

Alkol ve Alkollü İçkiler, Şarap ve Bira Endüstrisi

Alkol ve alkollü içkiler üretimi 8000 yıldır geleneksel biyoteknolojinin uygulama alanı olmuştur. Modern biyoteknoloji ile bu dalda ilginç gelişmeler beklenmektedir.

Bira

Bira sanayii ele alındığında son yıllarda malt fabrikalarında gözlenen kapasite artışı yanında, klasik tank olarak bilinen yaklaşık 30 tonluk fermantasyon tanklarının yerini 300 tonluk dik tanklar almıştır. Bu tanklar yüksek kapasitelerinin yanı sıra ve dinlendirme işlemlerinin aynı tank içinde 20-30 gün gibi kısa bir sürede tamamlanmasına olanak vermeleri nedeniyle ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadırlar. Maltın içerdiği enzimlerle birlikte kullanılan enzim preparatları ile;

1. Malt katkı maddelerinin kullanılma oranları artırılmakta,
2. Arpa ve malttan ileri gelebilecek kalite bozuklukları düzeltilebilmekte,
3. Filtrasyon işlemi kolaylaştırılmakta,
4. Biranın köpük tutması ve soğuğa dayanıklılığı artırılmaktadır.

Özellikle fiçı biralarında uygulanan “flash pastörizasyon” ile bu biralar daha uzun süre mikrobiyolojik bozulmalara karşı korunmaktadır.

Ayrıca bira sanayiinde kullanılan immunolojik yöntemler ile malt ve enzim katkıları da saptanabilmektedir.

Biracılık sektöründe biyoteknolojik uygulamalar yeni boyutlar kazanmaktadır. Bazı mayalardaki “Zymocide” faktörü biracılıkta önem kazanmaktadır. Bir fermantasyon kabında “%1’den daha az oranda Zymocide bulunması kaptaki bütün mayaları öldürmeye yetmektedir. Şimdi bu faktör bira mayalarına aktararak öldüren mayalardan etkilenmeyen bira mayaları elde edilmeye çalışılmaktadır.

Ayrıca yüksek sıcaklıklarda bile aktivite gösterebilen amilaz ve glukoamilaz enzimlerinin üretilmesi, hızlı fermantasyon yapan ve bira flavorunu artıran bira mayalarının oluşturulması gen aktarımı ile başarılmıştır.

Yine, enzim uygulaması ile %35 malt içeren arpalardan bira üretilmesi mümkündür. Enzimler ve DNA teknikleri üzerindeki çalışmalarla hiç maltlanmamış arpadan ve diğer hububatlardan bira elde edilmesi mümkün olacaktır.

Düşük Kalorili Bira

Normal mayşeleme koşulları altında maltın doğal enzimleri bütün nişasta bileşiklerini fermente olabilen şekerlere parçalayamaz. Dekstrinlerin bir bölümü birada kalır, biranın tüketimine kadar da varlığını sürdürür. Dekstrinler karbonhidratlardır ve yüksek kaloriye sahiptirler.

Bira üretiminde mayşeleme sırasında, enzimler destrinleri, maltoz ve glukoza parçalamaya çalışırlar. Bu fermente olabilen şekerler ise mayalar tarafından alkol ve karbondioksit dönuştürülür.

Düşük kalorili bira iki yolla yapılabilir. Bunlardan birincisi amiloglukozidaz enzimini kullanarak dekstrinleri glukoza dönüştürmektir. Diğer alternatif yol ise pullulanaz enzimi ile fungal amilazların kombine kullanımınıdır.

Düşük kalorili bira elde edilirken ortamdaki bütün karbonhidratları parçalayan bir maya, *Aspergillus awomari* ve *Aspergillus niger*'den alınan glikoamilaz geninin *S. cerevisiae*'de klonlanması ile elde edilmiştir. Bu tür biraların özelliği yalnız diyabetik olmaları değil, aynı zamanda da karbonhidratları sınırlı oranda bulundurmalarıdır. Alkol düzeyleri ise normal biralarla aynıdır (Enzymes at Work/NOWO 1989).

Biralarda Soğuk Bulanıklığı

Bira düşük sıcaklıklarda (örneğin buzdolabında 4-6 °C depolandığında, biradaki proteinler ve tanecikli bileşiklerin arasındaki reaksiyon sonucu oluşan çözülmez, koloidal maddelerden dolayı bulanıklıklar başlar. Bu soğuk bulanıklığının oluşması olasılığı papaya ağacından ekstrakte edilen papain ile veya diğer bazı proteolitik enzimleri kullanılıp, proteinler parçalanarak ortadan kaldırılabılır (Enzymes at Work/NOWO 1989).

Alkol

Alkol üretiminde modern biyoteknolojik çalışmalar alkol mayalarının genetik yapılarının değiştirilmesi üzerinde olmaktadır. Genellikle etanol üretiminde kullanılan *Saccharomyces* mayaları, hibridizasyon, mutasyon/seleksiyon, DNA ve protoplast füzyonu gibi yöntemlerle değiştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemlerle çok geniş bir pH aralığında çalışabilen, substrat kullanım alanı geniş, en önemlisi de fazla oranda etanol üretebilen mayalar elde edilmeye çalışılmaktadır. Bunların dışında extrem termofil, termofil ve mezofil alkol üreticileri arasında gen aktarımı ile "süper etanol üreticisi" mikroorganizmanın elde edilebilmesi olasıdır. Nişastalı hammaddelerden etanol üretiminde, nişastanın hidrolizi ve glikoza dönüşümü amilolitik özellikte ve etanol fermantasyonu yapabilen bir maya ile sağlanabileceği gibi yeni enzimlerle nişastadan %100'lük verimle alkol üretilmesi olası bir uygulama olacaktır.

Şarap

Şarap üretiminde biyoteknolojinin rolü, şarap mayalarının genetik modifikasyonlarında olacaktır. Çeşitli yöntemlerle mayanın metabolizması ve fizyolojisi ile genetiği anlaşıldığında hangi aroma maddesinin oluşacağı saptanabilecektir. Malolaktik fermantasyon şarapçılıkta çok önemlidir. Bazı şaraplardaki malik asit laktik asite dönüşmekte ve bu işlem şarabın tadını olumlu etkilemektedir. Malolaktik fermantasyon yapan laktik asit bakterilerinden malolaktik fermantasyon geni şarap mayalarına aktarılmıştır. *Lactobacillus delbrueckii*' nin malolaktik geni Sacc. mayalarına aktarılmış ve baskılanarak sınırlı oranlarda malolaktik fermantasyon yapmaları sağlanmıştır. Ayrıca bu yöntemin fizibil olduğu da açıklanmıştır.

Ayrıca şarap üretiminde kullanılan bazı enzimler şaraptaki aroma maddelerinin oluşumunu yönlendirebilmektedir.

THP

THP değişik besi yerlerinde uygun koşullar altında çoğaltılan mikroorganizmaların (bakteri, küf veya algler) oluşturduğu biyokütlenin bir ürünüdür.

Hızla artan dünya nüfusu ile birlikte ortaya çıkan gıda ve protein sorunu karşısında, gıda formülasyonlarında yer alacak yeni protein kaynaklarına yöneliş de artmaktadır. Giderek büyüyen bu protein açığıının kapatılmasında en önemli alternatiflerden birisini Tek Hücre Proteini (THP) oluşturmaktadır. Çoğu bakteri, maya ve küf hayvansal ürünlere eşdeğer protein içeriğine sahiptir ve uygun koşullarda geliştirildiklerinde bitkisel proteinlerden daha iyi bir protein kaynağıdır. THP, çoğunlukla mikroorganizmaların pahalı olmayan bir azot kaynağı üzerinde geliştirilmesi ile üretilmektedir.

Mikroorganizmalar, bitki ve hayvanlardan daha hızlı çoğaldıkları ve bazıları optimum koşullarda ve uygun substrat üzerinde kendi hücrelerinin %80'i kadar protein oluşturdukları için THP üretiminde kullanılmaktadır. Örneğin, mayalar genellikle 1-3 saat, algler 2-6 saat, funguslar 4-12 saat ve birçoğ bakteri uygun ortam olduğunda 1 saatten daha kısa bir sürede çoğalmaktadırlar.

Mikroorganizmaların oluşturduğu proteinin hayvansal proteinle kıyaslanmasında birçoğ farklılık göze çarpar. Öncelikle mikrobiyal protein üretimi çok hızlıdır. 500 kg ağırlığıındaki bir sığır günde 0.5 kg protein üretirken aynı miktarda 500 kg mayanın bir günde ürettiği protein miktarı 50 tondur. (100.000 misli). Mikrobiyal biyomas üretiminin bir diğer üstünlüğü, tarımsal üretimde olduğu gibi geniş alanlar ve elverişli iklim koşullarının sağlanmasının zorunlu olmamasıdır. Bunun yanı sıra substrat olarak kullanılabilen hammadde çok çeşitli ve ucuzdur.

Mikroorganizmaların doğrudan beslenme amacıyla kullanılmaları ilk defa 19. yüzyıl sonlarında bira atık mayasının hayvan yemine katılması şeklinde olmuştur. İlk defa 1910 yılında Almanya'da THP'nin hayvan ve insan beslenmesinde kullanılması araştırılmaya başlanmış, *S. cerevisiae* mayası üretimi için tesisler açılmıştır. 1930 yılında *Candida utilis*'in kullanılması ile üstün nitelikli gıda ve yem mayası üretilebileceği ortaya konmuştur.

Kullanılan mikroorganizmalar

Bakteriler; çok sayıda patojen olmayan tür içermeleri, diğer mikroorganizmalar tarafından metabolize edilemeyen çeşitli substratları karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaları ve diğer mikroorganizmalara oranla çabuk çoğalmaları bakımından üstünlük gösterirler.

Pek çok bakteri karbon enerji kaynağı olarak çok sayıda substratı kullanır. Bunun için petrol ürünleri, azot, doymamış hidrokarbonlar, metanol ve metan, tarımsal artıklar kullanılmaktadır. Bakteri türlerinin pek çoğu THP üretiminde denenmiştir. THP üretiminde uygunluk için yapılan seçimlerde gelişme hızı, verim, pH ve sıcaklık toleransı, genetik stabilite, fajlara direnç gibi pek çok özellik aranır. *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas* türleri üzerinde çalışılmaktadır. *Pseudomonas fluorescens* ile yapılan bir çalışmada, tarım artıklarının substrat olarak kullanımını sonucu elde edilen proteinin lizin açısından oldukça zengin olduğu bildirilmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan laboratuvar deneyleri sonucunda *E. coli*'nin iyi bir protein tamamlayıcısı olduğu saptanmıştır. Ancak bakteriler metabolizmayı olumsuz yönde etkileyen yüksek oranda nükleik asit içerirler ve fermantasyon sonunda protein ortamdan zor ayrılır.

THP kaynağı olarak kullanılan başlıca mayalar ise *Candida utilis*, *S. fragilis*, *Torulopsis utilis*, *S. cerevisiae* vb' dir. Mayaların üretiminde melas, patates nişastası, şeker, meyvelerin etli kısımları, sülfat sıvısı, peynir altı suyu kullanılmaktadır.

Son yıllarda THP üretiminde küflerin kullanımı da yaygınlaşmıştır. Küflerden elde edilen protein oranı yüksektir. Maya ve bakterilerden daha düşük oranlarda nükleik asit içerirler ve miselleri olması nedeniyle besi ortamından kolay ayrılırlar. Küflerden *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* vb kullanılmaktadır.

THP kaynağı olarak algler fotosentez yetenekleri, yüksek protein içerikleri ve basit besiyerlerinde süratle çoğalmaları nedeniyle kullanılmaktadır. Ancak algler diğer mikroorganizmalardan farklı olarak ışık yeterli oranda karbondioksit isteği gösterirler.

Mikroalgler klorofilli bitkiler olduğundan havanın karbondioksitini özümleyerek ve bu nedenle ayrıca bir karbon kaynağına gereksinimleri yoktur. Mikroalglerin havanın azotundan yararlanan türleri de vardır. Mikroalgler fazla miktarda protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve özellikle karoten ve ksantofil içerdiklerinden, beslenme yönünden çok önemlidirler. Fotosentetik algler fotosentez yoluyla karbondioksit, su ve mineral tuzlar gibi inorganik maddeleri doğrudan yüksek kaliteli proteinlere çevirebilmektedirler. Fotosentetik algler diğer bitkilerde olduğu gibi ortamda azota ihtiyaç duyarlar. Bazıları ise kendi azotlarını fikse etme yeteneğine sahiptirler. Meksika ve Sahara'nın geleneksel gıdalarından olan Spirulina fotosentetik bir alg olup, çöllerdeki alkali gölcüklerde doğal olarak yetişmektedir.

Üretim

THP üretimi için sürekli fermantasyon kesikli fermantasyondan daha çok kullanılmaktadır. Bu yöntemde mikroorganizmalar üst cinsinden çoğalıp homojen olarak gelişmektedir. Kuvvetli bir karıştırma ile her hücrenin en iyi düzeyde gelişebilmesi için yeterli besin ve oksijeni alması sağlanmaktadır. Ortamdan hücre süspansiyonu ayrıldıkça, ortam aynı miktarda besiyeri ve ilave edilen besiyerine eşdeğer miktarda oksijen ile desteklenmektedir.

Üretim sonunda hücresel biyokütlenin fermentörden ayrılması ve saflaştırılması gerekmektedir. Fermentörden alınan biyokütle, bulamaç halinde olduğu için saflaştırma amacıyla çöktürme, filtrasyon ya da santrifüjleme işlemleri uygulanmaktadır. Bakteri ve maya hücreleri seperatör yardımıyla ayrılırken, filamentli küfler filtrasyon ile ayrılmaktadır. Bunu izleyen işlemler ise, su oranı yüksek hücresel kütlelerin korunması ve sindirilebilirlik oranının artırılması için yapılan yıkama ve kurutma işlemleridir.

THP'nin besin kalitesi:

Tek hücre proteininin besin değeri, mikroorganizma külesinin fermentörden alındığı sıradaki metabolik durumuna ve hasat sonrası uygulanan işlemlere bağlıdır. Ürünün protein içeriği ve bu proteinin biyolojik olarak yararı ile esansiyel amino asitlerin miktarı THP'nin protein kalitesini, sindirilebilirlik oranını ve kullanılabilirlik durumunu ortaya koymaktadır. THP ürünlerinde protein içeriği, kullanılan mikroorganizmaya göre değişmekte; ancak aminoasit bileşimi hemen hemen aynı olmaktadır.

Mayalardan elde edilen proteinin sindirim ve emilimi %80-90 arasındadır; hücre zarının parçalanması sonucu bu oran artabilmektedir. Kükürtlü aminoasitlerin yeterli düzeyde yer

almaması nedeniyle protein değeri düşüktür. Ancak, methionin ilave edilmiş maya proteini tahılların lizin eksikliğini tamamlamakta ve tahıllarla karıştırılarak hayvan beslemede ve çeşitli gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır.

Yapılan araştırmalarda, THP'nin hayvanlar üzerindeki toksik, karsinojenik ve mutajenik özelliğinin bulunmadığı; protein, yağ, vitamin ve mineral metabolizmasında değişikliklere yol açmadığı gözlemlenmiştir. Ancak unutulmamalıdır ki THP üretiminde mikroorganizmaların kurutulması sırasında, toksinlerden arındırılması ve proteinin ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesiyle bu sonuçlara ulaşılmaktadır.

Birçok THP içeren üründe önemli sorun, yüksek nükleik asit içeriğidir. Yüksek düzeyde THP tüketen kişilerde vücuttaki ürik asit miktarı artmakta, dolayısıyla böbrek taşları oluşmakta, doku ve eklemlerde gut hastalığı gözlemlenmektedir. Bu nedenle THP'nin nükleik asit içeriği; mikrobiyel gelişme sırasında nükleik asit sentezinin kontrolü, protein konsantrasyonu ve izolatlarının üretimi, tüm hücrelerin alkali ile işlem görmesi ve nükleik asitlerin enzimler yardımıyla hidrolizi gibi yöntemlerle azaltılmalıdır.

THP'nin kabul edilebilirliği ve geleceği:

Atık maddeler gerek çevre kirlenmesine yol açtığı, gerekse dünya hammadde kaynaklarının azalmasına yol açtığı için, insanlar endüstriyel atıkları çeşitli şekillerde değerlendirmeye yönelmişlerdir. Genellikle endüstriyel atıkların mikroorganizmalar tarafından kullanılması sonucu elde edilen THP, uzun yıllardır ucuz ve kolaylıkla elde edilebilen protein kaynağı arayan insanlar için bir ümit ışığı olarak görülmektedir. Kötü beslenmenin ve açlığın yaygınlaşması ile birlikte THP üretimi bir alternatif olarak görünmekte ise de, bazı ekonomik ve teknik sorunlar yaygın olarak kullanılmasını engellemektedir. Bu nedenle öncelikle atığın türüne, bileşimine ve özelliklerine bağlı olarak uygun işleme teknolojisinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Her yeni gıda maddesinde olduğu gibi, mikrobiyel kaynaklı bu ürünün de sağlık yönünden güvenli ve yenilebilir nitelikte olduğunun saptanması ve ispatlanması gerekmektedir.

THP tek başına tüketilemez. Ancak, bazı gıdaların protein yönünden zenginleştirilmesi amacıyla kullanılabilir. Elde edilen THP ürünü buğday unu, mısır, pamuk tohumu, susam gibi ürünlere ilave edilerek çeşitli karışımlar hazırlanabilir. Ayrıca, ekmek, kek, pasta gibi tahıl kaynaklı gıdalarda THP ilavesi, ürünün besin değerinin artmasına yardımcı olmaktadır. Bununla birlikte İngiltere'de basit karbonhidratlar üzerinde *Fusarium* türü küflerin geliştirilmesi ile elde edilen bir mikro protein, diğer THP ürünlerinden farklı olarak insan tüketimine sunulmuştur. Fermantasyon sonucu elde edilen renksiz, yavan tatta ve lifli yapıdaki ürün, vejeteryanlar için et benzeri gıdaların üretiminde çeşitli katkı maddeleri ile birlikte kullanılmaktadır.