

## PEYNİRDE PROTEOLİZ TİPİNE VE ORANINA ETKİ EDEN FAKTÖRLER\*

### THE FACTORS AFFECTING THE TYPE AND EXTENT OF PROTEOLYSIS IN CHEESE

Yusuf TUNÇTÜRK<sup>1</sup>, Sayit YARIMBATMAN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van

**ÖZET:** Peynir olgunlaşması bir dizi biyokimyasal ve kimyasal reaksiyonla şekillenen, oldukça kompleks bir süreçtir. Bu biyokimyasal olayların en karmaşık ve çeşitli olanı proteoliz, değişik kaynaklardan gelen birçok proteolitik ajan tarafından şekillendirilmektedir. Bunlar, pıhtılaştırıcı enzim, doğal süt enzimleri, starter kültür ve starter olmayan laktik asit bakterileri ile sekonder floradan kaynaklanan enzimler olarak sıralanabilir. Hemen her peynir çeşidi bu proteolitik ajanları içermesine karşın, bunların tipi, miktarı ve aktivite oranları her peynir çeşidinde farklıdır. Bunlara ilaveten, peynirin işlenme tekniği, peynirin nem oranı, tuz içeriği, olgunlaştırma ortamı sıcaklığı ve olgunlaştırma süresi gibi faktörler de proteoliz tipine ve oranına etki etmektedir. Bütün bu etkenlerin bileşimi olarak sonuçta birbirinden oldukça farklı tekstürel ve duyuşsal özelliğe sahip peynir çeşitleri ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada, peynirde proteoliz tipine ve oranına etki eden faktörlere ve konuyla ilgili çalışma sonuçlarına yer verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Peynir, proteoliz, olgunlaşma

**ABSTRACT:** The ripening of cheese is a very complex process involving many chemical and biochemical reactions. The most complex and various changes occur in proteolysis that are affected by proteolytic agents from different sources. These proteolytic enzymes are coagulant, indigenous milk proteinases, proteinases and peptidases of starter and non-starter lactic acid bacteria, and enzymes of the secondary flora. Although each cheese variety contains these proteolytic agents; kind, amount and activity levels are specific for each cheese type. In addition to these, some factors such as processing techniques, moisture and salt rate of cheese, ripening time and temperature, are effective on the extent of proteolysis. As a combination of these factors, different characteristics of cheeses in terms of texture and taste-flavour can be obtained. In this review, the factors affecting the type and rate of proteolysis in cheeses are discussed, briefly.

**Keywords:** Cheese, proteolysis, ripening

### GİRİŞ

Peynir olgunlaşması, protein, yağ ve karbonhidratların farklı düzeylerde parçalanmasını içeren, peyniri karakteristیک tekstür ve duyuşsal özelliklerini kazandıran uzun ve karmaşık bir süreçtir (Tsakalidou, Dalezios, Georgalaki ve Kalantzopoulos 1993). Olgunlaşmada proteoliz açısından yer alan değişiklikler iki temel aşamaya ayrılabilir. Kazeinden peptit ve aminoasitlerin oluşumu birinci aşamayı oluşturur. İkinci aşamada ise birinci safhanın sonunda oluşan ürünlerin, daha ileri parçalanma ürünlerine dönüşümü söz konusudur. Bu aşamada, aminoasitler aminler, organik asitler, sülfür bileşikleri ve karbondioksit üretiminde kullanılırken, peynir de kendine özgü özelliklerini kazanır (El Soda 1993). Bütün peynir çeşitlerinin olgunlaşması sırasında en temel değişim proteoliz olduğundan, olgunlaşma kriteri olarak en fazla bu konu üzerinde durulmuştur (Izco, Irigoyen ve Barcina 2000).

\* Türkiye 8. Gıda Kongresinde bildiri olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> E-posta: yusuftuncurk@yahoo.com

Peynir proteinlerinde parçalanmayı, farklı kaynaklardan gelen, proteolitik ve peptidolitik enzimler oluşturmaktadır. Bunlar peyniri pıhtılaştırmak için kullanılan rennet, süt proteinazları plazmin ve asit proteinaz, starter ve starter olmayan laktik asit bakterileri ve sekonder floradan kaynaklanan enzimlerdir. Son yıllarda ise, farklı kaynaklardan elde edilen proteolitik ve peptidolitik enzimler de hızlı olgunlaştırma amacıyla kullanılabilir. Bu proteolitik ajanların peynir ortamındaki aktivitesi ise peynir bileşimi, pH değeri, tuz içeriği ve olgunlaşma ortamı sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak şekillenmektedir. Bunların sonucunda, proteolizin tipi ve oranı, yani hangi kazein fraksiyonunun daha fazla parçalandığı, protein olmayan azotlu maddeler, aminonitrojen gibi azot fraksiyonlarının toplam azotlu maddelere oranı gibi karakteristikler şekillenmektedir. Söz konusu özellikler, peynirin tüm tekstürel ve duyuşsal özellikleri üzerinde de belirleyici olmaktadır.

### **Peynirde Proteolizi Etkileyen Proteolitik Enzim Kaynakları**

Peynirde ilk proteoliz, kazeinin peynir mayası ile pıhtılaştırılmasıyla gerçekleşmektedir. Yine bu sırada, sütün kendi proteinazı olan plazmin de aktivite göstererek kazeini parçalamaktadır. Bu parçalanma sonucu oluşan nispeten büyük polipeptitler, daha sonra peynir ortamında bulunan starter bakteriler ve starter olmayan bakterilerin proteinaz-peptidaz sistemleriyle daha küçük peptitlere ve serbest aminoasitlere kadar parçalanmaktadır (Visser 1981). Pıhtılaştırıcı enzim olan kimoziin,  $\alpha S_1$ -kazeinin ilk proteolizinde önemli rol oynarken, diğer kazein fraksiyonları bu enzime karşı daha dirençlidir. Burada temel olarak, enzimin spesifitesi ve enzimin peptit bağlarına ulaşabilirliği bu enzim tarafından katalizlenen proteolizin oranını etkiler. Kimoziin çoğunlukla lösin-X ve fenilalanin-X bağlarını keser. Ancak bu enzim  $\alpha S_1$ -kazeini  $\beta$ -kazeinden daha fazla parçalamaktadır. Bunun, peynir ortamında protein konformasyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Peynirde bulunan NaCl,  $\beta$ -kazeinin topaklaşmasına neden olmakta ve enzimin, muhtemelen hassas bağlara ulaşması bu şekilde zorlaşmaktadır. Peynirde nemin azalması da bu etkiyi arttırmaktadır. Genellikle küfle olgunlaştırılanlar dışında bütün peynir çeşitlerinde, olgunlaşma süresinin sonunda değişen oranlarda parçalanmamış b-kazein kalmaktadır (Lawrance, Creamer ve Gilles 1987). Bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcıların (*Cynaria cardunculus*) kullanılması durumunda, olgunlaşma süresine bağlı olarak, aS-kazeinler ve b-kazein parçalanmasının, rennet kullanılan peynirlerden farklı oranlarda gerçekleştiği bildirilmektedir (Fernandez-Salguero ve Sanjuan 1999).

$\kappa$ -kazein ve  $\alpha S_2$ -kazein sistin içerirler ve bu açıdan sütte disülfid bağına sahip proteinlerdir. Peynirdeki redoks potansiyeli, disülfid/tiyol oranını etkilediğinden, oluşan çapraz bağların miktarını ve dolaylı olarak kimoziinin hassas bağlara ulaşma kapasitesini de belirlemektedir. Buna karşın plazmin, sistin içeren bir enzimdir ve aktivitesinde redoks potansiyelinin de etkili olduğu söylenebilir. Plazmin, özellikle  $\beta$ -kazein ve  $\alpha S_2$ -kazeindeki lizin veya arginin rezidülerinin C-terminal bölgesindeki bağlara spesifiktir.  $\alpha S_2$ -kazeinin yüksek hassasiyeti ise daha fazla lizin rezidüsüne sahip olmasıyla açıklanabilir (Visser 1981). Bilindiği gibi plazmin sütte zimojen halinde, yani plazminojen olarak bulunmaktadır. Önceleri aktifleşmesinin nasıl gerçekleştiği bilinmemesine karşın, son yapılan çalışmalar ürokinaz tipi ve doku tipi olmak üzere iki aktivatörü olduğunu ortaya koymuştur. Ürokinaz tip aktivatör sütte somatik hücrelere bağlı iken, doku tipi aktivatör kazein misellerine bağlı olarak bulunmaktadır (Barrett, Kelly, McSweeney ve Fox 1999). Swiss tipi peynirlerde,  $\alpha S_2$ -kazein parçalanmasının tamamen plazminden kaynaklandığı bildirilmektedir (Richardson ve Pearce 1981).

Kazein, diğer süt proteinlerinden daha fazla prolin kalıntısı içerir. *Streptococcus cremoris* proteinazları istisnasız  $\beta$ -kazeine spesifiktir. Ancak bu durumun,  $\beta$ -kazeinin diğer kazeinlere göre daha yüksek prolin içeriğiyle ilişkili olup olmadığı belirsizdir. Starter kültür proteinazlarının  $\alpha S_1$ -kazeini parçalayamamaları, en azından olgunlaşmanın ilk dönemlerinde peynir tekstürü üzerine önemli derecede etkili olmadıklarını göstermektedir (Lawrance vd 1987).

Proteinazlar aynı zamanda sinerjistik olarak da etki edebilirler. Örneğin, plazmin tarafından oluşturulan  $\beta$ -kazein parçalanma ürünleri, starter proteinaz-peptidazları tarafından daha ileri parçalanma ürünlerine çevrilmektedir. Laktik asit bakterileri, birçok mikroorganizmadan daha az proteolitik olmalarına karşın (Tsakalidou vd 1993), diğer proteinazların kazeinlerden hidrolize ettikleri polipeptitleri, aminoasitlere kadar parçalayabilen peptidazlara sahiptirler (Casey ve Meyer 1985).

Peynirde proteoliz oranını, kullanılan starter kültürün türü kadar, suşu da etkilemektedir. Çünkü peynir ortamında farklı suşların gelişme düzeyi ve lize olmaları farklı düzeylerde gerçekleşmektedir (Wilkinson, Guinee, O'callaghan ve Fox 1994). Yine starter olmayan bakterilerin tür ve sayıları da proteolizi etkilemektedir (Lawrance vd 1987). Sekonder flora olarak sütte pediokoklar, mikrokoklar, mezofilik laktobasiller ve bazı Swiss tipi peynirlerde starter kültür olarak da kullanılan propiyonik asit bakterileri bulunmaktadır. Üretiminde hijyenik problem bulunan peynirlerde enterobakterler de bulunabilmektedir (Fontecha, Pelaez, Juarez, Requena, Gomez and Ramos, 1990). Sekonder flora enzimlerinden, özellikle ısıl işleme dayanıklı olan psikrofilik bakteri enzimleri, peynirde proteolitik parçalanma oluşturabilmektedir. Özellikle uzun süre soğukta depolandıktan sonra peynire işlenen sütlerde, bu bakteri grubuna ait proteinazlar yüksek seviyelere çıkabilmektedir (Metin 1996).

Son yıllarda ise, peynirde hızlı olgunlaştırma amacıyla, çok değişik kaynaklardan elde edilen proteolitik ve peptidolitik enzimler kullanılmakta ve bunlar peynirde, kısa sürede yüksek proteoliz oluşturabilmektedir (Frey, Johnson ve Marth 1986, El Soda 1986, Çağlar 1992a, Çağlar 1992b, Law 2001, Güven ve Karaca 2003).

## Proteoliz Oranını Etkileyen Faktörler

### 1. Peynir pıhtısında rennetin aktivite düzeyinin etkisi

Peynirde ilk proteoliz peynir mayası olarak kullanılan rennet tarafından oluşturulmaktadır. Bu enzim,  $\alpha S_1$ -kazeini 24/25-199 bölgesi, C terminalinden hidrolize ederek  $\alpha S_1$ -I peptidi adı verilen büyük molekülü bir peptit oluşturmaktadır (Grappin, Rank ve Olson 1985). Rennet, peynir matrisini oluşturan  $\alpha S_1$ -kazeini parçaladığından, özellikle nem oranı yüksek peynirlerdeki yumuşamadan da sorumlu tutulmaktadır. Rennetin peynirde tutulma oranı, öncelikle başlangıçta kullanılma oranına bağlıdır. Rennetin pıhtıda tutulma oranını etkileyen bir diğer faktör de, peynir pıhtısının baskıda kalma süresi ve pıhtıdan ayrılan serum miktarıdır. Çünkü, rennetin büyük bir bölümü peynir altı suyuyla uzaklaşmaktadır (Lawrance vd 1987, Kindstedt, Yun, Barbano ve Larose 1995).

Baskıya alma sırasında telemenin pH derecesi, rennetin pıhtıda kalma derecesini de etkilemektedir. Genel olarak daha düşük pH derecelerinde baskıya alınan peynirlerin pıhtısında, daha fazla rennet kalmakta ve  $\alpha S_1$ -kazeinin parçalanmasında da olgunlaşma sürecinde daha fazla parçalanma oluşmaktadır (Lawrance vd 1987, Yun, Barbano, Kindstedt ve Larose 1995, Hocalar ve Hocalar 2002). Bundan dolayı pH değeri etkisinin elemine edilmek istendiği çalışmalarda, ortam pH değerinden etkilenmeyen mikrobiyel rennetin (*Mucor miehe*) kullanılması önerilmektedir (Lawrance vd 1987). Hayvansal kökenli rennet yerine, bitkisel rennet kullanılması halinde  $\beta$ -kazeinin daha fazla hidrolize olduğu saptanmıştır (Fernandez-Salguero ve Sanjuan 1999).

Rennet, pıhtısı yüksek sıcaklık derecelerinde haşlanan peynirlerde aktivitesini büyük oranda kaybetmektedir (Hocalar ve Hocalar 2002).

### 2. Peynir pıhtısında kalan süt proteinazlarının aktivite düzeylerinin etkisi

Önceleri alkali süt proteinazı olarak bilinen plazmin (Lawrance vd 1987), sütün doğal proteinazı olup, alkali pH değerlerinde optimum aktivite göstermektedir. Sütte yaklaşık olarak % 90'ı plazminojen halinde bulunmaktadır (Barrett vd 1999). Süt salgı bezinde enfeksiyon olması halinde, plazmin-plazminojen düzeyinin sütte arttığı belirlenmiştir (Le Roux, Girardet, Humbert, Laurent ve Linden, 1995). Sütte çoğunluğu plazminojen halinde bulunan bu enzimin, farklı iki mekanizma ile aktive olduğu ve peynir olgunlaşmasını hızlandırmak için ortama dışarıdan ürokinaz enzimi eklenmesinin plazmin aktivitesini, dolayısıyla proteolizi arttırdığı bildirilmektedir (Barrett vd 1999).

Plazmin özellikle lisin-X bağlarını keserken, daha düşük oranda arjinin-X bağlarını hidrolize etmektedir. Sütte plazmin  $\beta$ -kazeini lisin<sub>28</sub>-lisin<sub>29</sub>, lisin<sub>105</sub>-histidin<sub>106</sub> ve lisin<sub>107</sub>-glutamin<sub>108</sub> bağlarından keserek,  $\beta$ -kazein f29-209, f106-209 ve f108-209 ( $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ) fraksiyonlarını ve proteoz-pepton oluşturmaktadır. Ayrıca plazmin

$\alpha$ S<sub>2</sub>-kazeini hızlı bir şekilde parçalarken,  $\alpha$ S<sub>1</sub>-kazeini çok daha yavaş bir şekilde hidrolize etmektedir (Fox ve McSweeney 1996). Laktasyonun farklı dönemlerinde sütte plazmin aktivitesine bağlı olarak b-kazein oranında düşme olduğu, buna karşın b-kazeinden parçalanmayla oluşan  $\gamma$ -kazeinlerde artış olduğu saptanmıştır (Donnelly ve Barry 1983). Ultrafiltrasyonla koyulaştırılmış sütlerden yapılan peynirlerde, pıhtı içerisinde yüksek oranlarda kalan b-laktoglobulin, plazmini inhibe etmektedir. Bundan dolayı bu peynirlerde proteoliz daha düşük değerlerde kalmaktadır (Lawrance vd 1987).

Diğer bir süt proteinazı da asit proteinaz olarak bilinen ve optimum aktivitesini pH 4.0 değerinde gösteren bir enzimdir (Lawrance vd 1987). Önceleri asit proteinaz olarak bilinen bu enzimin, farklı molekül konfigürasyonlarına sahip, birkaç aspartik proteinazdan oluştuğu ve en önemli üyesinin ise katepsin D olduğu bildirilmektedir. Katepsin D sütte prokatepsin halinde bulunmaktadır. Aktifleşmesi yine bir kısmını hidrolizle kaybettikten sonra gerçekleşmektedir. Katepsin D, peynir proteinlerini kimoze benzer şekilde parçaladığından, rennet kullanılmış peynirlerde etkisi, daha aktif olan kimoze tarafından maskelenmektedir (Hurley, Larsen, Kelly ve McSweeney 2000). Ancak katepsin D'nin özellikle  $\alpha$ S<sub>2</sub>-kazeinden oluşturduğu ürünlerin büyük kısmının, kimoze farklı olduğu da bildirilmektedir (McSweeney, Fox ve Olson 1995). Özellikle rennet içermeyen ve pH değeri düşük peynirlerde, katepsin D proteoliz üzerine etkili olabilmektedir (Larsen, Benfeldt, Rasmussen ve Petersen 1996). Diğer taraftan bu enzimin, pastörizasyon sıcaklığına oldukça dayanıklı olması (72 °C, 15 sn'de 3 kez pastörizasyonda aktivitesinin büyük bir kısmını korumuş), pıhtısı yüksek sıcaklık derecelerinde haşlanan peynirlerin uygunlaşmasında da etkili olduğu izlenimini uyandırmaktadır (Hurley vd 2000).

### 3. Peynirde tuzun neme oranının etkisi

Peynirde proteoliz düzeyini ve tipini etkileyen faktörlerden biri de, tuz ve nem içeriğinin birbirlerine oranıdır. Genellikle peynirde tuz içeriğinin nem içeriğine oranı arttıkça toplam proteolizde belirgin bir düşme olmaktadır. Bunda,  $\beta$ -kazeinin yüksek tuz içeren ortamlarda topaklaşarak, enzimatik parçalanmaya karşı direnç kazanması etkili olmaktadır (Lawrance vd 1987). Bu konuda oldukça geniş bir tuz içeriği oranlarıyla yapılan bir çalışmada, tuzun neme oranı arttıkça, proteoliz oranının ters yönde değişim gösterdiği, özellikle parçalanmamış  $\beta$ -kazein oranının oldukça yüksek düzeylerde kalabildiği belirlenmiştir (Thomas ve Pearce 1981). NaCl yerine belli oranda KCl kullanıldığında, proteoliz, tuz çeşidinden çok, tuz seviyesinden etkilenmiştir (Zorrilla, Castelao, De Pianta ve Rubiolo 1996).

### 4. Peynirde bulunan kalsiyumun etkisi

Genel bir kaide olarak, laktik asit bakterileri, çoğunluğu ekstraselüler olan ve kalsiyumsuz tampon ortamlarında düzenli olarak üretilen proteinazlara sahiptirler (El Soda 1986). Düşük pH derecelerinde baskıya alınan peynirlerin pıhtısında, daha az kalsiyum kalmaktadır. Peynir ortamında kalsiyumun tutulma oranı, peynirin fonksiyonel karakteristiklerini etkilediği gibi (Yun vd 1995), proteoliz oranını da etkileyebilmektedir (Lawrance vd 1987). Bilindiği gibi, peynirde bulunan kalsiyum, ortam pH değerine bağlı olarak, kazein misellerine bağlı olarak veya serum fazında bulunabilmektedir. pH değeri düştükçe, serum fazında bulunan kalsiyum oranı artmaktadır. Toplam kalsiyum oranı ise peynir pıhtısının baskıya alındığı pH değeriyle belirlenmektedir. Yukarıda da belirtildiği gibi, peynirde kimoze ve plazminin alıkonma oranları ve aktiviteleri peynir pH değeriyle yakın ilişki içindedir. Dolayısıyla, peynirin pH değeri hem kalsiyum içeriğini, hem de peynir ortamındaki proteinaz aktivitesini etkilediği için, kalsiyumun proteolize etkisi olduğu görüşünü doğrulamaktadır (Lawrance vd 1987). Salamura tipi peynirlerde, NaCl ve kalsiyum oranının düşük olması halinde peynirde yumuşama olma ve bunun sonucunda daha yüksek proteolize zemin hazırlamaktadır. Aslında peynir proteinlerine karşı kalsiyumun topaklaştırıcı etkide bulunduğu, tersine fosfat iyonlarının da eritici (yumuşatıcı) etkisi olduğu bilinmektedir (Lucey ve Fox 1993).

### 5. Olgunlaştırma ortamı sıcaklığının etkisi

Peynirin olgunlaştırıldığı ortamın sıcaklığı, proteolizin tipini ve derecesini etkilemektedir. Sıcaklık yükseldikçe kazeinin hidrolizi ve peynirin tekstür gelişimi hızlanmaktadır. Olgunlaştırma sıcaklığı yükseldikçe, özellikle  $\alpha$ S<sub>1</sub>-kazein  $\beta$ -kazeine göre daha fazla parçalanmakta ve yapıda yumuşama ortaya çıkmaktadır (Lawrance vd 1987). Peyniri daha kısa sürede pazara sunma kaygısıyla geliştirilen hızlı olgunlaştırma yöntemlerinden biri de, olgunlaşma ortamının sıcaklığının yükseltilmesidir. Bu yöntemle proteolizi hızlandırılmış ve olumsuz bir etki gözlenmeden kısa sürede olgunlaştırılmış peynirler olmakla birlikte (Fedrick, Aston, Durward ve Dullely 1984; Jin ve Park 1995), bazı riskler de bu uygulamayla ortaya çıkabilmektedir. Sıcaklığın yükselmesi sonucu, peynir ortamında bulunan mikrofloranın kontrolü zorlaşmakta, sekonder flora istenmeyen seviyelere çıkabilmekte, yabancı tat ve aroma gelişebilmekte, yine özellikle spor oluşturan bakterilerin vegetatif forma geçmesiyle geç şişme problemleri ortaya çıkabilmektedir. Ancak bu teknik halen kontrollü üretim koşullarında, peynirin hızlı olgunlaştırılmasında uygulanabilir olarak görülmektedir (Law 2001)

Sonuç olarak, birçok peynir çeşidinde proteoliz, hem tekstürel özelliklerin ortaya çıkması, hem de tat ve aroma gelişimi açısından en önemli biyokimyasal olaydır. Bu biyokimyasal değişimi sütün kendi proteinazları, pıhtılaştırıcı enzim, starter olan ve olmayan laktik asit bakterilerine ait enzimler ve sekonder flora enzimleri katalizlemektedir. Peynirin olgunlaşmasında meydana gelen proteolizin tipi ve derecesi, kalite özelliklerini de doğrudan etkilediğinden, üzerinde önemle durulması gerekmekte ve her faktörün etkilerinin ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması bir zorunluluk haline gelmektedir. Proteolize etki eden faktörlerin daha iyi anlaşılmasıyla, her yönden daha üstün kalitede peynir elde edilmesi de mümkün olacaktır.

### KAYNAKLAR

- Barrett FM, Kelly A L, McSweeney PLH and Fox PF 1999. Use of exogenous urokinase to accelerate proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int. Dairy J.* 9: 421-427.
- Casey MG and Meyer J. 1985. Presence of X-prolyl-dipeptidyl-peptidase in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 68: 3212-3218.
- Çağlar A. 1992a. Peynirde hızlı olgunlaştırma metotları-I. *Gıda* 17 (5): 319-325
- Çağlar A. 1992b. Peynirde hızlı olgunlaştırma metotları-II. *Gıda* 17 (6): 371-374.
- Donnelly WJ and Barry JG. 1983. Casein compositional studies III. Changes in Irish milk for manufacturing and role of milk proteinase. *J. Dairy Res.* 50: 433-441.
- El Soda M. 1986. Acceleration of cheese ripening: Recent advances, *J. Food Protect.* 49 (5):395-399.
- El Soda M. 1993. The role of lactic acid bacteria in accelerated cheese ripening, *FEMS Microbiology Reviews*, 12: 239-252.
- Fedrick A, Aston J, Durward I and Dullely J R. 1984. The effect of elevated ripening temperature on proteolysis and flavor development in Cheddar cheese. II. High temperature storage mid-way through ripening. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 18: 253-260.
- Fernandez-Salguero J and Sanjuan E. 1999. Influence of vegetable and animal rennet on proteolysis during ripening in ewes' milk cheese. *Food Chemistry.* 64: 177-183.
- Fontecha J, Pelaez C, Juarez M, Requena T, Gomez C and Ramos M. 1990. Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *J. Dairy Sci.* 73: 1150-1157.
- Fox PF and McSweeney PLH, 1996. Proteolysis in cheese. *Food Reviews Int.* 12: 457-509.
- Frey JP Johnson ME and Marth EH 1986. Peptidases and proteases in barley extract: A potential source of enzymes for use in cheese ripening. *Milchwissenschaft.* 41: 488-489.
- Grappin R, Rank TC and Olson NF, 1985. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: A review. *J. Dairy Sci.* 68: 531-540.
- Güven M ve Karaca OB, 2003. Peynirde olgunlaştırmanın hızlandırılması amacıyla proteolitik ve lipolitik enzimlerin kullanımı olanakları. *Dünya Gıda.* 8 (9): 76-85.
- Hocalar B ve Hocalar M. 2002. Peynirlerin olgunlaştırılmasında proteolizin önemi ve olgunlaştırmanın hızlandırılması için uygulanan yöntemler. *Dünya Gıda.* 7, (3): 72-76.
- Hurley M J, Larsen LB, Kelly A L and McSweeney PLH, 2000. The milk acid proteinase cathepsin D: a review. *International Dairy Journal* 10: 673-681.

- Izco JM, Irigoyen A and Barcina TY, 2000. Effect of added enzymes on the free amino acids and sensory characteristics in Ossau-Iraty cheese. *Food Control*. 11: 201-207.
- Jin YK and Park YW, 1995. Effects of aging time and temperature on proteolysis of commercial goat milk cheeses produced in the United States. *J. Dairy Sci.* 78: 2598-2608.
- Kindstedt PS, Yun JJ, Barbano D M and Larose K L. 1995. Mozzarella cheese: Impact of coagulant concentration on chemical composition, proteolysis, and functional properties. *J. Dairy Sci.* 78: 2591-2597.
- Larsen LB, Benfeldt C, Rasmussen LK and Petersen, T E. 1996. Bovine milk procathepsin D and cathepsin D: Coagulation and milk protein degradation. *Journal of Dairy Research*, 63: 119-130.
- Law B A. 2001. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technologies. *Int. Dairy J.* 11, 383-398.
- Lawrance, RC, Creamer, LK, Gilles, J. 1987. Texture development during cheese ripening, *J. Dairy Sci.* 70:1748-1760.
- Le Roux, Y., Girardet, JM, Humbert, G, Laurent, F., Linden, G. 1995. Proteolysis in samples of quarter milk with varying somatic cell counts. 2. component PP3 and  $\beta$ -casein-1P (f29-105 and f29-107) of the proteose-peptone fraction. *J. Dairy Sci.* 78: 1298-1305.
- Lucey JA and Fox PF. 1993. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review. *J. Dairy Sci.* 76: 1714-1724.
- McSweeney PLH, Fox PF and Olson NF. 1995. Proteolysis of bovine caseins by cathepsin D: preliminary observations and comparison with chymosin. *International Dairy Journal*, 5: 321-336.
- Metin, M. 1996. *Süt Teknolojisi-I*. Ege Üniv. Mühendislik Fak Yay. No:33.. 623 s. İzmir
- Richardson BC and Pearce KN 1981. The determination of plasmin in dairy products. *N.Z. J. Dairy Sci. Technol.* 19: 63-69.
- Thomas TD and Pearce KN, 1981. Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. *N.Z. J. Dairy Sci.* 16: 209-220.
- Tsakalidou E, Dalezios I, Georgalaki M and Kalantzopoulos G. 1993. A comparative study: Aminopeptidase activities from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *J. Dairy Sci.* 76: 2145-2151.
- Visser S. 1981. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. *Neth. Milk Dairy J.* 35: 65-73.
- Wilkinson MG, Guinee TP, O'callaghan D M and Fox, P F. 1994. Autolysis and proteolysis in different strains of starter bacteria during Cheddar cheese ripening, *J. Dairy Research*, 61:249-262.
- Yun JJ, Barbano DM, Kindstedt PS and Larose KL. 1995. Mozzarella cheese: Impact of whey pH at draining on chemical composition, proteolysis, and functional properties. *J. Dairy Sci.* 78, 1-7.
- Zorrilla SE, Castelao EL, De Pianta D and Rubiolo AC, 1996. Proteolysis of low-fat Fynbo cheese salted with a mixture of NaCl and KCl. *Australian J. Dairy Technol.* 51, 6-7.