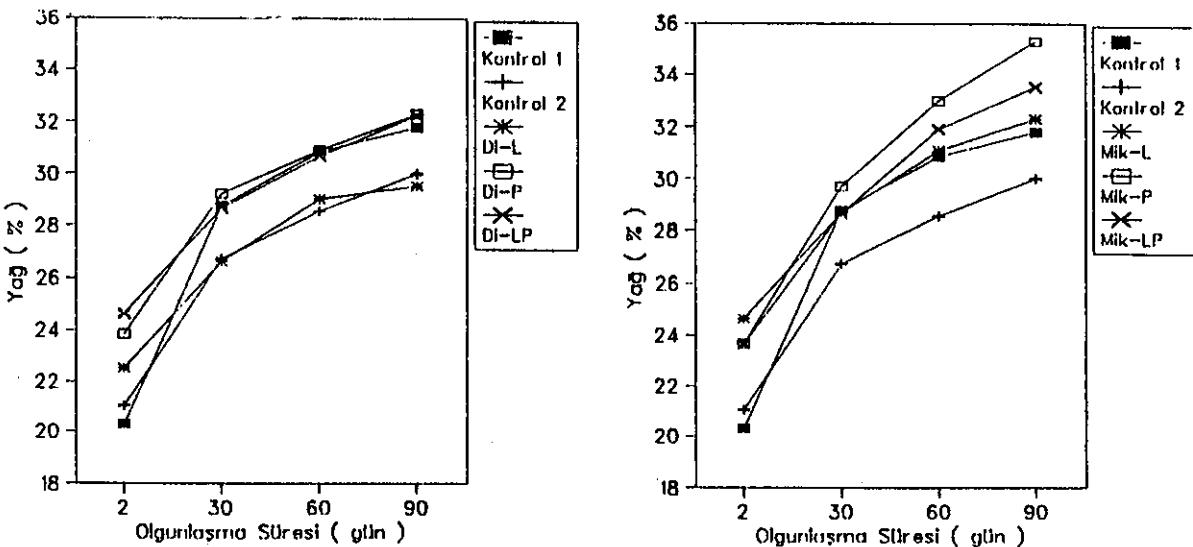
(*) Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar, istatistik olarak birbirinden farklı değildir (P<0.01).

Enzim ilavesi peynirlerin protein miktarı üzerinde, kontrol peynirlere göre önemli ($P<0.01$) azalmalara neden olmuştur (Çizelge 4). En yüksek ortalama değer Kontrol II, en düşük ortalama değer ise Di-P ve Mik-P uygulamalarında tespit edilmiştir. Proteaz enzimi katılan tüm peynirlerde, aşırı proteolisis nedeniyle protein miktarı azalmıştır. Kontrol grubu peynirler arasındaki protein oranları da farklı bulunmuştur. Kontrol I örneklerinin protein miktarı, Kontrol II grubuna göre daha düşük olmuştur. Bu sonuca çığ sütün mikrobiyal yükü neden olmuş olabilir. Peynirlerde protein miktarlarındaki azalma, enzimi direkt süte katım metoduna göre, Mik teknikinde genel olarak daha az olmuştur. Bunun nedeni, proteaz enziminin çoğunun substratı pepton ile birlikte te-reyağı içinde hapsedilmesidir.

Peynirlerde protein oranı olgunlaşma süresince önemli ($P<0.01$) derecede artmıştır (Çizelge 5). Protein oranındaki artış, olgunlaşmanın başında fazla, sonunda az olmuştur. Protein oranı üzerine enzim ilavesi x olgunlaşma süresi etkisi交互作用 (Çizelge 3), etkileşimi seyri Şekil 3'de gösterilmiştir.

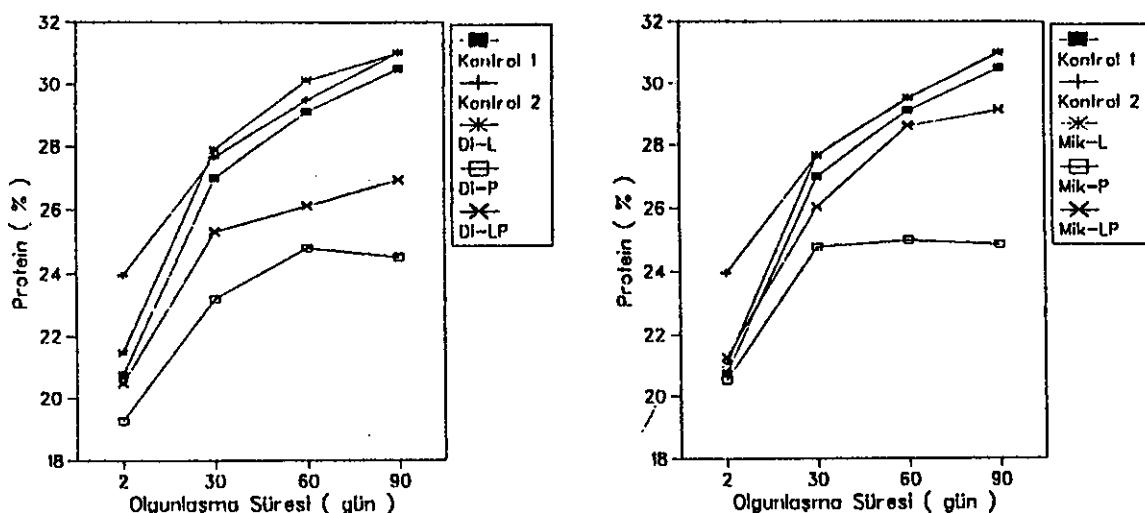


Şekil 1. Kurumadde miktarı üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi etkileşimi



Şekil 2. Yağ miktarı üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi etkileşimi

Enzim ilavesi peynirlerin kurumaddede yağ oranı üzerinde önemli ($P<0.01$) artışlara neden olmuştur. En yüksek ortalama değerleri sırasıyla Mik-P ve Di-P, en düşük değerleri de Kontrol II ve Di-L örnekleri vermiştir (Çizelge 4). Kurumaddede yağ oranı, yağ değerleri ile paralellik göstermiştir. Proteaz enzimi içeren peynirlerde kurumaddede yağ oranının genellikle yüksek olması, proteinlerin parçalanmasına bağlı olarak yağ oranındaki nisbi artışla açıklanabilir. Kontrol - II peynirinde kurumaddede yağ oranının düşpük olması ise diğer peynirlere göre protein oranının daha yüksek olmasına bağlanabilir. Di-L muamelesinde kurumaddede yağ oranının az olması, Palatase M enziminin peynirdeki yağ ile direkt teması sonucu yağın fazla miktarda yağ asitlerine parçalanmasının bir sonucu olabilir. Kaşar peyniri standardına (TS-3272) göre değerlendirildiğinde 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda tüm Kaşar peynirleri tam yağılı peynir sınıfına girmektedir (ANONYMOUS, 1989). Kurumaddede yağ oranında enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu önemli ($P<0.01$) bulunmuş (Çizelge 3) ve interaksiyonun seyri Şekil 4'de gösterilmiştir.



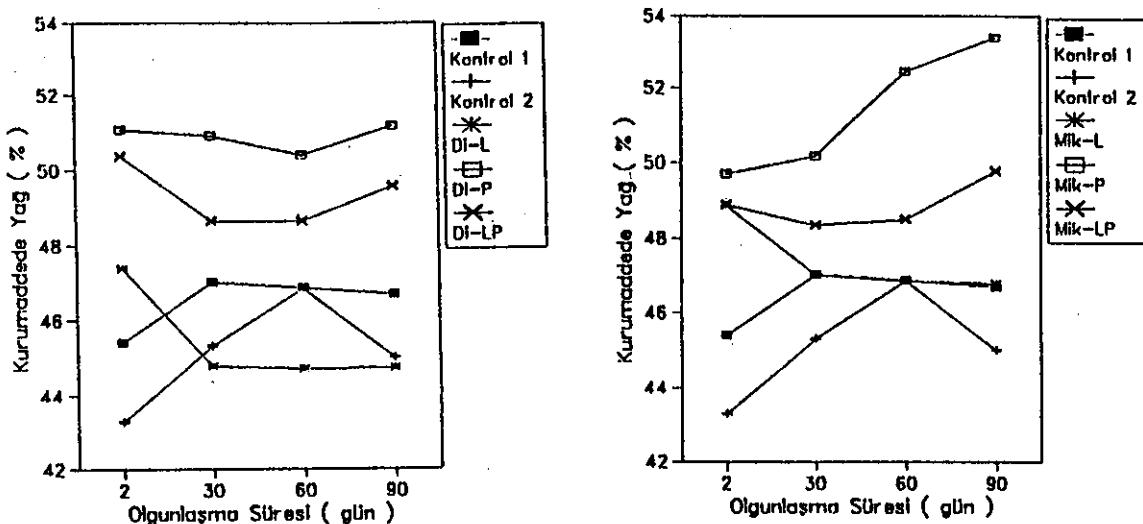
Şekil 3. Protein miktarı üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu

Enzim ilavesi, peynirlerin tuz oranı üzerinde önemli ($P<0.01$) seviyede etkili olmuştur (Çizelge 3). En yüksek ortalama değerler sırasıyla Kontrol-I, Kontrol-II ve Mik - L muamelelerinde, en düşük değerler ise Mik - P ve Di-L ve enzim katkılı peynirlerde elde edilmiştir. Olgunlaşma süresi, tuz oranı üzerine önemli ($P<0.01$) derecede etkili olmuştur (Çizelge 3). Peynirde kurumadde oranına bağlı olarak tuz oranı da artmıştır. Tuz oranındaki artış, olgunlaşmanın bütün sahalarında birbirinden farklı ve olgunlaşmanın başında fazla, sonunda az olmuştur (Çizelge 5).

Enzim ilavesi peynirlerin kuramaddede tuz miktarında $P<0.01$ seviyesinde etkili olmuştur (Çizelge 3). En yüksek değerleri, Kontrol -I, Kontrol -II ve Di-P; en düşük değerleri Mik-P, Mik-L+P ve Di-L muameleleri vermiştir. Peynirlerin kurumaddede tuz miktarlarının tuz değerleri ile paralel seyrettiği söylenebilir (Çizelge 4).

Olgunlaşmanın süresinin kurumaddede tuz oranına etkisi önemli ($P<0.01$) bulunmuştur (Çizelge 3). Peynirde artan kurumadde oranına bağlı olarak, kurumaddede tuz oranı da artmıştır. Bu artış olgunlaşmanın başında fazla, sonunda az olmuştur (Çizelge 5).

Enzim ilavesinin peynirlerin kül miktarları üzerindeki etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Çizelge 3). En yüksek değer Kontrol-I örneklerinde tespit edilirken diğer 7 muamelenin kül oranı üzerine etkisi istatistikî olarak birbirinden farksız olmuştur (Çizelge 4). Kül oranındaki artış, olgunlaşma süresinin 60. gününe kadar birbirinden farklı olmuştur (Çizelge 5).



Şekil 4. Kurumaddede yağ miktarı üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu

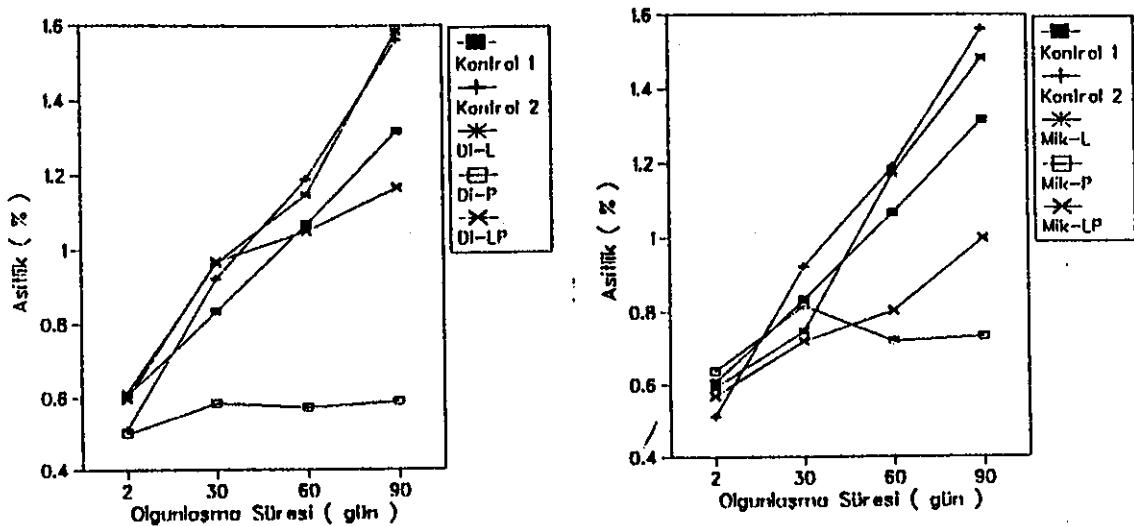
Enzim ilavesi, asitlik derecesi üzerine önemli ($P<0.01$) etkide bulunmuştur. (Çizelge 3). En yüksek değer Di-L, en düşük değer Di-P muamelesinde tespit edilmiştir (Çizelge 4). Asitlik genellikle lipaz enzimi içeren örneklerde yüksek, proteaz enzimi içeren peynirlerde düşük bulunmuştur. Lipazın asitliği yükselmesi yağın hidrolizi sonucu ortamda fazla miktarda serbest yağ asidi birikimine (ABDEL SALAM ve ark. 1978), proteazın asitlik değerini düşürmesi ise proteolisis sonucu oluşan pepton ve aminoasitlerin amfoter özelliklerine atfedilebilir.

Olgunlaşma süresi, asitlik derecesi üzerine önemli ($P<0.01$) derecede etkili olmuştur. Asitlik, olgunlaşma süresi boyunca düzenli olarak artmış, bu artış olgunlaşmanın başında daha hızlı olmuştur (Çizelge 5). Asitlik derecesi üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu önemli ($P<0.01$) bulunmuş (Çizelge 3), interaksiyon seyri Şekil 5'de gösterilmiştir.

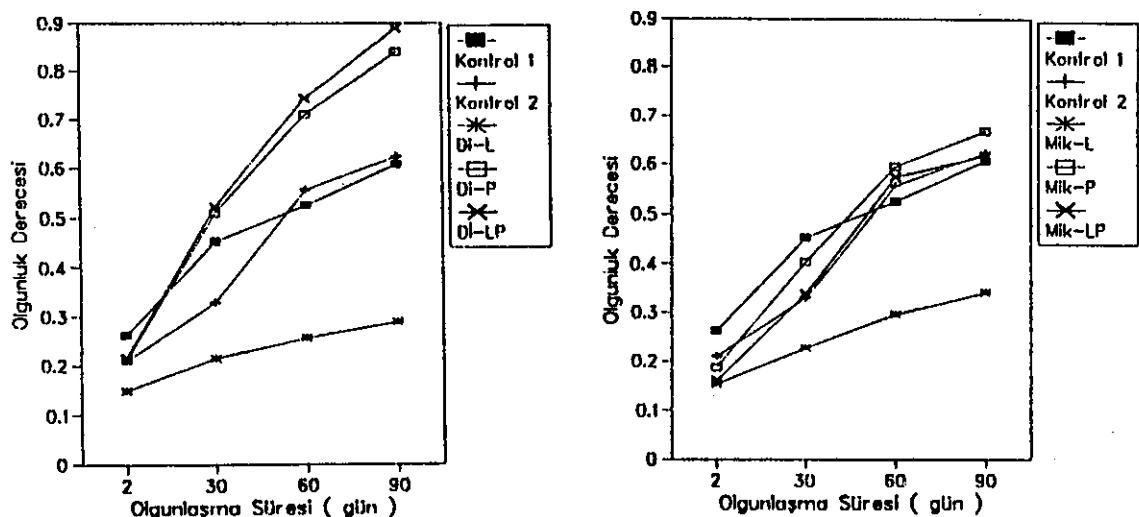
En yüksek olgunluk derecesi Di-L + P muamelesi ile elde edilmiş, bunu Di-P enzim muamelesi izlemiştir. Bu sonuçtan hareketle lipazın, proteazın proteolitik aktivitesini artırıcı bir etkide bulunduğu söylenebilir. En düşük olgunluk derecesi sırasıyla sadece lipaz içeren Mik- ve Di-L muamelelerinde elde edilmiştir. Diğer muameleler ise bu değerler arasındadır (Çizelge 4).

Kontrol grubu peynir örneklerinin 90. günde ulaştığı derecesine Di-L+P ve Di-P uygulamaları ile 30-60 gün arasında ulaşılmıştır. Sadece lipaz içeren peynirdeki 90 günlük olgunluk derecesine ise Di-L+P ve Di-P muameleleri ile 2-30 gün içinde ulaşılmıştır. Bu sonuçlardan anlaşıldığına göre ilave edilen proteaz ile peynirde olgunluk derecesinde, kontrol grubu ve sadece lipaz içeren muamelelere göre 1/3,2/3 oranlarında bir hızlı olgunlaşma sağlanmıştır. Direkt enzim muamelesinin, olgunluk derecesi üzerindeki etkisi, Mik teknüğine göre daha yüksek olmuştur. Bu sonuç, Mik yönteminde, enzimlerin direkt olarak proteinlerle reaksiyona girmemesine bağlanabilir.

Peynirlerde olgunluk derecesinin olgunlaşma süresi boyunca artışı istatistikî olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur (Çizelge 3). Duncan testi sonuçlarına göre olgunluk derecesindeki artış olgunlaşmanın bütün aşamalarında birbirinden farklı bulunmuştur (Çizelge 5). Proteaz katılan peynir örneklerinde olgunluk yüksek oluşu kazeinin (özellikle α ve β -kazein) büyük oranlarda parçalanmasından kaynaklanmış olabilir (EL SHIBINY ve ark. 1979; SOOD ve KOSIKOWSKI, 1979). Olgunluk derecesi üzerine, enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu istatistikî olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuş (Çizelge 3), bütün muamelelerde olgunlu derecesi olgunlaşma süresi boyunca düzenli olarak artmıştır (Şekil 6).



Şekil 5. Asitlik derecesi üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu



Şekil 6. Olgunluk derecesi üzerinde enzim ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonu

KAYNAKLAR

- ABDEL SALAM, M.H., S. EL SHIBINY, E. EL BAGOURY, N. FAHMY, 1978. Effect of Lipases on the Ripening of Ras Cheese. J. Dairy Res. 45, 491.
- ABDEL SALAM, M.H., A. MOHAMMED, E. AYAD, N. FAHMY, S. EL SHIBINY, 1979. Changes in the Quality and Chemical Composition of Ras Cheese by Some Commercial Enzyme Preparations. Egyptian J. Dairy Sci. 7:63.
- AKYÜZ, N., 1978. Isının, Kültür Kullanmanın ve Ambalaj İşlemlerinin Kaşar Peyniri Kalite, Tat ve Aromasına Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Atatürk Univ. Ziraat Fak., Erzurum.
- ANONYMOUS, 1989. Kaşar Peyniri, TS 3272. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- ANONYMOUS, 1995. Türkiye İstatistik Yıllığı. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Yıllığı, Necatibey Cad: No: 114, Ankara.
- ARDO, Y., H.E. PETTERSON, 1988. Accelerated Cheese Ripening with Heat Treated Cells of *Lactobacillus helveticus* and a Commercial Proteolytic Enzyme. J. Dairy Res. 55: 239.2.

- ÇAĞLAR, A., 1990. Kaşar Peynirinin Hızlı Olgunlaştırılmasında Proteaz ve Lipaz Enzimlerinin Kullanımı Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Atatürk Univ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- ÇAĞLAR, A., 1992. Peynirde Hızlı Olgunlaştırma Metotları-I Gıda, 17(5): 319-325.
- DÜZGÜNĘŞ, O., 1963. Bilimsel Araştırmalarda İstatistik Prensipleri ve Metotları. Ege Univ. Matbaası, İzmir.
- EL SHIBINY, S., M. SOLIMAN, S. EL BAGOURY, A. GAD, M.H. ABDEL SALAM, 1979. Development of Volatile Fatty Acids in Ras Cheese. J. Dairy Re. 45:479.
- EL SODA, M., 1986. Acceleration of Cheese Ripening. Recent Advances. J. Food Protect. 49:395.
- FARAHAT, S., A. RABIE, A. ABDEL BAKY, A. EL NESHAWI, S. MOBASHER, 1984. β -Galactosidase in the Acceleration of Ras Cheese Ripening. Food Chem. 14:215.
- FEDRICK, I.A., J.W. ASTON, S.M. MOTTINGHAM, J.R. DULLEY, 1986. The Effect of a Neutral Fungal Protease on Cheddar Cheese Ripening. New Zealand J. Dairy Sci. Technol. 21:9.
- GRIEVE, P., 1982. Use of Yeast Protease to Accelerate Cheddar Cheese Ripening. XXI-Int. Dairy Congress, 1:491.
- HAUSLER, W.J. Jr., 1974. Standard Methods For The Examination Dairy Products. Thirteenth Edition. American Public Health Association, 1015 Eighteenth Street, NW. Washington. D.C., USA.
- KOSIKOWSKI, F.V., 1978. Cheese and Fermented Milk Foods. Second Edition. Cornell University, Ithaca, New York.
- KOSIKOWSKI, F.V., 1988. Enzyme Behavior and Utilization in Dairy Technology. J. Dairy Sci. 71:557.
- KOSIKOWSKI, F.V., T. IWASAKI, 1975. Changes in Cheddar Cheese by Commercial Enzyme Preparation. J. Dairy Sci. 58, 963.
- KURDAL, E., 1982. Çiğ ve Pastörize Sütlerden İşlenen ve Farklı Sıcaklık Derecelerinde Olgunlaştırılan Kaşar Peynirleri Bileşiminde Meydana Gelen Değişimler Üzerinde Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Atatürk Univ. Ziraat Fak. Erzurum.
- KURT, A., S. ÇAKMAKÇI, A. ÇAĞLAR, 1993. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi (Genişletilmiş 5. Baskı). Atatürk Univ. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.
- LAW, B.A., A. WIGMORE, 1983. Accelerated Ripening of Cheddar Cheese with a Commerical Proteinase and Intracellular Enzymes from Starter Streptococci. J. Dairy Res. 50:519.
- LIN, J.C.C., I.J. JEON, 1987. Effect of Commercial Food Grade Enzymes of Free Fatty Acid Profiles in Granular Cheddar Cheese. J. Food Sci. 52:78.
- MAGEE, E.L., OLSON, 1981. Mikroencapsulation of Cheese Ripening Systems: Formation of Microcapsules. J. Dairy Sci. 64:600.
- MOSKOWITZ, G.J., S.S. NOELCK, 1987. Enzyme-modified Cheese Technology. J. Dairy Sci. 70:1761.
- ÖZER, İ., 1969. Kaşar Peynirinin Plastik Torbalar İçinde Ambalajlanması Sureti ile, Peynir Kalitesinin Geliştirilmesi ve Zayıflanın Önlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Ankara Univ. Veteriner Fak. Derg. 16:84.
- ÖZTEK, L., 1981. *Mucor miehei* Küf Mantarlarından Elde Edilen Mikrobiyal Maya "Hannilase"nin Beyaz Peynir ve Kaşar Peyniri Yapımında Kullanılması Üzerinde Araştırmalar. Doçentlik Tezi, Atatürk Univ. Ziraat Fak. Erzurum.
- ÖZTEK, L., 1983. Kars İlinde Yapılan Kaşar Peynirlerinin Yapıları, Bileşimleri ve Olgunlaştırılmaları Üzerinde Araştırmalarla, Bunların Diğer Peynir Çeşitleri ile Kıyaslanması. Atatürk Univ. Yay. No: 528, Araştırma Serisi No: 157, Erzurum.
- RIDHA, S., R.CRARAWFORD, R., A. TAMIME, 1984. The Use of Food Proteinase to Accelerate Cheddar Cheese Ripening. Egyptian J. Dairy Sci. 12:63.
- SOOD, V., F.V. KOSIKOWSKI, 1979. Accelerated Cheddar Cheese Ripening by Added Microbial Enzymes. J. Dairy Sci. 62:1865.
- SPECK, M.L., 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Second Edition American Public Health Association. 1015 Fifteenth Street, NW. Washington, D.C., 20005 USA.
- TEKİNSİN, O.C., 1978. Kaşar Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Mikrofloranın, Özellikle Laktik Asit Bakterilerinin Lezzete Etkisi ve İç Anadolu Bölgesinde Üretilen Ticari Kaşar Peynirinin Kalitesi Üzerinde İncelemeler. TÜBİTAK-VHAG-354, (Teksir)
- YÖNEY, Z., 1973. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları (2. Baskı). Ankara Univ. Basımevi, Ankara.