



Peynir Teknolojisinde Kullanılan Hayvansal Kaynaklı Enzimler ile İlgili Güncel Araştırmalar

Hasan Alptuğ Akgün^{1*}, Tuğba Kök Taş¹

^{1*} Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye, (ORCID: 0000-0002-3808-3003), alptugakgun@gmail.com

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye (ORCID: 0000-0001-8813-6479), tugbakoktas@sdu.edu.tr

(1st International Conference on Engineering and Applied Natural Sciences ICAENS 2022, May 10-13, 2022)

(DOI: 10.31590/ejosat.1097335)

ATIF/REFERENCE: Akgün, H.A., Kök Taş, T. (2021). Peynir Teknolojisinde Kullanılan Hayvansal Kaynaklı Enzimler ile İlgili Güncel Araştırmalar. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (36), 61-66.

Öz

Peynir üretiminde bitkisel, hayvansal ve mikrobiyolojik pıhtılaştırıcılar kullanılmaktadır. Sütün pıhtılaşması, peynir üretiminde en önemli basamaklardan bir tanesidir ve süt pıhtılaştırma enzimleri bu basamakta önemli rol oynar. Hayvansal türdeki pıhtılaştırıcıların insanlığın ilk tarihinden itibaren kullanıldığı, her ne kadar azalan hayvansal kaynaklara karşın, dünya çapında peynir üretimindeki artış nedeniyle kullanımları sınırlı hale gelse de, günümüzde geleneksel üretim de dahil olmak üzere çeşitli peynirlerin üretiminde hala kullanıldıkları bilinmektedir. Bu derlemede, hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcılar ile ilgili bilgiler ve güncel araştırmalar sunularak genel bir bakış açısı oluşturmak ve literatüre bu konuda katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Şirden, Rennet, Kimozin, Pepsin, Hayvansal Pıhtılaştırıcılar.

Current Research on Animal-Derived Enzymes Used in Cheese Technology

Abstract

In the manufacturing of cheese, coagulants obtained from herbal, animal, and microbiologic sources are utilized. The most crucial step in the cheese-making process is milk coagulation. Animal rennet has been used as a milk coagulant since the dawn of history. Although despite the fact that their use has been reduced due to an increase in the production of cheese, it is known that they are still used as a coagulant. This review aimed to provide an information and contribute to the literature by presenting information and current research on coagulants of animal origin.

Keywords: Abomasum, Rennet, Chymosin, Pepsin, Animal Coagulants

* Sorumlu Yazar: alptugakgun@gmail.com

1. Giriş

Süt ürünlerinin atası olarak bilinen peynirin, 8000 yıl önce Fırat ve Dicle nehirleri arasında kalan Mezopotamya Bölgesinde geliştiğine dair yazılı kaynaklar bulunmaktadır [1]. Peynirin ilk defa hangi bölgede ve hangi tarihte üretildiğine dair kesin olarak bilgi olmasada, Orta Asya'dan göç eden Türk boylarında peynir ve peynir gibi süt ürünlerinin kullanıldığı bilinmektedir [2]. Peynir, ülkemizde olduğu kadar tüm dünyada da üretilip tüketilmekte ve çok fazla çeşitlilik göstermektedir. Sandine ve Elliker 1970 yılında 1000'den fazla peynir çeşidinin varlığından bahsetmiş, 1981 yılında Burkhalter 510 peynir çeşidini sınıflandırmış, 1972 yılında ise Walter ve Hargrove 400 çeşidini tanımlamış ve 400'den fazlasının ismini listelemiştir [1]. Türkiye'de ise 100'den fazla peynir çeşidi bilinmektedir fakat bunlardan beyaz peynir, kaşar peynir ve tulum peynir çeşitleri ulusal ve ekonomik değere sahiptir. Türkiye'deki diğer önemli peynirler lor, dil, çökelek, otlu peynir ve mihaliç peyniridir [3]. Bu peynir çeşitliliğine sahip ülkemizde üretim, TÜİK Aralık 2020 tarihli verilerine göre inek peynirinde 2020 yılı Ocak-Aralık aylarında toplam 739774 ton, diğer peynirlerde (keçi, manda, koyun ve karıştırılmış sütlerden üretilmiş peynir çeşitleri) ise 27173 ton olarak açıklanmıştır. TÜİK Aralık 2021 tarihli verilere göre de, 2021 yılı Ocak-Aralık aylarında inek peyniri üretimi 735733 ton, diğer peynirlerde 27533 ton olmuş ve bir önceki yılın Aralık ayına göre inek peyniri üretimi % 0.5 azalmış, diğer peynirlerin üretimi de % 1.3 artmıştır [4].

Sütün peynir pıhtısına dönüşmesi genellikle enzimatik pıhtılaşma yoluyla gerçekleşmektedir. Sütü pıhtılaştrabilen enzimler bitki, hayvan ve mikroorganizmalardan elde edilen asit proteazlardır [5]. Peynirin son özelliklerinin belirlendiği sütün pıhtılaşması, peynir üretiminde en önemli basamaklardan bir tanesidir. Pıhtılaşma işleminde kullanılan ajanlar nedeniyle protein yapısının yıkımında farklılıklar oluşmakta, böylece hidrofobik peptidlerin ve kazeinin hidrolizi ile verimde, peynir tekstüründe (elastikiyet, kırılabilirlik, yapışkanlık, sertlik, sakızimsılık ve çignenebilirlik) ve aroma bileşenlerinde gerçekleşecek (özellikle ransit tat) değişiklikler etkilenmektedir [6].

Buzağı renneti, peynir üretiminde en çok kullanılan hayvansal pıhtılaştırıcıdır. Bununla birlikte, azalan buzağı renneti kaynağına karşın dünya çapında yaşanan peynir üretimindeki artış, buzağı renneti ikamelerinin aranmasına neden olmuştur [7]. Bu nedenle rennetin dışında, peynir üretiminde süt pıhtılaştırıcıları olarak bilinen farklı kaynaklar da (hayvansal, bitkisel, mikrobiyal veya genetik olarak değiştirilmiş mikroorganizmalar) kullanılmaktadır [8]. Rennet yerine geçecek pıhtılaştırıcının zayıf proteolitik etkiye sahip ve kolayca peynir altı suyunda denatüre olması gerekmektedir [9].

Bu çalışmanın amacı, kullanımı geçmişten günümüze süregelen hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcıların özellikleri hakkında yayınlanmış çalışmalara genel bir bakış sağlamaktır.

2. Hayvansal Pıhtılaştırıcılar

Hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcılar, süttten kesilmemiş buzağların midelerinin dördüncü bölümü olan şirdenden (abomasum) elde edilen [5] kimoziin (EC 3.4.23.4), kimotripsin (EC 3.4.21.1), tripsin (EC 3.4.21.4) ve pepsin (EC 3.4.23.1) enzimleridir [10]. Bu enzimlerden tripsin ve kimotripsinin sahip oldukları proteolitik etki, peynirde çoğunlukla acı tada sebebiyet veren peptidlerin oluşmasına neden olduklarından ve bazen de pıhtıyı yeniden parçalayabileceklerinden peynir üretiminde tercih

edilmemektedirler. Bu sebeplerden dolayı yaygın olarak kullanılan enzim kimoziindir [11].

Araştırmalarda ve endüstride ise peynir üretiminde kullanılan peynir enzimi, rennet enzimi olarak tanımlanmıştır [3]. Endüstride, rennetin, sıvı, toz ve macun formları kullanılmaktadır. Peynir üretiminde geniş kullanıma sahip ilk iki form, endüstriyel bazda buzağı şirdeninden üretilmektedir. Rennet, buzağı şirdeni dışında çoğunlukla kuzu veya oğlak şirdeninden de yapılmakta olup macun halinde ve el yapımı olarak da üretilmektedir [8]. Bunun dışında deve, bufalo, ren geyiği gibi geviş getiren hayvanlar, tavşan gibi tek mideli hayvanlar, munida, kalamar, ton balığı ve yayın balığı gibi kabuklular ile deniz hayvanlarından da süt pıhtılaştırma enzimleri üretildiği bildirilmiştir [12].

Rennet, iki ana asidik proteolitik enzimin enzimatik preparatı olup, hayvanların kesilmiş oldukları yaşa, beslenme şekillerine, elde edilen kaynağına göre farklı oranlarda kimoziin ve pepsin enzimi içermektedir ([11], [13]). Kimoziin enzimi, buzağların midesinde ilk günlerde en fazla bulunmakta, zamanla enzim seviyesi düşmekte ve pepsin enzimi kimoziin enziminin yerine geçmektedir. Böyle bir durumda şirdenden üretilen kimoziin enziminin miktarı azalmakta ve rennetin kalitesi düşmektedir ([14], [15]).

Buzağı şirdeninden üretilen peynir pıhtılaştırma enzimleri çoğunlukla %88-94 (v/v) kimoziin ve %6-12 (v/v) pepsin içermekte, bu enzimler dışında iz miktarda kimotripsin, tripsin ve lipaz enzimleri de bulunabilmektedir [11]. Bir aspartik proteaz olan kimoziin, buzağı rennetinin aktif formudur ve bu aktif form olan kimoziinin molekül ağırlığı buzağı rennetinde 35-40 kDa, kuzu ve oğlak rennetinde 36 kDa, deve rennetinde ise 40 kDa'dur ([16], [17]).

Sütle beslenen ve geviş getiren hayvanların dördüncü midesinde üretilen proteaz grubunda, kazein misellerinde κ-kazein zincirinin hidrolizinden sorumlu olan renneti (kimoziin'i) araştıran bir çalışma yapılmıştır. Bu enzimler, peynir yapımında süt pıhtılaştırıcı olarak kullanılması sebebiyle çok değerlidir. Mevcut araştırma, keçi midesinden elde edilen enzimi saflaştırmak ve karakterize etmek için yapılmıştır. Enzim, oğlak abomasum dokusundan ekstrakte edilmiş, anyon değiştirici ve jel filtrasyon kromatografisi kullanılarak yaklaşık 30 kat saflaştırılmıştır. Oğlak kimoziini DEAE-selüloz iyon değişim kolonundan geçirilmiştir. Saflaştırılmış enzim, SDS-PAGE üzerinde 36 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahip olduğu, Western blot analizi ile doğrulanmıştır [16].

Kimoziin, preprokimoziin olarak hücre içinde sentezlenmekte ve prokimoziin halinde inaktif zimojen olarak salgılanmaktadır. Asidik pH'da aktive olarak, kimoziin veya pseudokimoziine dönüşmektedir. Kimoziin ve pseudokimoziin sütü pıhtılaştırma aktivitesine sahiptir [18]. Pseudokimoziin, asidik pH'da uzun süre değişmeden kalabilir. Ancak pH 4.5'in üzerine çıktığında hızla kimoziine dönüşmektedir [19]. Kimoziin, izoelektrik noktası pH 4.6-4.7 olan [20], pH 5.3-6.3 arasında stabil, pH 7'nin üzerine çıktığında veya yüksek asitli koşullarda aktivitesi oldukça azalan bir enzimdir. Kimoziinin optimum sıcaklığı 41°C'dir. 20°C'nin aşağısında ve 50°C ve üzeri sıcaklıklarda pıhtılaştırma gücü çok düşük olan bir enzimdir [5]. Buzağı kimoziini, κ-kazeinin Phe 105-Met 106 arasındaki peptid bağımlı kırarak sütü pıhtılaştırmaktadır [21].

Pepsin, midenin alt bölümlerinde bulunan mukoza hücrelerinde inaktif halde bulunur. Mukoza hücrelerinden salgılanan pepsinojen, midedeki asitli ortamda etkin hali olan pepsine dönüşür. Pepsin de kimoziin gibi pH 7'nin üzerinde hızlı bir şekilde aktivitesini yitirir ve optimum pH aralığı 1.7-2.3'tür. Pepsinin proteolitik aktivitesi yüksek olduğu için peynirlerde

olgunlaşma aşamasında ransit tat bileşenlerinin oluşmasına neden olması, pepsinle üretilen peynirlerin, kimozinle üretilen peynirlerden daha az sertlikte pıhtıya sahip olması ve pepsin enzimi kullanıldığında, peynir altı suyu ile kayıpların daha fazla olması nedenleriyle pepsinin tek başına kullanımı verimli olmamaktadır ([19], [5])

Lipoliz, peynir olgunlaşması sırasında meydana gelen başlıca biyokimyasal değişikliklerden biridir. Lipoliz sırasında serbest yağ asitlerinin (FFA'lar) salınmasının peynirlerin lezzetini etkilediği düşünülmektedir [22]. Peynirde bulunan lipolitik ajanlar doğal olarak süttten (süt lipazları), rennetten (pregastrik ve gastrik lipazlar) ve mikroflora aktivitesinden gelen lipolitik enzimlerdir [23]. Rennetin katkısı, rennet tipine bağlıdır. En yaygın olarak kullanılan ticari buzağı ve sığır rennetleri normalde lipolitik aktivite içermez. Öte yandan, midesi dolu, süttten kesilmemiş kuzuların kesilmesiyle elde edilen rennetler, pregastrik lipaz (PGL) içeriği nedeniyle yüksek lipolitik aktiviteye sahiptir [24].

Addis ve arkadaşları, süt kuzularından elde edilerek hazırlanmış rennetten (A), otlamaya izin verilen ve aynı zamanda emmeye devam eden kuzulardan hazırlanmış rennetten (B) ve ticari rennet preparatından (C) oluşan üç farklı kuzu rennet macununun, PDO Pecorino Romano peyniri üzerindeki biyokimyasal ve duyuşsal özelliklerin etkisini araştırmışlardır. Muhtemelen daha genç olan kuzuların yaşından veya emmeden sonra kesim koşullarındaki farklılıklardan dolayı A ve B rennetlerinin kimozin aktivitelerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Hazırlanan rennetlerdeki lipolitik aktivitelerin sonuçlarının yüksek çıkmasının, muhtemelen emmeyle uyarılan PGL salgılanmasına bağlı olarak gelişmiş olabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca kuzular süt emdikten kısa bir süre sonra kesildiğinde, PGL'nin abomasada ve dolayısıyla da rennet macununda kaldığını göstermişlerdir. A ve B peynirlerinin, özellikle kısa zincirli serbest yağ asitlerinin seviyelerine ve hepsinden önemlisi bütirik asit seviyelerine bağlı olarak daha yüksek toplam serbest yağ asidi içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir [25].

3. Hayvansal Enzimler Kullanılarak Üretilen Peynirler İle Yapılan Çalışmalar

Hayvansal enzimler ile ilgili 2000 yılından sonra yapılan çalışmalar bu bölümde özetlenmiştir.

Sığırdan elde edilen kimozinin, deve süttünü pıhtılaştıramamasından yola çıkan Al-zoreky ve Almatheren, rekombinant bir deve kimozini kullanarak deve süttünden peynir pıhtısı üretmeyi amaçlamış ve yumuşak yapıda peynir ürettiklerini belirtmişlerdir. Termofilik starter kültürler ile kültürlenmiş deve süttünün (%8.75), kültürlenmemiş deve süttüne (%3.34) göre daha yüksek peynir verimi ürettiğini ve termofilik starter kültürün beyaz yumuşak peynirde (pH 5.27) daha düşük nem içeriğine (51.89%) katkıda bulunduğunu rapor etmişlerdir [26].

Manuelian ve arkadaşları, %75 kimozin, %25 pepsin içeren endüstriyel buzağı renneti ve endüstriyel Galium bitkisel rennetinin (*Cynara cardunculus*), bufalo süttü üzerindeki pıhtılaşıma özelliklerini incelemişlerdir. Bitkisel rennet kullanılan örneklerin pıhtılaşımaya başlaması, hayvan renneti kullanılan örnekler göre daha uzun zaman aldığı, her iki rennetin de benzer pıhtı kalınlığı sunduğunu ve son ürünün benzer viskoelastik özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir [27].

Murgia ve arkadaşları, farklı Sardunya çiftlikleri tarafından üretilen, farklı yenilebilir keçi rennetlerinin mikrobiyolojik ve

fizikokimyasal özellikleri üzerine bir ön araştırma yapmışlardır. Yenilebilir keçi rennetinin, patojenik bakteriler içermediğini ve önemli sayıda (6-7 log cfu g⁻¹) mezofilik laktik asit bakterisi ile enterokok varlığıyla karakterize edildiğini göstermişlerdir. Tüm örneklerde en çok bulunan serbest yağ asitlerinin, oleik, linolenik, palmitik ve miristik asitler olduğunu, hem kaprilik hem de bütirik asit içeriklerinin ise miktar olarak en düşük sonucu verdiğini belirtmişlerdir. Uzun zincirli serbest yağ asitlerinin (\geq C18:0), toplam serbest yağ asitlerinin yaklaşık %50'sini temsil ettiğini ve çoklu doymamış serbest yağ asitleri arasında yüksek linoleik (C18:2n-6) ve alfa-linolenik (C18:3n-3) asit içeriği tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Yazarlar, yüksek sayıda canlı laktik bakterisine ve beslenme açısından serbest yağ asidi içeriğine sahip yenilebilir keçi rennetinin, mikrobiyolojik olarak güvenli olduğunu belirtmişlerdir [28].

Mamo ve Balasubramanian'ın, minimum pıhtılaşıma süresi için sıcaklık, pH ve kalsiyum klorür konsantrasyonu parametrelerini optimize ettikleri çalışmada, peş peşe ekstraksiyonla elde edilen, dört farklı parti kullanılarak bir buzağı şirdeninden iki litre buzağı rennetinin çıkarıldığının gözlemlendiği belirtilmiştir. Pıhtılaştırma gücünün Lambert (1988) yöntemi temel alınarak hesaplandığı ve 1:13148 bulunduğu rapor edilmiştir. Bu da, bir hacim rennetin 13148 hacim süttü pıhtılaştırdığı anlamına gelmektedir. Elde edilen buzağı rennetinin, minimum pıhtılaşıma süresi sağlamayı amaçlayan tasarım uzmanı V-7 kullanılarak optimize edildiği belirtilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak optimum sıcaklık 39.13 °C, kalsiyum klorür konsantrasyonu 0.21 g 500ml⁻¹ ve pH 4 koşullarında minimum 91.27 s pıhtılaşıma süresi elde edildiği söylenmiştir [29].

Soltani ve arkadaşları, pıhtılaştırıcı olarak beş *Rhizomucor miehei*'nin proteazı ve deve kimozini kombinasyonu kullanarak İran ultrafiltrasyon (UF) beyaz peyniri üretmiş, üretilen peynirlerin 90 günlük olgunlaşma süresince reolojik ve mikroyapısal özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmada UF tekniği ile mikrobiyal (*Rhizomucor miehei*) enzim kullanılarak elde edilen A peyniri, UF tekniği ile hayvansal enzim kullanılarak elde edilen B peyniri, geleneksel yöntem ve mikrobiyal enzim kullanılarak elde edilen C peyniri, geleneksel yöntem ve hayvansal enzim kullanılarak elde edilen D peyniri olmak üzere 4 ayrı yöntem kullanılmış ve süte 65°C'de 15 dakika pastörizasyon işlemi uygulanmıştır. Deve kimozini seviyelerinin artmasının daha düşük proteoliz seviyesine neden olduğu, böylece peynirlerde daha kompakt bir protein ağı ve daha sıkı bir doku ile karşılaşıldığı belirtilmiştir. Deve kimozini konsantrasyonunun artmasıyla birlikte peynirlerin depolanma süresinin ve kayma modüllerinin arttığını, zarar teğetin azaldığını rapor etmişlerdir. Analiz edilen peynirlerin elastikliği, deve kimozini ile karşılaştırıldığında muhtemelen R. miehei'nin daha yüksek proteolitik aktivitesi nedeniyle büyük oranda azaldığını belirtmişlerdir. Deve kimozininin daha az proteolitik aktiviteye sahip olmasından dolayı, koagülant olarak artan deve kimozini seviyesinin, peynirlerde daha yoğun protein kümelenmesi ve daha kompakt bir yapıya neden olduğundan bahsetmişlerdir [30].

R. miehei NRRL 2034'den fungal rennin kullanılarak, laboratuvarında ultrafiltrasyon yöntemi ile üretilen beyaz yumuşak peynir, kontrol olarak kullanılan buzağı renneti ile üretilen peynire çok yakın özellikler gösterdiği belirtilmiştir. Fungal rennet ile üretilen peynirin, buzağı renneti ile üretilen kontrol peynirinden daha fazla çözünür azot, toplam uçucu yağ asitleri, tirozin ve triptofan değerleri ortaya çıkardığı rapor edilmiştir [31].

Ayana ve arkadaşlarının çalışmalarında, *M. mucedo* KP736529 enzimi (E-peynir) ve kontrol olarak kullanılan ticari

buzağı renneti (C-peynir) ile domiati peyniri üretmişlerdir. E-peynirin kimyasal özelliklerinin ve veriminin daha iyi olduğu rapor edilmiştir. Fungal enzimin, acı tat kusurlarından yoksun olarak buzağı rennetinden daha yüksek proteolitik aktivite gösterdiği belirtilmiştir. E-peynirin, organoleptik skorlarının da C-peynirinden daha yüksek olduğundan bahsedilmiştir [32].

An ve arkadaşları, pıhtılaştırıcı olarak mikrobiyal rennet ve buzağı renneti kullanarak minyatür cheddar tipi peynir üretmek ve olgunlaşma aşamasında peynirlerin karakteristiklerini karşılaştırmak için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, *Bacillus amyloliquefaciens*'den elde edilen mikrobiyal rennet ile üretilen pilot tipi cheddar peynirinin, buzağı renneti ile üretilen peynire benzer bir brüt bileşime sahip olduğunu göstermişlerdir. *B. amiloliquefaciens* kaynaklı mikrobiyal rennetin, buzağı rennetinden daha fazla proteolize neden olduğunu ve daha yumuşak peynir yapısına katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir. Ancak, hidrolitik ürünlerin, serbest amino asitlere veya düşük moleküler ağırlıklı peptitlere yeterli derecede hidrolize edilemediğini de belirtmişlerdir. Ek olarak, *B. amiloliquefaciens*'den mikrobiyal rennet ile üretilen peynirde istenmeyen ransit tadın varlığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar, *B. amiloliquefaciens*'den mikrobiyal rennetin yüksek proteolize neden olduğunu, olgunlaşma zamanı ve hem olgunlaşma zamanı hem de işlem sıcaklığının, yüksek proteolitik oranları telafi etmek için değiştirilebileceğini belirtmişlerdir [33].

Aspergillus niger FFB1'den okratoksin içermeyen, hücre dışı asit proteazı ile sulandırılmış inek sütü kullanılarak üretilen taze peynirin, buzağı renneti kullanılarak üretilmiş peynirlere benzer temel özellikler gösterdiği belirtilmiştir [34]. Özcan ve Vapur'un yaptıkları çalışmada, *Rhizomucor miehei* kaynaklı mikrobiyal rennet ve buzağı renneti kullanarak Türk beyaz salamura peyniri üretmişlerdir. Üretilen peynirlerin, serbest amino asit konsantrasyonu ve fizikokimyasal özellikleri bakımından benzer olduğu sonucuna ulaşmışlardır. 90 günlük olgunlaşma döneminden sonra *Rhizomucor miehei*'den elde edilen mikrobiyal rennet ve buzağı renneti ile üretilen peynir üzerinde yapılan deneysel çalışma, toplam acı tat veren amino asit içeriğinin (Phe, Leu-Ile, Val ve Pro) ve fizikokimyasal özelliklerinin her iki peynir türü için de benzer olduğunu göstermiştir [35].

Garcia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, keçi peyniri üretimi için teknolojik uygunluğu belirlemek amacıyla, bir mikrobiyal (*Mucor miehei*), iki bitkisel pıhtılaştırıcı (*Cynara cardunculus subsp. flavescons* ve *C. cardunculus subsp. cardunculus*) kullanarak ürettikleri taze keçi peynirinin fizikokimyasal, tekstürel, duysal ve proteolitik parametrelerini, buzağı renneti ile üretilen peynirle karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, bitkisel pıhtılaştırıcıların, mikrobiyal pıhtılaştırıcıya göre daha az süt pıhtılaşma süresi gösterdiğini belirtmişlerdir. Peynirlerin yağ, yağsız kuru madde ve protein içeriklerinin, pıhtılaştırıcı tipinden etkilenmediğini, ancak en yüksek değerlerin bitkisel pıhtılaştırıcılar ile yapılan peynirlere bağlı olarak kuru maddedeki farklılıklar olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmaya göre bitkisel pıhtılaştırıcı ile yapılan peynirler, buzağı renneti ve mikrobiyal pıhtılaştırıcı ile yapılanlardan daha fazla sertlik, sakızimsılık ve çiğneme özelliği gösterdiği belirtilmiştir. Duysal panel sonuçları, bitkisel pıhtılaştırıcılar ile yapılan peynirlerin, hayvan veya mikrobiyal pıhtılaştırıcı ile yapılan peynirlerden daha koyu görünüme, daha acı tada ve daha az sert yapıya sahip olduğunu gösterdiği rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak yazarlar, bitki pıhtılaştırıcılarının hayvan rennetine alternatif olarak kullanılabilmesine rağmen, olgunlaşma süresi ve starterlerin

kullanımı gibi duysal sonuçları iyileştirmek amacıyla yeni teknolojik stratejiler benimsenebileceğini söylemişlerdir [6].

B. subtilis var. natto, *Rhizopus oligosporus* ve ticari rennet tarafından üretilen proteazların süt pıhtılaştırma aktivitesinin karşılaştırılması ile ilgili bir çalışmada, ticari rennet tarafından oluşturulan pıhtının en yüksek viskoziteye, pıhtı gerginliğine ve en kısa pıhtılaştırma zamanına sahip olduğu rapor edilmiştir. Ticari renneti, diğer iki enzim arasında *Rhizopus oligosporus*'den elde edilen proteinaz tarafından üretilen pıhtı izlemektedir. En yüksek süt pıhtılaştırma aktivitesi ticari rennette kaydedilirken en fazla proteolitik aktivite *B. subtilis*'den elde edilen enzimde kaydedilmiştir. Elektron mikroskobu taramasından (SEM) elde ettikleri mikro yapıların gözlemlerinde, ticari rennet tarafından oluşturulan pıhtının 3 boyutlu ağ yapısının, diğerlerinden daha yoğun, daha sıkı ve daha düzgün olduğu belirtilmiştir [36].

Bazı çalışmalarda, kuzu rennet türünün enzimatik özelliklerinin, kuzuların yetiştirilmesinden ve kesim sisteminden etkilendiğini görülmüştür. Piredda ve Addis ile Addis ve arkadaşları, 25-30 günlük genç kuzulardan hazırlanan rennet macununun, sadece sütle beslenen veya otlanmasına izin verilen (karışık süt-çayır diyeti) kuzuların beslenmeden hemen sonra kesimi şartıyla %98-100 kimozin içerdiğini bildirmiştir. Kuzular süt emdikten 2 saat sonra kesildiğinde kimozinin %88'e düştüğü, kuzular kesilmeden 12 saat boyunca aç bırakıldıklarında ise toplam pıhtılaşma aktivitesinin %76'ya düştüğü belirtilmiştir. Aksine, Bustamante ve arkadaşları, 4 haftalık kuzulardan hazırlanan kuzu rennet macununun, kuzu öldürüldüğünde, midenin durumuna bakılmaksızın (boş veya süt dolu), kimozinin, toplam pıhtılaşma aktivitesinin %75-80'ini temsil ettiğini bulmuşlardır [37].

Jaros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, özellikle 34 °C ile 31 °C arasındaki sıcaklık değişimleriyle ilgili olarak hayvan rennetlerinin (iki ticari hayvan renneti), mikrobiyal pıhtılaştırıcılardan (*R. miehei*'den iki mikrobiyal rennet) daha kararlı olduğu belirtilmiştir. Hayvan renneti ve mikrobiyal pıhtılaştırıcılar kullanıldığında, jel sertliğinde ve jelleşme zamanında farklılıklar görüldüğünden bahsetmişlerdir. Hayvan renneti kullanıldıklarında, merkez nokta şartlarında tg'nin yaklaşık %10 daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bu etkinin, jelleşme sıcaklığı düşürülerek telafi edilebildiğini, aynı zamanda benzer jel sertliği elde etmek için az miktarda hayvan rennetinin gerekli olabileceğini de belirtmişlerdir [38].

Gil ve arkadaşları, peynir üreticilerinin kendi kullandıkları için hazırladıkları kuzu rennet macunlarının mikrobiyolojik kalitesini incelemek ve model olarak idiazabal peyniri kullanarak, bu pıhtılaştırıcılarla çiğ koyun sütüyle yapılan peynirlerin hijyenik kalitesini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Sonuç olarak yazarlar, hijyenik kalitesinin "şüpheli" olarak görüldüğü belirtilen çiğ süttan üretilmiş peynirler için kuzu rennet macunlarının kullanımı sonucunda, hijyenik kalitede iyi ürünlerin ortaya çıktığını göstermişlerdir. Bu durumun büyük olasılıkla fazla miktarda süte eklenen çok düşük miktarda mikroorganizma sayısından ve peynir olgunlaşması sırasında çoğalmaları için elverişsiz koşullardan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Geleneksel olarak üretilen kuzu rennet macunlarının kullanımının, çiğ süttan üretilmiş sert peynirlere ek bir kontaminasyon riski oluşturmadığını göstermişlerdir [39].

Fresno ve arkadaşları, yaygın olarak kullanılan ve geleneksel olarak üretilen doğal oğlak renneti macununun ve ticari buzağı rennetinin palmero peynirinin dokusuna ve rengine etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, kullanılan rennet çeşidinin peynir kompozisyonu üzerine daha az, renk ve doku üzerine ise daha fazla etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Doğal oğlak rennet

macunu ile yapılan peynirin, ticari rennet ile yapılan peynire göre daha sert, daha kırılabilir, daha elastik ve daha koyu olduğunu belirtmişlerdir [40].

Madadlou ve arkadaşları, az yağlı İran beyaz peynirindeki rennet konsantrasyonunun iki katına çıkarılmasının, dokunun reolojik özelliklerini ve duyu izlenimini geliştirdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, arttırılmış proteolitik aktivitenin, peynirin erime kabiliyetini arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bu enzim karışımının konsantrasyonunun üç katına çıkarılması, jel oluşturma fazı sırasında başlangıç kazein misel kümelenmesindeki değişiklikler nedeniyle ürün sertliğini arttıracığından bahsetmişlerdir [41].

Moatsou ve arkadaşları, geleneksel sıvı rennet kullanımının, beyaz peynirin, fizikokimyasal bileşimi, proteoliz gelişimi, serbest yağ asitleri profili, mikrobiyolojik özellikleri, tekstürel özellikleri ve lezzet puanları üzerine etkisini araştırmışlardır. Peloponnes'in Argos bölgesinde bulunan peynir fabrikalarında kullanılan geleneksel sıvı oğlak ve kuzu rennetlerinin, endüstriyel yöntemle göre beyaz peynir üretimine uyarlanması ile ilgili çalışmada, geleneksel sıvı rennetinin yanında, aynı sütle ticari buzağı renneti de kullanarak beyaz peynir üretmişlerdir. Sonuç olarak, oğlak ve kuzu şirdenlerinden elde edilen geleneksel rennet ve buzağı renneti miktarlarının, eşdeğer toplam süt pıhtılaşma aktivitelere ve benzer kimozi/pepsin oranlarına sahip olduğu belirtilmiştir. Geleneksel rennet kullanımının, olgunlaşma sırasında, fizikokimyasal kompozisyon ve proteoliz üzerinde önemli bir etkisi olmadığını, bu nedenle de rennetin orijininin önemli olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca kimozi/pepsin oranının, beyaz peynirin fizikokimyasal ve proteolitik özellikleri için kritik parametre olduğunun görüldüğünü rapor etmişlerdir. Olgun peynirlerin mikrobiyolojik ve tekstürel özelliklerinde önemli farklılıklar olmadığını, geleneksel sıvı rennet ile yapılan olgun peynirlerin, C4:0 ve C10:0 serbest yağ asitleri içeriklerinin, lezzet puanları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak diğer peynirden daha yüksek bulunduğunu göstermişlerdir [42].

Irigonyen ve arkadaşları, kuzu ve buzağı renneti kullanarak roncal peyniri üretmiş ve psikokimyasal, proteolitik ve duyu olarak karşılaştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada, kuzu rennetinin, buzağı rennetine göre, özellikle α_{s1} -kazeine olmak üzere, α_s -kazeine karşı daha büyük bir proteolitik aktivite sergilediğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, α_s -kazeinin parçalanma ürünü olarak adlandırdıkları α_{s1} -I-kazeininin oluşumu ve ardından bozunmasının, kuzu renneti kullanılarak yapılan peynirde daha hızlı gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, olgunlaşma sonunda buzağı renneti ile yapılan peynirde α_{s1} -I-kazeininin daha fazla miktarlarda bulunduğu belirtilmiştir [43]. Bustamante ve arkadaşları, geleneksel kuzu rennet macunu (kimozi/pepsin oranı; 80:20) ve ticari bir buzağı mayası (kimozi/pepsin oranı; 90:10) kullanarak idiazabal peynirinde proteolitik aktiviteyi incelemişlerdir. α_{s1} -kazeinin hidrolizinin, rennet tipinden önemli ölçüde etkilenmediğini, α_{s1} -I-kazein fraksiyonunun, sığır renneti ile yapılan peynirlerde, kuzu renneti kullanılarak yapılan peynirlerden daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Rennetin çeşidi β -kazeinin bozunma derecesini etkilemediğini de belirtmişlerdir [44].

4. Sonuç

Buzağı renneti, peynir yapımında en geniş kullanıma sahip hayvansal pıhtılaştırıcıdır. Bunun dışında diğer geviş getiren veya getirmeyen hayvanların da peynir yapımı için pıhtılaştırıcı kaynağı olarak kullanıldığı veya çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Hayvansal pıhtılaştırıcıların diğer pıhtılaştırıcılara

göre avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar, sütün yapısına, rennetin kaynağına, kaynağın yaşına ve beslenme diyetine bağlı olarak şirdenin özelliğinin ve dolayısıyla da peynir özelliklerinin değiştiğini göstermektedir. Artan peynir ihtiyacını karşılamak için gelecekte daha farklı hayvansal kaynaklardan ve hayvansal rennete eşdeğer mikrobiyolojik ve bitkisel kaynaklardan peynir üretimleri gerçekleştirmek üzere çalışmalar yapılacağı kesindir.

Kaynakça

- [1] Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2000). Cheese: Historical Aspects. In Colilla J. (Ed.), *Fundamentals of Cheese Science* (pp. 1-9). Aspen Publishers Inc, 2000.
- [2] Özer, B., Hayaloğlu, A.A. (2011). Giriş. In Hayaloğlu A.A., Özer B. (Eds.), *Peynir Biliminin Temelleri* (pp. 1-9), Sidaş.
- [3] Hayaloğlu, A.A., Guven, M., Fox, P.F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese "Beyaz Peynir". *International Dairy Journal*, 12, 635-648.
- [4] Türkiye İstatistik Kurumu, (2021). Süt ve Süt Ürünleri Üretimi. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Sut-ve-Sut-Urunleri-Uretimi-Aralik-2021-45747>
- [5] Çakmakçı, S., Cantürk, A., Çakır, Y. (2017). Peynir Üretimi İçin Sütü Pıhtılaştırıcı Enzimlere Genel Bir Bakış ve Güncel Gelişmeler. *Akademik Gıda*, 15(4), 396-408.
- [6] Garcia V., Rovira S., Teruel R., Boutoia K., Rodríguez J., Roa I., López M. B. (2012). Effect of vegetable coagulant, microbial coagulant and calf rennet on physicochemical, proteolysis, sensory and texture profiles of fresh goats cheese. *Dairy Science & Technology*, 92, 691-707.
- [7] Cavalcanti, M.T.H., Teixeira, M.F.S., Lima, J.L., Porto, A.L.F. (2004). Partial purification of new milk-clotting enzyme produced by *Nocardia* sp. *Bioresource Technology*, 93, 29-35.
- [8] Moschopoulou E. (2011). Characteristics of rennet and other enzymes from small ruminants used in cheese production. *Small Ruminant Research*, 101, 188-195.
- [9] Bansal, N., Drake, M.A., Piraino, P., Broe, M.L., Harboe, M., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 19(9), 510-517.
- [10] Yetişemiyen, A. (2007). Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Basımevi,
- [11] Üçüncü, M. (2004). A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri.
- [12] Liu X., Wu Y., Guan R., Jia G., Ma Y., Zhang Y. (2021). Advances in research on calf rennet substitutes and their effects on cheese quality. *Food Research International*, 149.
- [13] Jacob M., Jaros D., Rohm H. (2011). Recent advances in milk clotting enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, 64, 14-33.
- [14] Kurt, A. (1987). Edirne Tipi (Salamura) Beyaz Peynir İşleme Tekniği. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı.
- [15] Guinee T.P., Wilkinson M.G. (1992). Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture. *Journal of the Society of Dairy Technology*. 45, 94-104.
- [16] Kumar A., Sharma J., Mohanty A.K., Grover S., Batish V.K. (2006). Purification and characterization of milk clotting enzyme from goat (*Capra hircus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 145, 108-113.

- [17]Meghwal M., Anusha R., Bindhu O.S. (2017) Plant-based Coagulants in Cheese Making: Review. In Meghwal M., Goyal M.R., Chavan R.S. (Eds), *Dairy Engineering, Advanced Technologies and Their Applications*, Apple Academic Press Inc.
- [18]Mohanty, A.K., Mukhopadhyay, U.K., Grover, S., Batish, V.K. (1999). Bovine chymosin: production by rDNA technology and application in cheese manufacture. *Biotechnology Advances*, 7(2-3), 205-217.
- [19]Dervişoğlu M., Aydemir O., Yazıcı F. (2007). Peynir Yapımında Kullanılan Pıhtılaştırıcı Enzimler ve Kazein Fraksiyonları Üzerine Etkileri. *Gıda*, 32 (5), 241-249.
- [20]Metin, M. (1998). Süt Teknolojisi: Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları.
- [21]Rawlings D. N., Salvasen G. (Eds.), *Chymosin. Handbook of Proteolytic Enzymes*, Academic Press.
- [22]Woo, A.H., Kollodge, S., Lindsay, R.C. (1984) Quantification of major free fatty acids in several cheese varieties. *Journal of Dairy Science*. 67, 874–878.
- [23]Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G (2003). Lipolysis and free fatty acids catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13, 841–866.
- [24]Bustamante, M.A., Chavarri, F., Santisteban, A., Ceballos, G., Hernandez, I., Miguelez, M.J., Aramburu, I., Barron, L.J.R., Virto, M., De Renobales, M. (2000). Coagulating and lipolytic activities of artisanal lamb rennet paste. *Journal of Dairy Research*, 67, 393–402.
- [25]Addis M., Piredda G., Pes M., Di Salvo R., Scintu M.F., Pirisi A. (2005). Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano Cheese. *International Dairy Journal*, 15, 563–569.
- [26]Al-zoreky N.S., Almathen F.S. (2021). Using recombinant camel chymosin to make white soft cheese from camel milk. *Food Chemistry*, 337.
- [27]Manuelian C. L., Boselli C., Vigolo V., Giangolini G., De Marchi M. (2020). Effects of animal versus vegetal rennet on milk coagulation traits in Mediterranean buffalo bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 103, 4958–4964.
- [28]Murgia M.A., Marcone M., Deiana P., Mangia N.P. (2019). Preliminary microbiological and chemical characterisation of edible goat's rennet, a unique product of Sardinian food tradition. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1327-1334.
- [29]Mamo A., Balasubramanian N. (2018). Calf rennet production and its performance optimization. *Journal of Applied and Natural Science*, 10(1), 247 – 252.
- [30]Soltani, M., Boran, O.S., Hayaloğlu, A.A. (2016). Effect of various blends of camel chymosin and microbial rennet (*Rhizomucor miehei*) on microstructure and rheological properties of Iranian UF white cheese. *Food Science and Technology*, 68, 724-728.
- [31]Abbas H.M., Foda M.S., Kassem J.M., Bayomi H.M., Moharam M.E. (2013). Production of White Soft Cheese Using Fungal Coagulant Produced by Solid State Fermentation Technique. *World Applied Sciences Journal*, 25 (6), 939-944.
- [32]Ayana I. A. A. A., Ibrahim A. E., Saber W. I. A. (2015). Statistical optimization of milk clotting enzyme biosynthesis by *Mucor mucedo* KP736529 and its further application in cheese production. *International Journal of Dairy Science*, 10 (2), 61–76.
- [33]An, Z., He, X., Gao, W., Zhao, W., Zhang, W. (2014). Characteristics of Miniature Cheddar Type Cheese Made by Microbial Rennet from *Bacillus amyloliquefaciens*: A Comparison with Commercial Calf Rennet. *Journal of Food Science*, 79(2), 224-221.
- [34]F. Fazouane-Naimi, A. Mechakra, R. Abdellaoui Nouani A., Daga S.M., Alzouma A.M., Gais S., Penninckx M.J. (2010). Characterization and cheese-making properties of rennet like enzyme produced by a local algerian isolate of *Aspergillus niger*. *Food Biotechnology*, 24(3), 258–269.
- [35]Özcan T., Vapur U. E. (2013). Effect of different rennet type on physico-chemical properties and bitterness in white cheese. *International Journal of Environmental Science and Development*, 4(1), 71–75.
- [36]Chen M. T., Lu Y. Y., Weng T. M. (2010). Comparison of milkclotting activity of proteinase produced by *Bacillus subtilis* var. natto and *Rhizopus oligosporus* with commercial rennet. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(10), 1369–1379.
- [37]Addis M., Piredda G., Pirisi A. (2008). The use of lamb rennet paste in traditional sheep milk cheese production. *Small Ruminant Research* 79, 2–10.
- [38]Jaros D., Seitler K., Rohm H. (2008). Enzymatic coagulation of milk: animal rennets and microbial coagulants differ in their gelation behaviour as affected by pH and temperature. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, pp. 1721–1727.
- [39]Gil P. F., Conde S., Albisu M., Pe´rez-Elortondo F.J., Etayo I.A., Virto M., Renobales M.D. (2007). Hygienic quality of ewes' milk cheeses manufactured with artisan-produced lamb rennet pastes. *Journal of Dairy Research*, 74, 329–335.
- [40]Fresno M. R., Álvarez S, Rodríguez V., Castro N., Argüello A. (2006). Evaluation of the Effect of Rennet Type on the Texture and Colour of Goats Cheese. *Journal of Applied Animal Research*, 30, 157-160.
- [41]Madadlou A., Khosroshahi A., Mousavi M. E. (2005). Rheology, Microstructure, and Functionality of Low-Fat Iranian White Cheese Made with Different Concentrations of Rennet. *Journal of Dairy Science*, 88, 3052–3062.
- [42]Moatsou G., Moschopoulou E., Georgala Aik., Zoidou E., Kandarakis I., Kaminarides S., Anifantakis E. (2004). Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry*, 88, 517–52.
- [43]Irigoyen A., Izco J.M., Ibanez F.C., Torre P. (2002). Influence of calf or lamb rennet on the physicochemical, proteolytic, and sensory characteristics of an ewe's-milk cheese. *International Dairy Journal*, 12, 27–34.
- [44]Bustamante M.A., Virto M., Aramburu M., Barron L. J. R., Perez-Elortondo F. J., Albisu M., Renobales M. (2003). Lamb rennet paste in ovine cheese (Idiazabal) manufacture. Proteolysis and relationship between analytical and sensory parameters, *International Dairy Journal*, 13, 547-557.