

TEKNOFEST

HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

PROJE DETAY RAPORU

PROJE KATEGORİSİ



PROJE ADI: Aromatik Maya Ekstraktı Üretimi

TAKIM ADI: Aromatik Maya

TAKIM ID: T3-12172-155

DANIŞMAN ADI: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı)

Gıda endüstrisinde aroma maddeleri fazla miktarlarda kullanılan gıda katkı maddeleri arasında yer almaktadır. Maya ekstraktı, içerdiği amino asit, peptid ve uçucu bileşenlerden dolayı kendine özgü bir tada sahiptir. Maya ekstraktı kullanıldığı ürünlere kendine özgü umami lezzet kazandırmasının yanında ürünün besin değerini de artırır. Bu nedenle maya ekstraktı hazır çorbalar, konserve sebzeler, soslar, et ve deniz ürünleri içeren çeşitli ürünlerde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca gıdalarda lezzet verici olarak maya ekstraktı kullanılması sonucu gıdalardaki tuz (NaCl) miktarı da azaltılmış olacaktır. Maya ekstraktları azot, vitamin (özellikle B kompleks vitaminleri) ve gelişme faktörleri içerdiği için mikroorganizmalar için kültür olarak da kullanılmaktadır.

Konuyla ilgili literatür incelendiğinde aromatik maya ekstraktı üretiminde en fazla kullanılan mayalardan ikisinin *Saccharomyces cerevisiae* ve *Kluyveromyces marxianus* olduğu görülmektedir. Projemizde bunlara ek olarak, probiyotik özellikteki tek maya türü olan *S. cerevisiae* var. *boulardii*'ye de yer verdik.

Bazı probiyotik suşların kısa zincirli yağ asitleri (SCFA), konjuge linoleik asitler ve δ -amino bütirik asit ve ACE inhibe edici peptidler gibi metabolitleri üretme yeteneğinde olduğu, bu metabolitlerin de başta tansiyon düşürme olmak üzere sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkileri bulunduğu bildirilmiştir. *S. boulardii*, orta zincirli yağ asitleri ve 2-feniletanol gibi patojen *Candida albicans*'in adhezyonunu engelleyen metabolitler üretebilmektedir. *S. boulardii* tüketiminin, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit gibi 3 önemli kısa zincirli yağ asidi miktarını önemli bir miktarda artırdığı belirtilmiştir.

Proje kapsamında yukarıda bahsi geçen mayaların çeşitli koşullarda fermantasyonu sağlanacak ve fermantasyonun ardından aroma profilleri incelenecektir. Fermantasyon *Saccharomyces cerevisiae* ve *S. cerevisiae* var. *boulardii* için şeker fabrikası atığı olan şeker pancarı melasında; *Kluyveromyces marxianus* içinse peynircilik atığı olan peyniraltı suyunda gerçekleştirilecektir. Böylece çevreye atılması durumunda çeşitli olumsuzluklara neden olabilecek bu atıkların, katma değerli bir ürünün hammaddesi olarak kullanılması ve dolayısıyla son ürün maliyetinin de düşürülmesi hedeflenmektedir.

Aroma profillerinin incelenmesinin ardından maya hücrelerinin otolizi sağlanacaktır. Elde edilen otolizatların kurutulmasıyla toz maya ekstraktı üretilcektir. Toz ekstrakta kimyasal ve duyuşsal testler uygulanarak özgün tatta ve yeterli besleyicilikte bir ürün elde edilecektir.

Bu projenin amacı, aromatik özelliği bulunan mayalardan maya ekstraktı üretmek ve son yıllarda sağlığa zararları konusunda tartışmaların olduğu ve tüketicilerin tepkisini çeken monosodyum glutamat (MSG, E621) gibi sentetik lezzet artırıcı gıda katkı maddelerine doğal bir alternatif üretmektir. Ayrıca çalışmada probiyotik bir maya olan *S. boulardii* de kullanılarak maya ekstraktının probiyotik metabolitler içermesi hedeflenmektedir.

2. Problem/Sorun:

Tüketiciler, sentetik katkı maddelerinin neden olabileceği olası sağlık ve çevre riskleri nedeniyle, gıdalarda doğal aroma maddelerinin kullanılmasını talep etmektedirler. Tüketicilerin son yıllarda doğal ürünlere karşı artan talebi ve yasal kısıtlamalar doğal aroma bileşiklerinin üretimi için biyokatalizörlerin kullanımı üzerine yapılan araştırmaların artmasına neden olmuştur. Biyoproses ile üretilen ürünler, esas olarak bitkilerden veya mikroorganizmalar gibi diğer doğal kaynaklardan elde ediliyorsa genellikle “doğal” olarak tanımlanmaktadır.

Günümüzde birçok üründe umami tadı sağlamak için sentetik bir gıda katkı maddesi olan MSG kullanılmaktadır. MSG'nin kullanılmasına yönelik çeşitli sağlık endişeleri kullanımının sınırlandırılmasına neden olmaktadır. Birçok tüketici MSG içeren gıdaların tüketimine yönelik önyargılı davranış sergilemektedirler.

3. Çözüm

Mayalar kefir, kıymız, boza, ekşi maya ile bira ve şarap fabrika atıklarında bol miktarda bulunmaktadır. Fabrika atıklarından elde edilen mayalarla kültür ortamı olarak tarımsal atıkların kullanılması sonucu elde edilebilen maya ekstraktı, gıda atıklarının yüksek katma değerli ürünlere dönüştürülmesine imkân sağlamaktadır. Maya ekstraktları, doğal katkı maddeleri olarak kullanılmasını teşvik eden bir GRAS statüsüne (Genel Olarak Güvenilir) sahiptir. Maya otolizat ve ekstraktları, gıda maddelerinin aroma kazanmasını sağlamak için günümüzde çok kullanılmaya başlanmıştır. Dünyada gıdaları lezzetlendirmek için maya ekstraktı kullanımı yaygınlaşma eğilimindedir. Türkiye ise katkı maddesi ihtiyacını genellikle ithalat yoluyla sağladığı için hem dış ticaret açığı yaşamakta hem de ülke insanının damak tadına uygun olmayan ürünlere mahkum olabilmektedir. Bu proje ile özgün lezzette doğal katkı maddelerinin yerli kaynaklarla üretilmesi hedeflenerek zikredilen sorunların çözülmesi amaçlanmaktadır.

4. Yöntem

Proje kapsamında kültür koleksiyonlarından *S. cerevisiae*, *S. boulardii* ve *K. marxianus* maya suşları temin edilmiştir.

Erlende Maya Hücrelerinin Çoğaltılması

Çalışmada kullanılacak maya izolatları 24 saat boyunca 30 °C'de Malt ekstrakt besiyerinde inkübe edilecektir (Yamamoto vd., 2013). Daha sonra maya suşuna göre uygun derişimde hazırlanan şeker pancarı melası veya peyniraltı suyu tozundan oluşan karışıma 100 µL maya kültürü inoküle edilecektir. Hazırlanan püre 120 rpm'de erlende paralelli olarak 24-48-72-96 ve 120 saat boyunca 30 °C'de fermente edilecektir.

Aroma Bileşiklerinin Ölçülmesi

Fermentasyon sonucu maya hücre sayıları yayma ekim yöntemi ile belirlenecektir. Fermente edilen pürenin uçucu aroma bileşikleri gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılarak belirlenecektir.

Otoliz ile Maya Ekstraktı Üretimi

Çalışmada kullanılacak olan aromatik özellikteki maya hücrelerinin parçalanması için maya püresi 11000 g'de 10 dakika boyunca 4 °C'de santrifüjlenecektir. Bu işlemde önce maya

macununa saf su eklenecek ve NaOH ile pH 9.0'a ayarlanacaktır. Süspansiyon 4 °C'de 30 dakika karıştırıldıktan sonra birkaç kez saf su ile yıkanarak nötral pH seviyesine ayarlanacaktır. Nötralizasyonun ardından süspansiyon karıştırılacak ve 11000 g'de 10 dakika boyunca 4 °C'de santrifüjlenerek maya hücrelerinin parçalanması sağlanacaktır (Sombutyanuchit vd., 2001; Tanguler ve Erten, 2008).

Otoliz işlemi Tanguler ve Erten (2008) tarafından önerilen yöntem üzerinde küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilecektir. Yönteme göre otoliz işlemi 5 L'lik steril cam kavanozlarda paralelli olarak gerçekleştirilecektir. 600 gr parçalanmış maya hücre püresi 4 L saf su ile karıştırılarak yeni bir süspansiyon hazırlanacaktır. pH 2 N NaOH veya 2 N HCl ile 6.0'a ayarlanacaktır. Otoliz işlemi 50 °C'de su banyosunda yapılacaktır. Otolizin ardından örnekler 80 °C'de 30 dakika boyunca pastörize edilecektir.

Püskürtmeli Kurutucuda Maya Ekstraktı Tozu Üretimi

Toz maya ekstraktı üretimi Tanguler ve Erten (2009)'in önerdiği yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilecektir. Otolizin ardından, süspansiyon, hücre duvarını uzaklaştırmak için santrifüjlenecektir. Daha sonra temiz süpernatant 80 °C'de su banyosunda toplam katı ağırlığının yaklaşık %15'ine konsantre edilecektir. Konsantre edilmiş örnek, 180-190 °C giriş sıcaklığında ve 80-85 °C çıkış sıcaklığında, 30 ml/dk besleme oranıyla ve 80 m³/sa hava akımında (hava basıncı 0.005 bar), püskürtmeli kurutucuda kurutulacaktır. Elde edilen toz ekstrakt 4 °C'deki steril kaplarda saklanacaktır.

Maya Ekstraktı Kimyasal Analizleri

Maya ekstraktı tozunun parçacık boyutu ve yüzey morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskopuyla (SEM) Walther ve Müller (1997) tarafından belirlenen prosedüre göre kaydedilecektir. Parçacık görüntüleri incelenerek püskürtme kurutma işleminin yeterliliği değerlendirilecek ve buna göre işlemde iyileştirmeler yapılabilecektir.

Fizikokimyasal Özellikler:

Maya ekstraktının kuru ağırlığı fırında 105 ± 1 °C'de 24 saatlik kurutma işlemi yapılarak belirlenecektir (Conway vd., 2001; Tanguler ve Erten, 2009).

Toplam azot miktarı Kjeldahl metodu kullanılarak belirlenecektir. Protein miktarı ise toplam azot miktarınının 6.25 ile çarpılmasıyla tahmin edilecektir. α-Amino nitrojen miktarı glisin standart olarak kullanılacağı Ninhidrin yöntemi ile belirlenecektir.

Toplam karbonhidrat miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenecektir. Yağ, petrol eteri kullanılarak soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile belirlenecektir.

Kül miktarı bir fırında 600 °C'de kurutulmuş numunelerin yakılmasıyla belirlenecektir.

Maya ekstraktı tozunun pH değeri örnek kuru maddesi %10 (g/g) olacak şekilde 45 °C'deki saf su ile sulandırıldıktan ve homojen hale getirildikten sonra pH metre ile ölçülecektir.

Örneklerin su aktivitesi ise su aktivitesi ölçüm cihazı ile 25 °C'de belirlenecektir. Tüm ölçümler paralelli gerçekleştirilerek ortalamaları alınacaktır.

Amino asit içeriği:

Maya ekstraktı tozunun amino asit içeriği Baxter (1996) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenecektir. Yöntemle göre yağsız örnekten 100 mg alınarak 110 °C'de 24 saat boyunca 6M HCl ile hidrolize edilecektir. Hidrolize edilen örnek Na sitrat tamponu (pH 2,2) kullanılarak yeniden çözündürülecek, 2 µm membran filtre kullanılarak filtre edilecek ve daha sonra Yüksek Performanslı Amino Asit Analizörüne enjekte edilecektir.

Maya Ekstraktının Gıdalar Üzerindeki Etkisinin Duyusal Olarak Değerlendirilmesi

Üretilmiş olan maya ekstraktının gıdaların aromaları üzerine etkileri duyusal testlerle incelenecektir. Bu kapsamda belirli oranlardaki (% 0,5, 1, 1,5 ve 2) maya ekstraktı ticari olarak elde edilecek olan sebze çorbalarına kaynama işleminden önce eklenecek olup panelistlerin ürünleri duyusal olarak (ranking test) değerlendirmesi istenecektir (Barillere ve Benard, 1986; Tanguler ve Erten, 2008).

5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

Projenin başarıyla sonuçlanması Türkiye'nin gıda katkı maddelerinde dışa bağımlılığının azaltılması için yapılacak başka projeleri teşvik edecektir. Proje sonucunda elde edilmesi öngörülen özgün lezzet ve aromaya sahip maya ekstraktları için ulusal ve/veya uluslararası patent tescili yapılması hedeflenmektedir. Proje kapsamında elde edilecek bilgi birikimi ile ürünün ticarileştirilmesi için gereken altyapının oluşturulmasına katkıda bulunulacaktır. Proje kapsamında elde edilen maya ekstraktlarının mikroorganizma kültürleri için besiyeri olarak kullanıma potansiyeli de bulunmaktadır.

Ayrıca muadillerinden farklı olarak probiyotik *S. boulardii* mayası kullanılarak üretilen maya ekstraktının besin değeri bakımından diğer maya ekstraktlarından daha zengin olması projenin sunduğu yeniliklerden birisidir.

Maya ekstraktları protein bakımından zengin ingrediyanlardır. Bu nedenle veganlar için alternatif bir protein kaynağı olarak değerlendirilebilir. Aynı zamanda çevreye olumlu yönde etkileri bulunduğu için ekoloji-dostu ürünlerdir.

6. Uygulanabilirlik

Proje fikri üretimin optimize edilmesiyle ticarileştirilebilir. İthalat yoluyla elde edilen maya ekstraktları uygun altyapıya ve nitelikli personele sahip bir işletme ile ülkemizde de ticari olarak üretilir. Şeker, süt veya bira/şarap ve ekmek fabrikaları yakınına kurulacak işletmelerle hammaddeye ulaşım kolay bir şekilde sağlanabilir ve böylece atık yönetimi yapılabileceği gibi maliyet de düşürülebilir.

7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Projenin gerçekleştirilebilmesi için temel olarak fermentör, GC-MS, Spray-dryer, otoklav, steril kabin, manyetik karıştırıcı, etüv, bunzen bek, buzdolabı, demirbaşlarının yanında ve sarf malzemeleri gerekmektedir.

Projenin en az maliyetle uygulanabilir olması için yeterli donanımına sahip bir üniversiteyle ortak bir çalışma yapılabilir.

Proje için gerekli olan sarf malzemeleri ve tahmin edilen maliyetleri aşağıda listelenmiştir.

Adı/Modeli	Kullanım Gerekçesi	Bedeli (TL) (KDV Dahil)
Stableflex 1cm SPME Fiber Pk3,Auto,50/30 UM DVB/CARBOXEN-PDMS	Katı faz mikro ekstraksiyon için kullanılacaktır.	3.658,00
Manyetik Balık Silindirik 50x8 mm (1 Paket = 6 adet)	Süspansiyonların homojen karışımını sağlamak için kullanılacaktır.	141,60
Gliserol %85 PH EUR,BP (1 Litre)	Stok kültürlerin muhafazasında kullanılacaktır.	120,36
Vial - Vida kapak - N10 - 1,5 ml - 11,6x32 mm - şeffaf (1 Paket = 100 adet)	Kromatografik analizler için kullanılacaktır.	103,84
Vial - vida kapak - N15 - 12 ml - 18,5x66 mm - şeffaf (2 PAKET = 2x100 ADET)	Kromatografik analizler için kullanılacaktır.	278,48
Kapak + septa - beyaz septa / bej PTFE - deliksiz - N15 vidalı vial için (2 PAKET = 2x100 ADET)	Kromatografik analizler için kullanılacaktır.	302,08
Thoma lamı (1 adet)	Maya hücrelerinin sayımı için kullanılacaktır.	339,84
Refraktometre - el tipi - 0 - 90 % brix (1 adet)	Maya ekstraktının püskürterek kurutma işlemi öncesi kuru maddesinin ayarlanması için kullanılacaktır.	409,46
Sodyum hidroksit 1 MOL/L (1 N) (1 adet)	pH ayarlaması için kullanılacaktır.	99,36
Hidroklorik asit 1 MOL/L (1 N) (1 adet)	pH ayarlaması için kullanılacaktır.	81,00
Hidrojen peroksit 35% Extra pure (1 adet)	Maya ekstraktı tozunun protein miktarının tespiti için kullanılacaktır.	136,88
Tüp - mikrosantrifüj - P.P - 1,5 ml (1 Paket = 500 adet)	Santrifüj ve stok kültürü için kullanılacaktır.	37,17
Metilen mavisi, (C.I. 52015) for microscopy (50 gram)	Maya hücrelerinin sayım için boyanmasında kullanılacaktır.	139,358
Yeast extract agar (500 g)	Maya hücrelerinin aktifleştirilmesi için kullanılacaktır.	1.858,5
Malt extract agar, for microbiology (500 g)	Maya hücrelerinin aktifleştirilmesi için kullanılacaktır.	1.528,1
Malt extract broth, For microbiology (500 g)	Maya hücrelerinin aktifleştirilmesi için	1.367,62

	kullanılacaktır.	
Petri kutusu - P.S - 90 x 17 mm - steril A (2 Paket = 1000 adet)	Maya hücrelerinin aktifleştirilmesi için kullanılacaktır.	783,52
Şırınga filtre - M&Nagel - PET - 0,20/25 (1 Paket = 100 adet)	Kromatografik analizler için kullanılacaktır.	700,92
Eldiven - nitril - standart kalınlık - büyük boy - 100 ad/kutu (5 Paket = 500 adet)	Mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerde kullanılacaktır.	253,8
Pipet ucu - şeffaf - 200 µl - paket (1 Paket = 1000 adet)	Mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerde kullanılacaktır.	69,03
Pipet ucu - şeffaf - 1000 µl - paket (1 Paket = 1000 adet)	Mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerde kullanılacaktır.	102,719
Pipet ucu - şeffaf - 200 µl - kutu (1 Paket = 96 adet)	Pipet uçlarının muhafazası için kullanılacaktır.	23,01
Pipet ucu - şeffaf - 1000 µl - kutu (1 Paket = 96 adet)	Pipet uçlarının muhafazası için kullanılacaktır.	27,848
Potato Dextrose Agar for microbiology (500 g)	Maya hücrelerinin aktifleştirilmesi için kullanılacaktır.	300,7584
Kjeldahl Tablets 1000 (1 Kutu)	Maya ekstraktı tozunun protein miktarının tespiti için kullanılacaktır.	3.390,2344
Parafilm M 38 m x 10 cm (2 Adet)	Mikrobiyolojik ve kimyasal analizler için kullanılacaktır.	301,4428
(+/-)-2-Methylvaleric Acid, 98% (1 adet, 100 mL)	GC-MS uygulamalarında aroma bileşiklerinin analizinde kullanılacaktır.	428,34
2-Methyl-3-Heptanone, 99% (1 adet, 5 g)	GC-MS uygulamalarında aroma bileşiklerinin analizinde kullanılacaktır.	584,1
Toplam		17.567,37

Proje için ön görülen iş planı aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Proje İş Planı	Zamanlama
Mayaların fermentörde gelişme şartlarının optimize edilmesi ve çoğaltılması	2 ay
Maya izolatlarının aroma profillerinin kromatografik yöntemlerle belirlenmesi	1 ay
Maya hücrelerinin otolizi	1 ay
Maya ekstraktlarının püskürtmeli kurutucularda kurutulması	1 ay
Maya ekstraktı tozunun kimyasal analizlerinin yapılması	2 ay
Maya ekstraktı tozunun çeşitli gıdaların aromalarına etkisinin duyuşal olarak belirlenmesi	1 ay

8. Proje Fikrinin Hedef Kitlesi (Kullanıcılar):

Projenin hedef kitlesi endüstriyel gıda tüketen herkeştir. Bunun yanında veganlar için alternatif protein kaynağı sağlayacağı için veganlara özel farklı ürünler de geliştirilebilir. Ayrıca mikrobiyoloji laboratuvarları da projenin hedef kitlesini oluşturmaktadır.

9. Riskler

Projeyi olumsuz yönde etkileyebilecek riskler ve B Planı aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

En Önemli Riskler	Risk Yönetimi (B Planı)
Çalışmada kullanılan mayaların aromatik özelliklerinin yetersiz bulunması	Çalışmada kullanılan kültürlerden farklı <i>S. cerevisiae</i> , <i>K. marxianus</i> var. <i>marxianus</i> , <i>K. marxianus</i> var. <i>lactis</i> ve <i>C. utilis</i> türleri kültür koleksiyonlarından temin edilerek çalışmaya dâhil edilecektir.
Otoliz işlemiyle istenen verimliliğin sağlanamaması	Plazmoliz ve hidroliz gibi farklı yöntemlerden yararlanılacaktır.
Bakteriyel kontaminasyonun olması	Kontaminasyon kaynağı tespit edilerek, üretim prosesi kontaminasyonun önüne geçilecek şekilde yeniden tasarlanacaktır.

10. Proje Ekibi

Takım Lideri:

Adı Soyadı	Projedeki Görevi	Okul	Projeye veya problemle ilgili tecrübesi
Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ	Danışman	Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	Projeye ilgili danışmanlığında yürütülen bir doktora tez çalışması bulunmaktadır. TÜBİTAK MAM-GIDA Enstitüsü'nde idareci olarak görev yaptığı için proje planlanması ve yürütülmesi konusunda tecrübelidir.
Furkan DEMİRGÜL	Takım Üyesi	Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	Proje doktora tez çalışmasını kapsamaktadır.

11. Kaynaklar

Alexandre, H., Guilloux-Benatier, M. 2006. Yeast autolysis in sparkling wine-a review, Aust. J. Grape Wine Res., 12, 119-127.

Alexandre, H., Heintz, D., Chassagne, D., Guilloux-Benatier, M., Charpentier, C., Feuillat, M. 2001. Proteaz A Activity and Nitrogen Fractions Released during Alcoholic Fermentation and

Autolysis in Enological Conditions, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 26: 235-240.

Amrane, A., Prigent, Y. 1998. Effect of culture conditions of *Kluyveromyces marxianus* on its autolysis and process optimization, *Bioproc Eng.*, 18: 383–388.

Anderson, R. G., Kirsop, B. H. 1975. Oxygen as a regulator of ester accumulation during the fermentation of wort of high specific gravity, *J. Inst. Brew.*, 81, 111–115.

Anonim. 2008. Regulation (EC) no. 1334/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods and amending Council Regulation (EEC) no. 1601/91, Regulations (EC) no. 2232/96 and (EC) no. 110/2008 and Directive 2000/13/EC; 2008. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32008R1334>. Son erişim tarihi: 17 Eylül 2018.

Anonim. 2015. Türkiye Biyoteknoloji Stratejisi ve Eylem Planı (2015-2018). Türkiye Cumhuriyeti Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, <https://www.sanayi.gov.tr/handlers/DokumanGetHandler.ashx?dokumanId=017882b9-01fe-4b8c-86dd-b5d9ca996e60> Son erişim tarihi: 18 Eylül 2018.

Atwell, E. 2002. Marmite turns 100, *Food Rev.*, 29(21):23-24.

Baker, C. D. 1991. *Recommended Methods of Analysis*, London: The Institute of Brewing, p.363.

Barillere, J. M., Benard, P. 1986. Exemples d'interprétation de résultats de dégustation, *Connaiss Vigne Vin*, 20(3), 137-154.

Barrette, J., Champagne, C. P., Goulet, J. 1999. Development of bacterial contamination during production of yeast extracts, *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 3261-3.

Baxter, J. H. 1996. *Handbook of food analysis*, vol.1. New York: Marcel Dekker, Inc., p.179–228.

Belousova, N. I., Gordienko, S. V., Eroshin, V. K. 1994. The effect of autolysis on characteristics of amino acid mixtures, obtained using ethanol-assimilating yeasts, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 31(4), 458-462.

Berlowska, J., Dudkiewicz-Kołodziejaska, M., Pawlikowska, E., Pielech-Przybylska, K., Balcerek, M., Czynowska, A., Kregiel, D. 2017. Utilization of post-fermentation yeasts for yeast extract production by autolysis: the effect of yeast strain and saponin from *Quillaja saponaria*, *J. Inst. Brew.*, 123:396-401.

Breddam, K., Beenfeld, T. 1991. Acceleration of yeast autolysis by chemical methods for production of intracellular enzymes, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 35:323-329.



Cabaroğlu, T., Yılmaztekin, T. 2010. Aroma Biyoteknolojisi, In: Gıda Biyoteknolojisi, Edited by Necla A., Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti., Ankara, p.375-390.

Cabib E., Roberts R., Bowers B. 1982. Synthesis of the yeast cell wall and its regulation, *Annu Rev Biochem.*, 51:763-793. doi: 10.1146/annurev.bi.51.070182.003555.

Cabib, E., Dong-Hyun, R., Schmidt, M., Crotti, L. B., Varma, A. 2001. The yeast cell wall and septum as paradigms of cell growth and morphogenesis, *J Biol Chem.*, 276(23):19679-19682. doi: 10.1074/jbc.R000031200.

Catley, B. J. 1988. In A. Yeast, I. Campbell & J. H. Duffus (Eds.), *Isolation and Analysis of Cell Walls.*, p.289.

Chae, H. J., Joo, H., In, M. J. 2001. Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract, Part 1: Effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics, *Bioresource Technology*, 76:253-258.

Comuzzo, P., Calligaris, S., Iacumin, L., Ginaldi, F., Voce, S., Zironi, R. 2017. Application of multi-pass high pressure homogenization under variable temperature regimes to induce autolysis of wine yeasts, *Food Chem.*, 224, p.105-113.

Dimopoulos, G., Stefanou, N., Andreou, V., Taoukis, P. 2018. Effect of pulsed electric fields on the production of yeast extract by autolysis, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. doi:10.1016/j.ifset.2018.07.005.

Erten, H., Tanguler, H., Cakıroz, H. 2007. The effect of pitching rate on fermentation and flavour compounds in high gravity brewing, *J. Inst. Brew.*, 113(1), 75-79.

Etschmann, M. M. W., Bluemke, W., Sell, D., Schrader, J. 2002. Biotechnological production of 2-phenylethanol, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 59:1-8.

Etschmann, M. M. W., Sell, D., Schrader, J. 2003. Screening of yeasts for the production of the aroma compound 2-phenylethanol in a molasses-based medium, *Biotechnology Letters*, 25: 531-536.

Fabre C. E., Blanc, P. J., Goma, G. 1998. Production of 2-phenylethyl alcohol by *Kluyveromyces marxianus*, *Biotechnol Prog.*, 14: 270-274.

Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Vieira, E., Tavares, J. G. 2010. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: Characteristics and potential application, *Trends Food Sci. Tech.*, 21, 77-84.

Gao, F., Daugulis, A. J. 2009. Bioproduction of the Aroma Compound 2-Phenylethanol in a Solid-Liquid Two-Phase Partitioning Bioreactor System by *Kluyveromyces marxianus*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 104: 2.



Güneşer, O., Karagül-Yüceer, Y., Özmen-Toğay, S., İşleten-Hoşoğlu M., Elibol, M. 2014. Torulaspora delbrueckii ve Trichoderma atroviride Kullanılarak Pirinadan (Zeytin Katı Atığı) Biyoaroma Üretimi, Akademik Gıda 12(3), 16-25.

Havkin-Frenker, D., Belanger, F. C. 2008. Biotechnology in Flavour Production. Blackwell Publishing, Oxford, UK, p. 214.

Henschke, P. A., Jiranek, V. 1993. Yeasts—metabolism of nitrogen compounds. In Wine Microbiology and Biotechnology, GH Fleet (ed.), pp. 77-164. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland.

Hernandez-Orte, Bely, M., Cacho, J., Ferreira, V. 2006. Impact of ammonium additions on volatile acidity, ethanol, and aromatic compound production by different Saccharomyces cerevisiae strains during fermentation in controlled synthetic media, Australian Journal of Grape and Wine Research, 12, 150–160.

Hirst, M. B., Richter, C. L. 2016. Review of Aroma Formation through Metabolic Pathways of Saccharomyces cerevisiae in Beverage Fermentations, Am. J. Enol. Vitic., 67:4.

Huige, N. 2006. Brewery by-products and effluents. Handbook of Brewing, Second Edition.

Komorowska, A., Sieliwanowicz, B., Stecka, K. 2002. Intensyfikatory smaku-charakterystyka, otrzymywanie i zastosowanie, Żywność Nauka Technologia Jakość, 33:30-39.

Lambrechts, M., Pretorius, I. 2000. Yeast and its importance to wine aroma - A review, S Afr J Enol Vit., 21:97-129.

Lamoolphak, W., Goto, M., Sasaki, M., Suphantharika, M., Muangrapoha, C., Prommuaga, C., Shotipruk, A. 2006. Hydrothermal decomposition of yeast cells for production of proteins and amino acids, Journal of Hazardous Materials, 137(3):1643-1648. doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.05.029.

Lin, M. J. Y., Humbert, E. S. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products, Journal of Food Science, 39, 368-370.

Löser, C., Urit, T., Bley, T. 2014. Perspectives for the biotechnological production of ethyl acetate by yeasts, Appl Microbiol Biotechnol., doi: 10.1007/s00253-014-5765-9.

Martínez, J. M., Delso, C., Aguilar, D., Cebrián, G., Álvarez, I., Raso, J. 2017. Factors influencing autolysis of Saccharomyces cerevisiae cells induced by Pulsed Electric Fields, Food Microbiology. doi: 10.1016/j.fm.2017.12.008.

Medeiros, A. B. P., Pandey, A., Christen, P., Fontoura, P. S. G., de Freitas R. J. S., Soccol, C. R. 2001. Aroma compounds produced by Kluyveromyces marxianus in solid state fermentation on a packed bed column bioreactor, World Journal of Microbiology & Biotechnology, 17: 767-771.

Moreno-Arribas, M. V., Polo, C. 2009. Wine Chemistry and Biochemistry, Springer-Verlag, New York.

Munch, P., Hofmann, T., Schieberle, P. 1997. Comparison of key odorants generated by thermal treatment of commercial and self-prepared yeast extracts: influence of the amino acid composition on odorant formation, *J Agr Food Chem*, 45: 1338-1344.

Mussatto, S. I. 2009. Biotechnological potential of brewing industry byproducts. In: Singh-Nee Nigam, P., Pandey A. (eds.) *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation*, pp. 313-326. Springer, New York.

Nagodavvithana, T. 1994. Savory Flavors, in: *Bioproses Production of Flavour Fragrance and Color Ingredients*, Gabelman, A. (Ed.), S. 135-168. John Wiley & Sons.

Ninomiya K. 2002. Umami a universal taste, *Food Rev Int.*, 18: 23-38. doi: 0.1081/FRI-120003415.

Podpora, B., Waszkiewicz-Robak, B. 2007. Nowoczesne metody otrzymywania ekstraktów drożdżowych jako naturalnych składników spożywczych, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2:67-71.

Podpora, B., Świdorski, F., Sadowska, A., Piotrowska, A., Rakowska, R. 2015. Spent Brewer's Yeast Autolysates as a New and Valuable Component of Functional Food and Dietary Supplements, *Food Process Technol.*, 6:12. doi: <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7110.1000526>.

Posada, J. A., Patel, A. D., Roes, A., Blok, K., Faaij, A. P. C., Patel, M. K. 2013. Potential of bioethanol as a chemical building block for biorefineries: preliminary sustainability assessment of 12 bioethanol-based products, *Bioresour Technol.*, 135:490-499.

Rakin, M., Vukasinovic, M., Siler-Marinkovic, S., Maksimovic, M. 2007. Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate, *Food Chemistry*, 100:599-602. doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.077.

Rakowska, R., Sadowska, A., Dybkowska, E., Świdorski, F. 2017. Spent Yeasts As Natural Source Of Functional Food Additives, *Rocz Państw Zakł Hig.*, 68(2):115-121.

Reed, G., Nagodavvithana, T. W. 1991. *Yeast Technology*, 2nd Edition, Avi Publishing, New York.

Risch, S. J., Ho, C. T. 2000. Flavor Chemistry. Industrial and academic research; Studies on potent aroma compounds generated in Maillard-type reactions using the odor-activity-value concept, American Chemical Society, Washington DC: 133-150.

Roessler, E. B., Pangborn, R. M., Sidel, J. L., Stone, H. 1978. Expanded statistical tables for estimating significance in paired preference, paired-difference, duo-trio and triangle tests, *J Food Sci*, 43, p.940-943.

Saerens, S. M. G, Delvaux, F. R, Verstrepen, K. J., Thevelein J. M. 2010. Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Biotechnol.*, 3:165-177.

Smiles, A., Kakuda, Y., Mac Donald, B. E. 1989. Effect of degumming reagents on the composition and emulsifying properties of canola, soybean and sunflower acetone insolubles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66, 348-352.

Sombutyanuchit, P., Supphantharika, M., Verduyn, C. 2001. Preparation of 50-GMP-rich yeast extracts from spent brewer's yeast, *World J Microbiol Biotechnol.*, 17, 163-168.

Sommer, R. 1998. *Yeast Extracts: Production, Properties and Components*, Food Australia, 50: 181-183.

Sommer, R. 1996. *Yeast Extract: Production, Properties and Components*, 9th International Symposium on Yeasts, Sydney.

Sosulski, F. W. 1962. The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats, *Cereal Chemistry*, 39, 344-350.

Stam, H., Hoogland, M., Laane, C. 1998. Food Flavours From Yeast. In: *Microbiology of Fermented Foods*, Brian, J. B. Wood, (Ed.), 2:505-542. 2nd Edition, Blackie Academic.

Stark, D., Münch, T., Sonnleitner, B., Marison, I. W., von Stockar, U. 2002. Extractive bioconversion of 2-phenylethanol from L-phenylalanine by *Saccharomyces cerevisiae*, *Biotechnol. Prog.*, 18: 514-523.

Styger, G., Prior, B., Bauer, F. F. 2011. Wine flavor and aroma, *J Ind Microbiol Biotechnol.*, 38:1145-1159.

Suihko, M. L., Vilpola, A., Linko, M. 1993. Pitching rate in high gravity brewing, *J. Inst. Brew.*, 99, 341-346.

Swiegers, J. H., Pretorius, I. S. 2005. Yeast modulation of wine flavor, *Adv Appl Microbiol.*, 57:131-175.

Tanguler, H., Erten, H. 2008. Utilisation of spent brewer's yeast for yeast extract production by autolysis: The effect of temperature, *Food and Bioproducts Processing*, 86, 317-321.

Tanguler, H., Erten, H. 2009. The Effect of Different Temperatures on Autolysis of Baker's Yeast for The Production of Yeast Extract, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33, 149-154.

Tangüler, H., Erten, H., 2006. Otoliz Yolu ile Maya Ekstraktı Üretimi, *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi*, 9, 55-62.

Tangüler, H., Erten, H., Cabaroğlu, T. 2010. Birada Bulunan Aroma Maddeleri, *GIDA*, 35(6): 453-460.

Thammakiti, S., Supphantharika, M., Phaesuwan, T., Verduyn, C. 2004. Preparation of spent brewer's yeast b-glucans for potential applications in the food industry, *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 21-29.



Vandamme, E. J., Soetaert, W. 2002. Bioflavours and fragrances via fermentation and biocatalysis, *J Chem Tech and Biotech.*, 77:1323-1332.

Vanderhaegen, B., Neven, H., Coghe, S., Verstrepn, K. J., Derdelinckx, G., Verachtert, H. 2003. Bioflavouring and beer refermentation, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62: 140-150.

Venkataraman, N. S., Panneerselvam, D., Parija, T. K., Govindanayagi, P., Geetha, K. 2014. Global Markets for Flavors and Fragrances, bcc Research Report Code No. CHM034D, Wellesley, M. A.

Verstrepn, K. J., Iserentant, D., Malcorps, P., Derdelinckx, G., Van Dijck, P., Winderickx, J., Pretorius, I. S., Thevelein, J. M., Delvaux, F. R. 2004. Glucose and sucrose: hazardous fast-food for industrial yeast? *Trends Biotechnol.*, 22:531-537.

Vieira, E. F., Carvalho, J., Pinto, E., Cunha, S., Almeida, A. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O. 2016. Nutritive value, antioxidant activity and phenolic compounds profile of brewer's spent yeast extract, *J. Food Compost. Anal.*, 52, 44-51.

Vieira, E., Cunha, S. C., Ferreira, I. M. P. L. V. O. 2018. Characterization of a Potential Bioactive Food Ingredient from Inner Cellular Content of Brewer's Spent Yeast. *Waste and Biomass Valorization*. doi: <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0368-9>.

Waché, Y., Agnede, 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.

Walther, P., Müller, M. 1997. Double-layer coating for field-emission cryo-scanning electron microscopy-present state and applications, *Scanning*, 19(5), 343-348.

Yamamoto, H., Mizutani, M., Yamada, K., Iwaizono, H., Takayama, K., Hino, M., Kudo, T., Ohta, H., Kida, K., Morimura, S. 2013. Characteristics of aromatic compound production using new shochu yeast MF062 isolated from shochu mash, *J. Inst. Brew.*, 118: 406-411.

Yılmaztekin, M., Cabaroğlu, T., Erten, H. 2008. Biyoteknolojik Yollarla Aroma Maddelerinin Üretimi, *GIDA*, 33(1), 35-41.

Zhao, X. Q., Bai, F. W. 2009. Yeast flocculation: New story in fuel ethanol production, *Biotechnology Advances*, 27, 849-856. doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.06.006.

