

MİTOKONDRIYAL MUTANLARIN BİRA AROMA MADDELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

THE INFLUENCE OF MITOCHONDRIAL MUTANTS ON THE PRODUCTION OF AROMA COMPOUNDS OF BEER

Hasan TANGÜLER, Gülten YAĞMUR, Hüseyin ERTEN*

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

Geliş Tarihi: 14.11.2006

ÖZET: Biradaki aroma maddeleri üzerine kullanılan bira mayasının önemli bir rolü vardır. Bira mayasının sitoplazmasında çeşitli organeller bulunur ve bu organellerden biri de mitokondridir. Mitokondri, trikarboksilik asit döngüsü ve elektron taşıma zinciri enzimlerini içerir ve böylece hücreye enerji sağlar. Bira mayasında en sık rastlanan ve kendiliğinden ortaya çıkan mutasyon mitokondriyal mutasyondur. Bu mutasyon sonucunda mitokondriyal DNA'sı eksik ya da mitokondriyal DNA'dan tamamen yoksun mutantlar meydana gelir.

Bira mayası mitokondriyal mutasyona uğradığında mayanın fermantasyon hızı, çökelme yeteneği ve aroma maddeleri üretimi ve böylece elde edilen biranın kalitesi önemli derecede etkilenir. Bu nedenle, biracılıkta kullanılacak mayanın mutasyona uğramamış olması tercih edilir. Bu derlemede, mitokondriyal mutasyonun bira aroma maddeleri üzerine etkisi ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aroma maddeleri, bira, maya, mitokondri, mitokondriyal mutasyon

ABSTRACT: Brewer's yeast plays an important role on the production of flavour compounds. There are many organelles inside the cytoplasmic cell of brewers' yeast and mitochondrion is one of them. Mitochondrion consists of enzymes of tricarboxylic acid cycle and electron transport chain and therefore generates energy for cell. The most frequently identified spontaneously arising mutation in brewing yeast is mitochondrial mutation. Such mutations can range from partially mutations to complete lost of mitochondria.

Mitochondrial mutation in brewers' yeast affects fermentation rate, flocculation and production of flavour compounds and therefore beer quality. For that reason, it is preferred in brewing that mitochondrial mutation should not occur in brewers' yeast. In this paper, the effect of mitochondrial mutation on the production of flavour compounds of beer was discussed.

Key Words: Aroma compounds, beer, yeast, mitochondry, mitochondrial mutation

GİRİŞ

Bira kalitesini etkileyen unsurlardan en önemlisi kullanılan mayadır. Bira endüstrisinde kullanılan iki maya türü vardır. Bunlar *Saccharomyces (S.) carlsbergensis (uvarum)* ve *S. cerevisiae*'dir. Bu iki maya türü mikroskop altında ayırt edilemez. *S. carlsbergensis*, bir alt fermantasyon mayasıdır, fermantasyonun sonunda kümeleşerek dibe çöker ve fermentörün alt kısmında toplanır. *S. cerevisiae* ise bir üst fermantasyon mayası olup, fermantasyon sırasında oluşan CO₂ kabarcıkları ile yükselerek kalın kahverengi bir tabaka şeklinde fermente olan şıranın üzerinde toplanır (1, 2, 3). Her iki türde yeni sınıflandırmada *S. cerevisiae* olarak adlandırılmıştır (4).

Maya, fermantasyon sırasında şıradaki şekerleri esas ürün olarak etil alkol ve CO₂'e dönüştürür. Bunlar yanında gliserol, organik asit, yüksek alkol, ester ve karbonil bileşikler gibi ikincil ürünleri de oluşturur. Bu ikincil ürünler biraya eşsiz bir aroma kazandırır. Kullanılan mayanın fizyolojik durumu oluşacak aroma maddelerini ve bunların miktarını etkiler (5, 6).

*E-posta: herten@cu.edu.tr

Bira üreticileri kullandıkları maya suşlarının mutasyona uğramalarını istemezler. Bununla beraber diğer bütün organizmalarda olduğu gibi bira mayası da mutasyona karşı hassastır. (7, 8). Mutasyon, DNA'da meydana gelen kalıtsal nitelikteki yapısal değişikliklerdir. Bu değişikliğe birçok etken neden olur. Nükleotid yer değiştirmeleri mutasyonların esas nedenleridir (9).

Mitokondriyal mutasyona mitokondriyal genomdan kaybolan büyük parçalar neden olur (10). Mitokondrisi mutasyona uğramış mayaya mitokondriyal mutant denir (11). Mitokondriyal mutantlar ve normal suşlar arasında görülen temel farklılık sitokrom sistemindeki eksiklikten kaynaklanır (12).

Mitokondriyal mutasyonun fermantasyon performansı ve bira kalitesi üzerine önemli bir etkisi vardır. Mitokondri kaybı hücre gelişimini büyük ölçüde engeller ve fermantasyon hızının azalmasına neden olur (4, 11). Bira mayası suşlarında alkol fermantasyonu sırasında mitokondriyal mutant oluşum oranı %0.5-5.0 arasında değişir. Sıcaklığa ve kültür koşullarına bağlı olarak bu oran aynı maya suşu için % 50'ye kadar çıkabilir (6, 13). Bu derlemede, biracılıkta önemli olan mitokondriyal mutasyonun bira aroma maddeleri üzerine etkisi ele alınmıştır.

Mitokondri

Maya hücresinin şekli ve yapısı türe göre değişmekle beraber (14), yapı olarak bitkisel hücreye benzer. Hücre, hücreyi çevreleyen hücre duvarı, sitoplazmayı çevreleyen hücre zarı, çeşitli organelleri içeren sitoplazma ve çekirdekte oluşur (4).

Mitokondri (Yunanca, mitos-iplik, chondrion-granül) ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunan çomak ya da granül biçimindeki organeldir (15). Maya hücresinde bulunan en önemli sitoplazmik organellerden biri olan mitokondri, enzimatik yıkım olaylarını düzenleyerek hücreye enerji temininde görev alır (4).

Fermantasyon sırasında, fermantasyon performansı ve son ürünün kalitesinde rol oynayan bazı olaylar mitokondride gerçekleşir. Mitokondri aerobik koşullarda glikoz (Crabtree) etkisi olmadığında oksidatif ATP sentezinde rol oynar. Anaerobik koşullarda, oksijen yokluğunda solunum olayını gerçekleştiremez. Öte yandan, bira mayası mitokondrisi anaerobik koşullarda doymamış yağ asitleri ve membran lipidlerinin sentezinde, etil alkol ve şekerin oluşturduğu strese karşı hücrenin adaptasyonunda, çökeltme yeteneği ve hücre bölünmesinde gerekli olan hücre yüzeyi karakteristiklerinin modifikasyonunda, aminoasit, dekarboksilik asit, pürin ve pirimidin bazları sentezinde, glikojenin hareketliliğinde ve aroma maddelerinin oluşumunda rol oynar (16,17, 18).

Mitokondri DNA, RNA ve ribozom içerdiğinden aminoasitlerden bazı proteinlerin sentezini yapabilir ve bölünebilir (15, 19). Mitokondride DNA bulunduğu ilk kez 1962 yılında Nass ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Mitokondri DNA'sı tıpkı çekirdek DNA'sı gibi çift sarmal yapıda, bir ya da daha fazla DNA molekülünden oluşur. *S. cerevisiae*'daki mitokondriyal DNA (mtDNA) yaklaşık 25 µm uzunluğunda oval bir molekül olup, 60-75 kilobaz çifti içermektedir. Molekül ağırlığı yaklaşık 5 milyon daltondur (20, 21).

Mutasyon

Mutasyon, daha önce de belirtildiği gibi, DNA'nın nükleotid sırasındaki değişim olarak tanımlanır. Mutasyonlar, doğal yani kendiliğinden meydana gelebilir veya mutajen adı verilen kimyasal maddeler ve fiziksel uygulamalarla yapay olarak oluşumları sağlanabilir (22). Mitokondriyal mutant oluşumu amacıyla en çok akrinin ya da etidium bromit kullanılır (23). Sıcaklık artışları da zarın özelliklerini etkileyerek mitokondriyal mutantların oluşumunu arttırabilir (24). Bira mayasında en sık rastlanan ve kendiliğinden ortaya çıkabilen mutasyon mitokondriyal mutasyon'dur (10, 25). Mitokondriyal mutasyon sonucu mtDNA'sı eksik (rho⁻) ya da mtDNA'dan tamamen yoksun (rho⁰) mutantlar meydana gelir (26).

Mitokondriyal mutantların izolasyonu ve özelliklerinin belirlenmesi mitokondrinin hücredeki işlevi hakkında biyokimyasal, genetik ve moleküler biyoloji açısından önemli bilgiler sağlamıştır (16). Mitokondriyal mutantların mitokondrisi normal mitokondriden hem morfolojik hem de biyokimyasal olarak farklıdır. Bu mutantların

mitokondrisinde en yaygın görülen eksiklik normal hücrelerin mitokondrisinde bulunan sitokrom a, sitokrom a₃ ve sitokrom b eksikliğidir (27). Sitokromlar aerobik bütün hücrelerde bulunan ve oksidasyonda yer alan pigmentlerdir (28). Sitokrom içeriğindeki bu değişikliklerin yanısıra mitokondriyal mutantların enzim aktivitesinde de farklılık görülür. Mutasyonla enzim aktivitesi azalabilir ya da yok olabilir. TCA döngüsündeki süksinik dehidrogenaz ve akonitik hidrotaz enzimlerinin aktivitesi mitokondriyal mutasyonla yok olur (12).

Mitokondriyal mutantlar etanol, laktat, gliserol gibi fermente olmayan karbon kaynaklarını kullanamazlar. Glikoz içeren agar üzerinde geliştirildiklerinde ise küçük koloniler oluştururlar. Ayrıca mitokondriyal mutantlar tetrazolyum tuzunu kullanmadıkları için bu koloniler beyaz renkte görünürler (29).

Mitokondriyal mutantların çok yüksek konsantrasyonlarda bulunması teknolojik işlemlerde istenilmeyen sonuçlar ortaya çıkardığı için bu mutantların bira endüstrisinde kullanımı uygun değildir (7, 13). Yapılan çeşitli çalışmalarda mitokondriyal mutantların kontrol suşlarına göre fermantasyon hızının daha düşük olduğu ve bu mutantlarla üretilen biralarda daha yüksek oranda şeker bulunduğu belirlenmiştir (12). Mitokondriyal mutantlar fermantasyon sırasında hızlı bir şekilde dibe çökerler ve maltoz gibi şekerleri ana mayaya göre daha yavaş parçalarlar. Öte yandan, bir trisakkarit olan maltotriozu da ya çok yavaş kullanırlar ya da kullanamazlar (20, 27).

Bira üretiminde mitokondriyal mutasyon bira mayasının hücre gelişimi, fermantasyon hızı ve çökeltme yeteneği üzerine etki eder (4). Öte yandan, elde edilen biranın aroma maddelerinde de ana mayaya göre önemli değişikliklere neden olur (7).

Mitokondriyal Mutasyonun Aroma Maddeleri Üzerine Etkisi

Ana maya ve bu ana mayadan elde edilen mitokondriyal mutantlarla üretilen biralardan aroması birbirinden farklıdır (7). Mitokondriyal mutantlarla üretilen biralardan aroması tereyağımsı, karamel/toffee, aşırı tatlı, sabunumsu/yağlı olarak tanımlanır. Kontrol suşlarıyla üretilen biralardan aroması şerbetçiotumsu, çiçeğimsi/güzel kokuludur. Mitokondriyal mutantlarla üretilen biralarda diasetil ve 2,3-pentanedion miktarının yüksek olması güçlü tereyağımsı/toffee aromaya neden olur (29, 30).

1. Mitokondriyal Mutasyonun Yüksek Alkol Üretimi Üzerine Etkisi

Yüksek alkoller, alkollü içkilerde miktar olarak en fazla bulunan aroma maddeleridir (31). Maya ırkı, ortamın bileşimi ve fermantasyon koşulları yüksek alkol oluşumunu etkiler (32). Şıraya oksijen verilmesi fermantasyon sırasında maya gelişimini arttırarak yüksek alkol miktarının artmasına neden olur (31,33). Birada 45 tane yüksek alkol bulunduğu bildirilmiştir. Fuzel alkol olarak da adlandırılan yüksek alkollerden en önemlileri; 2-metil propanol (izo-bütanol), 3-metil bütanol (izo-amil alkol), 2-metil bütanol (aktif alkol), n-propanol (1-propanol) ve 2-fenil etanol (,-fenil etanol)'dür (34). Bu bileşikler yüksek alkollerin miktarına bağlı olarak biraya meyvemsi ve tatlı bir aroma verirler (13, 32).

Maya, Ehrlich (aminoasit) ve biyosentez (karbonhidrat) yollarını kullanarak yüksek alkoller üretir. Ehrlich yolu, ortamda aminoasitlerin bulunması halinde kullanılır (35). Bu yolla bazı aminoasitlerden oluşan yüksek alkoller Çizelge 1'de verilmiştir.

Hücre içine alınan aminositler önce transaminasyonla ketoasitlere ve daha sonra ketoasitler de dekarboksilasyonla aldehitlere dönüşür. Aldehitlerin yüksek alkollere dönüşümü sırasında ise NAD⁺ oluşur. Mitokondriyal mutasyon sonucu aldehitlerin alkollere dönüşümü gibi NAD⁺ oluşumuna yol açan reaksiyonlarda artış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, mitokondriyal mutantlarda mitokondriyal protein sentezinin olmaması yüksek alkol üretimi için ortamda daha fazla aminoasit olduğunu gösterir (31, 36). Ernandes ve ark. (11) ve Good ve ark. (37), mitokondriyal mutasyonun yüksek alkol üretimini önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir. Buna karşın, Silankova ve ark. (7) yaptıkları çalışmada yüksek alkol miktarının daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Pearson (8), mitokondriyal mutasyonun yüksek alkol üretimi üzerine etkisinin maya suşuna bağlı olarak değiştiğini ve 3-metil bütanol miktarının mutasyonla hem arttığını hem de azaldığını saptamıştır. Gyllang ve Martinson (27), mitokondriyal mutantların ana mayaya göre farklı miktarlarda n-propanol, izo-bütanol, 2-metil bütanol ve 3- metil bütanol ürettiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 1. Bazı Aminoasitlerden Üretilen Yüksek Alkoller (23,35)

Aminoasit	Keto asit	Aldehit	Yüksek alkol
2-Amino bütirik asit	2-Keto bütirik asit	Propionaldehit	1-Propanol
Valin	2-Keto izo valerik asit	İzobütiraldehit	İzo-butanol
İzolösin	2-Keto 3-metilvalerik asit	2-metil bütıl aldehit	2-Metil bütanol
Lösin	2-Keto izokaproik asit	İzovaleraldehit	3-Metil bütanol
Fenil alanin	3-fenil 2-keto propiyonik asit		2-Fenil etanol
Serin	Hidroksi pürivik asit	Gliksal	Glikol

2. Mitokondriyal Mutasyonun Ester Üretimi Üzerine Etkisi

Esterler, alkollü içkilere meyvemsi tat ve koku verirler (31,38) ve taze biranın aromasına olumlu katkıda bulunurlar (33). Nispeten düşük algılanma eşiklerine sahiptirler. Hoş bir aroma elde etmek için belirli seviyede esterlerin birada bulunması gereklidir (39). Birada 90 farklı ester tanımlanmıştır (40).

Birada bulunan başlıca esterler; etil asetat, izoamil asetat (3-metil bütıl asetat), etil kaproat (etil hekzanoat), etil kaprilat (etil dekanoat) ve fenil etil asetat'tır (41, 42). Ester oluşumu üzerine maya ırkı, şıranın bileşimi, fermantasyon sıcaklığı, basınç, havalandırma gibi faktörler etki eder (43, 44).

Genellikle maya tarafından biyokimyasal yolla üretilen esterler, maya hücresi içinde alkol ve asetil-CoA arasında meydana gelen ve çeşitli enzimler tarafından katalizlenen reaksiyonlar sonucunda oluşurlar (38, 45). Ester sentezinde rol oynayan en önemli enzim alkol asetil transferaz enzimidir. Bu enzim alkol ve asetil-CoA arasında gerçekleşen reaksiyonu katalizler (46). Asetil-CoA yanında diğer asil-CoA'lar da esterlerin üretiminde rol oynar (38, 46).

Pearson (8) pürivatın asetil-CoA'ya dönüşümünün mitokondrinin matriksinde gerçekleştiğini ve birçok enzim tarafından katalizlendiğini, ayrıca mitokondriyal mutasyon sonucu mitokondriye pürivat girişinin azalması ya da enzim aktivitesinin düşmesi ile üretilen ester miktarının da azaldığını bildirmiştir. Öte yandan yaptığı çalışmada, mitokondriyal mutasyon sonucu, maya suşuna bağlı olarak, etil asetat miktarının % 40-50, izoamil asetat miktarının ise % 50-70 oranında azaldığını belirlemiştir.

Morrison ve Sugget (30) yaptıkları bir çalışmada, mitokondriyal mutantlarla üretilen biralardaki ester miktarının kontrol örneğine oranla daha az olduğunu bildirmişlerdir. Ernandes ve ark. (11)'da ester üretimi ile ilgili benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

3. Mitokondriyal Mutasyonun Karbonil Bileşiklerinin Üretimi Üzerine Etkisi

Karbonil bileşikleri çeşitli aldehit ve ketonları içerirler (38). Aldehit ve ketonlar bira aromasında önemli rol oynayan ve algılanma eşikleri düşük olan aroma bileşikleridir. Aldehitler genellikle çimenimsi ve meyvemsi aroma verirler. Maya ırkı, fermantasyon sıcaklığı, pH ve oksijen aldehit oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerdir (47). Bunlar, keto asitlerin dekarboksilasyonu vasıtasıyla alkollerin oluşumu sırasında mayalar tarafından sentezlenirler (31). Asetaldehit, bu gruptaki en önemli bileşiktir ve toplam aldehitin % 90'ını oluşturur.

Pearson (8), mitokondriyal mutasyonun asetaldehit üretimi üzerine olan etkisinin maya suşuna bağlı olarak değiştiğini ve genelde asetaldehit üretiminin azaldığını bildirmiştir. Ketonlardan diasetil (2,3-bütanedion) ve 2-3 pentanedion önemlidir. Bu iki bileşik çok düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen bira aroması üzerinde önemli bir etkiye sahiptir ve biraya istenmeyen tereyağımsı bir aroma verirler (36, 48). Diasetilin öncül maddesi

a-asetolaktat ve 2-3 pentanedion'un öncül maddesi ise a-ketobütirattır. Bu asitler sırasıyla valin ve izolösin aminoasitlerinin sentezinde ara ürün olarak ortaya çıkarlar (13, 49). a-Asetolaktik ve a-asetohidroksi bütirik asitler maya tarafından fermentasyon ortamına verilir ve bunlar fermentasyon ortamında enzimatik olmayan yolla, sırasıyla, diasetil ve 2-3 pentanediona dönüşürler (50, 51). Daha sonra, maya tarafından oluşturulan redüktaz enzimi ile diasetil, asetoin ve 2,3-bütanediole, 2,3-pentanedion ise 2,3-pentanediole dönüştürülür (47). Diasetilin bu bileşiklere dönüşümü çok yavaş bir biçimde gerçekleşir. Bu durum etil alkol fermentasyonunu yeni tamamlamış biranın olgunlaşması için gereken sürenin uzamasına neden olur (47, 52).

Valin ve izolösin aminositlerinin oluşumunda rol oynayan enzimler çekirdekte kodlanır. Bu enzimler mitokondride bulunur. Mitokondriyal mutasyon sonucu enzimlerin aktivitesi azalırken diasetil ve 2,3-pentanedion oluşumu önemli ölçüde artar (8, 30). Öte yandan Jenkins (53), diasetil miktarındaki artışın mitokondriyal mutasyon sonucu fermentasyon süresinin uzaması ve maya canlılığının azalmasıyla ilgili olabileceğini ileri sürmüştür.

Morrison ve Sugget (30), mitokondriyal mutantlar ve normal bira mayası suşlarıyla üretilen biralardan aromalarının farklı olduğunu, mitokondriyal mutantlarla üretilen biralarda vikinil diketon (diasetil ve 2,3-pentanedion) konsantrasyonunun 0.17 mg/L iken normal bira mayası suşlarıyla üretilen biralarda bu değer 0.05 mg/L olduğunu bildirmişlerdir.

Ernandes ve ark. (11), mitokondriyal mutantlar kullanılarak üretilen biralarda aroma maddelerinden özellikle diasetil miktarının arttığını bildirmişlerdir.

SONUÇ

Bira mayası mitokondriyal mutasyona uğrayabilir. Bu durumda maya elektron taşıma zincirinde bulunan sitokromları içermez ve şeker dışındaki karbon kaynaklarını kullanamaz. Mitokondriyal mutasyona uğramış mayanın yüksek alkol, ester ve karbonil bileşikleri gibi aroma maddeleri üzerine etkisi vardır. Bu nedenle bira üreticileri kullandıkları mayanın mutasyona uğramamasına özen göstermelidirler.

KAYNAKLAR

1. Lewis JM, Young TW. 1995. *Brewing*. Chapman and Hall, 252 p, London.
2. Young TW. 1996. The biochemistry and physiology of yeast growth, In *Brewing Microbiology*, FG Priest and I Campbell (eds), pp. 13-42, Chapman and Hall, London.
3. Türker İ, Canbaş A. 2001. *Malt ve Bira Teknolojisi*. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 4, Ders Kitapları Yayın No : A-2, 300 s. Adana.
4. Stewart GG, Russell I. 1998. *Brewing Science and Technology-Brewers Yeast*, The Institute of Brewing, 108 p, London.
5. Guido, LF, Rodrigues PG, Rodrigues JA, Goncalves CR, Barros AA. 2003. The impact of the physiological condition of the pitching yeast on beer flavour stability: an industrial approach. *Food Chem*, 87: 187-193.
6. Walker G. 2004. The 4th brewing yeast fermentation performance congress, *FEMS Yeast Res*, 4 (4-5): 567-570.
7. Silhankova L, Mostek J, Savel J, Salinova H. 1970 (b). Respiratory deficient mutants of bottom brewer's yeast. II. Technological properties of some Rd mutants. *J Inst Brew*, 76: 289-295.
8. Pearson S. 1996. Fermentation with Petite Mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. Honours Project, Heriot-Watt University, 47 p.
9. Arda M. 1995. *Biyoteknoloji: Bazı Temel İlkeler*. Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, Ankara.
10. Bernardi G. 1979. The petite mutation in yeast. *Trends in Biochem Sci*, 4:197-201.
11. Ernandes JR, Williams JW, Russell, Stewart GG. 1993. Respiratory deficiency in brewing yeast strains- effects on fermentation, flocculation and beer flavor components. *J Am Soc Brew Chem*, 51:16-20.
12. Silhankova L, Savel J, Mostek J. 1970 (a). Respiratory deficient mutants of bottom brewer's yeast. I. Frequencies and types of mutant in various strains. *J Inst Brew*, 76 280-288.
13. Boekhout T, Robert V. 2003. *Yeast in Food: Beneficial and Detrimental Aspects*. Chapman and Hall, pp. 347-383, New York.
14. Şahin İ. 1995. *Endüstriyel Mikrobiyoloji*. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, No:64, 151s, Bursa.

15. Tuiete MF. 1989. Protein synthesis. In *The Yeasts: Metabolism and Physiology*, Second Edition, AH Rose and JS Harrison (eds), pp. 194-199, Academic Press, London,.
16. Walker GM. 1999. *Yeast Physiology and Biotechnology*, John Wiley & Sons, 321 p.
17. Sakaki K, Tashiro K, Kuhara S, Mihara K. 2003. Response of genes associated with mitochondrial function to mild heat stress in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biochem*, 134 (3) 373-384.
18. Rasmussen AK, Chatterjee A, Rasmussen LJ, Singh KK. 2003. Mitochondria-Mediated nuclear mutator phenotype in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Researchs, Oxford Journals, Oxford University Press*, 31 (14) 3909-3917.
19. Ersoy E, Baysu N. 1986. *Biyokimya, Ders Kitabı*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 408, Ankara.
20. Hammond JRM. 1996. Yeast Genetics. In *Brewing Microbiology*, Second Edition, FG Priest and I Campbell (eds), pp. 43-75, Chapman & Hall, London.
21. Groth C, Petersen RF, Pi J. 2000. Diversity in organization and the origin of gene orders in the mitochondrial DNA molecules of the genus *Saccharomyces*. *Mol Biol Evol*, 17: 1833-1841.
22. Thieman WJ, Palladino MA. 2004. *Introduction to Biotechnology*, Pearson, Benjamin Cummings (ed), pp. 45-49.
23. Hough JS, Briggs DE, Stevens R, Young TW. 1982. *Malting and Brewing Science, Volume II. Hopped Wort and Beer*, Second Edition, 914 p, Chapman and Hall, London.
24. Yamamura M, Kamihara T. 1990. Respiratory deficient mutation at elevated temperature in *Saccharomyces cerevisiae*: stimulatory effect of inorganic salts. *Agric Biol Chem*. 54 (3) 827-828.
25. Netter P, Robineau S. 1989. The differential overamplification of short sequences in the mitochondrial dna of *rho*-petites in *Saccharomyces cerevisiae* stimulates recombination. *Gene*, 83 (1) 25-38.
26. Giudice LD, Massardo DR, Pontieri P, Wolf K. 2005. Interaction between yeast mitochondrial and nuclear genomes: null alleles of *rtg* genes affect resistance to the alkaloid lycorine in *rho*⁰ petites of *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene: Cross-Talk Between Nucleus and Organelles*, 354: 9-14, Elsevier B.V., London,.
27. Gyllang H, Martinson E, 1971. Properties of some spontaneous mutants from brewers yeast with increased sedimentation rate. *Proceedings of European Brewery Convention*, pp. 265-271.
28. Yüreğir GT. 1985. *Temel Biyokimya*, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
29. Kennedy AI, Taidi B, Aitchison A, Green X. 2003. Management of multi-strain, multi-site yeast storage and supply. In *Brewing Yeast Fermentation Performance*, Second Edition, Katherine Smart (ed), pp. 131-137, Blackwell Science, London
30. Morrison KB, Suggett A. 1983. Yeast handling, petite mutants and lager flavour. European Brewery Convention Congress, pp. 489-496, London.
31. Berry DR, Watson, DC. 1987. Production of organoleptic compounds. In *Yeast Biotechnology*, DR Berry, I Russell and GG Stewart (eds), pp. 345-368, Allanand Unwin, London.
32. Younis OS, Stewart GG. 1998. Sugar uptake and subsequent ester and higher alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *J Inst Brew*, 104: 255-264.
33. Vanderhaegen B, Neven H, Verachtert H, Derdelinckx G. 2006. The Chemistry of beer - A critical review. *Food Chem*, 95: 357-381.
34. Verstrepen KJ, Derdelinckx G, Dufour J-P, Winderickx J, Thevelein JM, Pretorius IS, Delvaux FR. 2003 (a). Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer. *J Biosci & Bioeng*, 96 (2) 110-118.
35. Henschke PA, Jiranek V. 1993. Yeasts-Metabolism of Nitrogen Compounds. In *Wine Microbiology and Biotechnology*, GM Fleet (ed), pp. 77-164, Harword, Chur.
36. Berry DR, Slaughter JC. 2003. Alcoholic beverage fermentations. In *Fermented Beverage Production*, 2nd edition, Andrew GH Lea and John R Piggott (eds), pp. 25-39, Kluwer Academic, New York.
37. Good L, Dowhanick TM, Ernandes JE, Russell I, Steawart GG. 1993. *Rho*⁻ mitochondrial genomes and their influence on adaptation to nutrient stress in lager yeast strains. *J Am Soc Brew Chem*, 51 (1) 35-39.
38. Erten H, Canbaş A. 2003. Alkol fermantasyonu sırasında oluşan aroma maddeleri. *Gıda*, 28 (6) 615-619.
39. Angelino SAGF. 1991. Beer. In *Volatile Compounds in Foods and Beverages*, Henk Maarse (ed), pp. 581-616, Marcel Dekker, Inc., New York.
40. Engan S. 1982. The role of esters in beer flavour. monograph-VII, E.B.C.-Flavour Symposium, European Brewery Convention, p. 238, Copenhagen, Brauwelt-Verlag Nürnberg/Germany.
41. Peddie HAB. 1990. Ester formation in brewery fermentations. *J Inst Brew*, 96: 327-331.
42. Verstrepen KJ, Moonjai N, Bauer FF, Derdelinckx G, Dufuor JP, Winderickx JM, Thevelein JM, Pretorius IS, Delvaux FR. 2003 (b). Genetic regulation of ester synthesis in yeast: new facts, insights and implications for the brewer. In *Brewing Yeast Fermentation Performance*, Second Edition, Katherine Smart (ed), pp. 234-247, Blackwell Science, London.

43. Hammond JRM, Pye J. 1996. Acetate ester synthesis: the role of alcohol acetyl transferase. In *Brewing Technology, The Market and the Environment-Proceedings of the Sixth International Brewing Technology Conference*, JA Irvine and RV Wenn (eds), pp. 421-430, Brewing Technology Services, Surrey.
44. Lyness CA, Stewart GG, Steele GM. 1996. Investigating ester synthesis in distilling and brewing strains of yeast. In *Brewing Technology, The Market and the Environment-Proceedings of the Sixth International Brewing Technology Conference*, JA Irvine and RV Wenn (eds), pp. 390-398, Brewing Technology Services, Surrey.
45. Waites MJ, Morgan NL, Rockey JS, Higton G. 2001. *Industrial Microbiology: An Introduction*. 288 p, Blackwell Science Ltd. London.
46. Rojas V, Gil JV, Piñaga F, Manzanares P. 2001. Studies on acetate ester production by non- *Saccharomyces* wine yeasts. *Int J Food Microbiol*, 70: 283-289.
47. Varnam AH, Sutherland JP. 1994. *Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology*. 2: 296-352, Chapman and Hall, London.
48. Nykänen L, Suomalainen, H. 1983. *Aroma of Beer, Wine and Distilled Alcoholic Beverages*, Dordrecht, D. Reidel.
49. Iserentant D. 2003. Beers: recent technological innovations in brewing. In *Fermented Beverage Production*, Second Edition, Andrew GH Lea and John R Piggott (eds), pp. 41-58, Kluwer Academic, New York.
50. Berry DR. 1995. Alcoholic beverage fermentation. In *Fermented Beverage Production*, AGH Lea and JR Piggott (eds), pp. 32-61, Blackie, London.
51. Boulton C, Box W. 2003. Formation and disappearance of diacetyl during lager fermentation. In *Brewing Yeast Fermentation Performance*, Second Edition, Katherine Smart (ed), pp. 183-195, Blackwell Science, London.
52. Green PJ. 2002. *Introduction to Food Biotechnology*, pp. 182-195, CRC Pres.
53. Jenkins CL, Kennedy AI, Thurston P, Hodgson JA, Smart KA. 2003. Serial repitching fermentation performance and functional biomarkers. In *Brewing Yeast Fermentation Performance*, Second Edition, Katherine Smart (ed), pp. 257-271, Blackwell Science, London.