

GELENEKSEL GIDALARIN ÜRETİMİNDE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALAR

Geleneksel biyoteknoloji olarak da adlandırılan ve bugün de biyoteknolojik uygulamaların önemli bir bölümünü oluşturan bu gruptaki teknolojiler günümüzde birçok yönüyle (mikrobiyolojisi, biyokimyası) bilinen uygulamalardır. Son yıllarda bu uygulamalarda gözlenen gelişmeler, üretimin daha ekonomik olması ve kalite artırımını amacına yöneliktir.

1.1. Süt Endüstrisinde Biyoteknolojik Uygulamalar

Sütte biyoteknolojik uygulamaların tarihçesi genel mikrobiyolojideki gelişmelere doğrudan bağlıdır. Arkeolojik bulgular, MÖ 4 binli yıllarda İsviçre’ de peynir yapıldığını kanıtlamaktadır.

Süt ürünleri teknolojisindeki asıl gelişme, 1860’lı yıllarda Danimarka ve Hollanda süt işletmelerinin ekşimeyi hızlandırmak için tereyağına işlenecek kremaya yayık altı katmaları ile gerçekleşmiştir. Ancak, bu şekilde elde edilen tereyağının bazen iyi bazen kötü kalitede olmasından, kullanılan yayık altının sorumlu olduğunun anlaşılması üzerine 1885 sonrasında seçilmiş bakteri suşlarının aktif olarak üretilmesiyle elde edilen ilk starter kültür hazırlanmış ve ticari olarak piyasaya sürülmüştür.

Çeşitli süt ürünlerinin üretilmesinde değişik enzimler kullanılmaktadır. Bu sektörde bir proteaz olan rennin yanında laktaz, lipaz ve esterazlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Süttten peynir üretiminde, peynirlerin olgunlaştırılmasında, laktozu az süt ve diğer bazı süt ürünlerinin üretiminde değişik enzimlerden yararlanılmaktadır.

1.1.1. Rennin (peynir mayası) üretimi

Peynir üretiminde ilk aşama sütün pıhtılaştırılmasıdır. Bu amaçla kullanılan “rennin” veya “kimozin” süt danalarının 4. midesinden ekstrakte edilmektedir. Rennin’in genç hayvanlardan elde edilmesinin nedeni; hayvanlar yaşlandıkça rennin enziminin aktivitesinin azalmasıdır. Rennin proteolitik özellikte, fakat kazeini çok az parçalayan spesifik bir enzimdir.

Peynir mayası olarak kullanılan renninin bu şekilde genç hayvanlardan elde edilmesiyle hem artan talep karşılanamamakta, hem de erken kesimlerden doğan ekonomik kayıplar söz konusu olmaktadır. Rennine alternatif olarak bazı mikroorganizmalardan (Örn: *Mucor miehei*) rennin benzeri bir proteaz elde edilmiştir. Mikrobiyel renninin üretilmesi çok daha ekonomiktir. Ancak mikroorganizmalardan elde edilen proteaz ile peynir yapımında, kontrolsüz proteolisis yönünden önemli protein kayıpları söz konusu olmaktadır. Bu enzimdeki rennin spesifikliğinin artırılması üzerinde çalışılmaktadır.

1.1.2. Peynir aroma kazandırma

Peynir üretiminde bazı laktik asit bakterisi kültürleri veya enzim uygulamaları ile peynirlerin olgunlaşmaları hızlandırılabilir. Çeşitli peynirlerin aroma kazanma süresini kısaltacak spesifik enzim sistemleri üzerinde çalışılmaktadır.

1.1.3. Laktaz geninin aktarılması

Süt endüstrisinde kullanılan starter kültürlerde canlılık ve laktoz fermantasyon yeteneği zamanla azalabilmektedir. Yapılan çalışmalarda Streptokok kültürlerde laktaz enzimini kodlayan genin plazmitlerde bulunduğu saptanmış ve bu genin plazmitlerden kaybını önlemek için kromozom DNA'sına taşınmıştır.

Gen aktarımı ile starter kültürde laktoz fermantasyon yeteneğinin sabitleştirilmesi ve laktozu fermente edebilen maya suşlarının elde olunabilmesi önemli bir olaydır. Çünkü peynir yapımı sırasında bir yan ürün olarak ortaya çıkan laktoz ekonomik bir kayıp olduğu gibi, aynı zamanda ciddi oranda çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bugün laktoz geni *Saccharomyces cerevisiae* mayasına ve *Xanthomonas compestris* bakterisine klonlanmış, böylece peyniraltı suyundaki laktoz etil alkole, THP'ye ve ksantan zankı gibi çeşitli maddelere dönüştürülebilmektedir. Peyniraltı suyu aynı zamanda aseton-bütanol ve yoğurt benzeri bir gıdanın üretilmesinde de başarıyla kullanılmaktadır.

Süt endüstrisinde kullanılan starter kültürler ürünlerin fiziksel çeşitliliği, kimyasal ve organoleptik özellikleri bakımından çok önemlidir. Her kültürün kazandırdığı aroma, asitlik vb özellikler farklıdır. Örneğin; Kuzey Amerika ve Avrupa'da sıkça rastlanan, işlenmiş sütteki malt aroması *Streptococcus lactis*'in, meyve aroması *Pseudomonas fragi*'nin metabolik aktiviteleri ile oluşmaktadır. Süt ürünlerinde istenilen tat, aroma, tekstür yapısını oluşturabilmek için mikroorganizmalar tek başına veya karışık kültür olarak kullanılırlar. Ancak karışık kültürlerin de üstünlükleri ve olumsuzlukları vardır. Bazı karışık yoğurt kültürlerinde (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) kültürün popülasyon yoğunluğu ve kültür veriminin, saf kültüre oranla, yaklaşık iki kat arttığı gözlenmiştir. Buna karşın karışık kültürlerin faj kontaminasyon olasılığının fazla olması olumsuz yönleridir.

Lactococcus ssp'ler gıda fermantasyonlarında kullanılan en önemli starter kültürlerdendir. Genellikle süt ürünlerinin üretiminde kullanılmakla birlikte, et ve sebze gibi diğer gıdalarda da yoğun kullanılmaktadır. Bu grup bakterilerde gen transferi, laktoz metabolizmaları, proteolitik aktiviteleri ve bakteriyofajlara dirençleri üzerinde yoğun biçimde çalışılmaktadır.

1.1.4. Laktoz hidrolizi

Bazı insanlar, sütteki laktozu parçalayacak yeteri kadar enzime sahip olmamaları nedeniyle, süt tüketiminde bulunamazlar (Laktoz intolerant). Mikrobiyal olarak üretilen Laktaz (Laktozym) enzimi süte ilave edildiğinde laktozu parçalayabilir. Laktoz hidrolizi dondurma yapımında tekstür, tat gibi özelliklerin geliştirilmesinde de kullanılır. Laktaz laktozu glikoz+galaktoza parçalar ve sonuçta süt tatlılaşır. Bu tatlılık artışı, süütün aromasının oluşturulmasında daha az şeker katmaya gerek duyulacağından, üretimde bir avantaj oluşturur. Bu işlem için *Lactobacillus helveticus*, *Saccharomyces lactis* gibi mikroorganizmaların immobilize sistemlerinden yararlanılmaktadır.

1.1.5. Hidrojen peroksitin uzaklaştırılması

Hidrojen peroksit sütteki mikroorganizma gelişmesini engellemek amacıyla koruyucu olarak katılır. Ancak bu amaçla süte katılan hidrojen peroksitin kullanılmadan kalan kısmı, toksik olduğundan, süttten uzaklaştırılması gerekir. Immobilize veya serbest sistemlerde katalaz enzimi kullanılarak hidrojen peroksidin fazlası su ve oksijene ayrıştırılır.

1.1.6. *Lactobacillus* ve *Bifidobacter*' lerin süt ürünlerinde kullanılmaları

Fermente süt ürünleri birçok toplumda beslenmede oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Bu amaçla kullanılacak mikroorganizma kültürlerinin ise insan bağırsak sisteminin doğal florasında bulunması, sindirim sisteminin üst kısımlarında canlı kalarak bağırsaklara kadar ulaşabilmesi, yararlı etki oluşturma kapasitesinin yüksek olması ve bulunduğu gıdada tüketilinceye kadar (depolama boyunca) canlılığını koruyabilmesi istenmektedir.

Bifidobacteria ve *L. acidophilus* gibi yararlı bakterilerin bağırsak duvarı üzerine tutunma ve gelişme özellikleri bulunmaktadır. *L. acidophilus*' un bulunduğu ortamda Gr (-) ve Gr (+) mikroorganizmalara karşı etkili antimikrobiyel maddeler ürettikleri (rneğin; acitophilin, lactocidin, acidolin, lactolin ve lactacin B gibi) bilinmektedir. *Bifidobakterler* ise *Salmonella*, *Shigella* ve enteropatojenik *E. coli*' den kaynaklanan bağırsak enfeksiyonlarına karşı koruyucu bir mikroflora oluşturmaktadır. *Bifidobakterlerde* antitümör aktivitesinin hücre duvarlarındaki dipeptidaz gibi bileşiklerle ilgili olduğu düşünülmektedir. *L. acidophilus*' da bu etki bağırsak sistemindeki kanserojenik bileşiklerin oluşumlarının engellenmesi ya da konakçının bağışıklık özelliklerinin artırılması şeklinde açıklanmaktadır.

L. acidophilus kültürlerinin diyetetik amaçlı kullanımlarıyla ilgili araştırmalar 20. yüzyılın başlarına kadar dayanmaktadır. İlk *acidophilus*' lu ürün olarak kabul edilen "acidophilus"lu süt" te zayıf gelişme, depolama boyunca canlılığın korunamaması gibi sorunlar ve duyuasal problemler zlmeye çalışılmakta ve bu amaçla çok farklı ürünler ortaya çıkarılmaktadır.

zet olarak, süt endüstrisindeki en önemli biyoteknolojik uygulamalar rennin ve laktaz enzimleri üzerindedir. Genetik ve protein mühendisliği ile birlikte diğer bilim alanlarındaki gelişmelerle laktoz assimile eden mayaların oluşturulması, starterlerin genetik ve fizyolojik özelliklerinin açıklanması, mikrobiyel yolla uygun rennin üretimi, kısa sürede peyniri olgunlaştıracak ve aroma kazandıracak starterlerin kullanılması bu alanda beklenen gelişmeler olacaktır.

1.1.7. Süt teknolojisinde kullanılan enzimler

Süt teknolojisinde yaygın olarak kullanılan enzimler aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- 1-Proteazlar, sütün kuaglasyonunda, peynirde tekstür ve flavor oluşumunda ,
- 2-Lipaz, peynirde flavor ve tekstür oluşumu için
- 3- Laktoz, düşük laktoz içeren süt retiminde
- 4-Katalaz, süt üretiminde patrizasyonda ve süt flavor ve tekstürü için
- 5-Glukooksidaz, peynir ve süt tozu üretiminde oksijen uzaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır

Lipazlar ve esterazlar enzimle modifiye edilmiş ürünlerin flavorlarını geliştirmek için kullanılmaktadır. Geçmişte, flavor gelişimi için süt bileşenlerine farklı lipaz uygulamaları konusunda bir çok patent yayınlanmıştır. Bunlar arasında yoğurt, bazı peynir türleri, süt yağı, krema ve süt tozu yer almaktadır.

1.2. Et Teknolojisindeki Biyoteknolojik Uygulamalar

Yarı kuru veya kurutulmuş fermente ürünlerde *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus pentasaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Penicillium* türleri gibi mikroorganizmalar tek başına kullanılabil-diği gibi *Pediococcus cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* veya *Pediococcus cerevisiae* ve *Micrococcus* türleri karışım olarak kullanılabilir. Fermente rnler için bilinen

starter kültürler *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Debaryomyces* ve *Penicillium* türleridir.

1.2.1. Sucuk yapımında kullanılan starter kültürler

Ülkemizde yerleşmemiş olmakla beraber, et teknolojisinde üretim güvenliği ve kaliteli ürün elde edebilmek için starter kültürler kullanılmaktadır. İlk defa Cesari 1919 yılında sucuklardan *Debaromyces* cinsi mayaları izole etmiş ve bu mayaları sucuk yapımında aroma geliştirici olarak kullanmıştır.

Amerikan tipi sucuk üretiminde “ACCEL” (*Pediococcus cerevisine*) veya “Lactacel” (*P. cerevisiae* ve *L. plantarum*) liyofilize olarak veya “Saga” adı altında dondurulmuş starter olarak kullanılmaktadır. Avrupa pazarlarında Saga 2 (*L. plantarum*), Saga 3 (*Lactobacil* ve *Miccococ*) adı altında ve diğer ticari isimlerle satılan starter kültürler, çabuk olgunlaşan Alman tipi sucukların yapımında kullanılmaktadır. Yine bir Alman firması tarafından pazarlanan “Duploferment 66” kombine bir preparat olup, nitratı indirgeyen “*Micrococ*’ ları ve homofermentatif *Lactobacil*’ leri içerdiğinden nitrat ve nitrit tuzları kullanılarak yapılan sucuklar için tavsiye edilmektedir.

1.2.1.1.Sucuklarda mikrobiyolojik olgunlaştırma

Sucuk fermente bir et ürünüdür ve mikroorganizmalar sucuk hamurunun hazırlanmasıyla birlikte hemen çalışmaya başlarlar. Bu arada ette bulunan enzimler de sucuk hamurunda bulunan yağ, karbonhidrat, azotlu maddeler vb maddeleri parçalayarak sucuğun renk, koku ve tadının değişmesine neden olurlar.

Sucukların olgunlaştırılmasında rol oynayan mikroorganizmalardan özellikle nitratları indirgeyen ve laktik asit oluşturan laktik asit bakterileri, öncelikle önemlidir. Laktik asit bakterileri, üretimde nitrat ve nitrit tuzları kullanıldığında, bunları parçalayan bakterilerin çalışmaları için ortamın pH’ sını uygun bir duruma getirirler. Böylece sucukta renk ve aroma oluşumunu sağlayan diğer bakteriler için de gerekli ortam hazırlanmış olur.

Olgunlaşmanın ilk devresinde laktik asit bakterileri diğer bakterilere oranla daha hızlı çalışırlar. Birkaç gün içerisinde sucuk hamurundaki sayıları en üst değere ulaşır. Çoğalmaları için sucuk bünyesindeki birçok besin maddesini kullanır ve metabolik ürünlerini de sucuğa verirler. Sucuk bu şekilde fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini değiştirir.

Laktik asit bakterilerinin yanısıra diğer bazı mikroorganizmalar da kendi metabolik aktiviteleri sonucu sucuğun olgunlaşmasında rol oynarlar. Bunlardan en çok bilineni nitrat indirgeyebilen ve katalaz (+) özellik gösteren Mikrokok’ lardır. Mikrokok’ lar sucuk hamurunun bileşimi, pH, sıcaklık vb koşullara bağlı olarak olgunlaşmanın başından itibaren çoğalmaya başlarlar. Ancak sayıları laktik asit bakterilerinin sayısına ulaşamaz ve laktik asit bakterilerinin faaliyet sonucu pH’nın düşmesiyle sayıları iyice azalır. Mikrokoklar nitratı, şekerleri ve diğer maddeleri parçalayarak olgunlaşmaya katkıda bulunurlar. Ayrıca katalaz (+) olduklarından, laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan hidrojen peroksidi parçalayarak sucukta yeşilimsi-gri renk oluşumunu (renk bozulması) engellerler.

1.2.1.2. Sucukların olgunlaştırılmasında starter kültürlerin rolü

Starter kültür kullanımı ile farklı yapılarında sucuklar elde edilebilir. Örneğin; yalnız Mikrokok aşılantı sucuklara oranla, laktik asit bakterisi ve Mikrokok’ ların birlikte kullanıldığı karışık

kültürle aşılannmış sucuklar kısa sürede sert bir yapı kazanırlar. Ayrıca, Mikrokoklarla aşılann sucuklar daha kısa sürede istenilen kırmızı rengi alırlar.

Starter kültürlerin sucuğa kazandırdıkları aroma, kullanılan mikroorganizmanın cinsine göre değişmektedir. Karışık kültür kullanıldığında asitliği daha fazla ve tuzu daha belirgin sucuk elde edildiği halde, Mikrokoklarla hazırlanan sucuklar daha hafif bir aroma kazanmaktadır. Sucuk hamurunda bulunan karbonhidratların laktik asit bakterileri tarafından laktik asite parçalanmasıyla pH düştüğü gibi, sucukta asitlik de artar.

Yağların mikroorganizmalar tarafından parçalanmasıyla sucukta değişik miktarlarda yağ asitleri, peroksitler, aldehitler, ketonlar vd bileşikler oluşarak sucuğa aroma verirler.

Starter kültürler olgunlaştırmada sucuk mikroflorasını da geniş ölçüde etkilerler. Starterli sucuklarda Gr (-) flora, özellikle *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerin sayıları hızla azalır. Böylece mikrobiyolojik bozulma önlenmiş olur.

Et ürünleri sanayiinde enzimler de kullanılmakta ve bunların çoğu da genetik modifiye mikroorganizmalar tarafından sentezlenmektedir. Bu enzimler daha çok etlerin tenderizasyonunu artırmak ve et ürünlerini stabilize etmek için kullanılmaktadır. Bu amaçla bitkisel orijinli papain (papaya bitkisinden), ficin (incirden), bromelin (ananasdan) küf orijinli proteazlar (*A. oryzae*, *A. niger*) ve bakteriyel kaynaklı (*B. subtilis*, *B. licheniformis*) enzimlerden yararlanılmaktadır.