

PEYNİR ALTI SUYUNDAN ETİL ALKOL ÜRETİMİNDE LAKTOZ KONSANTRASYONUNUN FERMENTASYON ÜZERİNE ETKİSİ¹

EFFECT OF LACTOSE CONCENTRATION ON ETHANOL FERMENTATION FROM WHEY

Filiz ÖZÇELİK, Shiva Shams MOLAVİ, Melike BALK

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü- ANKARA

ÖZET: Bu araştırmada *Kluyveromyces lactis* NRRL-Y-1140, *Kluyveromyces lactis* H-8583 suşları kullanılarak, peynir altı suyundan etil alkol üretiminde uygun laktoz konsantrasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren (% 5, % 10, % 15, % 20) peynir altı suyu çözeltisi pH 4,5'de ve 30°C'de etil alkole fermente edilerek şeker konsantrasyonunun fermentasyon üzerine etkileri belirlenmiştir. Sözü edilen bu mayalar ile % 5 laktoz içeren peynir altı suyunun etil alkole fermentasyonu, % 80 teorik verim gerçekleştirilerek, yaklaşık 100 saatte tamamlanmış; daha yüksek konsantrasyonlarda laktoz içeren çözeltilerde 170 saatlik süre sonunda bile fermentasyon tamamlanmamıştır.

SUMMARY: The main object of this research was to determine the optimum lactose concentration for ethanol production from whey by using two yeast strains of *Kluyveromyces lactis* NRRL-Y-1140 and *Kluyveromyces lactis* H-8583. The optimum lactose concentration was determined by fermenting whey powder solutions with different lactose concentrations (5 %, 10 %, 15 %, 20 %) at pH 4.5 and 30°C. It was seen that the yeasts mentioned above fermented the whey solution containing 5 % lactose, with ethanol yield of 80 %, in 100 hours. It has been observed that yeast strains employed in this study could not complete the fermentation of whey solution containing higher than 5 % lactose, even in 170 hours.

GİRİŞ

Peynir üretimi sırasında peynir mayası yardımıyla sütteki kazeinin çöktürülmesi sonucu kalan sıvı olan peyniraltı suyu, süt işletmelerinin en önemli artığıdır. Peynir altı suyu, ülkemizde birkaç modern işletmede ve ancak belirli ölçekte kurutularak değerlendirilmekte, çoğunlukla kanal ve akarsulara verilerek atılmak zorunda kalmaktadır.

Bir ton sütün işlenmesi ile yaklaşık 150-200 kg peynir elde edilmesine karşın, 800-850 kg peynir altı suyunun artık haline dönüşmesi ve bunun içinde bulunan protein, yağ, mineral maddeler ve özellikle laktozun değerlendirilmeden atılması büyük bir kayıp olarak düşünülmektedir.

Peynir altı suyu % 4,5-5,0 laktoz, %1 azotlu madde ve %0,5 mineral madde içerdiğinden fermentasyon endüstrisi için uygun bir hammadde özelliği taşımaktadır (YÖNEY, 1974; TOPAL, 1982).

Son yıllarda, peynir altı suyundaki laktozun etil alkole fermentasyonu ile ilgili çeşitli araştırmalar yayınlanmıştır. Laktoz ve sakkaroz gibi disakkaridleri içeren hammaddeler etil alkol üretiminde kullanıldığında, mayalar bu şekerleri basit yapılu monosakkaritlere (glikoz, galaktoz, fruktoz vb) dönüştürerek etil alkole fermente ederler (PHAFF ve Ark., 1966). Çok az sayıdaki mayanın laktozu etil alkole fermente edebilme yeteneğinde olması nedeniyle, araştırmaların bir kısmı uygun mikroorganizma suşunun seçimi ile ilgilidir. MOULIN ve Ark. (1980) *Kluyveromyces fragilis*'in bazı suşları ile konsantre peynir altı suyundan 40 saat içerisinde % 12 (ml/ml)'ye ulaşan konsantrasyonlarda etil alkol üretmişlerdir. BOTHAST ve Ark. (1986) ARS kültür koleksiyonunda bulunan 107 mayanın laktozu etil alkole fermente edebilme yeteneklerini araştırmışlar; % 5, % 10 ve % 20 laktoz konsantrasyonlarında, sırasıyla 14, 19 ve 18 mayanın teorik verime yakın bir verimde etil alkol ürettiklerini belirtmişlerdir.

Çalışmaların önemli bir kısmı ise prosesin verimliliğini geliştirme amacı ile uygun üretim koşullarını belirleme yönündedir (CHERYAN ve WEHAIA, 1983; MARWAHA ve KENEDY, 1984; TU ve Ark., 1985; WANG ve Ark., 1987; GIBBONS ve WESTBY, 1988; ZAKREWSKI ve ZMARLICKI, 1988).

Peynir altı suyundan etil alkol üretiminde prosesin verimi, laktoz üzerinden teorik olarak elde edilecek miktarın yaklaşık % 80'idir. Bir litre % 100 etil alkol üretimi için yaklaşık 42 litre, % 4,4 laktoz içeren peynir altı suyu gereklidir (KOSARIC ve ark., 1983).

¹ Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No:92-25-00-18).

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırmada kullanılan peynir altı suyu tozu ENKA Süt ve Gıda Mamülleri Sanayii ve Ticaret Anonim Şirketi Süt Fabrikası'ndan sağlanmıştır. Deneme mikroorganizmaları olarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü'nde bulunan *Kluyveromyces lactis* NRRL-Y 1140 ve *Kluyveromyces lactis* H-8583 maya suşları kullanılmıştır.

Yöntem

Tartımla belirli miktarda alınan peynir altı suyu tozu damıtık su ile uygun oranda seyreltikten sonra sıcak su banyosunda kaynatılıp, deproteinize edilmiştir. Çözelti soğuduktan sonra 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek tortusu çöktürülmüş, berrak kısım alınarak gerek maya çoğaltma, gerekse fermentasyon denemelerinde kullanılmıştır.

Kolleksiyonda YPG-Agar (Maya özü, 10 g/l; Bacto peptone, 10 g/l; Glikoz, 20 g/l; Agar, 20 g/l) üzerinde muhafaza edilmiş olan maya suşlarının laktoz içeren peynir altı suyuna alıştırılması işlemi şu yol izlenmiştir: Stok kültürden YPG içeren tüplere alınan kültür daha sonra aşağıdaki gibi gittikçe artan oranlardaki peynir altı suyuna (PAS) alıştırılmıştır.

Stok kültür
↓
10 ml YPG
↓
7,5 ml YPG + 2,5 ml PAS
↓
5,0 ml YPG + 5,0 ml PAS (x2)
↓
2,5 ml YPG + 7,5 ml PAS (x2)
↓
10 ml PAS

Peynir altı suyuna, dolayısıyla laktoza alıştırılan mayalar aynı besiyerinde +4°C'de muhafaza edilmiş ve her iki haftada bir yenilenmiştir.

Değişik konsantrasyonlarda (% 5, % 10, % 15, % 20) laktoz içerecek şekilde hazırlanan ve santrifüj işlemi ile berraklaştırılan peynir altı suyu tozu çözeltisi 1 N H₂SO₄ kullanılarak, her iki maya için önceden en uygun olarak belirlenen pH 4,5'e asitlendirilip, 110°C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Aşılama, 24 saat geliştirilmiş kültürden % 10 oranında kullanılarak yapılmış; 30°C'de fermentasyona bırakılan örneklerdeki fermentasyonun gidişi, sabah akşam günde iki kez yapılan tartımlarla saptanan ağırlık azalması ile izlenmiştir.

Analizler

Peynir altı suyu tozunun kuru madde, kül ve protein tayinleri YÖNEY (1973)'e göre, indirgen şeker tayini değiştirilmiş Miller yöntemine göre DNS (Dinitrosalisilik asit) kullanılarak spektrofotometrik olarak (FOROUCHI ve GUNN, 1983), fermentasyonu tamamlamış örneklerdeki alkol tayini AKMAN (1962)'a göre yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Denemelerde, farklı laktoz konsantrasyonlarındaki peynir altı suyu çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan peynir altı suyu tozunun analizi yapılmış ve önemli bileşim unsurlarının oranı Çizelge 1'de verilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan peynir altı suyu tozundaki protein miktarı % 13,1, laktoz % 68,7, kül % 11,2 olarak saptanmıştır. YÖNEY (1974) protein miktarını % 12,2, laktozu % 65,8 ve kül miktarını da % 10,4 olarak belirtmiş olup, denemelerde kullanılan peynir altı suyu tozu bileşim yönünden YÖNEY (1974)'in belirlediği değerler ile uyum göstermektedir.

Peynir altı suyundan etil alkol üretiminde laktoz konsantrasyonunun fermentasyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, *Kluyveromyces lactis* NRRL-Y 1140 ve *Kluyveromyces lactis* H-

Çizelge 1. Denemelerde Kullanılan Peynir Altı Suyu Tozunun Kimyasal Bileşimi

Bileşim Unsuru	%
Kuru madde	94,32
Laktoz	68,70
Protein	13,10
Kül	11,20

8583 maya suşları ile daha önceden en uygun pH ve fermentasyon sıcaklığı olarak belirlenen, 4,5 pH'da ve 30°C'de % 5, % 10, % 15, % 20 gibi farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren peynir altı suyu tozu çözeltilerinin etil alkole fermentasyonu gerçekleştirilmiştir.

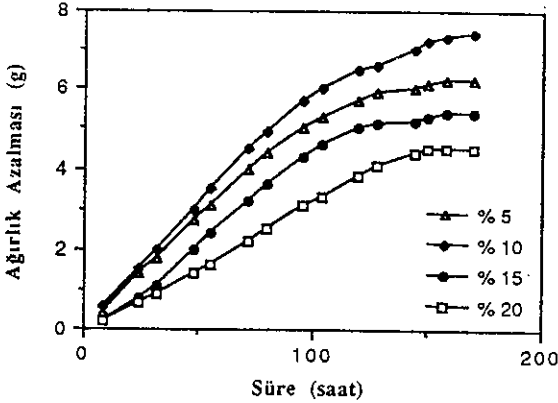
Kluyveromyces lactis NRRL-Y 1140 suşu ile yapılan fermentasyonda % 5 ve % 10 laktoz içeren örnekler, sırasıyla % 2,7 (ml/ml) ve % 3,5 (ml/ml) etil alkol üretmişlerdir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Farklı Konsantrasyonlarda Laktoz İçeren Peynir Altı Suyu Tozu Çözeltilisinin Fermentasyonu Sonucu Elde Edilen Etil Alkol Konsantrasyonu ve Verim Değerleri

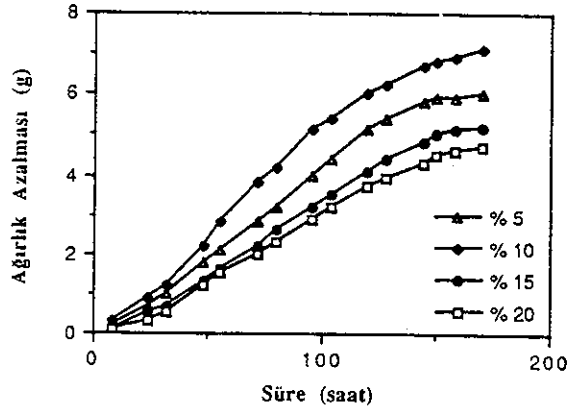
Laktoz Konsantrasyonu	<i>K.lactis</i> NRRL-Y-1140				<i>K.lactis</i> H-8583			
	% 5	% 10	% 15	% 20	% 5	% 10	% 15	% 20
Alkol Miktarı (% ml/ml)	2,7	3,5	2,5	2,0	2,6	3,5	2,5	2,0
% Teorik Verim	80	51	24	14	76	51	24	14

Şekil 1'den de görülebileceği gibi, aynı maya ile % 5 laktoz içeren örnekte fermentasyon yaklaşık 100 saatte tamamlanırken, % 10 ve daha yüksek konsantrasyonlarda laktoz içeren örnekler 170 saat sonunda bile fermentasyonu tamamlayamamışlardır. Buradan da anlaşılacağı gibi, % 5 laktoz içeren örnek daha kısa sürede ve daha yüksek verim (teorik verimin % 80'i) ile fermentasyonu gerçekleştirmiştir.

Benzer şekilde, *Kluyveromyces lactis* H-8583 mayası ile yapılan fermentasyonda % 5 ve % 10 laktoz içeren örnekler, sırasıyla, % 2,6 (ml/ml) ve % 3,5 (ml/ml) etil alkol üretmişlerdir (Çizelge 2). Ancak Şekil 2'den de görüleceği gibi, % 5 laktoz içeren örnekte fermentasyon yaklaşık 115 saatte tamamlanırken, % 10 ve daha yüksek konsantrasyonlarda laktoz içeren örnekler 170 saatlik deneme süresi içerisinde fermentasyonu tamamlayamamışlardır. *Kluyveromyces lactis* H-8583 mayası ile % 5 laktoz içeren çözeltilinin etil alkol verimi teorik verimin % 76'sı, % 10 laktoz içeren çözeltilinin alkol verimi ise teorik verimin % 51'i olarak saptanmıştır.



Şekil 1. *Kluyveromyces lactis* NRRL-Y-1140 mayası ile pH 4,5 ve 30°C'de, farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren peynir altı suyu tozu çözeltilisinin etil alkole fermentasyonu



Şekil 2. *Kluyveromyces lactis* H-8583 mayası ile pH 4,5 ve 30°C'de, farklı konsantrasyonlarda laktoz içeren peynir altı suyu tozu çözeltilisinin etil alkole fermentasyonu

Bu çalışmada kullanılan mayalardan *Kluyveromyces lactis* NRRL-Y-1140 suşunun daha yüksek fermentasyon hızına sahip olduğu görülmüş ve % 5 laktoz içeren örnek, daha yüksek konsantrasyonda laktoz içeren örneklere kıyasla, daha yüksek verimde (teorik verimin % 80'i) etil alkol üretmiştir.

MOULIN ve ark. (1980) *Kluyveromyces lactis* CBS 397 mayası ile 200 g/l laktoz içerecek şekilde konsantre edilmiş peynir altı suyundan yaklaşık 40 saatte % 12 (ml/ml)'ye ulaşan konsantrasyonda etil alkol üretmişlerdir. WANG ve Ark (1987)'na göre, peynir altı suyundan etil alkol üretiminde laktoz, yüksek konsantrasyonlarda bile, hücre gelişmesi ve etil alkol üretimi üzerine önemli bir etkiye sahip değildir. Laktoz

çözültüsü ile gerçekleştirilen denemelerde; CHERYAN ve MEHAIA (1983) 150 g/l laktoz içeren ortamın etil alkole fermentasyonunda oldukça yüksek verimlilik değerlerine ulaşmışlar, BOTHAST ve Ark (1986) ise, % 20 laktoz konsantrasyonunda bile, denemeleri kapsamındaki 18 mayanın teorik verime yakın verimde etil alkol ürettiklerini belirtmişlerdir.

Yukarıda sözü edilen literatür verileri ile kıyaslandığında, bu çalışmada kullanılan mayaların, özellikle yüksek laktoz konsantrasyonlarında, yetersiz kaldıkları söylenebilir.

KAYNAKLAR

- AKMAN,A.V., 1962. Şarap Analiz Metodları, Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları No:33.Ank.Üniv.Basımevi, Ankara, 111 sayfa.
- BOTHAST,R.J., C.R.KURTZMAN, M.D.SALTARELLI, P.J.SLININGER, 1986. Ethanol Production by 107 Strains of Yeast on 5, 10 and 20 % Lactose. *Biotech. Letters*, 8:593-596.
- CHERYAN,M., M.A.MEHAIA, 1983. A High-Performance Membrane Bioreactor for Continuous Fermentation of Lactose to Ethanol. *Biotech. Letters*, 5:519-524.
- FOROUCHI,E., D.J.GUNN, 1983. Some Effects of Metal Ions on the Estimation of Reducing Sugars in Biological Media. *Biotech. Bioeng.*, 25:1905-1911.
- GIBBONS,W.R., C.A.WESTBY, 1988. Processing Cereal Grains, Thin Stillage and Cheese Whey to Fuel Ethanol in a Farm-Scale Plant. *Biomass*, 15:25-43.
- KOSARIC,N., A.WIECZOREK, G.P.COSENTINO, R.J.MAGEE, J.PRENOSIL, 1983. Ethanol Fermentation. "in, *Biotechnology*, Vol 3. Eds H.J.Rehm and G.Reed", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, Florida-Basel, 642 sayfa.
- MARWAHA,S.S., J.F.KENNEDY,1984. Alcohol Production from Whey Permeate by Immobilized and Free Cells of *Kluveromyces marxianus* NCYC-179. *Process Biochem.*, 19:79-80.
- MOULIN,G., M.GUILLAUME, P.GALZY, 1980. Alcohol Production from Whey. *Biotech. Bioeng.*, 22:1277-1281.
- PHAFF, H.J., M.W.MILLER, E.M.MRAK, 1966. *The Life of Yeasts*. Harward University Press. Cambridge, Massachusetts.
- TOPAL,Ş. 1982. Çeşitli Tarımsal Artıklar ve Gıda Sanayii Artıklarının Mikrobiyolojide Besiyeri Olarak Kullanılabilme Olanaklarının Araştırılması. TÜBİTAK MAE Yayın No:58.Gebze.
- TU,C.W., Y.JAYANATA, R.BAJPAI, 1985. Factors Affecting Ethanol Production From Cheese Whey. *Biotech. Bioeng. Symp.* No:15, 295-305.
- WANG,C.J., Y.JAYANATA, R.BAJPAI, 1987. Effect of Multiple Substrates in Ethanol Fermentations from Cheese Whey. *J.Ferment. Technol.*, 65:249-253.
- YÖNEY,Z., 1973. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları No 191. Ank. Üniv. Basımevi, Ankara, 182 sayfa.
- YÖNEY, Z., 1974. Süt Kimyası. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları No: 530. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 263 sayfa
- ZAKREWSKI,E., S.ZMARLICKI, 1988. Ethanolic Fermentation in Whey and Whey-Molasses Mixtures. I-Influence of Concentration and Type of Whey on the Rate of Fermentation. *Milchwissenschaft*, 43:435-437.