



Sütün Enzimatik Koagülasyonu ve Peynir Üretiminde Bitkisel Pıhtılaştırıcılar^a

Ezgi EROĞLU¹, Tülay ÖZCAN^{1*}

¹Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye,

*Sorumlu yazar ORCID:0000-0002-0223-3804

e-posta (Corresponding author e-mail): tulayozcan@uludag.edu.tr

Yazar(lar) ORCID: 0000-0003-4945-5025

e-posta (Author-s e-mail):ezgi Eroglu1@gmail.com

Geliş Tarihi (Received): 14.03.2018; Kabul Tarihi (Accepted): 05.06.2018

Öz: Peynir yapımında en yaygın olarak kullanılan pıhtılaştırıcı, geviş getiren genç hayvanların midelerinden elde edilen rennin enzimidir. Ancak peynir tüketiminde ve üretimindeki artışlar, yüksek fiyat ve az miktarda rennin enzimi verimi, bu enzim ile elde edilen ürünlerin vejetaryen beslenme alışkanlıklarına uygun olmaması, enzimin kullanımı ile ilgili etik konular ve dini kısıtlamalar alternatif veya ilave enzim ikameleri arayışına neden olmuştur. Bakteriler ve küfler tarafından üretilen mikrobiyel kaynaklı pıhtılaştırıcılar ve bitkilerin kök, gövde, tohum, çiçek, yaprak gibi belirli bölgelerinden elde edilen bitkisel pıhtılaştırıcılar hayvansal rennin enzimi için uygun ikame maddeleridir. *Cynara cardunculus*, *Calotropis procera*, *Solanum dubium*, *Carica papaya*, *Ananas comosus*, *Ficus carica*, *Albizia julibrissin*, *Cucumis melo* ve *Lactuca sativa*'dan elde edilen proteazlar peynir üretiminde en çok kullanılan bitkisel pıhtılaştırıcılardır. Bu çalışmada, sütün pıhtılaştırılmasında kullanılan bitkisel enzim kaynakları hakkında bilgiler verilecektir.

Anahtar Kelimeler: Peynir, enzimatik koagülasyon, bitkisel pıhtılaştırıcı.

Enzymatic Coagulation of Milk and Plant Coagulants in the Cheese Production

Abstract: The most commonly used coagulant in cheese production is rennet obtained from the stomach of young ruminant animals. However, the increases in cheese consumption and production, the high price and the little yield of rennet, being inappropriate of the products obtained by this enzyme for vegetarian eating habits, the ethical issues related to the use of the enzyme and religious

^a Eroğlu, E. ve Özcan, T. 2018. Sütün Enzimatik Koagülasyonu ve Peynir Üretiminde Bitkisel Pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludag Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32 (2), 201-214.

restrictions have caused the search for alternative or additional rennet substitutes. Microbial-derived coagulants produced by bacteria and molds and herbal coagulants obtained from certain parts of plants such as root, stem, seed, flower, leaf are suitable substitutes for animal rennet. Proteases obtained from *Cynara cardunculus*, *Calotropis procera*, *Solanum dubium*, *Carica papaya*, *Ananas comosus*, *Ficus carica*, *Albizia julibrissin*, *Cucumis melo*, *Lactuca sativa* are the most commonly used plant coagulants in cheese production. In this study, we will give information about the plant enzyme sources used in the coagulation of the milk.

Keywords: Cheese, enzymatic coagulation, plant coagulant.

Giriş

Peynir; sütün peynir mayası veya zararsız organik asitlerin etkisiyle pıhtılaştırılması, değişik şekillerde işlenmesi, bazen tat ve koku verici maddelerin ilave edilmesi ile üretilen, çeşitli süre ve derecelerde olgunlaştırılan kendine özgü tat ve aromaya sahip, besin değeri yüksek bir süt ürünüdür. Peynir teknolojisinde sütün enzimatik yolla pıhtılaştırılmasında hayvansal, bitkisel ve mikrobiyel kaynaklardan sağlanan enzimler kullanılmaktadır. Farklı kaynaklardan elde edilerek kullanıma hazır hale getirilen pıhtılaştırıcı enzimlere '**peynir mayası**' adı verilmektedir. 'Pıhtılaştırıcı enzim' veya 'rennet' olarak da ifade edilen enzimlerin tümü asit proteazlardır. Optimum aktivitelerini asit pH'larda gösterebilen bu enzimler, hem sütün pıhtılaşmasını sağlamakta hem de peynir olgunlaşması ve kalitesini belirgin ölçüde etkilemektedirler. Sütü pıhtılaştıran her enzimin peynir mayası olarak kullanılması mümkün değildir. Bunun için sütü pıhtılaştırma aktivitesi (SPA) ve proteolitik aktivitesinin (PA) peynir üretimine uygun olması gerekmektedir. Enzimin κ -kazein üzerindeki spesifik aktivitesi SPA olarak değerlendirilirken bunun dışında kalan aktiviteler PA olarak belirtilmektedir. PA'nın çok yüksek olması pıhtı sıklığının azalmasına, peynir altı suyunun ayrılmasının yavaşlamasına, randımanın düşmesine ve acı tat oluşumu gibi peynir kusurlarına sebep olmaktadır (Fox ve ark. 2000).

Peynirde Pıhtılaşma

Tüm peynirlerin temel üretim aşaması olan pıhtılaşma, protein fraksiyonlarının stabilizasyonunun bozulması sonucu sütün sıvı halden jel hale geçmesidir. Sütün enzim ile pıhtılaşması ise iki aşamada meydana gelmektedir. Proteolitik aşama olarak da adlandırılan birinci aşamada, kazein misellerinin stabilitesini sağlayan κ -kazeinin asit proteazlar (rennin enzimi) tarafından hidrolizi sonucunda para- κ -kazein ve gliko-makropeptid molekülü oluşmaktadır. İki değerlikli iyonlar (Ca, P, Mg) içeren para- κ -kazein hidrofobik olup miseller üzerinde tutulurken, hidrofilik karakterdeki kazeino-makropeptid (gliko-makropeptid) moleküllerinin kazein misel yüzeylerinden ayrılması sonucu κ -kazeinin stabil edici etkisi azalmaktadır. κ -kazein molekülündeki gliko-makropeptidlerin %90'ı bu şekilde ayrıldığında enzimatik proteoliz tamamlanmaktadır. İkinci aşama ise enzimatik olmayan aşama olarak ifade edilmektedir. Misellerdeki κ -kazeinin en az %85'i enzim etkisiyle parçalandıktan sonra, stabilitesi bozulan kazein miselleri Ca^{+2} iyonu varlığında bir araya gelerek misel topluluklarını oluşturmaktadır. Bu olay bir agregasyon (kümeleşme) olayıdır ve bir kazein miseli üzerindeki para- κ -kazeinin pozitif yüklü gruplarıyla diğer misel üzerindeki κ -kazeinin negatif yüklü grupları arasındaki etkileşim, misellerin bir araya gelmesini sağlamaktadır. Oluşan misel toplulukları yağ globülleri, su ve yağı da içerisinde

tutan üç boyutlu ağ örgüsü oluşturarak sertleşmekte ve şekil kazanarak pıhtıyı oluşturmaktadır (Uniacke-Lowe ve Fox, 2017). Dünyada üretilen peynirlerin önemli kısmı (~%75) sütün enzimlerle (rennet ile) pıhtılaştırılması sonucu elde edilmekte ve genel olarak olgunlaştırıldıktan sonra tüketilmektedir. Sütün zararsız organik asitler veya GDL ile pıhtılaştırılması sonucu üretilen ve çoğunlukla taze olarak tüketilen peynirler ise %25'lik kısmı oluşturmaktadır (Rogelj ve ark. 2001).

Bitkisel Kaynaklı Pıhtılaştırıcılar

Bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcı enzimler (papain, bromelin, ricin, ficin vb.) bitkilerin kök, gövde, tohum, çiçek, yaprak gibi belirli bölgelerinden değişik özütlenme yöntemleri kullanılarak elde edilmektedir. Bunlar bitkisel kaynaklı peynir mayaları (vegetable/plant rennet) olarak bilinmektedir. Bu pıhtılaştırıcılar kullanılarak elde edilen peynirlerin üretimi ve olgunlaşmasında pıhtılaşma aşaması oldukça önemlidir ve proteoliz peynirin tekstürel ve duysal özelliklerini etkilemektedir (Amira ve ark. 2017). İyi bir süt pıhtılaştırıcı enzim yüksek spesifik kazeinolitik aktivite ve düşük genel proteolitik aktivite ile karakterize edilmektedir. Bitkisel enzimlerin proteolitik aktiviteleri pıhtılaştırma aktivitelerine oranla çok daha fazladır, yani düşük bir süt pıhtılaşma aktivitesi/proteolitik aktivite (SPA/PA) oranına sahip bulunmaktadır ve bu durum peynir üretiminde kullanımının başlıca engeli olarak ortaya çıkmaktadır. Proteolitik aktivitenin yüksek olması; randımanda düşüş, pıhtı niteliklerinde bozulma ve acı tat oluşumu gibi kusurlara da neden olmaktadır. Bu yüzden bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcıların kullanımı küçük ölçekli peynir üretiminden daha öteye gidememektedir (Mazorra-Manzano ve ark. 2013; Shah ve ark. 2014).

Genel anlamda hayvansal ve mikrobiyel pıhtılaştırıcılar daha stabil ve standart kalitede ürün vermeleri, daha ucuz olmaları ve kullanım kolaylığı nedeniyle ayrıca bitkilerin toplanmasındaki yoğun emek ve masrafları önlemeleri yönünden tercih edilmektedir (Roseiro ve ark. 2003). Buzağı renneti κ -kazein için yüksek duyarlılığı ve düşük proteolitik etkinliği nedeniyle yıllardır peynir üretiminde kullanılmaktadır. Ancak peynir tüketiminde ve üretimdeki artışlar, yüksek fiyat ve düşük rennet verimi, bu enzim ile elde edilen ürünlerin vejetaryen beslenme alışkanlıklarına uygun olmaması, enzimin kullanımı ile ilgili etik konular ve dini kısıtlamalar alternatif veya ilave rennet ikameleri arayışına neden olmuş, bitkisel pıhtılaştırıcıların süt teknolojisinde kullanımı dikkat çekici oranda artış göstermiştir (Roseiro ve ark. 2003; Ahmed ve ark. 2009; Shah ve ark. 2014). Çizelge 1 ve 2'de bitkisel pıhtılaştırıcı enzim kaynakları ve bazı bitkisel proteaz türleri verilmiştir.

Bitki ekstraktlarının antik zamanlardan beri peynir yapımında pıhtılaştırıcı olarak kullanılmakta olduğu bilinmektedir ve peynir üretiminde kullanılan ilk proteolitik enzim incir sütünden kristalize edilen 'ficin' dir. Daha sonraki yıllarda da Hristiyan Budistler inançlarından dolayı buzağı renneti yerine bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcılar kullanmışlardır. Din, diyet, genetik değişiklik vb. tepkiler ve geleneksel yaklaşımlar doğrultusunda, bitkisel pıhtılaştırıcılar ile yapılan peynirler ağırlıklı olarak Akdeniz, Batı Afrika ve Güney Avrupa ülkelerinde kullanılmaktadır. İspanya ve Portekiz'de, *Cynara* sp. gibi bitkisel pıhtılaştırıcılar kullanılarak çeşitli peynirler üretilmektedir (Çizelge 3). Bitkisel pıhtılaştırıcılar ile yapılan peynirler genellikle geleneksel ve küçük ölçekte, çiftlik evinde veya bir mandırada üretilmektedir (Cerratani, 2001; Roseiro ve ark. 2003).

Bitkilerin; meyve (kivi, kavun ve papaya), kök (zencefil rizomu), öz su (papaya meyvesi *Carica papaya* ve sodom elması *Calotropis procera*) ve çiçek (*Cynara cardunculus* ve *Centaurea calcitrapa*) kısımları süt pıhtılaştırıcı olarak kullanılmaktadır (Fernandez-Salguero ve ark. 2002; Tejada ve ark. 2006). Bitki özlerinden elde edilen proteazların özellikleri, bu ürünlerin karakteristik lezzeti ve dokusu için kritik öneme sahiptir ve bu özellikler proteazların süt teknolojisinde yenilikçi uygulamalarını gündeme getirmektedir (Mazorra-Manzano ve ark. 2013). Bitkisel pıhtılaştırıcılar ile üretilmiş peynirlerde proteoliz daha belirgin olmakta, yumuşak, kremamsı bir peynir dokusu oluşmakta ve kısmen sıvılaşma ile tekstürel bozulmalar meydana gelmektedir (Jacob ve ark. 2011).

Çizelge 1. Potansiyel bitkisel pıhtılaştırıcı enzim kaynakları (Roseiro ve ark. 2003)

Bilimsel Adı	Common Name	Yaygın Adı
<i>Albizia julibrissin</i>	Silk tree	İpek ağacı
<i>Ananas comosus</i>	Pineapple	Ananas
<i>Ananas sativa</i>		
<i>Calotropis procera</i>	Sodom apple	Sodom elması
<i>Carica papaya</i>	Papaya	Papain
<i>Centaurea calcitrapa</i>	Red star thistle	Kırmızı yıldız devedikeni
<i>Cirsium ve Carlina spp.</i>	Thistle	Devedikeni
<i>Cucurbita pepo</i>	Pumpkin	Sakız kabağı
<i>Cynara cardunculus,</i> <i>C. humilis, C. scolymus</i>	Cardon and artichoke	Enginar
<i>Ficus carica, F. glomerata, F. religiosa</i>	Fig tree	İncir ağacı
<i>Lactuca sativa</i>	Lettuce	Marul
<i>Silybum marianum</i>	Holy thistle	Devedikeni
<i>Taraxacum officinale</i>	Dandelion	Karahindiba
<i>Withania coagulans</i>	Aswagandha, Withaniaberry	Withania meyvesi

***Ficus carica* (İncir)**

Bitkisel pıhtılaştırıcıların kullanılması çok eskilere dayanmakla birlikte, bir kaç çeşit dışında yüksek proteolitik aktivitelerinden dolayı şu ana kadar kullanımı sınırlı düzeydedir. Daha çok özellikle küçük miktar tüketim amacıyla incir, altın çilek, teleme otu, kenger bitkisel pıhtılaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Hatta incir sütünün pamuklu bezlere emdirilerek dondurulduğu ve kış aylarında teleme yapımında kullandığı bildirilmektedir. İncir ağacından ekstrakte edilen ficin, peynir yapımında kullanılan ilk bitkisel kaynaklı enzimdir ve yüksek proteolitik aktivitesi nedeniyle peynirlerde acılığa neden olduğu bilinmektedir (Mazorra-Manzano ve ark. 2013; Shah ve ark. 2014; Lomolino ve ark. 2015). *Ficus carica* iki grup proteolitik enzim içermektedir. Birinci grup yüksek pıhtılaşma aktivitesine ancak düşük proteoliz özelliğine sahipken, ikinci grup yüksek proteolitik etkiye sahiptir (Fadıloğlu, 2001). İncir, ülkemizin doğusunda keçi sütünden teleme yapımında tercih edilmektedir. İncirden teleme üretiminde; incirin yaprağından, dal uçlarından veya incir meyvesinden elde edilen özsu kullanılmaktadır (Saydam ve Güzeler, 2012). Akar ve

Fadıloğlu (1999) incir sütü ilavesiyle yapılan telemenin acı bir tatta, yapı ve kıvamının daha zayıf ve serum ayrılmasının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Dayısoylu ve ark. (2004) teleme yapımında kullanılan incir sütünün keçi ve inek sütünde pıhtılaşma kabiliyetini arttırdığını ve inek sütü ile yapılan telemenin inkübasyon süresinin keçi sütünden yapılan telemeye göre üç kat daha uzun olduğunu saptamışlardır. Faccia ve ark. (2012) geleneksel İtalyan keçi peyniri Cacioricotta'nın üretiminde *Ficus carica sylvestris* (caprifig) dallarından elde edilen bitki öz suyunu süt pıhtılaştırıcı olarak kullanmışlardır. İncir öz suyu ile üretilen peynirlerde güçlü bir proteolitik aktivite ile birlikte, daha yüksek miktarda azot ve peptid fraksiyonu saptamışlardır.

Çizelge 2. Sütü pıhtılaştırıcı bitkisel proteazlarının türleri ve kaynakları (Shah ve ark. 2014)

Proteaz Türü	Katalitik Alandaki Amino Asit	Proteaz Adı	Elde Edildiği Kaynak
Aspartik	2 aspartik asit kalıntısı	Cardosins, cyprosins	<i>Cynara cardunculus</i>
		Cynarase	<i>Cynara scolymus</i>
		Cardosin	<i>Cynara humilis</i>
		Protein extract	<i>Silybum marianum</i>
		Onopordosin	<i>Onopordum acanthium</i>
		Protein extract	<i>Onopordum turcicum</i>
		Oryzasin	<i>Oryza sativa</i>
		Protein extract	<i>Centaurea calcitrapa</i>
		Procirsin	<i>Cirsium vulgare</i>
		Protein extract	<i>Solanum elaeagnifolium</i>
Sistein	Sistein kalıntısı	Ficin	<i>Ficus racemosa</i>
		Caprifig coagulant	<i>Ficus carica sylvestris</i>
		Protein extract	<i>Albizia lebbek</i>
		Protein extract	<i>Helianthus annuus</i>
		Actinidin	<i>Actinidia chinensis</i>
Serin	Serin kalıntısı	Cucumisın	<i>Cucumis melo</i>
		Neriifolin	<i>Euphorbia neriifolia</i>
		Neriifolin S	<i>Euphorbia neriifolia</i>
		Dubiumin	<i>Solanum dubium</i> Fresen
		Religosin	<i>Ficus religiosa</i>
		Religosin B	<i>Ficus religiosa</i>
		Religosin C	<i>Ficus religiosa</i>
		Streblin	<i>Streblus asper</i>
		Lettucine	<i>Lactuca sativa</i>
Belirtilmemiş		Hieronymain	<i>Bromelia hieronymi</i> Mez
		Protein extract	<i>Moringa oleifera</i>

Cynara spp. (Yabani enginar)

Ülkemizde yöresel adıyla yabani enginar olarak bilinen *Cynara cardunculus* L. büyük başlı ve mor renkli çiçekleri olan yabani bir bitkidir. *Compositae* familyasından olan bu bitki Akdeniz bölgesi kıyılarında, Portekiz, Kuzey Afrika, ve İspanya' nın güneyinde; Türkiye'de ise özellikle Ege ve Akdeniz Bölgesinde yetişmektedir (Tejada ve ark. 2006; Chazarra ve ark. 2007). Bu bitkiden elde edilen ve "Cardoon" olarak isimlendirilen enzimler 2000 yılı aşkın bir süre boyunca İber yarımadasında, Güney Avrupa'da ve Arjantin'in çeşitli bölgelerinde kremi yumuşak dokusu ve kendine özgü tadı olan çeşitli geleneksel peynirlerin üretimi amacıyla kullanılmaktadır (Prados ve ark. 2007). Günümüzde *Cynara* cinsi çiçeklerinin boyuncuk ve tepelik bölümlerinden elde edilen Cardoon enzimi Portekiz'de Serra ve Serpa; İspanya'da koyun sütünden yapılan Los Pedroches, La Serena, Torta del Casar; keçi sütünden yapılan Los Ibores; koyun ve keçi sütü karışımından yapılan Flor de Guia gibi peynirlerin üretiminde kullanılmaktadır (Roseiro ve ark. 2003; Egito ve ark. 2007; Duarte ve ark. 2009). Bu tür peynirler özgün karakteristik özelliklerinden dolayı, Avrupa Birliği tarafından Protected Designation of Origin (POD) (Menşe Korunmalı Tanımlama) olarak belirlenmiş ve korunmuştur (Esteves ve ark. 2003). *Cynara* spp. bitkisinin çiçeğinde yüksek oranda proteolitik enzimler bulunmaktadır. Bu durum peynirde yumuşak ve yağlı bir dokuya ancak kısmen yumuşama ve şekil kaybı ile tekstürel hatalara yol açabilmektedir (Göncü ve Alpkent, 2006).

Çizelge 3. *Cynara L.* ile üretilen peynirler (Roseiro ve ark. 2003)

Ülke	Peynir	Süt
Portekiz	Serra da Estrela	Koyun
	Serpa	Koyun
	Azeitão	Koyun
	Nisa	Koyun
	Castelo Branco	Koyun
	Évora	Koyun
İspanya	Casar de Cáceres	Koyun
	Torta del Casar	Koyun
	La Serena	Koyun
	Los Pedroches	Koyun
	Los Ibores	Keçi
	Flor de Guía	Koyun ve keçi

Cynara cardunculus L. çiçeklerinin boyuncuk ve tepelik bölümlerinden elde edilen "Cardosin A" ve "Cardosin B" pıhtılaştırıcıları kimozin gibi aspartik proteazlardır. Cardosin A enzimi kimozin benzeri özellik ve aktivite gösterirken, "Cardosin B" olarak tanımlanan enzim pepsine benzer özelliktedir. Cardosin B, Cardosin A'ya göre daha proteolitik ve her iki enzim de κ -kazein'in Phe₁₀₅-Met₁₀₆ bağına etki etmektedir. Enzim maksimum aktiviteyi pH 5.12 de göstermektedir. Yapılan araştırmalar, *Cynara cardunculus*'tan elde edilen enzimlerin kazeinolitik fraksiyon aktivitesinin ve tipinin; ekstraksiyon yöntemi, kuru ya da taze çiçek kullanımı, ekstrakte edilen bitki miktarı ve yetiştiği bölgeden etkilendiğini

göstermektedir. Farklı bölgelerden toplanan bitkilerdeki ekstraktların farklı proteolitik aktiviteye ve süt pıhtılaştırıcı özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Esteves ve ark. 2003). *Cynara cardunculus* L. çiçeklerinden elde edilen enzimlerin inek sütü peynirlerinde acı tat ve doku kusurlarına neden olduğu saptanmıştır. Laboratuvar ortamında izole edilmiş sığır κ -kazeine karşı Cardosinin etkisi üzerine yapılan araştırmalar, Cardosinin diğer süt pıhtılaştırıcı enzimler (kimozin) gibi sadece Phe₁₀₅-Met₁₀₆ bağı parçaladığını ve proteolitik katsayının aynı derecede olduğunu göstermektedir. α_{s1} - ve β -kazein üzerindeki proteolitik etkinin; peynirin randımanını, tekstürünü ve lezzetini etkilediği bilinmektedir. Enzimin tat üzerindeki etkisi ise temelde acı peptitlerin oluşumundan kaynaklanmaktadır (Jacob ve ark. 2011).

Solanum dubium

Sudan'da geniş bir alanda yetişen yabancı *Solanum dubium* bitkisinden üretilen enzimler genellikle kırsal bölgelerde süt pıhtılaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Abdalla ve ark. (2010)'nın yaptığı çalışmada, *Solanum dubium* bitkisinin tohumlarının su ile ekstrakte edildiğinde yüksek pıhtılaştırma aktivitesine sahip olduğu ve pıhtılaşma süresinin kısa olduğu tespit edilmiştir. Süt pıhtılaştırma aktivitesi pH, inkübasyon sıcaklığı, NaCl ilavesi ile azalmakta; CaCl₂ ilavesiyle artış göstermektedir. Ahmed ve ark. (2009) *S. dubium* enziminin yüksek pıhtılaşma ve proteolitik etkinliklere sahip olduğunu ve çok geniş bir pH-sıcaklık aralığında (20-90 °C) stabil olduğunu tespit etmişlerdir.

Solanum esculentum, *Solanum macrocarpon* L. ve *Solanum melongena*'nın meyve özlerinin süt pıhtılaşma potansiyeli açısından test edildiği bir çalışmada pıhtılaştırıcı enzimlerin salınmasının meyve miktarına, ekstraksiyon süresine ve sodyum klorür konsantrasyonuna oldukça bağımlı olduğu tespit edilmiştir. Guiama ve ark. (2010) *S. esculentum* ve *S. macrocarpon*'dan elde edilen ekstraktların kazein üzerinde bir proteolitik aktivite meydana getirdiğini belirtmişlerdir.

***Calotropis procera* (Sodom elması)**

Calotropis procera (Sodom elması) bitkisinin yapraklarının özsuyu Nijerya ve Benin gibi bazı Afrika ülkelerinde geleneksel peynir üretiminde kullanılmaktadır. Aworth ve Muller (1987) buzağı renneti ve sodom elması özsuyunu kullanarak ürettiği peynirlerin özelliklerini karşılaştırmış, bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcı kullanılarak üretilen peynirlerde, proteolitik aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna rağmen peynir altı suyundaki serbest azot miktarının düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Calotropis procera* yapraklarından elde edilen ekstrakt kullanılarak üretilen peynirin daha sert ve zamksı olduğu saptanmıştır (Pontual ve ark. 2012; Mazorra-Manzano ve ark. 2013).

***Zingiber officinale* (Zencefil)**

Zingiber officinale Roscoe rizomundan elde edilen Zingibain, sütü pıhtılaştırma yeteneğine sahip bir sistein proteazı içermektedir (Gagaoua ve ark., 2015). Buzağı renneti ve papain ile karşılaştırıldığında daha yüksek süt pıhtılaştırıcı aktivite göstermektedir. Süt endüstrisinde, süt pıhtılaştırmak için buzağı renneti yerine ya da bu rennete ilave olarak kullanılabilir. (Hashim ve ark. 2011; Mazorra-Manzano ve ark. 2013). Hailu ve ark. (2014) zencefil ham özütü kullanılarak yapılan yumuşak peynir ile deve kimozini kullanılarak hazırlanan peynirin kalite özelliklerini karşılaştırmış, zencefil ile üretilen peynirin asitlik ve kül miktarının daha az olduğunu; toplam kuru madde ve protein içeriğinin ise deve kimozini ile üretilen peynire göre daha az olduğunu saptamıştır. Deve

sütünü koagüle etmek ve böylece deve sütünden peynir yapmak için zencefilin kullanılabileceğini belirtmiştir.

Hashim ve ark. (2011) buzağı kaynaklı rennet ve zencefil kullanarak ürettikleri Peshawari peynirinde fizikokimyasal özellikler (yağ, protein, laktoz, asidite, pH) ve peynir mikroflorasında (toplam canlı, enterobakteri, laktobasil, küf ve maya) önemli derecede farklılık saptanmamışlardır. Bununla birlikte, zencefil proteazı ile üretilen peynirde nem seviyesi daha düşük, azot seviyesi ise daha yüksek bulunmuştur. Mazorra-Manzano ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada sıcaklığın, kivi meyvesi, kavun ve zencefil ekstraktlarının ilavesinin sütü pıhtılaştırma aktivitesi üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Kivi meyveleri ve zencefil ekstraktlarının sırasıyla 40 °C ve 63 °C gibi dar bir sıcaklık aralığında yüksek aktivite göstermesine rağmen kavun ekstraktlarının 45-75 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığı üzerinde yüksek süt pıhtılaştırma aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Kivi ekstraktları kullanılarak elde edilen pıhtıların, ticari rennet kullanılarak elde edilenlerle karşılaştırılabilir duyu özelliklere sahipken, kavun ekstraktları kullanıldığında kırılğan bir jel yapısı ve düşük pıhtı verimi oluşturduğunu bildirmişlerdir. Üç bitki ekstraktının süt pıhtılaştırma reaksiyonunun bu ekstraktlarda bulunan proteaz özelliği ile ilgili olduğunu, ayrıca kivi proteazlarının kimozen benzeri özellikler sergilediğini ve bu nedenle peynir üretiminde süt pıhtılaştırıcı olarak kullanılmak için üç bitki ekstraktı arasından en iyi potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Sideroxylon obtusifolium

Sideroxylon obtusifolium, Quixaba olarak da bilinen; Caatinga kuzey doğu'ya özgü bir ağaçtır ve nehir kıyıları gibi sulak alanlarda, Ceará ve Rio Grande do Sul kıyılarındaki kumsallarda, Mato Grosso ve São Francisco Vadisinde çok sık rastlanmaktadır. Kalsiyum bakımından zayıf kil topraklarında yetişen bu türün tıbbi özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. Silva ve ark. (2013) *Sideroxylon obtusifolium*'dan elde edilen öz suyun süt pıhtılaştırma işlemi için proteaz kaynağı olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada Quixaba özütünün potansiyel bir süt pıhtılaştırıcı kaynak olduğu belirlenmiştir. Pıhtılaştırma maddesi olarak en iyi performansı pH 8 ve 40 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda (optimum 55°C) göstermiştir. Quixaba'dan elde edilen proteazın geniş sıcaklık ve pH değerlerinde stabil olduğu ve peynir üretimi için hayvansal rennete alternatif olduğu belirtilmiştir.

***Jacaratia corumbensis* O. Kuntze (Yabani papaya)**

Yabani papaya (*Jacaratia corumbensis* O. kuntze), Brezilya'da yarı kurak bölgelerde yetişen bir çalıdır. Duarte ve ark. (2009) tarafından, *Jacaratia corumbensis* O. kuntze'den (kök lateksi) elde edilen enzimin yüksek süt pıhtılaştırma aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Optimum pH ham ekstrakt için 6.5 iken, kısmen saflaştırılmış ekstrakt için 7.0 olarak belirlenmiştir. Maksimum süt pıhtılaştırma aktivitesi her iki ekstrakt için 55 °C olarak saptanmıştır. 33 kDa molekül ağırlığına sahip ve bir sistein proteazı olan enzimin potansiyel bir süt pıhtılaştırıcı kaynağı olabileceği belirtilmiştir.

***Balanites aegyptiaca* (Çöl hurması)**

Balanites aegyptiaca, Kuzey Kamerun ve diğer kurak ve yarı kurak bölgelerde yetişen odunsu bir ağaçtır. Beka ve ark. (2014) tarafından *Balanites aegyptiaca*'nın potansiyel bir pıhtılaştırıcı olup olmadığı araştırıldığı bir çalışmada bu bitki özütünün aspartik ve serin proteazı içerdiği belirlenmiştir. pH 5.0 ve pH 8.0'de optimum aktivite gösteren bu enzimler

için ortak ve optimum sıcaklık 50 °C'dir. Proteolitik aktivite, pH 5.0'te sığır kimozininden daha termostabildir. Bu ekstraktın peynir yapımı için uygunluğu henüz tam olarak saptanmamasına rağmen hayvansal rennete alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Albizia spp.

Albizia julibrissin tohumlarının peynir olgunlaşmasından 3 ay sonrasına kadar herhangi bir acılık geliştirmeyen süt pıhtılaştırıcı proteolitik enzimlere sahip olduğu bilinmektedir. *Albizia lebbek* ve *Helianthus annuus* tohum ekstraktlarının süt pıhtılaştırma aktivitesinin incelendiği bir çalışmada; Albizia tohum ekstraktının spesifik pıhtılaştırma aktivitesinin, ayçiçeği çekirdeği ekstraktından 15 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak ayçiçeği özü κ-kazeini Phe105-Met106 bağından hidrolize ederken, Albizia ekstratı κ-kazein üzerinde Lys116-Thr117 bağını hedef almıştır. Ayçiçeği enziminden daha aktif olan Albizia tohumları da hayvansal rennetler yerine kullanılabilir uygun bir ikamedir (Egito ve ark. 2007).

Moringa oleifera

Moringa oleifera; *Moringaceae* familyasından, kuzey batı Hindistan, Asya, Afrika ve Güney Amerika'nın birçok bölgesinde yetişebilen, küçük boylu bir ağaçtır. Kalsiyum, potasyum ve antioksidan bakımından zengin (α ve γ -tokoferol) ve çoğunlukla Filipinlerde yiyeceklerde kullanılan bir bitkidir. Çiçeklerinin kazeinolitik ve süt pıhtılaştırma faaliyetlerini saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada, enzimlerin pH 4'te veya 50 °C'de en yüksek kazeinolitik aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir. Süt pıhtılaştırma aktivitesi, süt endüstrisinde *M. oleifera* çiçeklerinin pıhtılaştırıcı olarak kullanılabilirliğini göstermektedir (Vieira ve ark. 2010; Pontual ve ark. 2012).

Citrus aurantium

Citrus aurantium narenciye çiçeklerinin (*azahar*); buhar distilasyonu ile elde edilen uçucu yağları, hoş aromaları ile bilinmektedir (Jabalpurwala ve ark. 2009). *Citrus aurantium*, acı portakal olarak da anılan, Sonora Meksika Eyaleti'nde yetiştirilen, meyve ve çiçeklerinin çoğu atılan bir süs bitkisidir. Bununla birlikte bu bitkinin kabuk, tohum, yaprak, çiçek ve diğer kısımları teknolojik açıdan yararlar sağlamaktadır. Bu nedenle Mazorra-Manzano ve ark. (2013) *C. aurantium* L. çiçeğinden elde edilen ekstraktın, belirli sıcaklık ve pH'da süt pıhtılaştırma ve proteolitik aktivitesindeki etkisini belirleyerek, proteolitik enzimlerin 35-70 °C'de süt pıhtılaştırma aktivitesi gösterdiğini saptamışlardır. Ham ekstraktın proteaz aktivitesinin, sütü ticari rennetin pıhtılaştırdığı sürede pıhtılaştırmak için yeterli olduğu belirtilmiştir. *Citrus aurantium* çiçeği ekstraktının farklı proteaz tipleri içerdiği ve peynir üretimi için yeni bir enzim kaynağı potansiyeline sahip olduğunu vurgulamışlardır.

***Physalis peruviana* (Altın çilek)**

Halk arasında inka eriği, yer çileği, yer kirazı, kış kirazı olarak da bilinen altın çilek, sıcak bölgelerde yetişen ve boyu 0.6-0.9 metreye ulaşabilen, çok yıllık bir bitkidir. Sarı ve kırmızı renkleri arasında sert bir kabuğu bulunmaktadır. Kabuk ayrıldıktan sonra içinde küçük, yuvarlak, yaklaşık 3 cm çapında ve turuncu renkte meyve kısmı, bu meyvenin iç kısmında da sarı küçük renkte çekirdekler bulunmaktadır. Hasat edildiğinde acı bir tada sahip olan bu bitkinin meyvesi bir süre sonra meyvenin olgunlaşmasıyla daha tatlı olmaktadır. Altın çilek kanser, sıtma, astım, hepatit, romatizma gibi hastalıkları tedavi edici özelliğinden dolayı yaygın biçimde tıbbi bitki olarak kullanılmakta; mineraller, provitamin

A, vitamini C ve vitamin B kompleksi kaynağı olup, içerdiği antosiyanin ve karotenoidlerden dolayı da güçlü bir antioksidan özelliğe sahip bulunmaktadır. Lifli yapısı ile sindirimi kolaylaştırmaktadır (Erkaya ve ark. 2012; Naz ve Choudhary, 2003). Dini sebeplerden dolayı hayvansal ürünlerin tüketiminin kısıtlı olduğu Hindistan'da altın çilek bitkisi ile pıhtılaştırılan peynirler tüketilmektedir. Bu enzimlerin proteolitik aktivitesinin fazla olması nedeniyle çabuk acılaşıma ortaya çıkmaktadır. Üretimde altın çilek bitkisinin meyvesi bir tülbent içine alınarak sıkılmakta ve elde edilen meyvenin suyu ılık süte karıştırılarak teleme elde edilmektedir (Saydam ve Güzeler, 2012).

***Euphorbia maculata* (Teleme/Töreme otu)**

Teleme otu; *Spotted spurge* veya *Prostrate spurge* olarak bilinen, *Euphorbiaceae* familyasından, tek yıllık bir bitkidir. Güneşli yerlerde ve kuru topraklarda yetişmekte, genellikle bahçelerde ve çimlerde ot gibi yayılmış şekilde görülmektedir. Bitki sert zeminlerde veya duvarlardaki çatlaklarda büyüme özelliğine de sahiptir. İçerdiği proteazlardan dolayı süt pıhtılaştırma özelliğindeki bu bitki, teleme üretiminde kullanılmaktadır. Teleme otunun dal uçlarından elde edilen özsu ılık süt içine daldırılmakta ve sürekli karıştırılmaktadır. Karışım katı bir görünüm aldığından yani pıhtı gerçekleştiğinde teleme oluşumu da tamamlanmaktadır (Say ve Güzeler, 2016).

***Gundelia tournefortii* (Kenger otu)**

Kenger otu; Orta, Doğu, Güneydoğu Anadolu, Akdeniz ve Ege Bölgesinde sıklıkla görülen sütlü, dikenli ve otsu, doğada kendiliğinden yetişen bir bitkidir (Levent ve Algan-Cavuldak, 2012). Kenger bitkisinin yaprakları, gövdesi, kökleri ve tohumu gıda olarak tüketilmektedir. Bitkinin tohumu ham yağ (%16.2), ham protein (%12.6) ve ham lif (%27.2) ile zengindir. K, Ca, P, Na, Fe, Mg, Zn mineralleri, ayrıca yağ asitleri, tokoferol ve steroller içermesinden dolayı da beslenmede önemli yer tutmaktadır (Matthaus ve Ozcan, 2011). Bitkinin gövdesinin kesilmesiyle çıkan sütten elde edilen sakız, kenger sakızı veya çengel sakızı olarak isimlendirilmektedir. Ebrahimi ve ark. (2015) yoğurdun kalite özelliklerini arttırmak amacıyla kenger bitkisini pulp haline getirerek, farklı oranlardaki kenger pulplarını (%0, 1, 3, 5, 10, 15, 20) yoğurda ilave etmişler ve depolama boyunca yoğurtların özellikleri incelemişlerdir. Çakmakçı ve Dağdemir (2013) kenger yaprakları ve sütünün dondurma üretiminde stabilizatör olarak da kullanılabildiğini belirlemişlerdir. Kenger otu süt pıhtılaştırma aktivitesine sahip, potansiyel bir pıhtılaştırıcı ve enzim kaynağıdır ve ülkemizde de teleme üretiminde kullanılmaktadır (Say ve Güzeler, 2016).

***Cicer arietinum* (Nohut)**

Nohut, en önemli baklagillerden biri olup iyi bir enerji, protein, mineral, vitamin ve diyet lifi kaynağıdır. (Wood ve Grusak, 2007; Bakr, 2013). Fu ve Zhang (2013); nohut, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* ve %5 şeker ilave ederek ürettikleri yoğurtlarda, yoğurt fermentasyonunda izoflavan gikozitlerinin hidrolize olduğunu ve kullanılan bakterilerin izoflavan gikozitlerini aglukona dönüştürdüğünü saptamışlardır. Bakr (2013), nohutun sudaki ekstraksiyonu ile ürettiği inek ve deve yoğurtlarının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitelerinin her iki yoğurt için de önemli düzeyde olduğunu belirlemiştir. Yoğurtların duyuusal değerlendirmesinde nohutun sudaki ekstraksiyonu ile üretilen inek yoğurtlarının deve yoğurtlarına göre tercih edildiğini belirtmiştir.

Diğer pıhtılaştırıcılar

Cucumis melo meyvesinin serin proteazının, papain'inkine kıyasla daha stabil bir süt pıhtılaştırma aktivitesine sahip olduğu belirtilmektedir. *Lactuca sativa*'dan elde edilen serin proteazının, yağ içeriği farklı olan sütler ve yağsız sütlerde pıhtılaşmayı desteklediği bildirilmiştir (Lo Piero ve ark. 2002; Pontual ve ark. 2012). *Oryza sativa* tohumlarından elde edilen aspartik proteaz, kimozin ve pepsin ile benzer bir şekilde κ-kazein hidrolizi gerçekleştirilmektedir. *Silybum marianum* çiçek özlerinden elde edilen aspartik proteazların keçi ve koyun sütü kazeinlerini hidrolize ettiği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Cavalli ve ark. 2008; Duarte ve ark. 2009). Pontual ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada *Bromelia hieronymi* meyvelerinin ekstraktı kullanılarak üretilen peynirin görünüm, yapı, doku ve lezzet gibi duyuşal özellikleri açısından kabul edilebilir olduğunu belirlemişlerdir.

Sonuç

Sütün pıhtılaşması peynir üretiminin temel reaksiyonlarındanr. Bu amaçla ilk olarak ve en sık kullanılan peynir mayaları, hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcılarıdır. Peynir üretiminde dünya çapındaki artış, hayvan rennetinin yetersizliğine neden olmuş ve uzun süre uygun rennet ikameleri için çalışmalar yapılmış ve rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmeler ile kaynak yetersizliği kısmen problem olmaktan çıkmıştır. Ancak hayvansal kaynaklı rennetin kullanımı ile ilgili etik konular ve dini kısıtlamalar, bu enzim ile elde edilen ürünlerin vejetaryen beslenme alışkanlıklarına uygun olmaması gibi nedenler bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcılara olan ilgiyi arttırmıştır. Bitkisel pıhtılaştırıcılar çok eski zamanlardan beri peynir üretiminde kullanılmakta ve ürün çeşitliliğini arttırmaktadır. Bitkisel pıhtılaştırıcı enzimlerin sahip oldukları güçlü proteolitik etki, peynirin tekstürünü, tadını ve randımanını etkilemektedir. Yüksek proteolitik aktivite peynirde acı tat oluşumuna sebep olurken, pıhtı oluşumunu hızlandırmakta dolayısıyla tüketici istekleri doğrultusunda alternatif olabilmektedir. Bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcılar, sert peynir üretiminde düşük verimlilik göstermelerine karşın, yumuşak dokulu peynirlerin üretiminde başarılı sonuçlar vermektedir. Bu bağlamda bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcı enzimler, peynir ve yeni süt ürünlerinin üretiminde ve peynir olgunlaştırma aşamasının hızlandırılmasında yüksek bir potansiyel sunmaktadır.

Kaynaklar

- Abdalla, M.O.M., Ali D.A.A. and B.E. Mohamed. 2010. Extraction, Milk Clotting Activity Measurements and Purification of *Solanum dubium* Fresen (Gubban) for Cheese Making. World Journal of Dairy and Food Sciences, 5 (2), 152-159.
- Ahmed, I.A.M., Morishima I., Babiker E.E., and N. Mori. 2009. Characterisation of Partially Purified Milk-clotting Enzyme from *Solanum dubium* Fresen Seeds. Food Chemistry, 116 (2), 395-400.
- Akar, B. and S. Fadıoğlu. 1999. Teleme Production by Purified Ficin. Journal of Food Quality, 22, 671-680.
- Amira, A.B., Makhlof I., Petrut R.F., Francis F., Bauwens J., Attia H., Besbes S. and C. Blecker. 2017. Effect of Extraction pH on Techno-functional Properties of Crude Extracts from Wild Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) Flowers. Food Chemistry, 225, 258-266.

- Aworth, O.C. and H.G. Muller. 1987. Cheese Making Properties of Vegetable Rennet from Sodom Apple (*Colotropis procera*). Food Chemistry, 26 (1), 71-79.
- Bakr, S.A. 2013. Nutritional and therapeutical values of chickpea water extract enriched yoghurt made from cow and camel milk. American Journal of Drug Discovery and Development, 3 (2), 47-59.
- Beka, R.G., Krier F., Botquin M., Guiama V.D., Donn P., Libouga D.G., Mbofung C.M., Dimitrov K., Slomianny M.-C., Guillochon D. and D. Vercaigne-Marko. 2014. Characterisation of a Milk-Clotting Extract from *Balanites aegyptiaca* Fruit Pulp. International Dairy Journal, 34 (1), 25-31.
- Cakmakçı, S. and E. Dagdemir. 2013. A Preliminary Study on Functionality of *Gundelia tournefortii* L. as a New Stabiliser in Ice Cream Production. International Journal of Dairy Technology, 66 (3), 431-436.
- Cavalli, S.V., Silva S.V., Cimino C.F., Malcata X., and N. Priolo. 2008. Hydrolysis of Caprine and Ovine Milk Proteins, Brought About by Aspartic Peptidases from *Silybum marianum* Flowers. Food Chemistry, 106, 997-1003.
- Cerretani, G. 2001. Da 'Detersivo' a Coagulante: le Molteplici Azioni Del Cardo. Caseus-Via Lattea, 6, 16.
- Chazarra, S., L. Sidrach, D. Lopez-Molina, and J.N. Rodríguez-López. 2007. Characterization of the Milk-Clotting Properties of Extracts from Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Flowers. International Dairy Journal, 17 (12), 1393-1400.
- Dayısoylu, K.S., Duman A.D., Gezginç Y. ve İ. Akyol. Kahramanmaraş telemesi. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 412-416. 23-24 Eylül 2004, Van.
- Duarte, A.R., D. M. R. Duarte, K.A. Moreira, M.T.H. Cavalcanti, J.L. Lima-Filho and A.L.F. Porto. 2009. *Jacaratia corumbensis* O. Kuntze a New Vegetable Source for Milk-Clotting Enzymes. Brazilian Archives of Biology and Technology, 52 (1), 1-9.
- Ebrahimi, A., A.M. Sani, and M.H. Islami. 2015. Evaluation of Rheological, Physicochemical, and Sensory Properties of *Gundelia tournefortii* yogurt. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 4, 146-159.
- Egito, A.S., J.M. Girardet, L.E. Laguna, C. Poirson, D. Molle, L. Micloc, G. Humbert and J. L. Gaillard. 2007. Milk-Clotting Activity of Enzyme Extracts from Sunflower and Albizia Seeds and Specific Hydrolysis of Bovine κ -Casein. International Dairy Journal, 17 (7), 816-825.
- Erkaya, T., E. Dagdemir and M. Sengül. 2012. Influence of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana* L.) Addition on the Chemical and Sensory Characteristics and Mineral Concentrations of Ice Cream. Food Research International, 45 (1), 331-335.
- Esteves, C.L., A. Luceya, B.D. Hyslopa and E.M. Piresb. 2003. Effect of Gelation Temperature on the Properties of Skim Milk Gels Made from Plant Coagulants and Chymosin. International Dairy Journal, 13 (11), 877-885.
- Faccia, M., G. Picariello, A. Trani, P. Loizzo, G. Gambacorta, C. Lamacchia, and A. Di Luccia. 2012. Proteolysis of Caciocotta Cheese Made from Goat Milk Coagulated with Caprifig (*Ficus carica sylvestris*) or Calf Rennet. European Food Research and Technology, 234 (3), 527-533.
- Fadiloglu, S., 2001. Immobilization and Characterization of Ficin. Nahrung Food, 45 (2), 143-146.
- Fernandez-Salguero, J., L. Tejada and R. Gomez. 2002. Use of Powdered Vegetable Coagulant in the Manufacture of Ewe's Milk Cheeses. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82 (4), 464-468.

- Fox, P.F., T.P. Guinee, T.M. Cogan and P.L. McSweeney. 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.
- Fu, Y.H and F.C. Zhang. 2013. Changes in Isoflavane Glucoside and Aglycone Contents of Chickpea Yoghurt During Fermentation by *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37 (5), 744-750.
- Gagaoua, M., N. Hoggas and K. Hafid. 2015. Three Phase Partitioning of Zingibain, a Milk-Clotting Enzyme from *Zingiber officinale* Roscoe Rhizomes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 245-252.
- Göncü, A. ve Z. Alpkent. 2006. *Cynara cardunculus* L. Bitkisinden Elde Edilen Cardoon Enziminin Özellikleri ve Peynir Üretiminde Kullanılması. Türkiye 9. Gıda Kongresi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No 33, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Guiama, V.D., D.G. Libouga, E. Ngah, R.G. Beka, K.C. Ndi, B. Maloga, J.M. Bindzi, P. Donn and C.M. Mbofung. 2010. Milk-Clotting Potential of Fruit Extracts from *Solanum esculentum*, *Solanum macrocarpon* L. and *Solanum melongena*. *African Journal of Biotechnology*, 9 (12).
- Hailu, Y., E. Seifu and Z. Yilma. 2014. Physicochemical Properties and Consumer Acceptability of Soft Unripened Cheese Made from Camel Milk Using Crude Extract of Ginger (*Zingiber officinale*) as Coagulant. *African Journal of Food Science*, 8 (2), 87-91.
- Hashim, M.M., D. Mingsheng, M.F. Iqbal and C. Xiaohong. 2011. Ginger Rhizome as a Potential Source of Milk Coagulating Cysteine Protease. *Phytochemistry*, 72 (6), 458-464.
- Jabalpurwala, F., J. Smoot and R Rouseff. 2009. A Comparison of Citrus Blossom Volatiles. *Phytochemistry*, 70 (11-12), 1428-1434.
- Jacob, M., D. Jaros and H. Rohm. 2011. Recent Advances in Milk Clotting Enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, 64 (1), 14-33.
- Levent, H. ve Ö. Algan-Cavuldak. 2012. Geleneksel kenger kahvesi ve sakızı. III. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu. Bildiri Kitabı: 618-619. 10-12 Mayıs 2012, Konya.
- Lo Piero, A.R., I. Puglisi and G. Petrone. 2002. Characterization of ‘‘Lettucine’’, a Serine-Like Protease from *Lactuca sativa* Leaves, as a Novel Enzyme for Milk Clotting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (8), 2439-2443.
- Lomolino, G., S. Zannoni and G. Di Pierro. 2015. Characterization of Crude Esterase Activity from Two Plants Used in Cheese Making: *Cynara cardunculus* L. and *Ficus carica* L. *Food Biotechnology*, 29 (4), 297-316.
- Matthaus, B. and M.M. Ozcan. 2011. Chemical Evaluation of Flower Bud and Oils of Tumbleweed (*Gundelia tournefortii* L.) as a New Potential Nutrition Sources. *Journal of Food Biochemistry*, 35 (4), 1257-1266.
- Mazorra-Manzano, M.A., T.C. Perea-Gutiérrez, M.E. Lugo-Sánchez, J.C. Ramirez-Suarez, M.J. Torres-Llanez, A.F. González-Córdova and B. Vallejo-Cordoba. 2013. Comparison of the Milk-Clotting Properties of Three Plant Extracts. *Food chemistry*, 141(3), 1902-1907.
- Naz, A., and M.I. Choudhary. 2003. Withanolides from *Withania* Coagulans. *Phytochemistry*, 63 (4), 387-390.
- Pontual, E. V., B.E.A. Carvalho, R.S. Bezerra, L.C.B.B Coelho, T.H Napoleao and P.M.G. Paiva. 2012. Caseinolytic and Milk-Clotting Activities from *Moringa oleifera* Flowers. *Food Chemistry*, 135 (3), 1848-1854.
- Prados, F., A. Pino and J. Fernández-Salguero. 2007. Effect of a Powdered Vegetable Coagulant from *Cynara cardunculus* in the Accelerated Ripening of Manchego Cheese. *International Journal of Food Science and Technology*. 42 (5), 556-561.

- Rogelj I., B. Perko, A. Francky, V. Penca and J. Pungercar. 2001. Recombinant Lamb Chymosin as an Alternative Coagulating Enzyme in Cheese Production. *Journal of Dairy Science*, 84 (5), 1020-1026.
- Roseiro, L.B., M. Barbosa, J.M. Ames and R.A. Wilbey. 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.
- Say, D. ve N. Güzeler. 2016. Süt Pıhtılaştırılmasında Kullanılan Bazı Bitkiler. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 253-261
- Saydam, İ.B. ve N. Güzeler. 2012. Bazı Bitkisel Pıhtılaştırıcıların Sütü Pıhtılaştırma Kuvvetleri. III. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu. 701-703. 10-12 Mayıs 2012, Konya.
- Shah, M.A., S.A. Mir and M.A. Paray. 2014. Plant Proteases as Milk-Clotting Enzymes in Cheesemaking: a Review. *Dairy Science and Technology*, 94 (1), 5-16.
- Silva, A.C.D., T.C.E.D.S. Nascimento, S.A.D. Silva, P.N. Herculano and K.A. Moreira. 2013. Potential of Quixaba (*Sideroxylon obtusifolium*) Latex as a Milk-Clotting Agent. *Food Science and Technology (Campinas)*, 33 (3), 494-499.
- Tejada, L., A. Abellán, J.M. Cayuela and A. Martínez-Cacha. 2006. Sensorial Characteristics During Ripening of the Murcia Al Vıno Goat's Milk Cheese: the Effect of The Type of Coagulant Used and The Size of The Cheese. *Journal of Sensory Studies*. 21 (3), 333-347.
- Uniacke-Lowe, T. and P.F. Fox. 2017. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Fourth Edition. pp: 69-113. Editor: P. L.H. McSweeney, P.F. Fox, P. Cotter and D.W. Everett. Chymosin, Pepsins and Other Aspartyl Proteinases: Structures, Functions, Catalytic Mechanism and Milk-Clotting Properties.
- Vieira, A.M.S., M.F. Vieira, G.F. Silva, Á.A. Araújo, M.R. Fagundes-Klen, M.T. Veit and R. Bergamasco. 2010. Use of Moringa oleifera Seed as a Natural Adsorbent for Wastewater Treatment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 206 (1-4), 273-281.
- Wood, J.A. and M.A. Grusak 2007. Nutritional Value of Chickpea. p: 101-142. Editor: S.S Yadav, R.J. Redden, W. Chan, B. Sharma. Chickpea Breeding and Management. Cromwell Press, Trowbridge, UK.