



Farklı Rennet Orijinlerinin Peynir Üretiminde Kullanım Önerileri, Rennet Teknolojisindeki Gelişmeler ve Termolabil Mikrobiyel Rennetlere Bakış

Usage Suggestions of Different Origins of Rennet in Cheese Production, Advances in Rennet Technology and Overview of Thermolabile Microbial Rennet

Ufuk EREN VAPUR 

Nişantaşı Üniversitesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü / İstanbul

ORCID: 0000-0002-8272-0719

*Sorumlu Yazar : ufukeren.vapur@nisantasi.edu.tr Geliş Tarihi : 15.01.2021 Kabul Tarihi : 29.03.2021

ÖZET

Pıhtılaştırıcı enzimler, gerek olgunlaşmış gerekse de olgunlaşmamış peynirler olsun çoğu peynir üretimleri için bir gerekliliktir. Peynir üretiminde kullanılan enzimler aynı zamanda pıhtılaştırıcı maya, rennet ve proteaz olarak da isimlendirilmektedir. Bu makalede özellikle hayvansal rennet, bitkisel rennet, rekombine kimosin (genetik modifiye enzim), mikrobiyel orjinli rennet, termolabil (ısıya duyarlı) mikrobiyel orjinli pıhtılaştırıcı rennet ve özellikleri ile ilgili karşılaştırmalı olarak bilgilendirmeler yapılmıştır. Bu pıhtılaştırıcı enzimlerin peynir üretiminde kullanılırken proses gerekliliklerinin de dikkate alınarak nasıl kullanılması gereği de peynir prosesine yönelik önerilerle birlikte verilmiştir. Pıhtılaştırıcı enzimlerin peynirde proteoliz, peynir verimi ve peynir kalitesi üzerindeki etkilerine değinilmiştir. Ayrıca mikrobiyel peynir mayalarının bir formu olan, ülkemizde de kullanımı yaygınlaşmaya başlayan termolabil (ısıya duyarlı) peynir mayalarının da süt sektöründe kullanımı ve özelliklerine değinilmiştir. Peynir üretiminde kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler arasındaki farklılıklar da teorik ve pratik deneyimlerle birleştirilerek anlatılmaya çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kimosin, Peynir, Peynir mayası, Pıhtılaştırma, Termolabil

ABSTRACT

Coagulating enzymes are a necessity for both cheese production and production of ripened cheese varieties. The name of yeast used to coagulate milk used in cheese production is also mentioned in the literature with different names such as coagulating enzyme, rennet, protease. In this article, comparative information was given on animal rennet, herbal rennet, recombined kimosin (genetically modified enzyme), microbial origin rennet, thermolabile (heat sensitive) microbial coagulating enzymes and their properties. How these coagulating enzymes should be used in cheese production, taking into account the process requirements, is also explained with suggestions for the cheese process. The effects of coagulating enzymes on cheese proteolysis, cheese yield and cheese quality are discussed. In addition, the use and properties of thermolabile (heat sensitive) rennet, which is a form of microbial rennet, which

has recently started to be used in our country, in the dairy sector has been mentioned. The differences between the coagulating enzymes used in cheese production are also tried to be explained by combining theoretical and practical experiences.

Keywords: Cheese, Coagulation, Kimosin, Rennet, Thermolabile

GİRİŞ

Sütün insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bir hayvansal gıda olması muhafazası için de çeşitli ürünlere işlenmesini beraberinde getirmiştir. İnsanoğlunun göçebe hayatı ile birlikte de sütün çeşitli ürünlere dönüştürülmesi önem kazanmıştır (Kamber, 2006). Elde somut bir tarihsel kanıt olmamakla birlikte peynirin ilk kez bundan yaklaşık 8.000 yıl önce Mezopotamya veya İndus vadisinde çobanlar tarafından üretildiği bildirilmektedir (Ünsal, 1997). Bununla birlikte sütün peynire dönüşümünde tuluk içinde sütün taşınması sırasında, sıcaklıkla birlikte sütün asitliğinin gelişmesi ve çalkalanmasıyla da pıhtının suyundan ayrılması ve bu süre içinde gerçekleşen çeşitli dönüşümler de peynir oluşumunda rol oynamıştır. Burada kendi haline bırakılarak asitliğinin gelişmesi yoluyla elde edilen peynire halk dilinde “ekşimik” ya da “kesik” denmektedir (Ünsal, 1997). Peynir mayası ilavesi ile yapılan peynir ise “teleme” olarak adlandırılmaktadır (Uraz, 1981).

Peynir mayası ilk olarak dana veya hayvanrenneti olarak adlandırılan kurutulmuş buzağı midelerinden yapılmış, konsantre veya kurutulmuş enzim özleri geliştirilerek de endüstriyel anlamda rennetlerin üretimi arttırılmıştır. Pıhtılaştırma enzimlerine olan talep ise arzı aşmaya başlamış ve mikrobiyel maya üretimine geçilmiştir. 1961’den sonra hayvansal rennetlerden sonra mikrobiyel rennetlerde peynir sanayinde yerini almıştır.

Bu tarihten itibaren 70 yıl içinde peynir üretimi de yaklaşık 3,5 kat artmıştır. Buzağı midelerinin sınırlı bulunabilirliği nedeniyle rennet arzı azaldığı için ikame maddelerinin araştırılmasını hep gerekli kılmıştır (Jacob, Jaros ve Rohm, 2010).

Aktivitelerini asit pH’larda gösteren bu proteazlar sütün içindeki kazein proteinin stabilitesini yani kararlı halini enzim substrat ilişkisi çerçevesinde bozarak peynirde kapa kazeinini (k-kazein) glukomakropeptid ile para- kapa kazeine parçalayarak peynirde proteolizi başlatmakta ve peynirin oluşumu öncesinde ve sonrasında olgunlaşmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Peynirdeki proteoliz üzerine sadece kullanılan enzim değil sayısız enzimlerin de etkisi olmaktadır (Metin, 2012). Bunlar; süt proteinazı, starter kültürlerin proteolitik enzimleri, starter olmayan mikroorganizmalar ve sekonder mikroorganizmalar olarak bilinmektedir. Bütün bu mikroorganizmaların peynirin özelliklerinin oluşmasında bir etkisi olduğu ve peynir yapımında kullanılan enzimlerin de çoğunun peynir altı suyuna geçtiği fakat az da olsa telemede, peynirde kaldığı düşünüldüğünde maya konusu peynirdeki ele alınacak önemli bir konudur. Dünya çapında peynir üretimindeki artış, azalan arz ve artan buzağı renneti fiyatları ile birleştiğinde alternatif süt pıhtılaştırma enzimler hep gelişmeye açık konu olmuştur. Bunun dışında bazı dinsel faktörler (İslamiyet ve Musevilik) ve bazı tüketicilerin vejetaryen

olması gibi faktörler de kullanımlarını büyük ölçüde sınırlandırmıştır (Anusha vd., 2014; Shah ve Paray, 2014). Bütün ticari pıhtılaştırma enzimleri aspartik proteazlardır ve k-kazein zincirindeki Phe₁₀₅- Met₁₀₆ bağına etki eder fakat sadece *Cryhonectria parasitica*’ dan elde edilen enzim zincirdeki Ser₁₀₄- Phe₁₀₅ bağına etki eder ve peynirde proses zamanı ve randımında farklılıklar görülür, peynirde yavanlık gibi istenmeyen bir tat oluşur (Jacob vd., 2010; McSweeney, 2007a).

Hayvansal Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar

Hayvansal rennet geleneksel olarak genç ruminantların ot yemeye başlamadan önceki dönemlerinde kesilerek şirdenleri midelerindeki enzime zarar vermeden temizlenerek, kurutulularak veya dondurularak muhafaza edilir. Bunun için daha çok genç buzağılar kullanılır ve enzimler buzağı midelerinin dördüncü kısmından ekstrakte edilerek üretilmektedir. Ayrıca kuzu ve oğlak şirdenleri de kullanılmaktadır. Hayvansal rennetler; kimosin, pepsin, tripsin ve kimotripsindir (Sezgin vd., 2007). Proteolitik aktiviteleri çok yüksek olan tripsin ve kimotripsin peynirde acı peptid oluşmasına neden olmaktadır. Peynir üretiminde en yaygın kullanılan enzim, süt emme döneminde bulunan geviş getiren hayvanların, özellikle buzağuların şirdeninden elde edilen kimosin enzimi olup rennet preparatında hâkim olan enzim de kimosindir (Dervişoğlu vd., 2007). Rennet içindeki kimosin ve pepsin oranı hayvanın yaşı ve diyeti ile orantılıdır. Üretilen rennetlerin kimosin değeri de %50-95 arasında değişmektedir (Jacob vd., 2010).

Bir rennette kimosinin önemi ise kazein misellerinin stabilitesinin bozulmasını tetikleyen k-kazeinden kazein-makropeptidi yani genellikle hacimli hidrofobik amino asitleri içeren peptid bağlarını parçalama eğiliminden kaynaklanmaktadır. Bundan ötürü kullanılan rennet enzimi içindeki kimosin oranının başlangıçta kazein molekülünün hidrolizasyon derecesinin yüksek olması anlamında önemlidir. Buzağı rennetinin spesifik özelliği ise k-kazein üzerine etkisidir; kimosin genç memeli hayvanların midelerinde sütü koagüle ederek bağırsak sistemi içine ilerlemesini geciktirmekte ve sindirimin etkinliğini arttırmaktadır. Peynir yapımında ise pH ve sıcaklığa bağlı olarak buzağı rennetinde pıhtılaşma aktivitesi proteolitik aktiviteye göre yüksektir (Dalglish, 1992; Huppertz vd., 2004). Diğer taraftan da termolabilitesi zayıf olduğu için de peynir altı suyu ürünleri için aktif pıhtılaştırıcı kalıntılar içermez. Pepsin ise kimosine göre daha az spesifik olup Phe, Tyr, Leu veya Val amino asitlerinin hidrolizasyonuna neden olmaktadır (Jacob vd., 2010). Phe ve Val ise acılık oluşturan amino asitler içinde olup miktarı artınca acılık oluşumu tetiklenebilmektedir. Lemieux ve Simard (1991) ile Urbach (1995), peynirde ortaya çıkan serbest amino asitlerden ortak acılık oluşturan amino asitlerin valin, lösin, prolin ve fenilalanin olduğunu bildirmişlerdir. Bu anlamda pepsin oranı hayvansal rennetlerde yüksek olmamalıdır. Pepsin belirli bir bölgeyi hedeflemeyen proteolitik aktivitesinden dolayı tüm protein ağını zayıflatmaktadır. Bu protein ağı süt yağın sıkıştırmakta ve peynir veriminin düşmesine neden olmaktadır



Şekil 1. Geleneksel yöntemle hazırlanan buzağı renneti

(Atacı, 2001). Kullanılan rennetteki pepsin oranı kimosin oranının %25'ini geçmezse elde edilen peynirin kalitesi, şirden mayası ile elde edilen peynirin kalitesine benzemektedir ve ikisi arasında önemli bir farklılık oluşmamaktadır (Walstra, 1986). Peynir mayası enziminde kimosin dışında peynirde lipolizde önemli olan lipase, pregastric esteraz enzimleri de vardır ve buna yan enzim aktivitesi denir. Şekil 1'de yerel olarak üretilen hayvansal rennet görülmektedir. Ancak bu şekilde üretim sağlık sorunları içerdiği için rennet enzimi şu anda ultrafiltrasyon yöntemi ile fiziksel ve mikrobiyolojik kalıntılardan arındırılarak ticari olarak üretilmektedir. Modern rennet üretiminde hayvanın öldürülmesinden sonra midesi hemen dondurulur ve ticari ekstraksiyon işlemine tabi tutulur. Çiğ materyalin öğütülmesi, enzim ekstraksiyonu, asit pH'da proenzimlerin aktivasyonu, nötralizasyon, ekstraktın sınıflandırılması ve saflaştırılması ve konsantre edilmesi gibi uzun işlemler sonucunda gıda güvenliği açısından uygun rennetler üretilmektedir (Wangoh vd., 1993). Uzun yıllardır da minör

detaylar değiştirilerek temelde bu şekilde belirtildiği gibi hayvansal rennet üretimleri devam etmektedir.

Mikrobiyel Orijinli Proteazlar

1960'lardan sonra maya teknolojindeki gelişmeler sonucunda kullanım alanı yaygın olan buzağı rennetine alternatif olarak mikrobiyel kaynaklı enzimler peynir üretimlerinde kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde tüketicilerin tükettikleri gıdalarda helal ve koşer belgelerini aranması, özellikle de hayvansal gıdalarda helal kesim olaylarının önemsenmesi, bazı tüketicilerin vejetaryen olmasına ve hayvan hakları gibi faktörler hayvansal rennetlerin kullanımını büyük ölçüde sınırlandırmış ve mikrobiyel rennetlere geçişi başlatmıştır (Roseiro, Barbosa, Ames ve Wilbey, 2003).

Mikrobiyel rennet kimosine göre de daha hesaplıdır ve dünyada buzağı kimosinin yerine en fazla kullanılan peynir mayasıdır. Bu enzimlerin kullanımı ilk yıllarda peynirlerde erime, acı tat gibi bazı problemler oluşturmuştur (Akın, 1996;

Crabbe, Fox, McSweeney, Cogan ve Guinee, 2004; Fox ve Stepaniak, 1993; Horne ve Banks, 2004). Mikrobiyel rennetle yapılan peynirlerin lezzetinde problemler olması tekrar buzağı kimosinin önemini ortaya çıkarmıştır.

Mikroorganizmalardan üretilen proteazlar genellikle birbiri ile karıştırılmaktadır. Mikrobiyel peynir mayalar iki grup altında daha çok ele alınıp yorumlanırken şimdi 3 grup altında inceleyebiliriz.

1. Mikroorganizmalardan direkt olarak elde edilen proteolitik enzimlerden oluşan mikrobiyel peynir mayaları. Mikrobiyel proteazlar arasında en iyi sonuç küf (fungal) kaynaklı proteolitik enzimlerden alınmıştır. Bu küf orjinli enzimlerden en önemlileri *Mucor miehei*, *Mucor pusillus*, *Entothia paracitica*, tarafından üretilen enzimlerdir. Birçok Avrupa ülkesinde mikrobiyel proteazlar kullanılmakta ve özellikle de vejetaryenlerin tercihi olmaktadır. *Bacillus tür*lerinden elde edilen proteazlar da vardır fakat yüksek proteolitik aktivitesinden dolayı kullanımları çok sınırlıdır.
2. Genetik mühendisliğinin gelişmesi ile kimosin üretmeyen mikroorganizmalardan (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Lactococcus lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Klyveromyces lactis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* veya *Trichoderma reesii*) üretilen pıhtılaştırıcı enzimler sahada fermente kimosin olarak daha çok adlandırılmaktadır (Flamm, 1991; Mohanty vd., 1999; Teuber, 1990). Mikrobiyel olan bu peynir mayalarının içerdikleri enzim kimosin enzimi ile özdeştir. Bu nedenle şirden mayası ile aynı

özellikleri taşımaktadır. Ancak elde edilme yöntemi farklıdır (genetiği değiştirilmiş mikroorganizma olması nedeniyle) ve zaman zaman tartışma konusu olabilmektedir. Kimosin, GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) güvencesi ile gıdalarda direkt olarak kullanımına izin verilen rekombinant teknoloji ile üretilmiş ilk enzimdir.

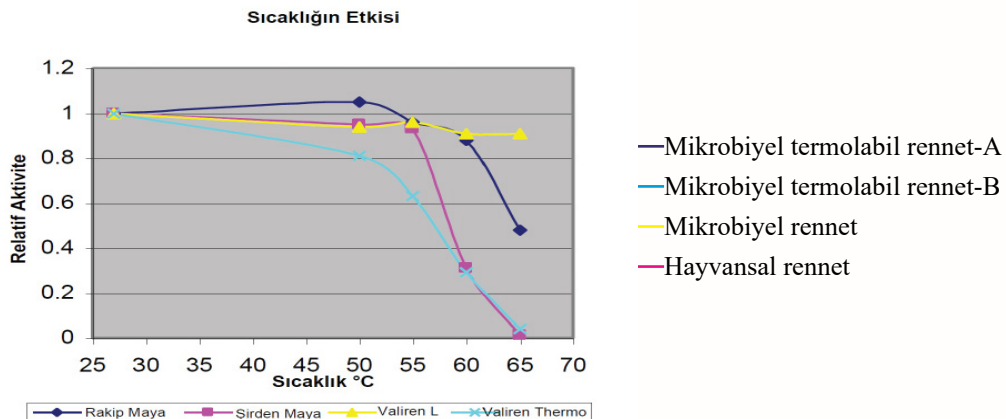
3. Son yıllarda *Mucor miehei*'den özel işlemlerden geçirilerek ısıya hassasiyet özelliği kazandırılarak üretilen, pastörize sıcaklığında inaktive olan ve yan enzim aktivitesi olmayan termolabil mayalar üretilmektedir. Avrupa'da yaygın kullanım alanı bulan bu enzimler ülkemizde de peynir üretimlerinde yer almaya başlamış ve üretimine de geçilmiştir.

Hayaloğlu, Karatekin ve Gurkan (2014), mikrobiyel ve kimosin proteazlarının termal stabilitesini pıhtısı haşlanan Malatya peynirinde incelemiş ve farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur. Olgunlaşmada peynirin proteoliz derecesini, sertliğin ve eriyebilirliğinin proteaz tipi ve konsantrasyonun etkilediğini fakat peynirin mikro yapısı üzerine etkisinin az olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca peynirin tuzu, pH'sı ve protein içeriği konsantrasyondan ve proteaz tipinden etkilenmiştir. Sonuç olarak, mikrobiyel rennet, buzağı rennetine göre termal stabilite, proteoliz ve eriyebilirlik anlamında yüksek bulunmuştur. Çalışmada mikrobiyel rennet 80 °C'de 10 dak. %65 inaktive, %35 aktif kalırken hayvansal rennet 62 °C'de tamamı inaktive olmuştur (Hayaloğlu vd., 2014). Mikrobiyel rennet bu anlamda pıhtısı haşlanan ve olgunlaşmayı

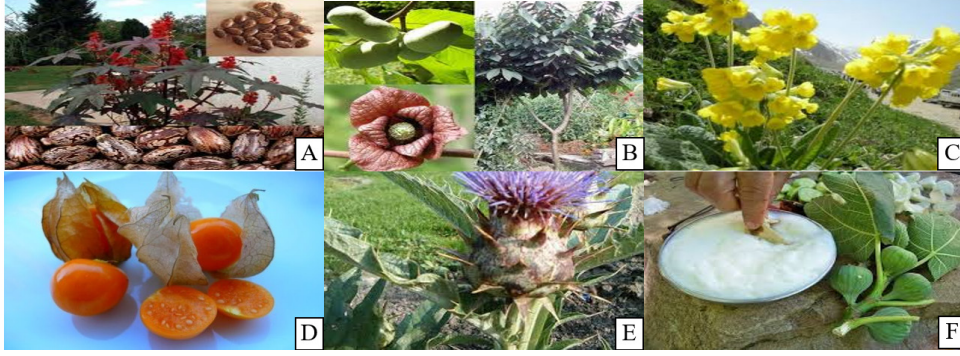
hızlandırmak amacı ile kullanmak istenen peynir üreticileri için daha çok tercih edilebilecektir diyebiliriz. Mikrobiyel termolabil rennetin ise optimum çalışma sıcaklığı şirden mayaya benzemektedir. Çizelge 1’de mikrobiyel termolabil rennet-A, 55 °C’de hayvansal rennet ile aynı aktiviteyi gösterip 60-65 °C’ler de aktivitesi azalarak düşmektedir. Başka bir örnek verecek olursak mikrobiyel rennet-B ise 35-60 °C’de aktivitesi hayvansal rennete göre daha düşük olduğu gibi 60-65 °C’de hayvansal rennet ile benzer aktivite göstermektedir. 65 °C’de 15 dak. ısı uygulamasında da aktivitesi %2’nin altına düşmektedir. Şekilde 2’de görüldüğü gibi normal pastörizasyon sıcaklığında inaktive olmaktadır. Bu sayede pastörize edilmiş peynir suyunda da aktivitesi kalmadığı için peynir altı suyunda rennet aktivitesi kalmamaktadır.

Termolabil özelliği dışında yan enzim aktivitesinin de olmayan üretim şekilleri ile de pıhtısı haşlanmayan peynirlerde örneğin kültürlü ve kültürsüz beyaz peynirlerde, ultrafiltrasyon tekniği ile yapılan beyaz peynirlerde termolabil mikrobiyel maya kullanımları mevcuttur ve son yıllarda artarak devam etmektedir.

Termolabil mikrobiyel rennetlerin peynir altı sularından üretilen bebek mamalarının da raf ömrüne olumlu etkilerinden dolayı özellikle Avrupa ülkelerinde mikrobiyel rennetlerin termolabil formunun kullanımı daha yaygındır. Ülkemizde de özellikle son 5 yıldır peynir sektöründe kullanılmaya başlanan, ekonomik bir alternatif olarak da üreticiye sunulan mayalar içinde termolabil mikrobiyel rennetler yer almaya başlamıştır. 1980’lerden sonra rekombinant DNA tekniği ile (kimosin enzimi içeren genin mikroorganizmalara aktarılması ile) elde edilen enzimler kullanılmaya başlanmış ve özellikle de 1990’larda düşük proteolitik aktivite, tahmin edilebilen koagülasyon davranışı göstermesi nedeni ile de rekombine kimosin mayalar yaygın kullanım alanı bulmuştur. Özellikle hayvansal proteaz enziminden sonra bu %100 kimosin olan bu proteaz enzimi de mikrobiyel orjinli proteazlar gibi vejetaryen yaklaşım, dini inançların ve hayvan haklarının korunması gibi avantajlarından dolayı kullanımları ön plana çıkmıştır. Fermente kimosin mayaların en belirgin avantajlarından birisi de saf kimosin enzimi olduğu için aynı hayvansal



Şekil 2. Farklı pıhtılaştırıcı enzimlerin termal stabiliteleleri (ısı duyarlılıkları)
(<http://www.mayasan.com/tr/portfolio-item/valiren-thermo/>)



Şekil 3. Bitkisel proteazlar ile ilgili görseller (A: Hint yağı tohumu, B: Pawpaw ağacı, C: Yabani çuha çiçeği, D: Altın çilek, E: Kenger bitkisi, F: İncir)

kimosin enzimler gibi ısı ile pıhtısı haşlanan peynirlerde de aynen hayvansal kimosinde olduğu enzimin aktivasyonunu yitirmesidir.

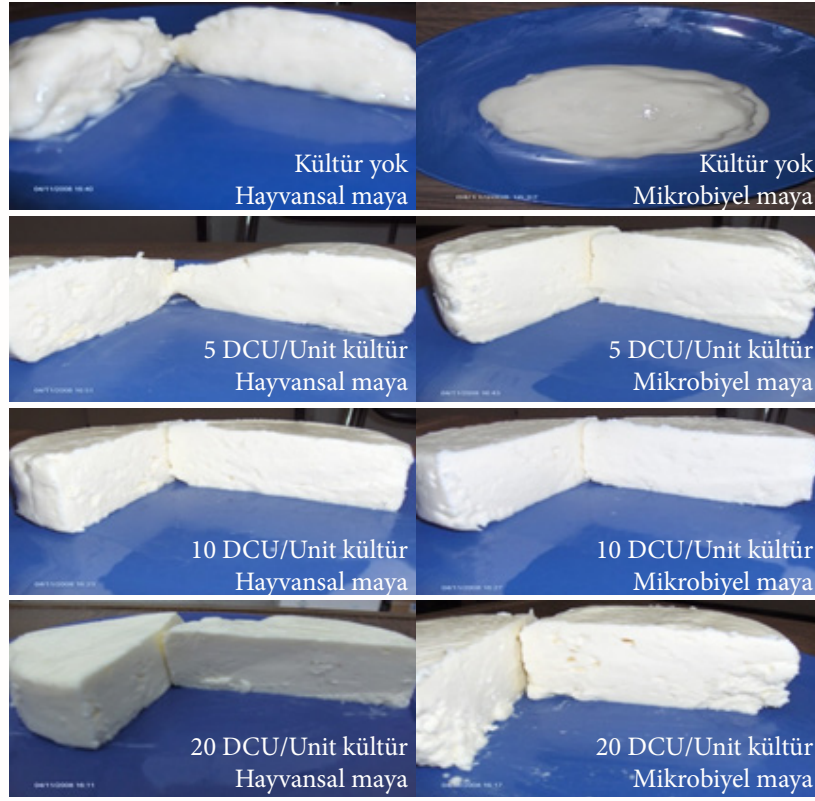
Bitkisel Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar

Bitkisel kaynaklı proteazlar bitkilerin, kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum ve meyve gibi değişik kısımlarından elde edilen özütleridir. Bunlar pawpaw ağacından elde edilen promelin, hint yağı tohumundan üretilen ricin gibi proteazlar örnek verilebildiği gibi pıhtı oluşumuna sebep olup küçük ölçekli peynir üretiminde kullanılmaktadırlar ve proteolitikler (Şekil 3). Pıhtılaştırma kabiliyetleri proteolitik aktivitelere göre daha düşüktür. Fransa, İtalya, İspanya gibi bazı ülkelerde yaban enginar (kenger) özütü bazı çiftliklerde koyun, keçi sütünden yapılan bazı peynirlerde yararlanılmaktadır (Metin, 2012). Kivi, ananas, mango, papaya gibi meyvelerde bulunan aktinidin (sistein proteaz enzimi), dubiumin, cucumisin hieronmain'de pıhtı oluşumu anlamında peynircilikte kullanım alanları bulmaktadır. Pıhtılaştırıcıların karışımı (kardosin/kimosin), uygun sütün seçimi veya ultrafiltrasyonunun yanı sıra olgunlaşma sırasında peynirin tuzlama süresinin artması, yapıyı iyileştirmek

ve peynirde acılığını azaltmak, peynirde randıman iyileştirmek için de kullanıldığı bildirilmektedir (Özcan ve Eroğlu, 2018). Ancak birkaç çeşidi yüksek proteolitik olduğu için pıhtılaştırıcı enzim olarak bitkilerin pıhtılaştırıcı enzim olarak peynirde kullanımı düşük düzeydedir.

Peynir Prosesleri İçinde Maya Kullanımı

Peynir içerisinde ister doğal çiğ süttten gelen doğal laktik asit bakterileri florası olsun ister proses gereği bilinçli ilave edilen laktik asit bakterileri içeren starter kültür olsun seçilen mayalama sıcaklığı, proses ortam sıcaklığı ve tuz bu bakterilerin gelişim hassasiyetini dolayısı ile peyniri doğrudan etkileyen bir faktörken ilave edilen mayanın farklı orijinde olması peynirde doğrudan değişiklik yapan bir faktör değildir. Örneğin 82 °C'de ısı işlem uygulanan bir sütte hiç kültür kullanılmadığınız zaman peyniri de 1,5 - 2 aydan fazla bekletmek istediğinizde max. 2 aydan sonra peynirin kesime gelmediği ve yumuşadığı görülür ve bunu da geleneksel köy ve çoban peyniri adı ile üretim yapan bütün üreticiler bilir. Vapur (2010) 74-75 °C ısı işlem uygulayarak farklı oranlarda kültür ve farklı maya orijinleri kullanarak yapmış olduğu beyaz



Şekil 4. Farklı maya orijinleri ve farklı starter kültür oranları ile üretilen beyaz peynirlerin görünüşü (Vapur, 2010)

peynir ile ilgili çalışmasında peynir yapısının yumuşamasında kültür ve olgunlaşma süresinin etkisi olduğu bildirmektedir. Peynirlerde kültür olmadan peynir mayasının şirden, mikrobiyel veya fermente kimosin olmasının bir önemi yoktur. Esas önemli faktör kültür ve kullanılan kültürün oranıdır ve peynirin yapısı direk olarak etkilenecektir. Bogenrief ve Olson (1995), peynir erimesinin β -kazein hidrolizi ile ilgili olduğunu, α -s1 kazein hidrolizinin etkisinin bulunmadığını vurgulamışlardır. Ayrıca peynir yapısının yumuşak ya da sert olmasında kullanılan sütte bulunan doymuş yağ asitlerinin de etkili olduğu belirtilmektedir (Froëhlich-Wyder ve Bachmann, 2007).

Vapur (2010) kültürlü beyaz peynir ile ilgili yapmış olduğu çalışmada peynirin kimyasal ve duyusal özellikleri üzerinde birinci derecede peynirin olgunlaşma süresi

daha sonra da starter kültür kullanım oranları olduğu belirtmektedir. Bütün bu faktörlerin dışında kullanılan hammadde sütün asitlik değerindeki değişimin peynirin yapı-görünüş ve tekstürel özelliğini etkilediği bildirmiştir. Peynir örneklerinde 90. gün sonunda ortaya çıkan toplam serbest amino asit miktarını en fazla kültür kullanım oranı 5, 10 ve 20 Danisco Culture Unit/ton olan peynir örneklerinden 5 DCU/ton starter kültür oranı ve mikrobiyel maya ile yapılan peynir örneğinde tespit etmiştir. Ayrıca bu peynir örneği duyusal olarak genel kabul edilebilirlik anlamında en çok beğenilen peynir örneği olmuştur (Şekil 4).

İlave edilecek maya orijini seçilirken yapılacak olan peynir prosesinin göz önüne alınması gerekir. Peynir üretiminde kırım sonrası pıhtının yavaş yavaş çökmesi peynire uygulanacak işçiliği de etkileyeceği için

kullanılan rennet enzimi de eğer firma için yaptığı peynirin prosesi gereği önemli ise bu anlamda rennet kullanımına bakmalıdır. Pıhtı kırımı sonrası peynirden peynir altı suyunun ayrılma hızı, telemenin üretilen peynire göre peynir altı suyu bırakım hızı, peynirde acılık oluşturup oluşturmaması gibi faktörler rennet enzimi seçimi üzerinde etkili olmaktadır.

Peynirde kimosin enzimi kullanıldığında β - kazein ve α s- kazein fraksiyonları hidrolizasyonu yavaş olmaktadır. Bundan dolayı bu peynirde hayvansal maya kullanımı acıma problemlerinin ortaya çıkmaması anlamında tercih edilmektedir. Ancak peynirlerde ortaya çıkan acılık probleminde kullanılan mayadan çok mayanın miktarı önemlidir (Landfeld vd., 2002). Peynir mayası peynir sütüne ilave edilmesi gereken miktarın üzerinde ilave edilmemelidir. Üretim esnasında prosteşte maya testi yaparak ilave edilmelidir.

Peynirin tuz ve yağ oranı düşük olup light peynir olduğunda üründe ürünün acılığını maskeleyecek faktörler azaldığında peynirde doğal olarak acılık hissi daha belirgin olacaktır. Peynirde acılık denildiğinde genelde üreticiler ve çalışanlar acılığın kullanılan rennet enzimi kaynaklı olduğuna odaklanırlar. Peynirde acılığın kaynağı sadece kullanılan rennet enzimi değildir. Proteolizin hızını ve derecesini yüksek olgunlaştırma sıcaklığı, fazla rennet enzimi kullanımı, yüksek nem, az tuz, pıhtı kesim büyüklüğü ve teleme parçalı peynir ve orta derecede asitlik belirlemektedir. Acılık α s1 ve β -kazein hidrolizi ile ortaya çıkan peptidlerden kaynaklanmakta olup pıhtılaştırıcı enzim, starter kültüre ait enzimler ile bulaşmış mikroorganizmalara ait enzimler aracılığıyla oluşmaktadır. Bunun için

proteolitik enzim konsantrasyonu ve proteolitik özelliği kullanılan kültürün asitlik oluşturma kapasitesi ve proteolitik aktivitesi bilinmelidir. Ürüne özgü kültürün seçilmesi, uygun üretim yönteminin uygulanması ve olgunlaşma koşulları oldukça önemli olmaktadır (Kılıç ve Vapur, 2003; Lemiux ve Simard, 1991; McSweeney, 2007c). Mikrobiyel rennet enziminin genellikle proteoliz aktivitesi yüksek olduğu için olgunlaşmanın biraz daha hızlanması istenen peynirlerde özellikle de termolabil olmadığı için mayalama sıcaklığı yüksek olan peynir çeşitlerinde daha çok tercih edilmektedir (Hayaloğlu vd., 2014; Lemieux ve Simard, 1991). Bir proteinin parçalanması ve parçalanma ürünlerinin konsantrasyonu fiziksel ve kimyasal yöntemlerle tespit edilebilir ve buradan gidilerek sonuçların değerlendirilmesi gerekir. Kullanılan kültür de rennet enzimi de değerlendirmeye alınırken sadece kişiden kişiye değişen duyuşal değerlendirmeler yeterli değildir. Birçok işletme peynirde proteoliz olayını ölçülebilir bir noktaya taşıyarak rutin peynir analizleri içine almamaktadır.

Proteinlerin parçalanmasında proteolitik enzimler peptid bağlarını hidrolize ederler ve bu peptid bağları bir çözülmeye kadar gider. Burada kullanılan kültürün, mayanın ve çiğ süttten gelen enzimlerin de rolü vardır. Proteinler ilk primer yapıdaki proteazlara, peptidlere, polipeptidlere, oligopeptidlere ve sonunda da amino asitlere kadar parçalanma ilk parçalanma ürünleri olup sekonder parçalanma ürünleri ise amonyak, aminler ve hidrojen sülfürdür. Teneke ile olgunlaştırmada uzun olgunlaşma periyodu sonrasında depolarda hissedilen amonyak kokusu olgunlaşmanın ilerlediğinin de göstergesidir. Aynı anda olgunlaşmış bir peynir kitesinde bu maddelerin

hepsi bulunabilir.

Yapılmak istenen peynirin proses şartları ve peynirin duyuşsal niteliklerini koruması anlamında peynir renneti seçimi yapılmalıdır ve peynirin duyuşsal nitelikleri üzerine olan etkisinden emin olduktan sonra kullanılan rennete yönelik yorumlar yapılmalıdır. Üreticiler çoğu zaman bir problem ile karşılaştıklarında bazen sadece kullandıkları mayaya veya değiştirmiş olduğu peynir rennetine odaklanmaktadır. Ancak kullanılan rennetin bile etkinliğini sütün bileşimine bağlı olan faktörlerde etkileyebildiği gibi prosteşte uygulanan işlemlere bağlı faktörlerin de rennet enzimin etkinliğini etkileyebileceğini düşünölmelidir. Süte bağlı olan faktörler; sütün kazein miktarı, kazein misellerinin büyüklüğü, kazein fraksiyonlarının oranı, kolloidal haldeki kalsiyum miktarı, sütün pH değeri, fosfat ve sitrat oranları olup süte uygulanan ısıl işlemlerden soğutma, homojenizasyon, koyulaştırma, pıhtılaşma süresi, ortam sıcaklığı ve süte kalsiyum klorür ilavesi gibi noktalar çok önemlidir (Bringe ve Kinsella, 1986; Nájera vd., 2003). Bu kadar çok faktör pıhtı oluşumunda önemli rol oynarken birçok işletmede maalesef daha peynir sütüne maya testi yapmadan maya ilaveleri yapılmaktadır. Maya ilavesinden sonra tankta ya da teknede ilk pıhtı oluşumları gözlenmeden pıhtı kırım zamanı ile ilgili yorum yapılmadan pıhtı kırımları gerçekleştirilmektedir. Sonra bir sorun olduğunda ya kullanılan maya ya bahane bulunmakta veya deneme yapılacak olan maya denemesi doğru yapılmadığından dolayı tamamen yapılan çalışmalar çalışanlar tarafından yanlış yönlendirilmektedir. Sütün her gün nerede ise değişken olduğü bir yerde ilave edilecek olan enzim miktarının da değişeceği göz önüne alınarak her tank veya tekneye

maya testi yaparak maya ilavesi yapılmalıdır. Pıhtıyı toparlayamadıktan sonra gereksiz yere mayanın yanlış miktarda kullanımı kaynaklı randıman kayıpları olduktan sonra ilave edilen mayanın ne olduğunun önemi ikinci planda kalmalıdır. Esas önemli faktörler göz ardı edilerek alışıl gelmiş alışkanlıklarla kontrolsüz şekilde yapılan peynir üretimlerinin beraberinde peynir problemlerini de getireceği unutulmamalıdır.

Peynir mayası ile pıhtılaşmada göz önüne alınması gereken bir önemli konuda çiğ sütün soğukta muhafazasıdır. Sıcaklığın yükselmesi daha büyük kümeleşmelere doğru bir kaynaşmaya neden olurken sıcaklığın düşmesi kazein miselinin hidrofilik değil tam tersi hidrofobik bağlarının miktarının artmasına sebep olmaktadır. Yani kazein misellerinin suyu seven değil suyu iten özelliği artmakta, kazein miselleri alt misellere parçalanmaktadır. β - kazein misel fazını terk ederek sütün peynir mayası ile depolanma süresinde kayıpların artmasına, pıhtılaşma süresinin uzamasına sebep olmakta ve pıhtı ise zayıf olmaktadır (McSweeney, 2007a). Proteolizin ilk aşamasında pıhtılaştırıcı enzimler etkili olmaktadır. Burada, peynir mayalarının içerdikleri enzimlerin pıhtıda tutulma oranları da belirleyici bir faktördür. Çünkü pıhtılaştırıcı enzimlerin pıhtıda tutulma oranları birçok faktöre bağlı olarak değişir. Bu faktörlerin en önemlisi pıhtının asitliğidir. Örneğin; pH 5.2'de rennin (kimosin) enziminin pıhtıda tutulma oranı %80'lere çıkmaktadır. Bu oran 6.60 pH 2'de %40'dadır. Pepsin enzimi de rennin benzer bir durum göstermektedir (Uraz ve Ergöl, 1989). Pepsin enzimi ise olgunlaşma esnasında peynirde acı bir tadın meydana gelmesine sebep olduğü için

tek başına kullanılmaz. Mucor mayalarının ise pıhtıda tutulan enzim oranı düşüktür. Bu oran %15-20'lerdedir ve pH değişimlerinden de etkilenmez. Bazı araştırmacılar da bu tutulma oranını farklı bildirmişlerdir; süte ilave edilen pıhtılaştırıcı enzimlerin büyük bir kısmı peynir altı suyu ile ayrılmaktadır (Sousa vd., 2001). Süte ilave edilen kimosinin %6'sı, mikrobiyel enzimin ise %2-3'ü pıhtıda tutulmaktadır (Fox vd., 1997). Sütte kazein miktarı arttıkça hem kimosinin alıkonma miktarı hem de peynir randımanının arttığı ve her mg kuru madde içinde de alıkonan kimosinin de değişmediği bildirilmiştir. Kazein miselinin boyutu çok büyük olmadığı sürece kesilmiş sütte tutulan kimosin miktarı üzerine miselin etkisi çok azdır. Genel olarak pıhtıda tutulan enzim miktarı peynir teknolojisi için önemli olup bu peynirin neminden, sütün ısı işlem sıcaklığından, peynir altı suyu ayrılma pH'sından, iyonik güçten, süte ilave edilen pıhtılaştırıcı enzim miktarından, sütün kazein içeriğinden, kazein misellerinin boyutundan ve olgunlaşma boyunca peynirin pH'sından etkilenmektedir (McSweeney, 2007a).

Piyasada *Rhizomucor miehei* suşundan izole edilen ve oluşturdukları proteaz enziminden yararlanan mikrobiyel mayaların ısı ile inaktive olma oranları ise kimosin-pepsin (%80-90 kimosin) içeren hayvansal mayalara göre daha düşüktür (Hayaloğlu vd., 2014). Ancak yine *Rhizomucor miehei* suşundan elde edilen termolabil mayalar hayvansal mayalara ve rekombine kimosin mayalar ile ısıl inaktivasyon anlamında benzer profil göstermektedir (Şekil 2). Bu göz önüne alınarak peynir proseslerine uygulanan ısıl işlemler çerçevesinde maya kullanımlarına bütünsel açıdan bakılarak üretimler düşünülmalıdır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Teknolojideki gelişmeler ile peynir üretiminde kullanılan pıhtılaştırıcı enzimlerin de çeşitliliği artmıştır. Peynir üreticileri bu enzimlerin teknolojik farklılıklarının bilincinde olmalı ve ürün iyileştirme çalışmaları kapsamında üretimlerine yön vermelidirler. Çünkü peynir üretimlerinde değişkenlik çoktur. En başta da ham madde gün ve gün değişkenlik gösterebilmektedir. Bu anlamda en başta hangi enzim kullanılır ise kullanılsın tank veya tekneye ilave edilmeden önce mutlaka maya testi yapılarak rennet enzimi ilave edilmesi gerekir. Rennet enzimi kullanılması gereken eşik değer üstünde ve altında kullanılması randıman kayıplarına yol açtığı gibi üründe kimyasal, duyuusal, mikrobiyolojik standardı yakalama anlamında da zorluklar ortaya çıkacaktır. Peynirde yaşanan problemlerin çözümlerine yönelik sadece birkaç noktada alınan tedbir ve önlemler ile problemler giderilebilir noktasında olaya bakılmamalıdır ve birden fazla yaklaşımlar ile olaylar birleştirilmelidir. Sadece kullanılan kültür ve maya gibi yardımcı ürün girdilerine odaklanılmamalıdır. Özellikle pıhtısı ısıl işleme tabi tutularak üretilen peynirlerde rennet enzimi aktivitesinin uygulanan ısıl işleme bağlı olarak azalmasının bir önemi vardır. Çünkü peynir canlı bir üründür ve üretimden sonra olgunlaşma seyri boyunca olabilecek fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olayları düşündüğümüzde olabildiğince kontrollü şartların sağlanması gereklidir. Peynirde bir kültür nasıl önemli ise kullanılan rennet enzimi de ürün özelliklerine uygun olarak seçildiğinde o derece bizim sınırlandırmak istediğimiz parametrelerin kontrol altına almak için önemlidir. Pıhtısı haşlanan peynirlerde daha çok fermente

kimosin mayalar (rekombine kimosin) ve termolabil mikrobiyel mayaların ısı ile aktivitesi azaldığı için tercih edilmektedir. Termolabil olmayan mikrobiyel rennet enzimleri ise daha çok hızlı olgunlaşmasını istediğimiz peynirlerde kullanımları tercih edilmelidir. Hayvansal mayalar ise daha çok kültürsüz klasik, tulum gibi olgunlaşma süresi uzun olan depo peynirlerinde tercih edilmektedir. Kimosinin bu peynirlerdeki öneminden dolayı rekombine kimosin mayalarda bu peynirlerde kullanılmaktadır. Ancak bütün pıhtılaştırıcı enzimlerin değerlendirilmesi her işletmenin kendi içinde kendi proses şartlarına, peynirin duysal özelliklerine göre ele alması gereken bir konudur. Her ne kadar üretimlerde işletme alışkanlıkları olsa da proses parametrelerinin son ürün kalitesini etkileyeceği düşünülerek kullanılan pıhtılaştırıcı enzim dışındaki faktörlerin de olabileceği düşünülmelidir. AR-GE ve ürün iyileştirme çalışmaları işletmelerde ağırlık verilmesi gereken konu olmalı ve doğru proses uygulamaları ile son ürün kalitesinde devamlı iyileştirmeler yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

Akın, N. (1996). Peynir yapımında kullanılan süt pıhtılaştırıcı enzimler ve bunların bazı özellikleri. *The Journal of Food*, 21(6), 435-442.

Anusha, R., Singh, M. K. ve Bindhu, O. S. (2014). Characterisation of potential milk coagulants from *Calotropis gigantea* plant parts and their hydrolytic pattern of bovine casein. *European Food Research and Technology*, 238(6), 997-1006. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2177-0>

Atacı, N. (2001). Mucor miehei rennetin

ve mucor miehei rennet-dekstran konjugatlarının spektrofotometrik yöntemle incelenmesi (Yüksek lisans tezi). İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi.

- Bogenrief, D. D. ve Olson, N. F. (1995). Hydrolysis of β -casein increases cheddar cheese meltability. *Milchwissenschaft*, 50(12), 678-682.
- Bringe, N. A. ve Kinsella, J. E. (1986). Influence of calcium chloride on the chymosin-initiated coagulation of casein micelles. *Journal of Dairy Research*, 53(3), 371. doi:10.1017/s0022029900024997
- Crabbe, M. J., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M. ve Guinee, T. P. (Eds.). (2004). Rennets: general and molecular aspects. *Cheese: Chemistry, physics and Microbiology*. 3rd edition. Academic Press (Elsevier), (pp. 19-46). ISBN 0122636511
- Dalgleish, D. G. (1992). Sedimentation of Casein Micelles During the Storage of Ultra-High Temperature Milk Products—a Calculation. *Journal of Dairy Science*, 75(2), 371-379. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(92\)77771-6](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(92)77771-6)
- Dervişoğlu, M., Aydemir, O., Yazıcı, F. (2007). Peynir yapımında kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler ve kazein fraksiyonları üzerine etkileri. *The Journal of Food*, 32(5), 241-249.
- Dünya Atlası. (2019). Peynirin keşfi ve tarihçesi. Erişim adresi (5 Ocak 2020): <https://www.dunyaatlası.com/peynirin-kesfi-ve-tarihcesi/>
- Flamm, E. L. (1991). How FDA approved kimosin: A case history. *Nature*

- Biotechnology*, (9), 349-351.
- Fox, P. F. ve Stepaniak, L. (1993). Enzymes in cheese technology. *International Dairy Journal*, 3(4-6), 509-530. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(93\)90029-Y](https://doi.org/10.1016/0958-6946(93)90029-Y)
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. ve Law, B. A. (Ed.). (1997). Rennets: their role in milk coagulation and cheese ripening. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*. (2nd edn., pp. 1-49). London: Chapman & Hall.
- Frohlich-Wyder, M. T. ve Bachmann, H. P. (2007). 124 How do I control the elastic texture of Swiss-type cheese?. *Cheese problems solved*, 260.
- Hayaloğlu, A. A., Karatekin, B. ve Gurkan, H. (2014). Thermal stability of chymosin or microbial coagulant in the manufacture of Malatya, a Halloumi type cheese: Proteolysis, microstructure and functional properties. *International Dairy Journal*, 38(2), 136-144. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.04.001>
- Horne, D. S. ve Banks, J. M. (2004). Rennet-induced coagulation of milk. *General Aspects*, 47-70. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80062-9](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80062-9)
- Huppertz, T., Fox, P. F. ve Kelly, A. L. (2004). Susceptibility of plasmin and chymosin in Cheddar cheese to inactivation by high pressure. *Journal of Dairy Research*, 71(4), 496-499. <https://doi.org/10.1017/S0022029904000494>
- Jacob, M., Jaros, D. ve Rohm, H. (2010). Recent advances in milk clotting enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 14-33. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00633.x>
- Kamber, U. (2006). Peynirin Tarihçesi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 77(2), 40-44.
- Kılıç, S. ve Vapur, U. E. (2003). Peynirde acılık problemi, etki eden faktörler ve kontrol altına alınması. *Akademik Gıda*, (4), 35-37.
- Landfeld, A., Novotna, A. ve Houska, M. (2002). Influence of the amount of rennet, calcium chloride addition, temperature, and high-pressure treatment on the course of milk coagulation. *Czech Journal of Food Sciences*, 20(6), 237-244.
- Lemieux, L. ve Simard, R. E. (1991). Bitter flavour in dairy products. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. *Lait*, 71(6), 599-636.
- McSweeney, P. L. H. (Ed.). (2007a). Why is the Phe-Met bond of k-kazein so susceptible to rennet action?. *Cheese Problem Solved*, (25), 52.
- McSweeney, P. L. H. (Ed.). (2007b). What factors affect the retention of rennet in cheese curd?. *Cheese Problem Solved*, (28), 57.
- McSweeney, P. L. H. (Ed.). (2007c). How can the problem of bitterness in cheese be solved?. *Cheese Problem Solved*, (89), 194.
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cogan, T. M. ve Guinee, T. P. (Eds.). (2004). Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. In *Cheese: Chemistry, physics and Microbiology. General Aspects*, 1(3rd edn., pp. 347-360). London: Elsevier.
- Metin, M. (2012). Süt Teknolojisi. Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. İzmir: Ege

- Üniversitesi Rektörlük Yayınları.
- Mohanty, A., Mukhopadhyay, U., Grover, S. ve Batish, V. (1999). Bovine chymosin. *Biotechnology Advances*, 17(2-3), 205–217. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(99\)00010-5](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(99)00010-5)
- Nájera, A. I., de Renobales, M. ve Barron, L. J. R. (2003). Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. *Food Chemistry*, 80(3), 345–352. doi:10.1016/s0308-8146(02)00270-4
- Özcan, T. ve Eroğlu, E. (2018). Sütün enzimatik koagülasyonu ve peynir üretiminde bitkisel pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(2), 201-214.
- Roseiro, L. B., Barbosa, M., Ames, J. M. ve Wilbey, R. A. (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants-the use of Cynara L. for the production of ovine milk cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 56(2), 76–85. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00080.x>
- Sezgin, E., Atamer, M., Koçak, C., Yetişmeyen, A., Gürsel, A. ve Gürsoy, A. (2007). Süt Teknolojisi. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Shah, M. A., Mir, S. A. ve Paray, M. A. (2013). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: a review. *Dairy Science & Technology*, 94(1), 5–16. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0144-3>
- Sousa, M., Ardö, Y. ve McSweeney, P. L. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 327–345. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00062-0)
- Teuber, M. (1990). Production of Chymosin (EC 3.4.23.4) by Microorganisms and Its use for Cheese-making. *Bulletin* 251, 3–15. Brussels: International Dairy Federation.
- Uraz, T. (1981). Süt ve Mamülleri Teknolojisi: Peynir suyu ve değerlendirme şekilleri. *Segem Yayın*, (103), 208-213.
- Uraz, T. ve Ergül, E. (1989). Süt asitliğinin, peynir pıhtısının süzülmesi ve ayrılan peynir altı suyunun bileşimine etkisi. *Journal of Food*, 14(6), 331-335.
- Urbach, G. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products. *International Dairy Journal*, 5(8), 877–903. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00037-2](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00037-2)
- Ünsal, A. (1997). Süt Uyuyunca–Türkiye Peynirleri. I. Baskı. İstanbul: Yapı Kredi Yayınları.
- Vapur, U. E. (2010). Farklı starter kültür oranları ile hayvansal ve mikrobiyel kaynaklı peynir mayaları kullanılarak üretilen tam yağlı beyaz peynirlerin özelliklerinin belirlenmesi. (Doktora tezi). (s. 231-237). Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Walstra, P. ve Eck, A. (Ed). (1986). Curd drainage. Cheese-making Science and Technology (2nd edn., pp. 22-36). Lavoisier Published Inc.
- Wangoh, J. L., Farah, Z. ve Puhan, Z. (1993). Extraction of camel rennet and its comparison with calf rennet extract. *Milchwissenschaft*, (48), 322-325.