

BİYOTEKNOLOJİK YOLLARLA AROMA MADDELERİNİN ÜRETİMİ**BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF FLAVOUR COMPOUNDS**

Murat YILMAZTEKİN*, Turgut CABAROĞLU, Hüseyin ERTEN
Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

Geliş Tarihi: 01 Aralık 2006

ÖZET: Dünya gıda katkı maddeleri pazarının % 25'ini oluşturan aroma maddeleri yıllık 7 milyar dolar civarında bir pazar payına sahiptir. Aroma maddeleri önceden beri bitkilerden elde edilmiş, ancak bitkilerde düşük miktarlarda buldukları için saflaştırılmaları zor ve pahalı olmuştur. Kimyasal yolla sentezlenen sentetik aroma maddelerinin üretimi ucuzdur, ancak sağlık açısından zararlı etkileri ve tüketicilerde doğal ürünlere olan talebin artması nedeniyle tercih edilmemektedirler. Bu nedenle, son dönemlerde alternatif olarak biyoteknolojik yöntemler üzerinde durulmaktadır. Bu derlemede, aroma maddelerinin üretiminde kullanılan fermantasyon ve biyodönüşüm yöntemleri ile bu yöntemlerle vanilin, benzaldehit, lakton ve ester aromalarının üretimi ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Biyoteknoloji, fermantasyon, biyodönüşüm, doğal aroma maddeleri

ABSTRACT: Flavour compounds represent 25 % of the total additives market on the world and have an annual value of about 7 billion US dollars. For a long time, plants were the sole source of flavour compounds. However, they are often present at low concentrations and thus their isolation is difficult and expensive. Even though, production of synthetic flavours is cheap, they do not preferred because of harmful effects to the health and increasing demand to natural products by consumers. Therefore, in recent years an alternative route is the utilisation of biotechnological processes on the production of flavour compounds. In this review, production of flavour compounds via fermentation and bioconversion techniques and the production of vanillin, benzaldehyde, lactons and esters by these techniques were discussed.

Keywords: Biotechnology, fermentation, bioconversion, natural flavour compounds

GİRİŞ

Aroma maddeleri özellikle gıda endüstrisinde sıkça kullanılan katkı maddeleri arasında yer almaktadır. Uzun zamandan beri bitkiler aroma maddelerinin esas kaynağı olmuşlardır. Ancak aroma maddelerinin bitkilerde düşük miktarlarda bulunmaları saflaştırılmalarını zor ve pahalı hale getirmektedir. Bu nedenle günümüzde kimyasal yolla sentezlenen aroma maddeleri daha çok kullanılmaktadır. Bugün piyasada kullanılan aroma maddelerinin yaklaşık % 80'den fazlasını sentetik aroma maddeleri oluşturmaktadır. Ancak son zamanlarda kimyasal ürünlerin insan sağlığını ve çevreyi tehdit etmesi ve uluslararası mevzuatlarda kimyasal yollarla elde edilen ürünlere getirilen kısıtlamalar nedeniyle tüketiciler doğal ürünleri tercih etmektedir.

Aroma maddelerinin üretiminde son dönemlerde oldukça ilgi gören yöntemlerden biri de biyoteknolojik uygulamalardır. Modern biyoteknolojide yaşanan gelişmeler sayesinde aroma maddelerinin mikroorganizmalar, bitki hücre kültürleri ve enzimler yardımıyla üretilmesi mümkün olmuştur. Biyoteknolojik yolla aroma maddesi üretiminde iki yöntem kullanılmaktadır. Birincisi ucuz karbon ve azot kaynakları kullanılarak fermantasyon yoluyla üretim, ikincisi ise spesifik ön bileşiklerin mikroorganizmalar veya enzimler vasıtasıyla aroma bileşiklerine biyo dönüşümdür.

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

AROMA MADDELERİNİN GRUPLANDIRILMASI

Aroma maddeleri genel olarak doğal ve yapay aroma maddeleri olarak gruplandırılır. Aroma maddelerinin elde edildikleri kaynakların çok farklı ve çok çeşitli olması, uluslararası mevzuatlarda kesin tanımlarının yapılmasına neden olmuştur. Amerika Birleşik Devletleri'nde aroma maddeleri doğal ve yapay olmak üzere iki gruba ayrılmış ve doğal aroma maddeleri; "esansiyel yağlar, yağlı reçineler, esanslar, protein hidrolizatları, baharat, meyve suyu, sebze veya sebze suyu, yenilebilir maya (ekmek ve bira mayası), bitki tomurcuk, kabuk, kök ve yaprakları, et, deniz ürünleri, kümes hayvanları, yumurta ve süt ürünlerinin kızartılması, ısıtılması ve enzimle muamele edilmesinden sonra elde edilen destilatları veya esas işlevi aroma vermek olan fermantasyon ürünleri" şeklinde tanımlanmıştır. Avrupa Birliği Mevzuatı'nda ise doğal aroma maddeleri, "bitkisel veya hayvansal kaynaklardan uygun fiziksel, enzimatik veya mikrobiyolojik yollarla elde edilen aroma verici madde veya madde karışımları" olarak ifade edilmiştir (1). Her iki tanımdan da anlaşıldığı gibi aroma maddelerinin doğal olarak adlandırılabilmesi için elde edildiği hammaddenin de (substrat veya ön bileşik) doğal olması gerekmektedir (2). Birçok Avrupa ülkesinde doğal ve yapay aroma maddelerinin yanında doğala özdeş aroma maddeleri ayrı bir sınıf olarak kabul edilmektedir. Kimyasal yollarla sentezlenen bu bileşikler, doğal formlarıyla aynı özellikleri gösterirler (1, 3). Türk Gıda Kodeksi yönetmeliğine göre aroma maddeleri, doğal aroma maddeleri, doğala özdeş aroma maddeleri, yapay aroma maddeleri, aroma karışımları, reaksiyon aromaları ve tutsü aromaları olarak sınıflandırılırlar (2).

BİYOTEKNOLOJİK YOLLARLA DOĞAL AROMA MADDELERİ ÜRETİM YÖNTEMLERİ

İnsanoğlu yüzyıllardan beri farklı teknikler kullanarak hoş kokulu ve aromalı gıdalar üretmiş, fakat aroma oluşumunda mikroorganizmaların rol oynadığını ancak geçtiğimiz yüzyılda mikrobiyoloji ve biyokimyada yaşanan gelişmeler sayesinde öğrenebilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda mikroorganizmaların, birçoğu önemli aroma bileşiği olan ikincil ürünleri ürettiği belirlenmiştir (4).

Uzun zamandan beri doğal aroma maddelerinin tek kaynağı bitkilerin esansiyel yağları, meyve suları, sebze ekstraktları ve hayvan orijinli ürünler idi (5). Biyoteknolojik yollarla aroma maddesi üretiminde günümüzde mikroorganizmalar, enzimler ve bitki hücre ve doku kültürleri kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların kullanıldığı üretim tekniklerinde temel olarak iki yöntemden yararlanılmaktadır. Bunlar; ortamda bulunan şeker, alkol ve amino asit gibi basit besinlerden başlayarak fermantasyonla aroma maddelerinin üretimi (de novo sentezi) ve ortama ilave edilen ön bileşiklerin (prekursör) biyodönüşümüyle (mikrobiyal biyodönüşüm) aroma maddelerinin üretimidir (3). Fermantasyonda karbon ve azot kaynaklarına ihtiyaç duyulurken, mikrobiyal biyodönüşümde uygun bir substrat yeterli olmaktadır. Her iki yöntemin genel özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir (6).

Çizelge 1. Fermantasyon ve mikrobiyal biyodönüşümlerin genel özellikleri (6)

Özellik	Fermantasyon	Mikrobiyal biyodönüşüm
Mikroorganizmalar	Çoğalan hücreler	Çoğalma evresindeki ve durgun evredeki hücreler
Reaksiyon	Karmaşık reaksiyonlar	Basit (tek veya birkaç basamaklı) katalitik reaksiyonlar
Reaksiyon süresi	Uzun	Kısa
Substrat	Ucuz karbon ve azot kaynakları	Spesifik (bazen pahalı)
Ürün	Doğal	Doğal veya yapay
Ürün miktarı	Az	Yüksek
Ürünün saflaştırılması	Zor	Kolay

Fermantasyonla Üretim

Fermantasyon, ilk zamanlardan beri gıda biliminde sürekli kullanılan bir yöntemdir. Biyokimyasal yönden fermantasyon, mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimlerin organik maddelerde oluşturduğu parçalanma veya kimyasal değişiklikler olarak tanımlanır (7). Biyoteknolojide ise, bir ürünün mikroorganizma

kültürleri vasıtasıyla uygun koşullarda üretilmesidir (8). Bu teknikte ucuz karbon ve azot kaynakları kullanılmakta ve amaçlanan ürün, mikroorganizmaların karmaşık metabolik etkinlikleri sonucu meydana gelmektedir (9).

Bir fermantasyon işleminde optimum koşulların belirlenmesi için mutlaka prosesin kontrol edilmesi gerekmektedir. Proses kontrolünde fermantasyonda etkili olan fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametreler biyosensörler veya bazı enstrümental teknikler kullanılarak sürekli ölçülmektedir.

Biyodönüşüm Yoluyla Üretim

Mikroorganizmaların bir bileşiği yapısal yönden kendisine benzer başka bir bileşiğe dönüştürmesi olayına biyodönüşüm denir. Bir başka deyişle, mikroorganizmalar veya enzimler tarafından katalizlenen kimyasal dönüşümlerdir. Biyodönüşümde genellikle verim çok yüksektir. Verimi etkileyen faktörler arasında mutantların seçimi, pH, sıcaklık, hücre zarı geçirgenliği, ürün inhibisyonu, substratların ortamda çözünürlük derecesi v.b. özellikler sayılabilir. Birçok biyodönüşüm olayında iki substrat gereklidir. Bunlardan biri mikroorganizmaların gelişimi için gereklidir. Diğeri ise, dönüşüme uğrayacak substrattır (10).

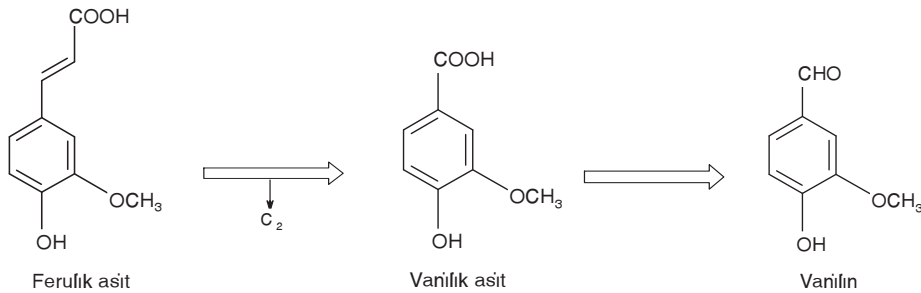
BİYOTEKNOLOJİK YOLLARLA ÜRETİLEN BAZI AROMA MADDELERİ

Vanilin

Vanilin (4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit), tüm dünyada özellikle gıda endüstrisinde kullanılan en önemli aroma bileşiklerinden biridir. Esas olarak tropik vanilya orkidelerinin çekirdeklerinden veya fermente edilmiş kabuklarından ekstrakte edilmektedir (11). Tüm dünyada yıllık üretimi yaklaşık 12.000 tondur. Bu üretimin sadece % 0.5'ini vanilya orkidelerinden elde edilen doğal vanilin oluşturmakta ve fiyatı 1200-4000 \$/kg arasında değişmektedir. Diğer kısmını ise fiyatı 15 \$/kg olan ve kimyasal olarak sentezlenen vanilin oluşturmaktadır (12).

Doğal vanilin üretiminde alternatif yollardan biri de mikrobiyal biyodönüşüm yoluyla üretimdir. Mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri için kullandıkları substratlar arasında genellikle öjenol ve ferulik asit gelmektedir. Öjenol karanfil yağının aromatik bileşenlerinden biri olup piyasa değeri 5 \$/kg civarındadır. Ferulik asit ise birçok hububatta hücre duvarı materyalinin bileşeni olarak bulunmaktadır. Miktar olarak buğday kepeğinde 4-7 g/kg, mısır kepeğinde yaklaşık 30 g/kg, mercimek endospermünde 12 g/kg ve melasta ise 5-10 g/kg civarındadır. Hücre duvarında karbonhidratlarla esterleşmiş bir biçimde bulunmakta ve enzimatik uygulamalarla ayrılabilir (12).

Thibault ve ark. (13) tarafından yapılan bir araştırmada, melas ve buğday kepeğindeki ferulik asit, spesifik ferulik asit esterazlarla takviye edilmiş enzim karışımlarıyla serbest hale getirilmiş ve *Basidiomycetes* grubundan olan *Pycnopus cinnabarinus*'un farklı kültürleri kullanılarak ferulik asit vaniline dönüştürülmüştür. Yüksek verimliliğe sahip türleri belirlemek amacıyla genetik yöntemler kullanılmış ve böylece 90-300 mg/l arasında değişen verimlerde vanilin üretimi gerçekleştirilmiştir. Ferulik asitten vanilin üretimini gösteren metabolik yollar Şekil 1'te gösterilmiştir.



Şekil 1. *Pycnopus cinnabarinus* kullanılarak ferulik asitten vanilin üretimi (13)

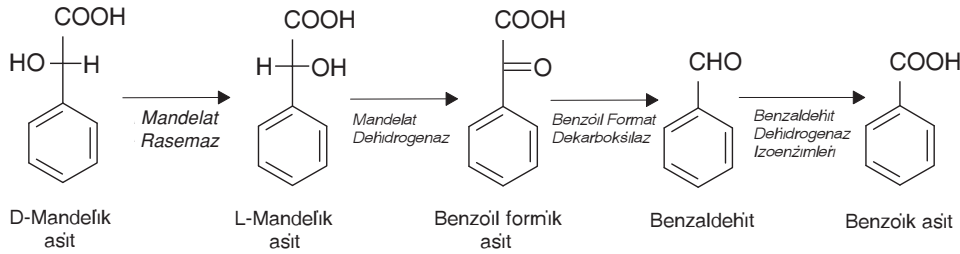
Topraktan izole edilen *Bacillus subtilis*'in bir suşuyla izoöjenolün vaniline dönüşümü üzerine yapılan bir araştırmada ise 0.9 g/l konsantrasyonda vanilin üretildiği belirlenmiştir. Ayrıca literatürde *Pseudomonas* cinsine ait bazı bakteri türlerinin öjenolü 17 saatlik bir fermantasyon süresi sonunda 440 mg/l vaniline dönüştürdüğü belirtilmektedir (14).

Ucuz ve doğal tarımsal yan ürünleri değerlendirmek amacıyla yapılan başka bir çalışmada ise ferulik asit kaynağı olarak mısır kepeği kullanılmıştır. Ferulik asitin verimini arttırmak ve vanilik asite parçalanmasını sağlamak amacıyla *Aspergillus niger*'den faydalanılmıştır. *A. niger* feruloil esteraz gibi polisakkarit parçalayan enzimleri üretme kabiliyetine sahiptir. Daha sonra elde edilen vanilik asit *Pycnopus cinnabarinus* tarafından 767 mg/l'lik bir konsantrasyonda vaniline dönüştürülmüştür (15).

Benzaldehit

Vanilinden sonra en önemli aromatik bileşikler arasında benzaldehit gelmektedir. İlk defa 1863 yılında benzal klorid'in hidrolizi yoluyla sentezlenmiştir. Günümüzde sentetik benzaldehit fenol üretimi sırasında yan ürün olarak elde edilmektedir. Yıllık üretimi yaklaşık 7000 ton civarında olup fiyatı 3 \$/kg' dır. Doğal benzaldehitin yıllık üretimi ise 100 ton civarındadır ve bunun yaklaşık 80 tonu sinnamaldehitten elde edilmektedir. Ancak kimyasal hidroliz yoluyla üretildiği için Avrupa Birliği Yasalarına göre doğal olarak kabul edilmemektedir. Geri kalan 20 tonluk bölümü ise kayısı, şeftali, erik çekirdeklerinden ve acı bademden elde edilmektedir. Bazı çürükçül küfler fermantasyon ve biyodönüşüm yoluyla benzaldehit üretebilmektedirler (5).

Pseudomonas putida'nın bir suşunun benzaldehidi mandelik asitten üretebildiği belirlenmiştir. Fakat bu biyokimyasal yolda pH'nın 5.4'e düşmesi, benzaldehit dehidrogenaz izoenzimlerinin kısmi inaktivasyonuna neden olmuş ve bunun aldehit birikimine yol açtığı saptanmıştır. Ancak, pH düşüşüyle birlikte dehidrogenaz aktivitesinde meydana gelen düşüşün genel bir durum olduğu, sadece benzaldehit dehidrogenazlara mahsus olmadığı ve bütün dehidrogenazları etkilediği belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre % 85 verimle benzaldehit üretimi gerçekleştirilmiştir. *Pseudomonas putida* tarafından yürütülen mandelik asit metabolizması Şekil 2'te verilmiştir (16).



Şekil 2. *Pseudomonas putida* tarafından yürütülen mandelik asitten benzaldehit üretimi (16)

Yapılan başka bir çalışmada ise, çürükçül küflerin bir üyesi olan *Pycnopus cinnabarinus*'un L-fenilalanin'den 100 mg/l benzaldehit üretebildiği bildirilmiştir. Kültür ortamına ürün ekstraksiyonu amacıyla stiren divinilbenzen kopolimer türü bir reçine ilave edildiğinde benzaldehit üretiminde sekiz kat artış (790 mg/l) meydana gelmiş ve yüksek aroma potansiyeline sahip sinnamik asit türevlerinin üretildiği saptanmıştır (17).

Laktonlar

Laktonlar özellikle gıdalarda ve içeceklerde sıklıkla kullanılan aroma maddeleri arasında gelmektedir. γ - ve δ -laktonlar (4- ve 5-dekanolidler) meyvelerde ve bazı fermente gıdalarda doğal olarak bulunan önemli laktonlar arasında olup hoş kokulu bileşiklerdir (Çizelge 2). Bazı küf ve maya türlerinin bu bileşikleri fermantasyon yoluyla ürettikleri belirlenmiştir. Aroma biyoteknolojisinde üretilen önemli laktonlardan biri olan γ -dekalakton, uzun zincirli hidroksi yağ asitlerinin bazı mayalar tarafından dönüşümüyle elde edilmektedir (18).

Çizelge 2. Bazı önemli laktonlar ve koku karakteristikleri (18)

Adı	Koku Karakteristiği
-dodekalakton	Şeftali, tereyağımsı, yağımsı
-dekalakton	Şeftali, yağımsı, meyvemsi
-nonalakton	Hindistan cevizi, yağımsı, meyvemsi, anason
-dekalakton	Şeftali, yağımsı, kremi
dek-3-en-4-olid	Meyvemsi, yağımsı
dek-2-en-4-olid	Mantar

Yarrowia lipolytica, risinoleik asit ve metil esterlerinin dönüşümünü sağlayarak γ -dekalakton'u üreten maya türlerinden biridir. 75 saat içinde 9.5 g/l ve 12 g/l konsantrasyonlarda γ -dekalakton ürettiği saptanmıştır. Aynı zamanda bu maya türünün γ -dodekalakton, γ -nonalakton, δ -lakton ve doymamış laktonları ürettiği yapılan farklı çalışmalarda belirlenmiştir (18, 19).

Sporidiobolus cinsinin γ -dekalakton' u risinoleik asit ve türevlerinden biyodönüşüm yoluyla üretmesi birçok araştırmaya konu olmuş ve yapılan tüm çalışmalarda bu mikroorganizma cinsinin γ -dekalakton'u yüksek konsantrasyonlarda ürettiği belirtilmiştir. Ancak, üretilen laktonların ortamdaki mikroorganizma florası üzerindeki toksik etkilerinin yerinde ekstraksiyon tekniğiyle azaltılabileceği belirtilmiştir (20, 21, 22).

Laktonlar arasında öneme sahip diğer bir bileşik de hindistan cevizinin esas bileşeni olan 6-pentil- α -piron'dur (19). *Trichoderma* cinsine ait türlerin fermentasyon yoluyla 6-pentil- α -piron'u yüksek verimde üretme yeteneğine sahip oldukları belirlenmiştir. Yüzey kültür ve derin kültür fermentasyon yöntemlerinin kullanıldığı bir çalışmada, kullanılan farklı türler arasında *Trichoderma harzanium* türünün en yüksek konsantrasyonda 6-pentil- α -piron ürettiği belirlenmiştir. Aroma maddelerinin geri kazanımı için ek olarak herhangi bir işlemin yapılmadığı denemelerde, 167-455 mg/l arasında 6-pentil- α -piron üretildiği tespit edilmiştir (23).

Esterler

Aroma maddeleri arasında ayrı bir öneme sahip olan diğer bir grup da esterlerdir. Uzun zincirli asitlerle alkoller arasında meydana gelen reaksiyonlar sonucu oluşan esterler gıda, deterjan, kozmetik ve farmakoloji endüstrilerinde katkı maddesi olarak kullanılmakta, kısa zincirli asitlerle alkollerin ürünleri ise önemli aroma maddelerini oluşturmaktadır. Birçok alkol asetatları ticari olarak önemli bileşikler olup bunlardan etil asetat, izobütil asetat ve izoamil asetat aroma sanayiinde kullanılmaktadır. Özellikle izoamil asetat keskin muz aroması verdiği için gıda sanayiinde tüketimi oldukça fazladır ve yıllık üretimi 74 ton civarındadır (24).

Esterlerin doğal formları oldukça pahalı ve zor temin edilebilmektedir. Kimyasal olarak sentezlenenler ise ucuz ama doğal olmadıkları için tercih edilmemektedir. Yapılan araştırmalar sonucu aroma esterlerinin lipazlarla üretiminin mümkün olabileceği belirtilmiştir. Genellikle farklı kaynaklardan elde edilen serbest ve immobilize lipazlarla organik çözücülerde üretimleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. *Mucor miehei* den elde edilen serbest lipazlar kullanarak n-heptan içerisinde esterifikasyonla 37°C'de 24 saat içerisinde 26 g/l izoamil asetat elde edilmiştir (24).

Yüksek alkollerden biri olan amil alkol damıtık içki endüstrisi atıklarındandır. Esterlerin mayalar tarafından üretimi, alkollerin asetil koenzim A ile esterifikasyonu ile gerçekleşmektedir (25). *Willopsis saturnus* var. *mrakii* özellikle muz aromasının karakteristik bileşeni olan 3-metilbütülasetat'ı ve bazı uçucu asetatları yüksek alkollerden üretebilmektedir. Valin, lösin ve izolösin amino asitleri bu asetatların doğal ön bileşikleri olup mayalar tarafından izobütanol, 3-metilbütanol ve 2-metilbütanol gibi yüksek alkollere metabolize edilmekte ve alkolasetiltransferazlarla izobütülasetat, 3-metilbütülasetat ve 2-metilbütülasetat üretilmektedir (26). Fermentasyon ortamına substrat olarak ilave edilen yüksek alkollerin *Willopsis saturnus* var. *mrakii* tarafından asetatlara dönüştürüldüğü ve 3-metilbütanol'ün en hızlı ve en yüksek verimle esterleştirildiği belirlenmiştir (27). Çizelge 3'de ortama ilave edilen yüksek alkollerin biyodönüşüm verimleri verilmiştir.

Çizelge 3. Yüksek alkollerin asetatlara biyodönüşüm verimleri (27)

Ön bileşik	Ester	Biyodönüşüm verimi
2-metilbütanol	2-metilbütül asetat	% 63
3-metilbütanol	3-metilbütül asetat	% 91
İzobütanol	İzobütül asetat	% 15

ENDÜSTRİYEL UYGULAMALAR

Yukarıda değinilen aroma maddelerinden bazıları biyoteknolojik yöntemlerle endüstriyel ölçekte üretilmektedir. Üretimi gerçekleştiren firmalar genellikle fermantasyon tekniklerini kullanmaktadırlar. Bir Alman firması olan BASF'a bağlı *Fritzsche, Dodge ve Olcott* şirketi şeftali aromasının bileşeni olan 4-dekalakton'u mikrobiyal yolla üretmektedir. İşlem, risinoleik asit olarak ta bilinen hint yağının *Yarrowia lypolitica* tarafından β -oksidasyon yoluyla dönüşümünü içermektedir. Üretimde 6 g/l'lik bir verime ulaşılmıştır. İngilterede ise *Unilever* firması tarafından ekmek mayası kullanılarak margarinlere tereyağı aroması vermek amacıyla kullanılan (R)- δ -dodekanolid üretilmektedir. 300 hektolitrel bir fermentörde gerçekleştirilen işlemden substrat olarak 5-ketododekanoik asit kullanılmaktadır. Bir Amerikan firması olan *Hercules* ise bütirik asit ve etil bütirat üretmektedir. *Clostridium acetobutylicum* glukozu anaerobik koşullarda bütirik asit'e dönüştürmekte ve bu ürünün fermantasyon ortamındaki konsantrasyonu % 12'ye kadar çıkmaktadır. Elde edilen bütirik asit gıdalara doğal peynir aroması vermek amacıyla kullanılmaktadır. Meyve aromasına sahip etil bütirat ise etanolle esterifikasyon yoluyla elde edilmektedir. Bu yöntemle üretilen etil bütirat'ın fiyatı 180 \$/kg'dır. Meyve sularından konsantre edilen etil bütirat'ın fiyatı 5000 \$/kg iken, sentetik olarak üretilen etil bütirat'ın fiyatı ise 4 \$/kg'dır (3).

SONUÇ

Gıda katkı maddeleri arasında önemli bir paya sahip olan aroma maddeleri uzun zamandan beri gıdalarda kullanılmaktadır. Tüketicilerin son zamanlarda doğal ürünlere olan ilgisi ve yasal kısıtlamalar doğal aroma maddelerinin üretilmesine ve yeni biyoteknolojik yöntemlerin geliştirilmesine neden olmuştur. Bu yöntemlerin aroma maddelerinin üretiminde kullanılması, bitkilerden ve hayvanlardan elde edilen aroma maddelerine nazaran daha ucuzdur. Biyoteknolojide yaşanan hızlı ve yeni gelişmelerle aroma maddelerinin üretiminde kullanılan biyokatalistlerin veriminin artırılması yapılacak olan araştırmalarla mümkün olacaktır. Endüstriyel ölçekte üretime geçiş için basamak teşkil edecek bu araştırmaların sürdürülmesi hem ekonomik, hem de doğal ürünlerin elde edilmesi açısından oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Vandamme E. J. Soetaert W. 2002. Bioflavours and fragrances via fermentation and biocatalysis. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77: 1323-1332.
2. Anonim. 1997. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Dünya Yayıncılık, İstanbul. (16 Kasım 1997).
3. Janssens L. de Pooter H. L. Schamp N. M. Vandamme, E. J. 1992. Production of flavours by microorganisms. *Process Biochemistry*, 27: 195-215.
4. Vanderhaegen B. Neven H. Coghe S. Verstrepen K. J. Derdelinckx G. Verachtert H. 2003. Bioflavouring and beer refermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62: 140-150.
5. Lomascolo A. Stentelaire C. Asther M. Lessage-Meessen L. 1999a. *Basidiomycetes* as new biotechnological tools to generate natural aromatic flavours for the food industry. *Tibtech.*, 17: 282-289.
6. Winterhalter P. Schreier P. 1993. *Biotechnology: Challenge for the Flavor Industry*. Flavor Science. American Chemical Society, 225-258.
7. Canbaş A. 1988. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi ders kitabı, No:78, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset ve Teksir Atölyesi, 199 s, Adana.
8. Stanbury P. F. Whitaker A. Hall S. J. 1995. *Principles of Fermentation Technology*. 2.nd ed., 357 s, Pergamon, U. K.
9. Korukoğlu M. 1998. Doğal aroma maddeleri üretiminde mikroorganizmalar. *Gıda*, 23 (1) 48-50.

10. Pekin B. 1993. *Biyokimya Mühendisliği (Biyoteknoloji)*. Ege Üniversitesi Kimya Fakültesi yayınları, No: 3, Mas Ambalaj, 409 s, İzmir.
11. Walton N. J. Mayer M. J. Narbad A. 2003. Vanillin. *Phytochemistry*, 63 (5): 505-515.
12. Walton N. J. Narbad A. Faulds C. B. Williamson A. 2000. Novel approaches to the biosynthesis of vanillin. *Current Opinion in Biotechnology*, 11: 490-496.
13. Thibault J. F. Asther M. Ceccaldi B. C. Couteau D. Delattre M. Duarte J. C. Faulds, C. Heldt-Hansen H. P. Kroon P. Lesage-Meessen L. Micard V. M. G. C. Renard C. Tuohy M. Van Hulle S. Williamson G. 1998. Fungal Bioconversion of Agricultural By-Products to Vanillin. *Lebensm.-Wiss. und Technol.*, 31: 530-536.
14. Shimoni E. Ravid U. Shoham Y. 2000. Isolation of a *Bacillus* sp. Capable of transforming isoeugenol to vanillin. *Journal of Biotechnology*, 78: 1-9.
15. Lesage-Meessen L. Lomascolo A. Bonnin E. Thibault J. F. Buleon A. Roller M. Asther M. Record E. Ceccaldi B. C. Asther M. 2002. A Biotechnological Process Involving Filamentous Fungi to Produce Natural Crystalline Vanillin from Maize Bran. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 141-153.
16. Simmonds J. Robinson G. K. 1997. Novel biotransformations to produce aromatic and heterocyclic aldehydes. *Enzyme and Microbial Technology*, 21: 367-374.
17. Lomascolo A. Lesage-Meessen L. Labat M. Navarro D. Delattre M. Asther M. 1999b. Enhanced benzaldehyde formation by monokaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using a selective solid adsorbent in the culture medium. *Can. J. Microbiol.*, 45: 653-657.
18. Waché Y. Aguedo M. Nicaud J.-M. Belin J.-M. 2003. Catabolism of hydroxyacids and biotechnological production of lactones by *Yarrowia lipolytica*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 61: 393-404.
19. Longo M.A. Sanromán M.A. 2006. Production of Food Aroma Compounds: Microbial and Enzymatic Methodologies. *Food Technol. Biotechnol.*, 44(3): 335-353.
20. Dufossé L. Souchon I. Feron G. Latrasse A. Spinnler H. E. 1999. In Situ Detoxification of the Fermentation Medium during γ -Decalactone Production with the Yeast *Sporidiobolus salmonicolor*. *Biotechnol. Prog.*, 15: 135-139.
21. Dufossé L. Feron G. Mauvais G. Bonnarne P. Durand A. Spinnler H. E. 1998. Production of γ -Decalactone and 4-Hydroxy-Decanoic Acid in the Genus *Sporidiobolus*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 86 (2): 169-173.
22. Feron G. Dufossé L. Pierard E. Bonnarne P. Le Quere J.-L. Spinnler H. E. 1996. Production, Identification, and Toxicity of γ -Decalactone and 4-Hydroxydecanoic Acid from *Sporidiobolus* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (8): 2826-2831.
23. Kalyani A. Prapulla S. G. Karanth N. G. 2000. Study on the production of 6-pentyl- α -pyrone using two methods of fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53: 610-612.
24. Güvenç A. Kapucu N. Mehmetoğlu Ü. 2002. The production of isoamyl acetate using immobilized lipases in a solvent-free system. *Process Biochemistry*, 38: 379-386.
25. Quilter M. G. Hurley J. C. Lynch F. J. Murphy M. G. 2003. The production of Isoamyl Acetate from Amyl Alcohol by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Inst. Brew.*, 109 (1): 34-40.
26. Janssens L. de Poorter H. L. Vadamme E. J. Schamp N. M. 1987. Production of flavours by the yeast *Hansenula mrakii*. *Med. Fac. Landbouwwet., Rijksuniv. Gent*, 54 (4): 1907-1913.
27. Janssens L. de Poorter H. L. de Mey L. Vadamme E. J. Schamp N. M. 1989. Fusel oil as a precursor for the microbial production of fruity flavours. *Med. Fac. Landbouwwet., Rijksuniv. Gent*, 54 (4a): 1387-1391.