

Endüstriyel Artıkların Mikrobiyolojik Yolla Değerlendirilmesi

Necla ARAN

TÜBİTAK Marmara Bilimsel
ve Endüstriyel Araştırma
Enstitüsü, GEBZE

Artık maddeler gerek çevre kirlenmesine neden olmaları, gerekse dünya hammadde kaynaklarının sınırlı oluşu insanlığı, endüstri artıklarını çeşitli şekillerde değerlendirmeye yöneltmiştir. Besin açığının hergün hızla artışı izlendiğinde bu sorunun gelecekte insanlığın varlığını sürdürebilmek için aşması gereken en büyük engel olduğunu söylemek büyük bir önsözü gerektirmez. Bugün dahi gelişmekte olan ülkelerin çoğunda görülen büyük besin açıkları ancak uluslararası yardım kuruluşlarının el uzatması ile şimdilik kısmen kapatılabilmektedir. Önümüzdeki 25 yıl içinde dünya nüfusunun iki misli olacağı ve o zamana kadar besin üretiminin yüzde yüz artırılmasının güçlüğü düşünülürse artan nüfusun normal bir biçimde beslenebilmesi için bazı çarelere başvurmak gereklidir. Bu çareleri şöyle sıralayabiliriz :

1. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere birim alandan alınan ürün miktarının artırılması amacı ile çiftçinin eğitimi,
2. Toprak reformu uygulaması,
3. Mevcut su kaynaklarından yararlanmak,
4. Gıda sanayiindeki ilerlemelerin yakından izlenmesi,
5. Elde olunan besin maddelerinin en uygun şartlarda muhafaza edilmesi,
6. Doğum kontrolü uygulaması ile nüfusun plansız olarak artışının önlenmesi.

Sıralanan bu önlemlerin tam bir çözüm olamayacağı kabul edilmekte ve bu nedenle yeni besin kaynaklarının araştırılması gerek-

mektedir. Mikrobiyal protein üretimi, yağ küs-pelerindeki proteinler, balık proteinleri, yosun ve diğer yeşil yapraklardan protein üretimi gibi kaynaklar geleceğin besin maddeleri ihtiyacının karşılanmasında önemli rol oynayabileceklerdir. Bunlar arasında en fazla dikkati çeken ve destek bulan araştırmaların mikroorganizmaların insan ve hayvanlar için besin maddesi olarak kullanılması yolunda çabalar olduğu söylenebilir. Tarım ve Gıda Sanayii artıkları veya yan ürünleriyle bazı ham petrol ürünlerinin mikrobiyal kitle üretiminde kullanılabilmeleri bu işin önemini arttırmaktadır. Karbon kaynağı olarak kullanılan bu artık maddeler mikroorganizmaların yaşamları için gerekli enerjiyi ve besini sağlarlar. Sellüloz, hidrokarbonlar, çeşitli şehir ve tarımsal artıkların bu amaçla kullanılması bir yandan kirlenen çevrenin temizlenmesini sağlarken öte yandan bu artıklarda üretilen mikroorganizmalar protein olarak değerlendirilmektedir. Bu teknik giderek açlığa sürüklenen dünyamız için belki de en önemli kurtuluş yollarından biri olacaktır. Artık maddelerdeki sellüloz enerji yakıtı olarak doğrudan doğruya yararlanma yerine bunlardan mikrobiyal yoldan metan ve alkol üreterek yararlanmanın hava kirlenmesi yönünden de üstünlükleri vardır.

İnsan beslenmesinde kullanılmak üzere ticari ölçüde maya üretimine 1. Dünya Savaşı'nın sonlarında başlanmış ve 2. Dünya Savaşı sırasında büyük çapta üretilmiştir. Bunu takip eden otuz yıl içinde mayaların besin maddesi olarak kullanılmaları ile ilgili çalışmalar yoğunlaşmıştır.

1942 - 1944 yıllarında yapılan çalışmalar mayadan hayvansal proteine yakın ölçüde yararlanıldığını göstermektedir. Mayalar B grubu vitaminlerince de oldukça zengindirler. Bu özellikleri nedeni ile bitkisel protein konsantrlerine nazaran bir üstünlük kazanırlar. Bugün besin mayaları çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Proteince zengin olmaları ve bazı amino asitleri yüksek miktarlarda ihtiva etmeleri nedeni ile gıda maddelerine, bebek mamalarına ilâve edilirler. Hastahanelerde diyetlerdeki hastalara verilir. (1)

Endüstriyel atıklar üzerinde mikroorganizmaların üretilmelerine ilişkin çeşitli çalışmalar ve uygulamalar mevcuttur. Bu çalışmalar özellikle savaş yılları gibi büyük besin açıklarının olduğu dönemlerde uygulama alanına sokulmuştur. Bu amaçla mikroorganizmalardan protein ve yağ kaynağı olarak yararlanılmıştır. Protein üretimi ile geniş çapta bir çalışma 1942 de Brande tarafından yapılmıştır. (2) 1951 de Candida Krusoides, Mycotorula lipolitica, Torula utilis, thermophilis, Candida albicans ve saccharomyces cerevisiae'yi odun hidrolizatları üzerinde üretmişlerdir. (3) Petrolden protein ve vitamin konsantrlerinin elde olunması üzerinde 1963 de Champagnat ve arkadaşları yaptıkları çalışmada BP protein - vitamin konsantrisi adını verdikleri ürünün protein, lipid, karbonhidrat ve suda eriyen vitaminlere zengin olduğunu belirtmişlerdir. (4) Petrolden yararlanarak mikrobiyal protein üreten tesisler mevcuttur. Önce hayvan beslenmesinde kullanılan bu proteinden insan beslenmesinde de yararlanılmaya çalışılmaktadır. 1973 de petrolde büyük çapta mikrobiyal protein üretimi yapan ülkeler ve miktarları cetvel 1'de görülmektedir. (5)

Ministry of Chemical Industry Dainippan Jassy Biomass plant by Rosedous

Hidrokarbonlardan elde olunan bu proteinlerin hayvanlara hiç bir zararı olmadığı saptanmıştır. Hayvanlarda 3-4 nesil devam etmiş olan bu deneme ve araştırmalar halen sürdürülmektedir. Protein miktarı soya ve etden % 25-30 daha fazla bulunmuştur. (6)

Tarımsal artık maddelerle ilgili olarak yapılan diğer çalışmalar ise soya fasulyesi artıkları, biracılık artıkları, patates artıkları, narenciye artıkları üzerinedir. Soya fasulyesi artıkları üzerinde maya üretilmiş, artık maddenin protein değerinin yükselmesi yanında biyolojik oksijen, ihtiyacı düşürülerek çevre kirlenmesine olumlu etkide bulunulduğu görülmüştür. Aynı şekilde biracılık artıkları üzerinde Calvatia giganteae ve Candida steatolytica üretilerek artıkların protein değerleri % 44'e yükseltilmiştir. (7) Patates işleyen fabrikaların da maya gelişimi için vasat olarak kullanılmış ve tatmin edici sonuçlar alınmıştır. Kuru mayadaki protein miktarı 4-5 misli artmıştır. Narenciye artıklarında üretilen maya ve küf mantarlarında ise protein miktarları % 50-55'e çıkmaktadır. (1)

İngiltere'de Tate and Lyle Araştırma Enstitüsünde Keçi boynuzu kullanılarak iki tür küf mantarı ile çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu mantar türlerinin toksik olmadığı da belirtilmektedir (8).

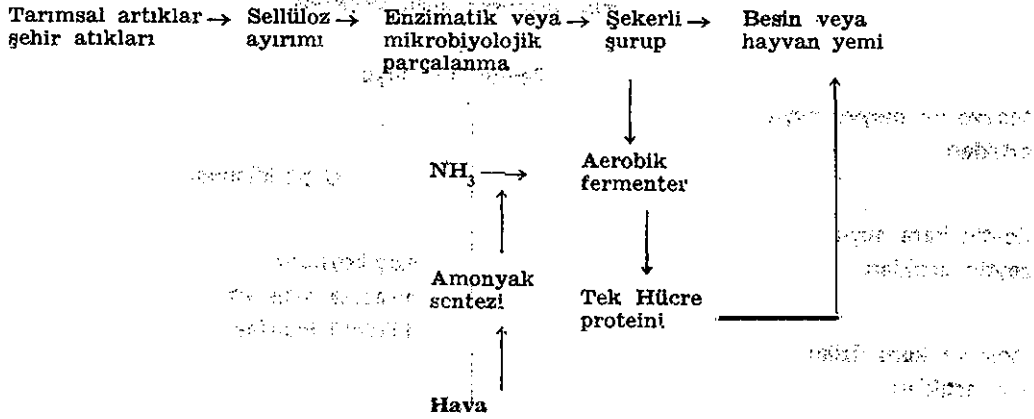
Tarımsal ve şehir atıklarından tek hücre proteininin elde edilmiş şekli 1'de gösterilmiştir (9).

Artık maddelerin yağca zengin mikroorganizmaların elde edilmesi ile ilgili olarak yapılan çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Cetvel 1. Petrole dayalı Tek Hücre Protein Üretim Miktarları

Ülke	Ton/Yıl	Firma ve Bulunduğu Yer
Büyük Britanya	4.000	BP, Grangemouth
	100.000	
Fransa	20.000	ICI, Billingham
İtalya	100.000	BP, Lavera
	100.000	
Romanya	60.000	Liquigas, Reggiocabia
Rusya	16.000	BP, Sandinia

Şekil 1. Tek Hücre Proteinini eldesi



1937 de *Oospora lactis* peynir altı suyu üzerinde üretilmiş % 26 - 30 oranında yağ elde olunmuştur. Peynir altı suyundan yağca zengin mikrobiyal kitle üretimi ile diğer bir çalışma da ise *Aspergillus ustus*, *Penicillium frequentan* kullanılmıştır. Yağ miktarı % 28 bulunmuştur. (10)

2. Dünya Savaşının son yıllarında Münih yakınlarında kurulan bir fabrikada peynir altı suyu ve sellülozik artıklar üzerinde üretildi. Melası vasat olarak kullanmak suretiyle *Rhodotorula gracilis* üretilmiş, % 35 - 40 oranında yağ, bunun yanında B grubu vitaminleri ve ergosterolce zengin olduğu görülmüştür (11).

Ayrıca petrol ürünleri üzerinde yağca zengin mikroorganizmaların üretilmeleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

Yurdumuzda ise artık maddeler melas dışında pek değerlendirilme alanı bulamamaktadır. Melas alkol, sitrik asit ve ekmek mayası üretiminde kullanılmakta, kalan miktarı ise ihraç edilmektedir (12).

Fabrikaların yurdun çeşitli yörelerine dağılmış olması, tarımsal artıkların mevsimlere bağlı olarak değişmesi bunlardan yararlanılmasını zorlaştırmaktadır. Birden fazla tipte atık maddenin elde edilebileceği alanların seçilmesi, çeşitli bölgelerden alınan maddelerin taşıma kolaylıklarının sağlanması, üniversiteler, endüstri ve devletin işbirliği yapması ile bu maddelerin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır.

Şekil 2'de tarımsal maddeler ve yan ürünlerinin halihazırdaki değerlendirilme durumları görülmektedir.

Meyvecilik artıkları 1974 deki değerlere göre yılda 50.000 ton olup, düşük değerli hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Zeytin kara suyu, kuru üzüm ve incirden alkol eldesinden sonra atılan sıvı kısım denize veya araziye dökülmekte ve çevre kirlenmesine neden olmaktadır. (12)

Niştalı maddelerin işleme atıkları kepek, düşük kalitede un ve az miktarda nişasta ihtiva eden sıvı artıklardır. Kepek hayvan yemi olarak kullanılmakta, düşük kalitede unu bazı fırınlar kullanmakta, sıvı kısım ise dökülerek çevreyi kirlenmektedir.

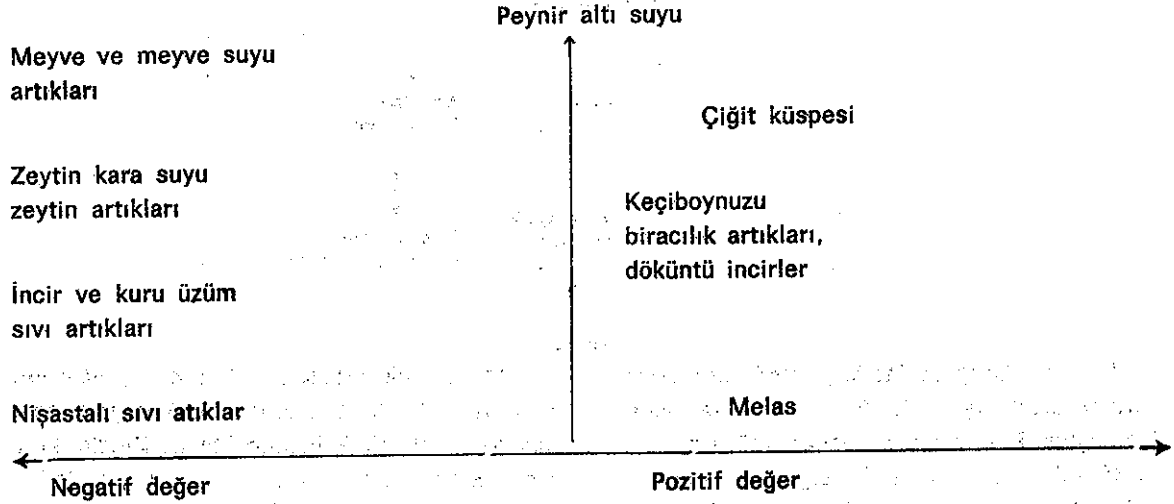
Pozitif değeri haiz artıklardan çığit küspesi proteince zengin olup hayvan yemi olarak kullanılmakta, keçi boynuzu ihraç edilmekte, biracılık artıkları hayvanlara verilmekte, döküntü incirlerden alkol üretiminde yararlanılır. Melas alkol sitrik asit, ekmek mayası üretiminde kullanılıp, kalın kısmı ihraç edilmektedir.

Peynir altı suyu ise tarlalara dökülmekte, hayvanlara verilmektedir. Üitemizde bu artık maddelerden peynir altı suyu, zeytin kara suyu ve vinası kullanarak bazı çalışmalar yapılmış bulunmaktayız. Bu artık maddelerin toplam miktarı 1.005.000 ton olup, bundan % 30 protein ihtiva eden 18.750 ton ürün elde etmek mümkündür.

MATERYAL VE METODLAR

Vasat olarak peynir altı suyu, zeytin kara suyu ve vinası kullanıldı. Peynir altı suyu, su da eriyen mineralleri, vitaminleri, az miktarda protein, yağ ve laktik asit ihtiva eden ve

Şekil 2. Türkiye'deki tarımsal atık ve yan ürünlerin nisbi değerleri



peynir yapımından sonra arta kalan yeşilimsi sarı renkte bir sıvıdır. Yurdumuzda yılda 230.000 ton kadar peynir elde edilmekte, arta kalan peynir altı suyu ise 450-500.000 tonu bulmaktadır.

Zeytin kara suyu ise, zeytinlerden yağ alındıktan sonra geride kalan sıvı kısımdır. Zeytin kara suyu zeytin yağı ile karışık olarak çıkar ve daha sonra santrifüj edilerek ayrılırlar. Hiç bir kullanıma alanı yoktur. Her yıl 500.000 ton civarında zeytin işlenmekte ve 103.000 ton civarında zeytinyağı elde olunmaktadır. Zeytin kara suyunun miktarı ise 400.000 ton civarındadır.

Vinas rakı hammaddesi olan kuru üzüm-ler rakıya işlendikten sonra geride kalan 4.5 pH da % 2.5 kuru madde ihtiva eden açık kahve renkli bir sıvıdır.

Bu tebliğde vinas ile yapılan çalışmadan ve bulgulardan bahsedeceğiz.

İspirtoculuk küspesine İngilizce ve Fransızcada «Vinasse», Almandada «Schlempe» adı verilmektedir. «Vinasse» terimi, bizim fabrikalarımızdada kullanıldığından biz de bu çalışmamızda bu küspeden «Vinas» diye söz edeceğiz. Cetvel 2'de görüldüğü gibi vinas % 2,5 kadar kuru madde ihtiva eden açık renkli bir sıvıdır.

Bulgular :

Denemelerde kullanılan vinas, Paşabahçe Rakı Fabrikasından alınmış ve 100°C da pastörize edilerek saklanmıştır.

Çalıştığımız mikroorganizmalardan, *Aspergillus niger* M1, *Fusarium moniliforme* M4, *Rhodotorula glutinis* ve *Torula utilis* Tate and Lyle Araştırma Enstitüsünden, *Penicillium oxalicum* ise Unilever Şirketinden temin edilmiştir. Vinas'a % 0,5 (NH₄)₂SO₄, % 0,1 NaH₂PO₄ ve % 1,5 agar ilavesi ile hazırlanan besi ortamlarında üretilerek bu kültürler muhafaza edilmiştir.

Araştırmamızda kullandığımız vinas'da yaptığımız analizler Cetvel 2'de verilmiştir.

Cetvel 2

Kuru madde	2,4 g/100 g
Karbonhidrat	0,5 g
İndirgen şekerler	0,49 g
Kül	0,3 g
Azot	0,06 g
Sodyum	6,5 mg
Potasyum	27,0 mg
Kalsiyum	6,5 mg
Demir	1,5 mg
Riboflavin	0,06 mg
Tiamin	0,14 mg
Niasin	0,04 mg
Titrasyon asitliği (Tartarik asit)	6,07 g/litre

Cetvel 3. Mikroorganizmaların kuru madde üzerinden kimyasal bileşimi ve verimleri

	Torula utilis	Aspergillus niger M1	Fusarium moniliforme M4	Penicillium oxalicum	Rhodotorula glutinis
Verim g/100 g	0,5	0,65	0,7	1,2	0,5
Ham protein g/100 g	26,0	27,1	33,1	33,7	24,0
Yağ g/100 g	15,5	7,48	23,6	9,6	14,0
Ham lif g/100 g	2,0	6,3	7,1	13,4	11,2
Nem g/100 g	3,8	11,3	5,5	7,2	9,5
Kül g/100 g	7,7	11,8	11,7	8,4	7,6
Niacin mg/100 g	16,4	10,2	14,6	9,0	3,2
Riboflavin mg/100 g	7,2	4,2	3,9	—	2,6

İnokulumun hazırlanması :

Mikroorganizmalar vinası % 0,5 $(NH_4)_2SO_4$, % 0,1 NaH_2PO_4 ve % 1,5 agar katılarak hazırlanan besi ortamlarında 30°C da 3 gün üretiltikten sonra 50 ml. fizyolojik tuzlu su çözeltisi ile bir karıştırıcıda (Auto-mix) 1-2 saniye parçalandı. Karışımdan 10'ar ml. alınarak 500 ml. lik erlenmayerler içindeki % 0,5 $(NH_4)_2SO_4$ ve % 0,1 NaH_2PO_4 ilave edilmiş 90 ml vinas üzerine aşılandı ve 350 devir/dakika'ya ayarlanmış çalkayıcıda oda sıcaklığında 24 saat üremeye bırakıldı.

Hammedenin hazırlanması :

Vinas hiçbir ön işleme tabi tutulmadan içine % 0,5 $(NH_4)_2SO_4$, % 0,1 NaH_2PO_4 ve köpük kırıcı olarak % 0,4 silikon yağı ilave edildi ve 121°C de 45 dakika sterilize edildi.

Fermentasyon :

Her mikroorganizma ile fermentasyon işlemi iki kere tekrarlanarak sonuçların kontrolü yapıldı. Çalışma şartları aşağıda gösterilmiştir.

Sıcaklık	: 30°C
Hava debisi	: 3 litre/dakika
Dönüş hızı	: 500 devir/dakika

Cetvel 3 de mikroorganizmaların kuru madde üzerinden kimyasal bileşimi ve verimleri görülmektedir.

Elde olunan ürünlerin değerleri hakkında bir fikir verebilmek için ihtiva ettikleri protein,

vitamin ve yağ gibi temel besin maddeleri açısından çeşitli gıda maddeleri ile mukayese edelim. Protein miktarları ürettiğimiz mikroorganizmalarda % 24-33 arasında olup, bu değerler proteince zengin bilinen ette % 15, yumurtada % 11, peynirde % 25, fasulyede % 22'dir.

B grubu vitaminlerince de zengindirler. Niacin miktarlarını et, böbrek, pirinç ve ekmekle mukayese edersek mikroorganizmaların çok daha zengin olduklarını görürüz. Niacin ette 4,2 mg/100g, böbrekte 10,9 mg, pirinçte 1 mg, zenginleştirilmiş ekmekte 1,7 mg'dir.

Riboflavin değerleri de 7,2-2,6 mg/100g arasında değişmektedir. Bu insanın günlük riboflavin ihtiyacı 1,5 mg olduğuna göre mikroorganizmalar bu ihtiyacı rahatlıkla karşılayabilirler (13).

İhtiva ettikleri yağ miktarları da oldukça yüksektir. Özellikle *Fusarium moniliformae* M4'ün % 23,4 olan yağ muhtevası çeşitli yağ bitkilerinden çığıt (% 17-18), soya fasulyesi (% 13,5-24,2) ve aspirle (% 25) eşdeğer miktarlar göstermektedir (14).

TARTIŞMA :

Analiz sonuçlarına göre *Aspergillus niger* M1, *Fusarium moniliformae* M4 ve *Penicillium oxalicum* mikrobiyal protein üretimi için daha uygun bulunmuştur.

Bu organizmaları ilk aşamada hayvan yemlerine katılmaları açısından ele alırsak, pazarlanabilmeleri için şu özelliklere sahip olmaları gerekir : (5)

- 1 — Kullanılan mikroorganizma maya, bakterisi, küf mantarları veya alg olsun insan ve hayvanlar için toksik olmamalıdır.
- 2 — Yeni elde olunan hiç bir protein toksik olmadığı ispatlanmadan kullanılmamalıdır.
- 3 — Mikrobiyal proteinlerin değerlendirilmeleri, standart bir işlem sonucu elde olunan numuneler üzerinde yapılmalıdır.

4 — Mikrobiyal proteinlerin değerlendirilmeleri halinde üreticisi kalite kontrolü yetkililerine kalite kontrolü için gerekli bilgileri vermelidir.

5 — Mikroorganizmada veya işlemden meydana gelen herhangi bir değişmeden yetkililer haberdar edilip bu değişimlerin ürüne bir etkisi olup olmadığı belirtilmelidir.

6 — Üretici tarafından verilen bilgilerin beslenmeciler ve toksikologlardan kurulu bir heyet tarafından değerlendirilerek kararın bu heyetten çıkması gerekmektedir.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Mateles, I Richard and Tannenbaum, R. Steven; Single Cell Protein. The M.I.T. Press. Cambridge, Massachusetts, and London.
2. Brande, R. (1942) J. Inst. Brew., 48, 296.
3. Harris E. Elwin; Hajny J. George and Johnson C. Martha; Protein evaluations of yeast grown on wood hydrolyzate. Industrial and Engineering, Chemistry July 1951.
4. Champagnet, A; Vernet, C.; Larne B.; and Flosa, J.O.; Biosynthesis of protein vitamin concentrates from petroleum. Nature, January 5, 1963.
5. Davis, P.; Single Cell Protein Proceedings of the International Symposium held in Rome, Italy. Academic Press. London, New York.
6. Porter - Rolls, (1973) O «protein in human nutrition» Academic Press London, New York.
7. Sugimoto, H; «Treatment of soybean spent solubles by means of yeast cultivation.» Journal of Food Science, Vol. 39, 1974.
8. Imrie, F.K.E. and Viitos, A.J.; «Production of fungal protein from carob.» Presented at the 2nd Int. Symp. on CP at M.I.T., Boston U.S.A. 1973.
9. Pekin, B.; (1977) Kimya Mühendisliği, 85, 15 - 22.
10. Graham, V.E., Gibson, D.L., Klemmer, H.V. and Naylor, J.M. (1953) Ref. Webb, B.H., Whitter, E.O. (1970). By Products From Milk, Westport The Avi Publishing Company, Inc.
11. Lundin, H.; «Fat synthesis by microorganisms and its possible applications in industry», Journal Institute of Brewing, Vol 56, 1950.
12. Viitos, A.J., (1974). A. Report to OECD.
13. Fischer, P. and Bender, A.; The value of food, Oxford University Press 1970.
14. Tüfekçi Füsün, Türkiye Sınai Kalkınma Bankası A.Ş., Yemeklik Yağ Sanayii Araştırması. Yayın No. 8; 1976.