

## Bazı Gıda Katkı Maddelerinin Mikrobiyal Sentezle Üretilimi Olanakları Üzerinde Çalışmalar

Doç. Dr. Artemis KARAALI

(Meyna) Tarım Ürünleri Sanayi ve İhracat A.Ş. — İSTANBUL

### ÖZET

Mikrobiyal sentezle üretilebilecek katkı maddelerinin hemen hemen sınırsız olmasına karşın, bu alandaki teknik uygulamalar oldukça kısıtlı olup, günümüzde ticari açıdan önem taşıyanlar sadece bazı amino ve organik asitlerdir.

Son yıllarda, çeşitli gıdaların lezzetlerinin bazı enzim ve mikroorganizmalarca modifiye edilebilmesi, onlara arzuya göre meyvesi, etimi, sütünsü ve benzeri tad-kokuların kazandırılması yaygın tüketici kabulu görmüş, böylece gıda teknolojisi bu yeni alanda bir çok araştırma ve denemelere girişmişlerdir.

Bu derlemede önce mikrobiyal sentezle üretilen tüm katkı maddeleri genel bir spektrum içinde sunulmakta, daha sonra biyoteknoloji ile üretilebilecek aroma bileşikleri üzerindeki bazı yeni gelişmeler detaylı olarak aktarılmaktadır.

### SUMMARY :

#### STUDIES ON PRODUCTION POSSIBILITIES OF CERTAIN FOOD INGREDIENTS BY MICROBIAL SYNTHESIS

While the spectrum of food ingredients that might be produced microbially is unlimited, actual applications of microbial technology in this area are restricted to some amino and organic acids. Recently, the fact that the flavours of certain foods can be modified by use of various enzymes and microorganisms which generate fruity, meaty or dairy aromas, and that these commodities enjoy wide consumer acceptance, has led food technologists to initiate further research in this vast new field.

This review covers a general spectrum of all food ingredients that can be produced by microbial synthesis, followed by a more detailed account of recent research studies on production of flavour and aroma compounds using biotechnology.

### GİRİŞ

Biyoteknolojinin en eski kullanım bulduğu alan gıda endüstrisidir. Gerek alkollü içecekler

ve şirke, gerek ferment süt ürünleri üretiminde mikroorganizmalardan yararlanması insanlık tarihi kadar eskidir. Ancak bugün gelinen aşamada, biyoteknoloji bir geleneksel yöntem olmaktan çıkmış, ampirik yaklaşım yerini, bilimsel spesifik uygulamalara bırakmıştır.

### GIDA KATKILARI VE BIYOTEKNOLOJİ

Gıda ürünlerine gerek onların çeşitli fonksiyonel özelliklerini modifiye etmek, gerek raf ömrülerini uzatmak amaçları ile katılan maddeler, «gıda katkı maddeleri» olarak adlandırılmaktadır. Kullanım amaçlarına göre, Türk Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğince (Anon. 1988) sınıflandırımları aşağıda gösterilmiştir:

Asitliği düzenleyiciler, topaklanması önleyiciler, antioksidanlar, aroma maddeleri, tadlandırıcılar, boyalar, emulgatörler, enzimler, starterler, modifiye nişastalar, antimikrobiyal maddeler, stabilizörler, kıvam artırmalar, çözüçüler, kaplama maddeleri, ve diğerleri.

Bu sınıflara dahil olan maddelerin tümünün gıdalara sakincasızca katılımı, bunların gerek ulusal yönetmelik ve düzenlemelerle belirlenmiş safiyet ve kalite kriterlerine kesin uyumlarına bağlıdır. Bu durum da, gıda katkı maddeleri üretiminde kontrollü ve hijyenik koşullara uygun teknolojileri zorunlu kılmaktadır.

Üretimlerinde biyoteknolojiden yararlanılabilme olanakları üzerinde inceleme ve araştırmalar bulunan gıda katkı maddelerinin ayrıntılı bir dökümü, Cetvel 1'de sunulmaktadır.

Cetvelden görüleceği üzere, bir kısmı endüstriyel ölçüde yansımış olan biyoteknolojik yöntemlerle, çeşitli aroma maddeleri, pigmentler, tadlandırıcılar, kıvam vericiler, antimikrobiyal maddeler, asitliği düzenleyiciler, emulgatörler ve bazı zenginleştirme katkılarının üretim olanakları üzerinde yoğun çalışmalar mevcuttur.

### Aroma Maddeleri ve Biyoteknoloji :

Cetvelden yine görüleceği üzere, üretimlerine biyoteknoloji ile yaklaşılan katkı maddeleri arasında, aroma maddelerinin önemli bir yeri vardır. Biliindiği gibi, günümüzde hazır yi-

Cetvel 1. Mikrobiyal sentezle üretilebilecek gıda katkıları (Anon. 1988)

Fonksiyonel Sınıflama	KATKI MADDESİ	Sentezinde Kullanılan Mikroorganizma
Kıvam Vericiler	Dekstranlar Polisakkaridler Xantan gum	Leuconostoc mesenteroides Argobacterium radiobacter Xanthamana campestris
Antimikrobial Madde	Nisin	Streptococcus lactis
Tadlandırıcılar (şekerler)	D - arabitol Mannitol Xylitol	Candida diddensi Torulopsis manniot Torulopsis candida
Zenginleştirme Katkıları	Lysine Leucine Triptofan Proline Glutamik asit Fenilalanin	Corynebacterium glutamicum Brevibacterium lactorfermentum Escherichia coli Serratia marcescens Corynebacterium glutamicum Bacillus polymyxa
Pigmentler	B - karoten Chrysogenin Monascin	Blakeslea trispora Monascus purpureus Monascus purpureus
Aroma Maddeleri	Citronellol (meyvemi) Diacetyl (tereyağımsı) Gamma decalaktor (şeftaliimsı) 3 - Metilbutil asetat (muzumsu) Yağasidi esterleri (meyvemi) Seskiterpenler (meyvemi) Tetrametilpirazin (fındıkimsı) 6 - pentil - 2 - pyron (Hind. Cev.)	Ceratocystis sp. Leuconostoc cremoris Streptococcus lactis Sporobolomyces odorum Ceratocystis moniliformis Pseudomonas sp. Lentinus lepideus Bacillus subtilis Corynebacterium glutamicum Trichoderma viride
Asitlik Düzenleyiciler	Asetik asit Laktik asit	Acetobacter pasteurianus Streptokok ve Laktobasiller
Emülgatör		Candida lipolytica

yeceklerin büyük bir kısmına arzu edilen tad ve aromaların kazandırılması amacıyla yapay, doğal veya doğala özdes olmak üzere üç tip aroma maddesi ilave edilmektedir. Bu maddeler, dünyada kullanılmakta olan gıda katkı maddeleri miktarının yaklaşık % 10 - 15'ini, gıda katkıları pazarının parasal değerinin de % 25'ini oluşturmaktadır, bu amaçla yapılan harcamaların 3.000.000 Amerikan dolanının üzerinde olduğu bildirilmektedir. (Kılvanç, 1989).

Son yıllarda tüketiciler arasında gözlenen doğal ürünlerde yönelik bariz eğilim, sentetik aroma maddeleri yerine doğal ve doğala özdes bileşikleri tercih edilir ikilmiştir. Mikrobiyal sentez veya enzim modifikasyonu ile üretilen aroma maddeleri de, kaynakları canlı organizmalar olması nedeniyle, doğal katkılar kapsamında mütalaa edilmektedirler.

Mikroorganizmalar ve enzimler kullanılarak üretilen aroma maddeleri iki genel başlık al-

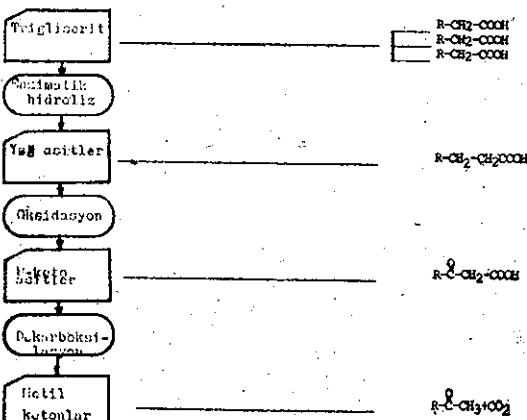
tında toplanmaktadır (Armstrong ve Yamazak 1986) :

1. Çok - bileşenli (multicomponent) aroma karışımıları,
2. Bireysel aroma unsurları.

Bunlardan iki, geleneksel fermentte gıda ürünlerinin karakteristik aromalarını temin eden sistemlerdir. Peynir ve şarapların kendilerine özgü tad ve kokularını veren bileşiklerin oluşturduğu sistemler bu gruba girmektedir. Süt yağıının enzimlerle hidrolize (lipoliz) sonucu açığa çıkan serbest yağasitlerinin göreceli oranları, çeşitli peynirlerin karakteristik tadlarında en etkin faktördür.

Yine küflü peynirlerden, Rokfor peynirinin karakteristik aromasını, bu serbest yağasitlerinin oksidasyonu, ve bunun ardından dekarboksilasyon sonucu oluşan metilketonlar oluşturmaktadır.

Yukarıda sözdedilen aroma sisteminin oluşum mekanizması Şekil 1'de özetlenmiştir. Süt yağıntı mekanizma (hidroliz - oksidasyon - dekarboksilasyon) ile Rokfor peyniri aromasına



**Şekil 1. Rokfor peyniri aromasının oluşum mekanizması (Gatfield, 1988) Sorumlu mikroorganizma : *Penicillium roqueforti*.**

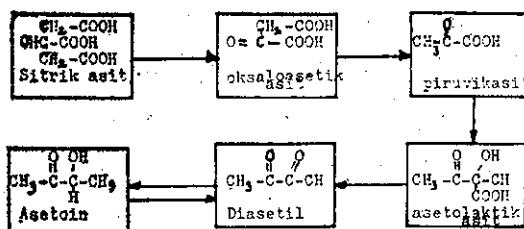
dönüştürmen prosesler sonucu elde olunan broth'un önce termal inaktivasyonu sağlanır. Ardından, broth'un püskürtmeli kurutucuda kurutulması ile, istenilen ürüne istenilen dozda kullanılabilcek «Rokfor peyniri aroması» elde olmaktadır.

İkinci başlık altında toplanan bireysel aroma unsurlarının başlıcaları ise, esterler, laktalar, terpenler, piraziner, aldehitler gibi, kimyasal yapıları kesin tespit edilebilen, ve her

birinin kendisine özgü, karakteristik aroma özelliği bulunan bileşiklerdir. Üretimleri de, çeşitli biyokatalistlerden yararlanılarak, spesifik biyodönüştüm sistemleri ile gerçekleştirilebilmektedir. Oluşum mekanizmaları:

1. Biyosentez, 2. Direkt enzimatik, 3. Indirekt enzimatik, 4. Pirolitik, olmak üzere, 4 değişik yoldan birini veya birkaçını izler (Kilara, 1986). Bireysel aroma unsurlarının üretmeleri, birkaç örnekle açıklanma-ya çalışılacaktır :

**Örnek 1 : Diasetil :** Fermente süt ürünlerinde arzu edilen ve tereyağımız aromaya sahip bu düşük molekül ağırlıklı karbonil bileşigi, esasen süte doğal olarak bulunan sitrik asitten başlayarak sentezlenmektedir. Bu biyodönüştümde, laktik streptokokalar etkin olmaktadır. Diasetil biyosentezi, Şekil 2'de özetlenmiştir.



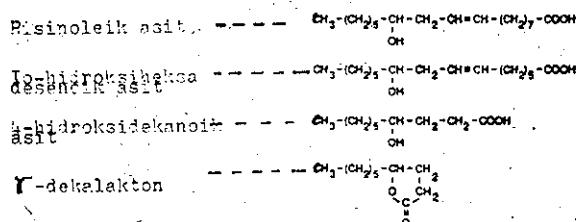
**Şekil 2. Diasetil biyosentezi (Gatfield 1988).**

**Örnek 2 : Laktonlar :** Doğadaki meyvelerin güzel karakteristik kokularının çoğunun, bileşimlerinde bulunan lakton yapısındaki bileşiklerden ileri geldiği aydınlatılmıştır.

Bunlardan  $\delta$ -dekalaktون, tanıdığımız şeftali aromasının en etkili ögesi olup, biyosentezinin de oldukça basit olması nedeniyle, endüstriyel ölçekte üretilerek kullanılmaktadır. Hintyağının yaklaşık % 80'ini oluşturan risinoleik asidin bazı *Candida* suşlarında lipolize uğratılması ve akabinde bu asidin  $\beta$ -oksidasyonla 4 hidroksidekanoik aside dönüşümü, fermentasyon broth'un pH'sının 1.5 civarına düşürülerek 10 dakika kaynatılması ile oluşan  $\delta$ -dekalaktonun solvent ekstraksiyonuyla ayırtırılarak saflaştırılmışından ibaret olan bu biyodönüştüm sistemi, Şekil 3'te özetlenmiştir (Farbood 1983) :

Bir diğer aromatik lakton da 6-pentil- $\alpha$ -piron olup, tipik hindistan cevizi tad ve kokusundandır. *Trichoderma* viride adlı toprak küfünün patates dekstroz vasatında geliştirilmesi sonunda oluşmaktadır. Saflaştırılması, kültür

vasatının buhar distilasyonuna tabi tutulması ile gerçekleştirilmektedir. Collins ve Halim



**Şekil 3. Hintyağından  $\delta$ -dekalakton sentezi Sorumlu mikroorganizma : Candida lipolytica.**

**Cetvel 2. Ceratocystis moniliiformis'in değişikazot kaynaklarında oluşturduğu aromalar (Drawert (1985).**

#### Azot Kaynağı

Asparagin .....	Muzumsu
Glutamini .....	Salatalık kokusu
Valin .....	Genel meyvesi
Fenilalanin .....	Çilekçi, tatlı koku
Alifatik aminoasit karışımı (ala, gly, leu, ileu, lys, arg) .....	Elmamsı
Sıklık aminoasit karışımı (Tyr, pro, his) .....	Kabuklu yemiş (ceviz - fındık) kokusu

#### SONUÇ :

Yukarıda örneklerden görüleceği üzere, mikrobiyal senteze üretilebilecek aroma maddeleri sadece insan muhayyelesiyle sınırlıdır. Bir diğer deyişle, olağanlar adeta sonsuzdur.

Ancak, hala dahi, çalışmaların çoğu dene me - yanılma yöntemleri yürütmektedir. Oysa

(1972), vasata oranla verimi, 170 mg lakton/litre vasat olarak saptamışlardır.

**Örnek 3. Amino asit kaynaklı aroma unsurları :** Bazı amino asitlerin doğal aromaları, çeşitli biyokatalistlerce modifiye edildiğinde, çok değişik tad ve kokular elde edilebilmektedir. Örneğin, Drawert (1985) tarafından Ceratocystis moniliiformis ile yürütülen bir araştırmada, % 3'lük dekstroz içeren bir vasata, % 0,1 oranda katılan değişik amino asitler ile, birbirinden çok farklı aroma unsurları elde olunmuştur. Bunlar Cetvel 2'de özetlenmiştir.

#### K A Y N A K L A R

- ANONYMOUS, 1988. Türk Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Resmi Gazete Sayı No. 19746, 6 Mart 1988.
- ANONYMOUS, 1988. «Food Biotechnology : A scientific Status Summary», IFT Expert Panel on Food Safety and Nutrition.
- ARMSTRONG, D. W. ve H. YAMAZAKI, 1986. «Natural Flavours Production» Trends in Biotechnology, No. 4, s. 264 - 268.
- COLLINS, R. P. ve A. F. HALIM, 1972. Journal of Agricultural and Food Chemistry, No. 20, s. 437.
- DRAWERT, F. 1985. in «Aroma Research», ed. H. Maarse ve P. J. Groenen Pudoc, Wageningen, s. 13.
- FRERBOOD, H. ve WILLIS, B. 1983. European Patent PCT 1072.
- GATFIELD, I. L., 1988. «Production of flavour and aroma compounds by biotechnology», Food Technology, 42 (10), s. 110.
- KILARA, A. W. A. MÜTILANGI, 1986. The role of enzyme and microbial biotechnology in flavour development of foods», Online International Inc.
- KIVANÇ, M. 1989. «Doğal aroma maddeleri üretime biyoteknolojik yaklaşım», GIDA, sayı 3, s. 165.