

Gıda Endüstrisinde Mikroorganizmaların Kullanılma Alanları ve Mikrobiyal Gıda Üretimi

Yakup Can SANCAK Özgür İŞLEYİCİ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Geliş tarihi: 26 haziran 1996

The Use of Microorganisms in Food Industry and Microbial Food Production

Summary: This compilation aims at introducing the microbial food production, the use of microorganisms in food industry and the importance of single-cell proteins in feeding.

Özet: Bu derlemede, mikroorganizmaların gıda endüstrisinde kullanılma alanları, mikrobiyal gıda (tek hücre proteini) üretimi ve tarihçesi ile tek hücre proteinlerinin beslenmedeki önemi üzerinde durulmuştur.

Giriş

Hızla artan dünya nüfusu, dünyanın önümüzdeki yıllarda en önemli probleminin açlık olacağını göstermektedir. Dünya nüfusu haftada bir milyon üç yüz bin, saniyede ise iki kişi artmaktadır. Gıda üretimi ise, aynı düzeyde artmamakta, her yıl gittikçe büyüyen bir gıda maddeleri açığı ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan dünyanın birçok yöresinde kalitesiz ve dengesiz diyetlerle beslenme genel bir tablo olarak ortaya çıkmakta, tahıl ağırlıklı diyetlerle beslenmede gerekli kalori sağlanmasına karşın lizin, triptofan, metiyonin gibi esansiyel aminoasitler yönünden bir eksiklik meydana gelmektedir. Bu durum bizi yeni gıda üretim teknolojileri aramaya ve gıdaları nicelik ve nitelik yönünden takviye etmeye zorlamaktadır (4,8,25). Bitki ve hayvan ıslahı çalışmaları ile verimi artırma çabaları sınırlı tedbirler olarak gözükmekte ve probleme tatmin edici bir çözüm bulacak gibi görünmemektedir. İşte bu darboğazda mikroorganizmaların gıda üretiminde kullanılması kurtarıcı bir kimlikle karşımıza çıkmaktadır (27).

Çok eski zamanlardan beri insanlar bilinçsiz olarak mikroorganizmalardan faydalanmışlardır. Ekmek, peynir, yoğurt, turşu, sirke, şarap ve bira gibi ürünler bu şekilde ortaya çıkmıştır. Böylece insanlar yüzyıllardır farkında olmadan mikroorganizmaları kullanarak, tükettikleri bazı gıdaların niteliklerini istedikleri yönde değiştirmişler, bazen de yeni gıda türleri (yoğurt, kefir gibi) elde etmişlerdir (4,9,11,15,18,22,23,27).

İnsanlar, 19. y.y.'da mikroorganizmaların gıda üretiminde kullanılabileceklerinin farkına varmışlar, ancak mikroorganizmaların bilinçli olarak gıda üretiminde kullanılması ise son yıllarda başlamıştır. Gelişen bilimsel ve teknolojik çalışmalarla mikroorganizmaların insanlık ve endüstri yararına kullanılması, bugün biyoteknoloji veya endüstriyel mikrobiyoloji adı ile uygulamalı bir bilim dalı hatta üretim alanı ortaya çıkarmıştır.

Özellikle gıda mikrobiyolojisi ve gıda biyoteknolojisi adı altında yürütülen çalışmalarla, proteinler, yağlar, organik asitler, enzimler, aminoasitler, vitaminler, alkol, pigmentler, terapötik ajanlar, karbonhidratlar ve polisakkarid gibi maddelerin mikroorganizmalar vasıtası ile üretimi mümkün olmuştur (4,9,21,24).

Tarihçe

Küf, maya, bakteri ve alg gibi mikroorganizmaların besiyerlerinde üretilmeleri sonucu bu mikroorganizmalara ait hücrelerin kurutulması ile elde edilen ürüne "Tek Hücre Proteini" (Single-Cell Protein) adı verilmiştir. Mikroorganizmalardan elde edilen proteinler önceleri "Mikrop Proteini" olarak isimlendiriliyordu. Prof. Carol Wilson 1966 yılında besin maddelerine verilen "mikrobiyal" teriminin hoş karşılanmayacağını öne sürerek "Tek Hücre Proteini" terimini kullanmıştır. Tüm proteinlerin tek hücreden kaynaklanmaları nedeniyle tek hücre proteininin istenilen anlamı taşıması kısa sürede kullanılması yaygınlaştırmıştır (4,12,20,21,23,24,25).

Mikroorganizmalar, gıda eldesinde çok eski devirlerden beri bilinçsiz de olsa kullanılmışlardır. Spirulina (mavi-yeşil alg) cinsine ait algler, Aztekler zamanından beri Meksika'daki ufak göllerde ve havuzlarda üretilmekte ve zengin bir protein kaynağı olarak tüketilmektedir (2,4,20). Sahra'daki Çat Gölü çevresinde yetişen aynı cinse ait algler kurutularak çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Eski kayıtlar, besinlerin vitamin ve proteince zenginleştirilmesinde Çin'de Laminaria ve Gracilaria'nın, Japonya'da Porphyra'nın kullanıldığını yazmaktadır. Deniz yosunlarından Rhodomenia palmata İskoçya ve İzlanda'da, Chondrus crispus ise Batı Avrupa'da besin kaynağı olarak kullanılmışlardır (2,4).

ABD'de 1900'lü yıllarda, çeşitli ortamlarda çoğaltılan mikroorganizmalar santrifüj ve separasyon ile ayrılarak kullanılmışlardır (9,20,21).

Laktik asit bakterileri, fermente süt, peynir, sucuk ve doğu orijinli gıdaların yapımında kullanılmaktadır. Bunlardan yoğurdun mikrobiyal bir faaliyet sonucu oluştuğu 1932'de ortaya konmuş ve ABD'de Dr. J.M. Russel tarafından ticari olarak kültürü yapılmaya başlanmıştır (9,18,19,23,25).

1866 yılına kadar kimyasal bir parçalanma sonucu olgunlaştığı sanılan peynirlerin olgunlaşmasına, çeşitli mikroorganizmaların sebep olduğu 1875'te Fred Cohn ve 1886'da da V.Hesslin tarafından ortaya konmuştur (18). Böylece insanlar mikroorganizmaların yalnızca hastalık yapmadıklarının bazen de faydalı olabileceklerinin farkına varmışlardır (11,21).

1890 yılında Hollandalı Beijerinck, Chlorella vulgaris'i agar plaklarda üretmeyi başarınca mikroalglerinde gıda eldesinde kullanılması gündeme gelmiştir (2).

Birinci dünya savaşı sırasında Almanya'da kayda değer ilk "tek hücre proteini" (THP) üretimi gerçekleştirilmiş, *Saccaromyces cerevisiae* (ekmek mayası), karbon ve enerji kaynağı olarak melas, nitrojen kaynağı olarak da amonyum tuzları kullanılarak üretilmiştir (20).

İkinci dünya savaşında Almanlar, diyetlerde vitamin ve protein yönünden bir yetersizlik ortaya çıkınca gıdaları nicelik ve nitelik yönünden takviye etmek için maya ve mantarları üretmişlerdir. *Candida utilis* (Torula mayası) odun asit hidrolizatında ve kağıt yapım sanayii yan ürünü olan sıvı sülfat likörde üretilerek insan ve hayvan gıdalarında protein kaynağı olarak kullanılmıştır (20).

İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra İngilizler, Taiwan ve Jamaika'da mayasal gıda üretimi için tesisler kurmuşlardır. Günümüzde, mayalardan besin ve besin maddeleri üretiminin Almanya, İsviçre, Finlandiya, Fransa, Jamaika, G.Afrika Cumhuriyeti, İsrail, A.B.D., Singapur, Taiwan ve Rusya gibi ülkelerde uygulandığı bilinmektedir (9,20,21,23).

Mikroorganizmaların gıda üretiminde tercih sebepleri ve avantajları

Biyoteknolojinin ve endüstriyel mikrobiyolojinin en önemli hammaddesini bakteriler oluşturur. Bakterilerden elde edilen THP gelecekte canlıların protein gereksinimlerinin karşılanmasında sınırsız olanaklar sağlayacak bazı özelliklere sahiptir (4,27).

Mikroorganizmaların gıda üretiminde tercih sebepleri ve avantajları aşağıda özetlenmiştir;

-Mikroorganizmalar, dünyada binlerce türden oluşan çok geniş bir çeşitliliğe sahiptir ve bu türler farklı organik ya da inorganik maddeleri besin olarak kullanır ve çoğalırlar.

-Ortalama 20 dakikada bir bölünerek çoğalırlar. Örneğin bir *E.coli* 18-20 dakikada bir bölünerek çoğalır ve optimum şartlar sağlanabilirse

48 saatte tek bir *E.coli*'den dünyanın ağırlığının 4000 katı bir mikroorganizma üremesi olur.

-Bakteri kalıtım materyalleri, yüksek yapılı canlılara oranla üzerinde daha kolay manipulasyon yapılabilecek şekilde az ve basit moleküllerdir. Tek hücre proteini üretiminde kullanmak için bunlarla yeni hibrit mikroorganizma türlerinin sentezi mümkündür.

-Sürekli madde sentezletmek amacıyla, cam ve plastik gibi inert yüzeylere bağlanabilir ya da jel içinde muhafaza edilebilirler.

-Çevre, yer ve iklim gibi doğa faktörlerinden pek etkilenmezler.

-Yüksek yapılı canlıların hayatı önem taşıyan özel proteinlerini ya da benzeri bileşikler gen aktarımı yolu ile mikroorganizmalara ürettirmek mümkündür.

-Bazı tür mikroorganizmalar güneş enerjisi gibi sürekli ve ucuz enerji kaynaklarını biyolojik dönüşüm mekanizmalarında kullanma yeteneğine sahiptirler.

-İnsanlar için gıda niteliğinde olmayan maddeleri kullanarak tek hücre proteini sentezleyebilirler.

-Mikroorganizmaların özünde mevcut olan yüksek proteinlerin, (hücrenin yaklaşık %60-70'i oranında [kuru ağırlıkta]) temel proteinler olduğu bilinmektedir.

-Mikroorganizmalar bitkiler dışında, inorganik maddelerden ve havadaki azot, oksijen, karbon v.s.'den organik madde sentezleyebilen tek canlı türüdür (4,7,12,21, 24)

Uygun mikroorganizma kullanmak ve kontaminasyondan kaçınmakla standart, kaliteli, ekonomik ve hijyenik yönden güvenilir bir ürün elde etmek mümkündür.

Mikroorganizmaların gıda üretiminde kullanılmasının sakıncaları

Mikroorganizmaların gıda üretiminde kullanılmasının, yukarıda sayılan avantajları yanında birtakım sakıncaları da vardır. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz;

-Bakteriyel gıdalar tüketici açısından rahatsız edici, bayağı olarak değerlendirilebilir.

-Kuru maddelerinde yüksek oranda nükleik asit içerirler. Nükleik asitlerin yüksek konsantrasyonu (%6-11), serum ürik asit seviyesini yükselterek böbreklerde sertlik (taş) yapan gut hastalığına sebep olabilmektedir. Bu nedenle nükleik asit oranı %2'yi geçmemelidir.

-Yabancı protein yenmesinden dolayı deri reaksiyonları ortaya çıkabilmektedir.

-İçinde bulunabilecek farklı maddelerden dolayı karsinogenik, mutajenik ve teratojenik etkiler görülebilir.

-Baş ve eklemelerde ağrılar oluşabilir.

-Ratlara beş hafta süreyle günde 200-400 mg mikrobiyal proteinli rasyon verilmesi sonucu gastro-intestinal allerji ve alopecia gözlenmiştir.

-Deniz alglerinde flor ve iyot oranları normal düzeyin üstünde olabilir.

-Piliçlerde tek hücre proteini olan Probion, rasyonlara belli bir oranı geçecek şekilde katılırsa (%25-30'dan fazla) intestinal malabsorbsiyon nedeniyle vitamin D₃'ün emilmesi azalır (1,4,12,20).

Mikrobiyal tek hücre proteini yalnızca insan gıdası olarak değil, hayvan besleme rasyonlarında da kullanıldığından, bunların hayvanlar üzerinde ve hayvansal gıdalardaki etkileri de gözönünde bulundurulmalıdır. Örneğin; süt ineklerinde Aspergillus ve Penicillium türlerinden elde edilen mikrobiyal gıdaların rasyonlarda kullanılması aynı zamanda süt ile insanlara mikotoksinlerin geçme tehlikesini de ortaya çıkarmaktadır (11,13,17). Ayrıca genetik materyali değiştirilmiş bakteriler, laboratuvar ya da üretim sahası dışına çıkarılsa ekolojik dengenin bozulması gibi birçok problemi de beraberinde getirirler (23).

Gıda teknolojisinde mikroorganizmaların kullanıldığı alanlar

Gıda teknolojisinde çok geniş bir şekilde istifade edilen mikroorganizmaların kullanım alanları; gıda fermentasyonu ve olgunlaştırılması, enzim üretimi, mikrobiyal gıda üretimi ve katkı maddelerinin üretimi olarak özetlenebilir (4,9,22,24,25).

Gıda fermentasyonu ve olgunlaştırılmasında kullanılan mikroorganizmalar (starter kültürler)

Gıdalarda fermentasyon ve olgunlaştırma amacıyla kullanılan mikroorganizmalar; doğadan veya endüstriyel mikroorganizmaları muhafaza eden kültür koleksiyonu laboratuvarlarından sağlanırlar. Özel besi yerlerinde gelişme ve çoğalma özellikleri belirlenip tek veya miks kültürler halinde kullanılacağına karar verildikten sonra bunlar, liyofilize veya sıvı azotta saklanarak muhafaza edilir ve kullanıma sunulur. Özellikle sebzelerin uzun süre muhafazası için maya, mantar ve bakteriler, tek başlarına ya da kombine olarak kullanılırlar (4,9,11,15).

Fermentasyon ürünleri olarak (alkolik veya laktik fermentasyon) elde edilen gıdalar arasında ekmek, bira, şarap ve likörler sayılabilir. Ayrıca sütün fermentasyonu ile elde edilen yoğurt, kefir, kırmızı, koji, asidofilus'lü süt, villii, skyr, ymer, tatee ve filmjolk da bu şekilde elde edilen gıdalardandır (4,9,21,23,25).

Et ve süt ürünlerinin olgunlaştırılmasında Streptococcus, Lactobacillus türleri, Leuconostoc, Pediococcus, Propionobacter, Brevibacter, Bacillus ve Acetobacter gibi mikroorganizmalar

kullanılmaktadır. Bunlar; sorbitol, dekstran, α -amilaz ve glutamik asit gibi maddeler sentezleyerek aroma oluşturan mikroorganizmalardır (13,18,19, 30).

Starter kültürü oluşturacak mikroorganizmaları belirlemek için önce gıda maddelerindeki lezzet ve aroma maddeleri, daha sonra bu maddelerin hangi mikroorganizmalar tarafından meydana getirildiği tespit edilir ve bu mikroorganizmalar uygun ortamlarda çoğaltılarak bir sonraki üründe aroma ve tat oluşumunu düzenlemek amacıyla muhafaza edilirler (13,18,19).

Enzim üretimi

Enzimlerin elde edildiği başlıca üç kaynak vardır. Bunlar; hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklardır (4). Mikroorganizmalardan enzim elde edilmesi, üretilmelerindeki kolaylık bakımından ayrı bir önem taşımaktadır. Örneğin rennin enzimi eskiden buzağı abomazumundan elde edilirken günümüzde Mucor micei, Mucor pusillus, Endothia parasitica gibi küflerden elde edilmektedir (27). Böylece, sırf enzim elde etmek için buzağuların kesilmesi engellenmiş olmaktadır.

Gıda endüstrisinde mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimlerin başlıcaları; amilaz, glikoamilaz, invertaz, pektinaz, lipaz, sellüloz ve laktaz'dır (4,9,25).

Mikrobiyal Gıda (Tek hücre proteini) Üretimi

Mikroorganizmalar üremek için besin maddelerine ihtiyaç duyarlar ve bulundukları ortamdan gereksinim duydukları maddeleri alırlar. Çeşitli mikroorganizmalar karbon ve enerji kaynağı olarak değişik maddelerden yararlanırlar. Çünkü bakteri türlerinin sentez yapma yetenekleri birbirinden farklılık gösterir. Bu yüzden mikroorganizmaların üremesi için uygun bir besiyeri ve yine uygun nem, su aktivitesi, kıvam, hidrojen iyonu konsantrasyonu, sıcaklık, çözünmüş oksijen konsantrasyonu ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli gereklidir(9).

Mikroorganizmaların üremesi için gerekli tüm besin maddelerini içeren üzüm-bira şıraları, melas, soya küspesi, süt ve artıkları, pepton ve mısır maserasyon sıvısı gibi doğal ve yapay ortamlar kullanılarak çeşitli mikroorganizmalar üretilip THP elde edilmesinde kullanılabilirler (4,9,20).

Dünyadaki ünlü petrol üreticisi firmalar, mineraller ile zenginleştirilmiş madeni yağlar içinde yaşayan bakteri, maya ve protozoonlardan protein kaynağı olarak yararlanmak için faaliyetlerini süratle sürdürmektedirler (4,6,9,21,23,24,25,27).

THP üretimi teknolojisinde, çeşitli ortamlarda çoğaltılan mikroorganizmalar daha sonra bu ortamlardan santrifüj ve filtrasyon teknikleri ile ayrılarak besin ya da besin katkısı formuna

getirilirler. Bu konuda maya ve alglerle pekçok çalışma yapılmıştır. Kullanılan maya soyları, özel substrat ve besi yerlerinde üretilmiştir. Mayalar ve diğer mikroorganizmalardan elde edilen proteinler, yüksek protein kaynakları olarak değerlendirilmektedir. Mayalardan elde edilen besinler kuru maddede enaz 1/3 oranında protein içerip, saf olarak elde edilebilmelerine rağmen gıda ya da gıda katkı maddesi olarak bütün maya türleri protein üretiminde kullanılamamaktadır (4,20,24,25).

Mikrobiyal gıda üretiminde kullanılan mikroorganizmalar

1900'lü yıllarda ABD'de, özellikle alglerden THP üretimi üzerinde çalışmalar yapılmış ve Chlorella, Spirulina, Dunaliella gibi alg soyları başarı ile kullanılmıştır. Ticari amaçla Singapur, Taiwan, İsrail ve ABD gibi ülkelerde THP üretimi yapılmaktadır (2,6,10,20,22,25).

Ülkemizde de bazı Scenedesmus türleri ile ve lokal identifiye edilen türlerle bu konuda çalışmalar yapılmıştır (2).

THP üretiminde mayalardan da, geniş bir şekilde yararlanılmaktadır. Candida utilis, Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces fragilis, Saccharomyces pasteurianus, Torulopsis utilis ve Candida tropicalis bu amaçla kullanılan başlıca maya türleridir (4,20).

THP üretiminde kullanılan mikroorganizmalar; Mayalar (Candida, Torula, Torulepsis, Saccharomyces cinsleri), Küfler (Trichoderma, Fusarium, Penicillium, Aspergillus, Rhizopus, Geotrichum, Chatemium, Sporotrichum, Pilkeloria, Myrothectium, Coriolus cinsleri), Bakteriler (Methanomonas, Pseudomonas, Hydrogenomonas, Actinobacter, Seliberia, Comamanas, Bacillus, Corynebacterium, Lactobacillus, Artrobacter, Brevibacterium, Hydrogenomonas cinsleri) ve Algler (Spirulina, Scenedesmus, Chlorella, Dunaliella cinsleri) olarak gruplandırılmaktadır (2, 4, 6, 10, 16 20, 21, 27).

Mayalar, gelecekte belki de THP'ninden gıda üretimi için yaygın olarak kullanılacak ve kabul edileceklerdir. Özellikle Candida'lar hızla çoğalarak heksoz ve pentoz şekerlerinden faydalanabilirler. Böylece tek hücre proteini'nin bileşimine giren yardımcı gıdalar sentezleyebilirler. Mayalar; tüketici tarafından daha çok kabul görmeleri, düşük yoğunlukta nükleik asit içermeleri, kolay elde edilmeleri ve düşük pH'lı maddelerde kolay üremeleri gibi özelliklerinden dolayı genellikle bakteri ve alglerle göre daha çok avantajlara sahiptirler (4,20).

Tek hücre proteini üretiminde kullanılan hammaddeler

Mikrobiyal gıda üretimi için her zaman yüksek karbon/nitrojen oranı olan ve yeterli fosfat

içeren ortam şarttır. Fazla miktarda organizma üretmek için genelde asidik bir pH gereklidir. Birçok hammadde, THP için karbon ve enerji kaynağı olarak düşünülebilir. Çoğu zaman mikroorganizmaların, bu hammaddelerden karbon ve enerji kaynağı olarak yararlanabilmeleri için, hammaddenin öncelikle fiziksel, kimyasal ve enzimatik işlemlerden geçirilmesi gerekir. Örneğin, selüloz kaynağı olan odun ve samanın hammadde olarak kullanılabilmesi için yapılarındaki lignin-selüloz-hemiselüloz kompleksinin asit veya enzimlerle hidrolize edilerek fermente şekerlere çevrilmesi gerekir. Yine çeşitli maddeler örneğin patates kabukları ve patatesler konvert şekerler haline getirilerek (monosakkarit ve dissakkarit haline) THP üretiminde kullanılırlar (4,9,20,25).

Bunların dışında peynir altı suyundaki laktöz ya Kluyveromyces fragilis ve Penicillium cyclopium tarafından THP üretiminde enerji kaynağı olarak kullanılır ya da enzimlerle parçalanarak elde edilen konvert şeker, ekmek mayalarının (S. cerevisiae) çoğaltılmasında karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılır (4,9).

THP üretimi için kullanılan hammaddeler; hidrolize nişasta, etkisini kaybetmiş zayıf sülfat likör, asitle ya da enzimle hidrolize edilmiş odun, tarımsal atık ve artıklar, metan, metanol ve etanol, parafin ve alkaliler, petrol ürünleri, karnivor balıklar, hurma yağı gibi bitkisel kaynaklar şeklinde özetlenebilir (4,8,9,11,16,20,21, 25,26,27).

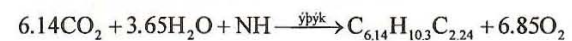
Kullanılan bu karbon ve enerji kaynaklarına mikroorganizmaların daha iyi çoğalması için nitrojen kaynakları (amonyak, amonyum tuzları, nitrat, üre, ürin ve organik hidrojen kaynakları), fosfor ve mineral besinler (potasyum klorid, monopotasyum fosfat, magnezyum sülfat), gerekli olan esansiyel vitaminler, alkol, sodyum asetat ve çeşitli lipidler (poly-β-hidroxy bütirat gibi) katılabilir (4,9,20).

Üretim ve üretim metotlarının özellikleri

Bu konuda uzun zamandan beri çok sayıda metot (pekilo, symba v.s) deneysel olarak kullanılmış olup, bu metotlar arasında; üretim metodunun kesik kesik veya devamlı olması, mikroorganizmaların çoğalma oranı, ürünlerin sterilizasyonu, biyoreaktör veya fermentör tipi gibi yönlerden farklılıklar bulunmaktadır (9,20).

THP üretimi için, mikroorganizmaların protein içeriği, çoğalma özellikleri, temel aminoasitleri sağlayıp sağlayamayacakları gibi konular gözönüne alınmalıdır (4,9,20,24,25).

Alg ve bakterilerden fotosentetik olanlar THP üretimi için kullanılmaktadır. Chlorella türleri tarafından THP'nin fotosentezle üretimi aşağıdaki gibidir (20):



Hindistan ve Batı Almanya'da uygulanan metodlarda *Scenedesmus acutus* toz kültürlerde ve pH 7-8 arasında üremektedir. ABD ve İsrail'deki uygulamalarda ise karışık alg kültürleri geliştirilmiştir. Japonya ve Taiwan'da *Chlorella* türleri; şeker kamışı şurupları ve 6-7 pH'lı melas şlempesi gibi karbon kaynakları ile fotosentetik veya fotosentetik olmayan heterotropik sistemlerde üretilmektedir (2).

Geniş ölçekteki alg yetiştirme sistemlerindeki önemli faktörler; havanın bulutsuz olması, minimal ışık değişiklikleri ile yılda ortalama 20 °C'nin üzerinde olması gereken sıcaklıklardır (20,25). Optimum üreme havalandırması altında günde metreküp 30-40 gram üretim mümkündür. Kültür sistemlerinde, yüzeydeki besinleri tüketme, termal duraklamanın durdurulması ve algal tortunun engellenmesi çalkalanma ile olur. Çalkalanma ya mekanik ya da resirkülasyon tarzındadır. Alg üretiminde düşük hücre yoğunluğu ve geniş su hacmi çözülmesi gereken problemlerdir. Küçük soylar ve bazı filtrasyon metodları kullanmak en iyi çözüm yollarıdır. Fotosentetik bakterilerden de örneğin *Rhodospirillum rubrum*, *Chlorobium* spp., *Chlorococcus* spp. gibi endüstriyel artıklar kullanılarak Japonya'da yetiştirilmektedir. Üretimde kullanılan mikroorganizmalar genellikle miks kültürler halinde aerobik olarak çoğalırlar. Bunlar heterotrofik ve nitrojen fiksleyen bakterilerdir. Yine elde edilen THP'nin kültür yoğunluğu düşük ve litrede 1-2 gram (kuru ağırlıkta)dır (4,9,20).

Aktinomyces'ten, fotosentetik olmayan bakteriler, küfler, mayalar ve yüksek mantarlar ile THP üretim metodlarında, çoğalma için aerobik havalandırma şarttır. Madde ve oksijen taşınımı ve yüzeydeki hücrelerin yer değiştirmesi aerobik çoğalmada limit faktörlerdir. Yalnız oksijen suda düşük yoğunluktadır. Fermentör dizaynı; en az güç harcayarak, gerekli maksimum oksijen transferi sağlayacak şekilde olmalıdır. Mikrobiyal çoğalmanın sonucu olarak ısı üretilir. Bundan dolayı açığa çıkan bu ısı mutlaka gerekli tertibatla yok edilmelidir (20).

Mayaların uygun şartlar altında çoğaltılarak ürün eldesi için kullanılan metodlar, başlıca; fermentörde aktif mayaların çoğaltılması, mayaların sürekli beslenerek çoğalması için ortama gereken maksimum yaşam oranlarında potasyum, fosfor, nitrojen kaynağı ve karbonhidratlar ilave ederek besleme, optimal havalandırma ve çalkalama uygulaması, maya hücrelerini belli bir oranda içeren sıvının geri çekilmesi ve taze mediumun ortama eşit hacimde tekrar katılması safhalarından oluşmaktadır (4,20,23,25).

Mayaların üretimi için optimal şartlar ve kullanılan mayalar ile hammaddeler değişir. Fakat optimum çoğalma için havalandırma mutlaka gereklidir. Mayalar ısıdan çabuk etkilenirler ve az ürün verirler. Ortamın pH'sı da 4.5-6 arasında asit olmalıdır. Hücrelerin iyi ürün verebilmesi için

besleme yapılan fermentörde şeker fazla olmamalıdır. İhtiyaç oranında ve miktarında çeşitli inorganik maddeler substrat olarak katılmalıdır(20).

Şeker kamışı ve şeker pancarı melası; yüksek oranda potasyum, nitrojen ve fosfor içerir fakat zayıf sülfid likör bu üç elementten fakirdir. Büyük miktarlarda ilavelerine ihtiyaç gösterir (9,20). Nitrojen ihtiyacı çoğunlukla amonyum ve amonyum tuzlarından sağlanır. Ürünler kuru ağırlıkta % 45 oranında şeker içerirler. Maya hücreleri içeren medium sıvısı santrifüje edilir, yıkanır, konsantre edilir ve kurutulur. Sonra da tüm gıdadaki mayalar öldürülmelidir. Maya üretmek için kullanılan hammaddeler, önce bazı özel ön işlemlerden geçirilirler (4,9,20,29).

Zayıf sülfid likör hammadde olarak kullanılıyorsa sülfid likör kullanılırken oluşan sülfüridoksidin büyük kısmı "havalandırma ile" uzaklaştırılmalıdır. Kağıt pulp imalathanelerinden yan ürün olarak çıkan sülfid likörde; *Candida utilis* mayası, pentoz şekerlerin asimilasyonu ile xyloz yapabilir. Bu maya 1940'lardan beri bu amaçla kullanılmaktadır. Burada mediuma genellikle amonyum nitrat, fosfat ve potasyum katılır ve pH 4.5-5.5'e ayarlandıktan sonra mayalar inokule edilir. Fermentasyon, 32 °C'de ve gerekli havalandırma sağlandıktan sonra yapılır. Fermentör sıvısına sürekli alınan oranda yeni substrat eklenir ve % 1 konsantrasyonda katı mayalar katılır, daha sonra ürün içeren sıvı santrifüj edilerek kurutulur. Yeterli bir ayırmadan sonra sıvıdaki kalıntıları tercih eden mayalarla yarışan mikroorganizmaların ürünü kontamine etmesi zordur ve uzun süre devam eden maya üretiminde önemsenmeyebilirler. Odun hidrolizatı da buna benzer bir muameleye tabi tutularak maya üretilmektedir (20).

Diğer katkı maddeleri üretimi

Aminoasit Üretimi:

Önemli çeşni verici ve lezzet ayarlayıcı gıda katkı maddelerinden olan monosodyumglutamat'ın (MSG) üretimi için kullanılan ticari fermentasyon prosesleri hızla gelişerek kabul gördü. Sadece ABD'de yıllık glutamat üretimi 200.000 tonu bulmaktadır. MSG üretimi amacıyla *Corynebacterium*, *Arthrobacter*ler, *Brevibacterium* ve *Micrococcus glutamicus* soyları kullanılmıştır. Lysin'in ticari üretimi de geniş bir endüstridir ve lysin gıda endüstrisinde başlıca; lysin oranı düşük ürünler için fortifikasyon amacıyla kullanılır ve bu amaç için üretilir. Aspartic asit, threonin, isoleucine, phenylalanine, pyroline, tyryptophan ve tyrosine içinde birçok fermentasyonla üretim prosesleri geliştirilmiştir (4,9,20,21,25,28).

Polisakkarit Üretimi:

Bunlardan dekstan yapışkan bir polisakkarittir. *Leuconostoc mesenteroides*

tarafından melas ve rafine sukroz mediumlarda üretilen neutral bir maddedir. Ticari üretim; bu mediumlara ekstrasellüler polimerizasyon için önceden enzim katılması ve hücre serbest filtrasyonu ile olur (5). Xanthan ise glukozlu mediumlarda *Leuconostoc*, *Streptococcus* ve *Acetobakterler* tarafından üretilir (9).

Organik Asitler:

Yaygın olarak kullanılan laktik, sitrik, asetik, fosforik, fumarik, itakonik, glikonik asit gibi asitler; glukoz, laktoz ve sukroz'dan *L. delbrückii*, *L. bulgaricus*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *A. niger*, *A. clavatus*, *A. wentii*, *P. citrinum* gibi mikroorganizmalar kullanılarak üretilir.

Ham madde olarak kullanılan maddelerin başlıcaları: mısır koçanları, fındık kabukları, malt filizi, mısır suyu, süt artıkları, değersiz meyveler, melas, pancar özsuyu ve saman gibi maddelerdir (4,9,11,22,25,27).

Vitaminler:

Vitamin B₁₂, Vitamin B₁, Vitamin B₂, pantotenik asit, folik asit, β-karoten gibi vitaminler de mikroorganizmalar vasıtasıyla üretilebilir (9,27).

Maliyeti etkileyen faktörler

THP üretim metotlarının ekonomik açıdan verimli olabilmesini etkileyen faktörler çok fazladır. Bu faktörler; tesisatın maliyet sermayesi, işletme giderleri, tesisatın kurulma yeri, hammaddelerin elde edilmesi ya da hazırlanması için yapılan harcamalar, işletmenin markete uzaklığı, işletmenin kapasitesi, enerji temini, su temini ve depolama giderleri, atık maddelerin işlenmesi için yapılan masraflar, nitrojen ve mineral besinler için harcanan giderler, laboratuvar ve diğer arzu edilen değişiklikler için yapılan harcamalar olarak sıralanabilir (4,20,24,25).

Gıda üretilirken üretimin aseptik havalandırma altında yapılması işletme giderleri için daha fazla sermaye demektir.

1975-1976 yıllarında, metanolden THP üretiminde, değişik metotlar için yıllık 50-100 bin ton kapasitedeki bir üretimde ton başına 660-1000 dolar harcandığı hesaplanmıştır. Ancak THP üretim metotlarında maliyet fiyatları günümüzde daha yüksek olabilir (20).

Tarım ve orman artıkları ile, mantarlardan THP üretiminde uygulanan katı-madde fermentasyonunda hammaddenin maliyet fiyatı, toplam maliyetin % 14'üdür. Metanol ve etanolden THP üretiminde bu oran % 50'ye kadar ulaşır. Bu yüzden metanol ve etanol, THP üretimi için elverişli değildirler.

Yaygın olan farklı THP üretim metotlarında gerekli olan enerji miktarı değişiktir. Örneğin etanolde çoğalan *Candida türü* protein elde edilen bir işletmede total enerji girişi, her kilogram THP için

185-190 megajoule, tarımsal artıklarda çoğalan *Aspergillus niger* için 30 megajoule olarak hesaplanmıştır. Tablo 1'de bazı gıdaların Amerikan Doları cinsinden satış fiyatları ve içerdikleri protein yüzdeleri verilmiştir (20).

Tek hücre proteininin kullanılması ve beslenmede önemi

Diyetlerimizle hergün aldığımız gıdaların pek çoğu esansiyel aminoasitler, vitaminler gibi temel besin öğelerinden bir ya da birkaçını tam olarak içermezler. Bu öğelerin mikrobiyal olarak sentezlenip gıdaların takviyesinde kullanılması mümkündür. Bu işlem ileri teknolojiye sahip ülkelerde artık sürekli yapılmakta olan bir uygulamadır. Özellikle bebek maması olarak kullanılan gıdalarda bu işlem insanlar için bir avantajdır ve kötü kaliteyi düzeltmeye yardımcı olur (4,27).

Biyoteknolojinin bir alt dalı olan gen mühendisliği ile, hiçbir işe yaramayan maddeleri mikroorganizmalar için üreme substratı olarak kullanma imkanı doğacak ve her ülke kendisine özgü sanayii ve tarım atıklarından faydalanabilecektir (4,9,24).

Mikroorganizmalar kullanılarak elde edilen ürünlerin besin değerleri değişiktir. Test kültürlerinin protein sindirilebilirlik yüzdesi %65 ile 96 arasında değişmektedir. Hasılat metodu ve kurutma ile diğer prosesler son ürünün besleyici değerine etki eder. Mayasal gıdalar protein bakımından zengindir ve fazla B kompleks vitaminleri içerirler fakat metionin ve sistein oranları düşüktür. Bu gıdaların yapısındaki tiamin, riboflavin, biotin, niasin, pantotenik asit, pridoksin, kolin, streptogenin, glutathion, folik asit ve paraaminobenzoik asit oranları değişir. İmmunolojik bazı reaksiyonlar ve daha önce saydığımız problemler çözülebilirse geleceğin alternatif besini olabilirler. Tek hücre proteini insan gıdalarında protein katkısı olarak ve gıda ingrediyeni olarak kullanılabilir. Gıda ingrediyeni olarak; yağ ve su bağlayıcı, aroma oluşturu, dispersiyon yapıcı, köpürtücü, akışkanlık ve süzülme özelliklerini düzenleyici olmak gibi görevleri vardır. ABD'de insan gıdalarında tek hücre proteini kullanımını ve kullanım limitlerini Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) düzenlemekte ve *Saccaromyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Kluyveromyces fragilis* gibi mikroorganizmalardan elde edilen THP'li gıdaların tüketimine izin vermektedir (4).

İngiltere, Singapur, Taiwan, Hong Kong gibi ülkelerde de piyasada tabletler şeklinde THP satılmaktadır (4,20).

Sonuç olarak, dünyamızın en önemli problemi olan açlık tehlikesine karşı her türlü çözümün yanında, bu göz ile görülmeyen canlılarında bir alternatif olarak ele alınması ve üzerinde çalışılması gerekmektedir (4,8,20,27).

Tablo 1:Seçilmiş Mikrobiyal, Bitkisel ve Hayvansal Protein Ürünlerinin Satış Değerleri.

Ürün	Protein İçeriği (%)	1982 satış fiyatları (kg/\$)
Candida utilis	50-55	1.87-2.24
Kluyveromyces fragilis	40-50	2.09 - 2.2
Soya Protein Konsantratu	72	0.88-1.03
Soya Protein İzolatı	92	2.59-2.68
Kurutulmuş Süt Köpüğü	37	1.16-1.21
Saccaromyces cerevisiae	45-50	0.48-0.66
Soya Yemeği	44	0.19-0.20
Et ve Kemik Unu	50	0.19-0.21
Balık Unu	65	0.23-0.40

John H. Litschfield'den**Kaynaklar**

1. Almash, A.H., Al-Azzawi, Al-Sultan, I.I. (1987). The use of single-cell proteins (SCP) as a milk replacer for calves. World Rev. Ani. Prod. 23:4, 7, 46-68.
2. Borçkalı, M. (1986). Laboratuvarda mikroalg (Scedenesmus obliquus) yetiştirme denemeleri. TÜBİTAK-MAM.-Gebze Araştırma Merkezi Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü. Yayın No:105.
3. Considine, P.J., Buckley, R.J., Griffin, T.O., Thuohy, M.G., Coughlan, M.P. (1989). A simple and inexpensive method of solid-state cultivation. Biotech. Tech., 3, 2, 85-90.
4. Çetin, E.T. (1983). Endüstriyel mikrobiyoloji. İ.Ü. Tıp Fak. Vakfı Yay., No:2, İstanbul.
5. Çetin, E.T., Filiz, A., Gürler, B. (1980). Dekstranın fermentasyonla elde edilmesi. KÜKEM Derg, 3, 1.
6. Durand, H. (1980). In algae biomass production and use G. Shelef and C.J. Soeder Eds. Elsevier/North Holland. New York, 51-64.
7. Erganiş, O. (1994). Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. S.Ü. Sağ. Bil. Enst. Konya.
8. Ergün, A. (1979). Tek hücreli protein kaynakları. Vet. Hek. Derg., 49, 4.
9. Ertugay, Z., Certel, M. (1992). Biyoteknoloji. A.Ü. Zir. Fak. Yay., No:135, Erzurum.
10. Finney, K.F., Pomeranz, Y., Bruinsma, B.L. (1984). Use of algae Dunaliella as a protein supplement in bread. Cereal Chem. 61(5), 402-406.
11. Etidal, W.J., Mona, M.R., Sorial, A.M. (1989). Microbial biomass protein and polysaccharide production from vegetable processing wastes. J. Basic Microbiol. 29, 9, 581-586.
12. Frazier, W.C., Westhoff, D.C. (1978). Food microbiology. Third edition. Mc Graw Hill Publication. USA.
13. Garcia-Garibay, M., Gomez-Ruiz, L., Barzana, E. (1987). Studies on the simultaneous production of single-cell protein and polygalacturonase from Kluyveromyces fragilis. Biotechnology-Letters, 9, 6, 411-416.
14. Karaboz, I., Öner, M. (1988). Batık kültürlerde üretilen Morchella conica var. costata vent. miselyumunun kimyasal yapısı ve tek hücre proteini olarak değerlendirilmesi. Doğa Derg. 12, 3.
15. Karapınar, M. (1988). Fermente bitkisel gıdaların eldesinde mikroorganizmalar ve starter kullanımı. E.Ü.Müh. Fak. Derg. Gıda Müh. 6, 1, 91-99.
16. Karapınar, M. (1984). Chemical composition of yeast biomass grown on orange waste. KÜKEM Derg., 7, 2, 20-23.
17. Karapınar, M., Oker, N. (1988). Hurda incirlerin bioprotein üretiminde substrat olarak kullanımı. E.Ü. Müh. Fak. Derg., 6, 1, 29-43.
18. Karasoy, M. (1973). Yurdumuzun peynirlerini olgunlaştıran mikroplar ve enzimler. Doçentlik Tezi, A.Ü.Vet. Fak. Ankara.
19. Kurt, A., (1989). Süt teknolojisi. A.Ü. Zir. Fak. Erzurum.
20. Litschfield, J.H. (1989). Single-cell proteins. Science., 219, 740 -746, 11 February 1983.
21. Miller, B.M., Litsky, W. (1976). Industrial microbiology. Mc.Graw-Hill Book Company. USA.
22. Montheith, H.D., Pike, J., Sticney, A.R., Rush, R.J.(1983). Summary of fullscale demonstration of anaerobic digestion and protein recovery and lab scale fermentation of beef and swine manure. Canviro consultants Ltd. 178 Louisa st. Kitchener Ontario, Canada.
23. Nickerson, J.T.R., Karel, M. (1989). Food fermentation and single-cell protein. Food science. Elsevier Pub. USA.
24. Pekin, B. (1993). Biyokimya mühendisliği (Biyoteknoloji). Ege Üniversitesi Kimya Fak. Yay., No:3, İzmir.
25. Potter, N.N. (1980). Food Science. Third Edition. AVI publishing company, Inc. Westport, Connecticut. USA.
26. Riviere, J.W.M., Dasilva, E.J. (1982). Biotechnology in the service of waste residue utilisation. KÜKEM Derg. 5, 1, 11-22.
27. Topal, Ş. (1984). Mikroorganizmalar ve geleceğimiz. Bilim ve Teknik Derg., TÜBİTAK.
28. Topal, Ş. (1984). L-lizin'in fermentasyonla elde edilmesi üzerine araştırmalar. KÜKEM Derg., 7, 1, 26-32.
29. Whiley, A.J. (1954). In industrial fermentations. Chem. Pub. Co. New York. 1, 307-343