

FABAD Farm. Bil. Der.
16, 215 - 225, 1991

FABAD J. Pharm. Sci.
16, 215 - 225, 1991

FERMENTASYONDA ROL OYNAYAN BAZI FAKTÖRLER

Ahmet AKIN (*)
Serpil GÜLENC (*)

Özet: Fermentasyon kısaca bazı mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimlerin etkisiyle organik maddelerin uğradığı değişiklik olarak tanımlanmaktadır.

Fermentasyona yol açan mikroorganizmaların (maya, bakteri ve küf) morfolojileri, üreme şekilleri, oluşturdukları enzimler ve serbest oksijene karşı tepkileri bakımından aralarında ayrıcalıklar bulunmakta, salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal katalizörler gibi etki etmektedirler. Fermentasyonda çok değişik faktörler etkin rol oynamaktadır.

Bu makalede fermentasyonda rol oynayan bazı faktörler üzerinde durulmuş ve bu konudaki bilgiler derlenmeye çalışılmıştır.

SOME FACTORS ACTING ON FERMENTATION

Summary: Fermentation have been briefly described as change of organic substances with effect of enzymes which is released by some microorganisms.

Microorganisms which cause fermentation have differences between the morphologies, reproduction forms, their enzymes, the reactions to free oxygen. They have been effecting as a biochemical catalyst by releasing their enzymes. Many different factors have been effectively acted on fermentation.

In this article some factors which are acting on fermentation have been explained and many knowledges about this subject have been collected.

Key words : *Fermentation, Enzyme electrode, volumetric transfer coefficient, soluble oxygen*

Başvuru Tarihi : 18.7.1990

Kabul Tarihi : 30.4.1991

(*) A.Ü. Ezacılık Fakültesi, Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Tandoğan Ankara.

GİRİŞ:

Fermentasyon latince kaynatmak anlamına gelen "fervere" sözcüğünden türetilmiştir. Ekstratta bulunan şekerlerin anaerobik katabolizması sonucu oluşan karbondioksit çıkışı ve bu sırada meydana gelen sıvı hareketi nedeniyle, bu isim ile anılmaktadır. Fermentasyon, çeşitli bilim dallarınca organik maddelerin katabolizması sonucu enerji oluşumuna bağlanırken, endüstriyel mikrobiologlar bir mikroorganizma hücre kültürü ile ürünün oluşumu için fermentasyon terimini kullanmaktadırlar (1).

Ürün eldesi için mikrobiyal hücrelerin bir başka deyişle biyokitlenin seçimi, mikrobiyal enzim ve metabolitlerin oluşumu ile şeker, amonyum sülfat, CaCO_3 , NaCl gibi bileşiklerin fermentasyona eklenmesi, ticari fermentasyonların esasını teşkil etmektedir (1). Ancak fermentasyon prosesi birbirini takiben altı esastan oluşmaktadır. Bunlar;

1) Üretim fermentöründe ve inokulum eldesi sırasında kullanılan besiyeri formülasyonu (Örneğin glutamik asit fermentasyonu için Dextrose, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, K_2SO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Poliglükol 2000, biotin, penisilin)

2) Fermentörlerin, besiyerinin ve yardımcı araç ve gereçlerin sterilizasyonu

3) Üretim kazanındaki besiyerinin inoküle edilebilmesi için aktif ve saf bir kültürün oluşturulması

4) Ürün oluşumu için mikroorganizmanın üreyebileceği optimum şartların sağlanması,

5) Ürünün eldesi ve arıtımı

6) İşlem sonucu oluşan örneğin streptomisinin tüketildiği çözelti, penisilin filtratı ve solvanlar gibi sıvı maddelerinin temizlenmesidir.

Endüstriyel önemi olan mikroorganizmaların izolasyonunda bazı kriterlerin dikkate alınması önerilmektedir. Bunlardan en önemlisi organizmaların beslenme özellikleridir. İşlem sırasında kullanılacak ortamın ucuz olması yanında, ön denemelerle başarılı sonuçlar alınabildiği de araştırılmalıdır. Örneğin enerji kaynağı olarak metanolün kullanılması, bu şekilde gerçekleştirilebilmiştir. Diğer önemli bir hususta, mikroorganizmanın üreyebildiği optimal sıcaklıktır. Örneğin üreyebilmek için 40°C nin üzerinde optimal sıcaklık isteyen bir mikroorganizmanın kullanılması, büyük çaplı bir fermentasyonun soğutulması halinde dezavantaj teşkil etmektedir. Ancak izolasyonda böylece bir sıcaklık izolasyonu kolaylaştırmaktadır. Ayrıca üretim sırasında uygunluğu kanıtlanmış olan bir mikroorganizmanın kullanılması, bu mikroorganizmanın dayanıklılığı, verimliliği ile substratın ürüne dönüştürülmesindeki yeteneği ve nihayet ürünün kültürden arındırılması sözü edilen kriterler arasında zikredilebilir (1).

Fermentasyon ürünlerinin yeniden üretilebilirliğini sağlayan faktörlerden biri, standard bir inokulum hazırlanmasıdır. Metanolde yetişen bir *Candida* türünün özgün gelişim oranı, mikroorganizma sayısı zamana göre grafiğe geçirildiğinde, mikroorganizma konsantrasyonunun artışının, özgün gelişim oranının azalmasına yol açtığı gözlenmektedir (2). Ayrıca üretim

sırasında kontamine bir kültürün kullanılması, fermentasyonda asıl etkin rolü oynayan mikroorganizmanın gelişmemesine, yeterince çoğalamasına ve sentezlenen metabolitlerin inaktivasyonuna, bir başka deyişle mikrobiyal prosesin olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır (2).

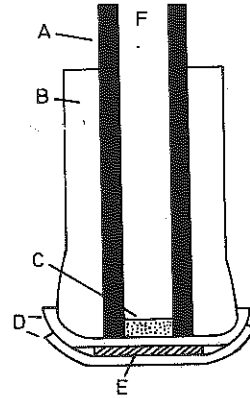
Fermentasyon süresince oluşan köpüğün kontrol edilmemesi halinde, mikrobiyal fermentasyonda ciddi problemler meydana gelmektedir. Bunun önlenmesi için günümüzde kullanılan en pratik yol, fermentöre köpük oluşumunu önleyecek ya da minimum seviyeye düşürebilecek bir maddenin ilave edilmesidir. Ancak bu amaçla kullanılan maddelerin ortamdaki çözülmüş oksijen konsantrasyonunu da etkilediği unutulmamalıdır. Çünkü antifoam madde, yüzey aktif madde etkisi gösterip, oksijen transferinin yavaşlamasına yol açmaktadır (1).

Fermentasyon sırasında; ortamdaki çözülmüş haldeki oksijen kontrolü ve gaz analizleri ile pH ölçümlerinin mutlaka yapılması gerekmektedir (1). Çünkü aerobik mikroorganizmalarda oksijen tüketim miktarının yüksek olması, ortamdaki oksijenin süratle azalmasına neden olmaktadır. Yetersiz düzeyde oksijen bulunması ise, organik asit, enzim ve antibiyotik gibi mikrobiyal ürünlerin verimliliklerinin azalmasına, mikroorganizmaların gelişimlerinin zayıflamasına yol açmaktadır (2).

Fermentasyonda bir diğer önemli nokta da oksijen ölçen uygun bir polarografik enzim elektrodunun seçimidir (3). Çünkü enzimin oksijen isteği ortamdaki substrat konsantrasyonunu sınırlandırmasına neden olmaktadır (4). Enfors (5),

fermentördeki glukozun tayini için steril bir enzim elektrodunun fermentöre yerleştirilmesi gerektiğini bildirmekte, Hewetson ve arkadaşları (6) ise, bu amaçla steril penisilinaz elektrodlardan yararlanılabileceğini kaydetmektedirler. Yine Janssen (7) tarafından keşfedilen Alcohol oxidoreductase enzimi kullanılarak ortamdaki alkolün polarografik ölçümü mümkün olabilmıştır. Tablo I'de bu amaçla kullanılan enzim elektrodları ile tipik substratları verilmiştir.

Ayrıca polarografik enzim elektrodları dışında Şekil 1'de görülen Tubular enzim elektrotları da kullanılmaktadır. Platin tüpü ile yalıtılmış bir cam elektrodundan oluşan Tubular enzim elektrodlarında hava veya oksijen, tüpün içine girmekte ve uçlara yerleştirilmiş olan enzim, reaksiyon tabakaları arasında diffüze olmaktadır (4).



Şekil 1: Tubular elektrodun şematik kesiti. A: 1 mm çapında platin tüp. 5: Isıtılarak platine yapıştırılmış cam. C: İnce tabaka halinde RTV silikon kauçuk kaplama (3141 Dow Corning). D: Selüloz membran. E: Kağıda emdirilmiş enzim. F: Hava veya oksijen giriş yolu.

Tablo 1: Polarografik Enzim Elektrodları İle Substratları

Enzim	Numara	Kaynak	Tipik substratlar
Glycollate oxidase	1.1.3.1	İspanak Fare karaciğeri	Glycollate
Lactate oxidase	1.1.3.2	M.phlei	L-lactate D-lactate (+) - mandalate
Glucose oxidase	1.1.3.4	Aspergillus niger Penicillium amagasakienses Bai (an) Penicillium notatum	L-lactate β - D - glucose 2 - dloxy - D - glucose 6 - dloxy - 6 - fluoro - D - glucose 6 - methyl - D - glucose
Hexose oxidase	1.1.3.5.		β - D - glucose D-galactose D-mannose
L-Gulonolactone oxidase	1.1.3.8	Fare karaciğeri	L-gulono-γ-lactone L-galactonolactone D-manonolactone D-altronolactone
Galactose oxidase	1.1.3.9	Dactylium dendroides Polyporus circinatus	D-galactose Stachyose Lactose
L-2-Hydroxyacid oxidase	1.1.3.a	Koyun renal korteksi	L-2-Hydroxyacid
Aldehyde oxidase	1.2.3.1	Tavşan karaciğeri Domuz karaciğeri	Formaldehide Acetaldehyde
Xanthine oxidase	1.2.3.2	Koyun sütü Domuz karaciğeri	Purine Hypoxanthine Benzaldehyde Xanthine
Pyruvate oxidase	1.2.3.3		Pyruvate Thiamine phoshate Oxalate
Oxalate oxidase	1.2.3.4		
Dihydro-orotate-dehydrogenase	1.3.3.1	Zymobacterium oroticum	L-4,5-dihydro-orotate NAD
D-aspartate oxidase	1.4.3.1	Tavşan Böbreği	D - aspartate D - glutamate
L - Amino - acid oxidase	1.4.3.2	Bir cins yılan Bir cins yılan Fare böbreği	L-methionine L-Phenylalanine 2-hydroxy asidler
D-Amino acid oxidase	1.4.3.3	Koyun böbreği	L-lactate D-alanine D-valine D-proline
Monoamine oxidase	1.4.3.4	Siğir plazması Plasenta	Monoamine Benzylamine Octylamine
Pyridoxamine phosphate oxidase	1.4.3.5.	Tavşan karaciğeri	Pyridoxamine phosphate
Diamine oxidase	1.4.3.6	Koyun plazması Bezelye fidesi Domuz plazması	Diaminler Spermidine Tyramine
Sarcosine oxidase	1.5.3.1	Macaca mulatta Fare karaciğeri mitokondrisi	Sarcosine
N-Methyl-L-amino acid oxidase	1.5.3.2		N-methyl-L-amino asidler
Spermine oxidase	1.5.3.3	Neisseria perflava Serratia marcescens	Spermine Spermidine Nitroethane
Nitroethane oxidase	1.7.3.1		Alifatik nitro bileşikleri Urate
Urate oxidase	1.7.3.3	Koyun karaciğeri Siğir böbreği	
Sulfite oxidase	1.8.31	Siğir karaciğeri	Sulfite
Alcohol oxidase		Basidiomycetes	Ethanol ve methanol
Carbohydrate oxidase		Basidiomycetes Polyporus obtutus	D-glucose D-glucopyranose D-xylopyranose D-sorbose δ-D-gluconolactone
NADH oxidase		Siğir kalbi Mitokondri	NADH

Son yıllarda hareketsiz tam hücreler kullanılmak suretiyle mikrobiyal elektrodlar geliştirilmiş ve bu tür elektrodlar Suzuki ve Korube (8) tarafından, şekerler, asetik, asid, etil alkol, vitamin B, nikotinik asid ve sefalosporin'lerin tayininde kullanılmıştır.

Fermentasyon sırasında oksijenin havadan hücrelere geçişi birkaç aşamada geręekleřmektedir. Öncelikle oksijen, hava kabarcıkları şeklinde sıvıya geçmekte bunu fermentasyon ortamındaki çözünmüş oksijenin mikrobiyol hücrelere geçişi izlemektedir. Son aşamada ise oksijen, bu hücreler tarafından kullanılmaktadır.

Sıvı faza oksijen transfer oranı;

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a (C^* - C_L)$$

Eşitliği ile bulunabilir. Bu formüldeki;

C_L = Fermentasyon sıvısındaki çözünmüş oksijen konsantrasyonu (mmol dm^{-3})

t = zaman

dC_L

— : belli bir zamanda O_2 konsantrasyonundaki değişim oranı ($\text{mmol } O_2 \text{ dm}^{-3} \text{ H}^{-1}$)

K_L = Kütle transfer katsayısı (cmh^{-1})

a = Sıvı hacminin yüzeyler arası alandaki gaz/sıvı oranı ($\text{cm}^2 \text{ cm}^{-3}$)

C^* = çözünmüş oksijen konsantrasyonu (mmol dm^{-3})

Fermentasyonda K_L ve a'nın ölçümünün çok güç olması nedeniyle bu iki terim $K_L a$ (Hacimsel Transfer Katsayısı) şeklinde ifade edilmektedir ve fermentörün havalandırma kapasitesinin bir ölçütü olarak kabul edilmektedir. bir başka deyişle test şartlarında $K_L a$ (Hacimsel Transfer Katsayısı)nın büyüklüğü ile sistemin havalandırma kapasitesi paralellik arz etmektedir (1).

Ortamdaki çözünmüş oksijen miktarının azalması mikroorganizmaların solunum sistemlerinde geri dönüşümsüz değişimlere yol açmaktadır. Bu nedenle ortamdaki oksijen konsantrasyonu, kritik noktadan daha yüksek bir seviyede tutulmalıdır. Çünkü kritik konsantrasyonlar nisbeten düşük konsantrasyonlardır. Ancak lifli mikroorganizma kültürleri gibi homojen olmayan ortamlarda lokal oksijen azlığı görülmekte, bu da kritik konsantrasyonun artmasına neden olmaktadır (2).

Hacimsel transfer katsayısına etkiyen bir diğer faktörde karıştırmadır. Karıştırma işlemi, $K_L a$ değerindeki artıştan dolayı, oksijen transfer oranı üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir (2). Yüzey aktif maddeler, $K_L a$ değeri üzerinde hem yükseltici ve hem de azaltıcı yönde etki yapmaktadır. $K_L a$ değerindeki yükseliş hava kabarcığı yüzeyindeki nisbi artıştan, azalma ise oksijen diffüzyonunu güçleştiren ve ara yüzey fazında biriken sürfektanlardan kaynaklanmaktadır.

Deneysel çalışmalar, % 0.02 oranında Sodium lauryl sulphate ilavesinin oksijen transferini üç kat arttırdığı, %0.01 Silicon yağı ile % 0.02 Tween 80 ilavesinin, bu oranı yarıyarıya azalttığını göstermiştir

(2). Salamon ve Perkins (9) tarafından oksijen transferi üzerine, viskozitenin etkisinin araştırıldığı çalışmalar ise, ortam viskozitesi arttığında, transfer oranının azaldığını ortaya koymuştur.

Fermentasyonda etkin rol oynayan birdiğer faktörde, ortam pH'sı ile sıcaklığıdır. Mikroorganizma açısından hem pH'nın ve hem de sıcaklığın optimal sınırlarda olması gerekir. Çünkü mikroorganizmanın üremesine bağlı olarak oluşan metabolizma artıkları, pH'nın optimalden uzaklaşmasına yol açar. Ortam sıcaklığının ise, özellikle logaritmik üreme fazında optimal olması arzulanmaktadır. Çünkü sıcaklıktaki azalma logaritmik fazın uzamasına yol açmakta, minimum gelişim sıcaklığı ile sonsuza kadar sürebilmektedir (10). pH ve sıcaklık yanında ortamdaki proteinler, lipidler, karbonhidrallar, mineral maddeler ve vitaminler gibi besin unsurları ile oksidasyon-reduksiyon potansiyelinin de, gelişim üzerindeki etkisi gözden uzak tutulmamalıdır (10).

Ayrıca fermentasyon ortamı için kullanılan suyun da bazı özellikler taşıması arzulanmaktadır. Örneğin; suyun kimyasal bileşimi düzeltilmeli, serbest klorin ile karbonik asit ve su sertliği giderilmeli, sedimantasyon ve filtrasyon gibi yollarla asılı maddeler uzaklaştırılmalı, kolloidler bertaraf edilmelidir (2). Sudaki amonyum tuzları kirlilik göstergesi olarak kabul edilirken, nitrik asit ve tuzlar mikroorganizmaların fizyolojik faaliyetlerin üzerine olumsuz etki yapar. Demir tuzlarının yüksek konsantrasyonda olması, maya gibi mikroorganizmaların renginin bozulmasına, antibiyotiklerin biyosentezinin inhibe edilmesine yol açar. Mililitresinde 20-100 jermenden daha az mikroorganizma içeren sular kaliteli olarak kabul edilmek-

te, deiyonize ve demineralize suların kullanılması önerilmektedir (2).

Fermentasyonda dikkate alınması gereken önemli bir husus da, oluşan mikrobiyal spontan mutasyonlardır. Özellikle fajlar aracılığı ile oluşturulan bu problem, faj infeksiyonuna dirençli mutantların seçimi ile giderilebilir (2).

Fermentasyonda etkin rol oynayan fiziksel, kimyasal, biyolojik ve moleküler biyolojik faktörler Tablo 2, 3 ve 4'de verilmiştir.

Biyosentez yoluyla antibiyotik üretimi sırasında, ortamdaki karbon konsantrasyonunun fazla olması, üretimde kullanılan mikroorganizmanın gelişimi üzerinde olumlu etki yapmaktadır. Ayrıca bu mikroorganizmalardan mümkün olduğunca yararlanabilmesi için, özgün gelişim oranının düşük seviyede tutulması, örneğin penisilin biyosentezinde fermentöre glukozun azar azar ilave edilmesi önerilmektedir (11).

Streptomyces hygroscopicus ve *Streptomyces griseus*'un logaritmik üreme fazında Cyclic AMP (cAMP) düzeyi yükselirken, gelişim fazında düştüğü belirlenmiştir (12, 13). cAMP ilavesi *S.hygroscopicus*'un üremesini stimüle ettiği halde, antibiyotik sentezine engel olduğu gözlenmiştir (12).

Bu gözlem yüksek cAMP düzeylerinin antibiyotik üretimini baskıladığı sonucuna varılmasına yol açmıştır. Son yıllarda, cAMP düzeyinin karbon düzenlenmesinden çok fosfat düzenlenmesi ile ilgili olduğu fikri ağırlık kazanmaya başlamıştır (14, 15).

Nitrojen kaynağı olarak asparajin, glutamik asit, arjinin ve alanin gibi amino asitler kullanıldığında antibiyotik oluşumunun arttığı, aspartat, threonin ve histidin kullanıldığında ise düştüğü belirlenmiştir (11).

Tablo 2 - Fermentasyona Etki Eden Fiziksel Faktörler (2).

Faktör	Ölçüm Şekli
1 - Kültür sıvı hacmi (VL)	a) Kalibre ölçüm aleti
Kültür sıvı ağırlığı (ML)	b) Kapasitans sondası
Kültür sıvı dansitesi (PL)	c) Diferansiyel basınç hücresi
	d) Basınç ölçer (ML)
2 - Köpük düzeyi (HF)	Köpük elektrodu
3 - Ajitator hızı (n)	a) Takometre
	b) Stroboskop
4 - Ajitator şaft gücü (P)	a) Wattmetre
Ajitator şaft dönme momenti (M)	b) Torquemetre
5 - Basınç (p)	a) Bourdon tip manometre
	b) Diyafram manometre
6 - Kültür sıvısının sıcaklığı (T)	a) Civalı termometre
Soğuyan sıvının sıcaklığı (T)	b) Thermocouple
	c) Thermistor
	d) Metal direnç termometresi
7 - Sıvı kültürünün dinamik viskozitesi (mL)	
8 - Gaz (hava) akış oranı (FA)	a) Rotametre
	b) Kitle akışmetre
	c) Kalibre delik plak
9 - Sıvı akış oranı (s)	a) Çeşitli akumetreler
	b) Toplama kaplarında ağırlık ölçümleri
	c) Sayaç aletleri

Tablo 3 - Fermentasyona Etki Eden Kimyasal Faktörler (2).

Faktör	Ölçüm Şekli
1- pH	Elektrodlu pH metre
2- rH	
3- Çözünmüş O ₂ tansiyonu (PO ₂)	a) Çözünmüş oksijen elektrod-polarografisi
Çözünmüş O ₂ konsantrasyonu (CO ₂)	b) Çözünmüş oksijen elektrod-voltametri c) Tüp metodu
4- Çözünmüş CO ₂ tansiyonu (pCO ₂)	Çözünmüş karbondioksit elektrodu
Çözünmüş CO ₂ konsantrasyonu (CCO ₂)	
5- Karbon kaynağı konsantrasyonu (s)	a) Otomatik analiz sistemleri b) Enzim elektrodu
6- Besiyerindeki toplam organik karbon Besiyerinin kimyasal oksijen isteği	Otomatik analiz sistemleri
7- Nitrojen kaynağı konsantrasyonu	a) Otomatik analiz sistemleri b) İyon-selektif elektrodlar
8- Fermentasyon sıvısındaki ürünlerin konsantrasyonu	a) Otomatik analiz sistemleri b) Enzim elektrodlar
9- Çıkış gazındaki O ₂ konsantrasyonu	a) Paramagnetik oksijen analizatörü b) Oksijen elektrodu
10- Çıkış gazındaki CO ₂ konsantrasyonu	a) Infrared karbondioksit analizatörü b) Karbondioksit elektrodu
11- Çıkış gazındaki organik maddelerin konsantrasyonu	a) Kütle spektrofotometre b) Gaz kromatografik detektörler c) Katalitik alıcılar

Tablo 4 - Fermantasyona Etki Eden Biyolojik ve Moleküler- Biyolojik Faktörler (2).

Faktör	Ölçüm Şekli
1- Hücre konsantrasyonu (x)	a) Türbidimetre
Hücre dansitesi (N)	b) Spektrofotometre
	c) Fluorimetre
	d) Nitrojen analizatörü
	e) Karbon analizatörü
	f) Fosfor analizatörü
2- Hücredeki nükleik asitlerin konsantrasyonu	
3- Hücredeki protein konsantrasyonu	Otomatik analizatör
4- Hücredeki NAD/NADH konsantrasyonu	Yansıtıcı fluorimetre
5- Hücredeki nükleosid fosfatların konsantrasyonu	

Sistein, valin ve metiyonin gibi aminoasitlerin ise özellikle beta-laktam antibiyotiklerin sentezini etkilediği görülmüştür (16, 17).

Glukoz fermentasyonunda hareketsiz *Zymomonas mobilis* hücrelerinin aktivitesi ve etanol üretimi üzerine, ortamın pH'sı ve sıcaklığının etkisi incelenmiş ve maksimum etanol üretimi için optimal sıcaklığın 37 °C, optimal pH'nın da 4.4-6.0 arasında olduğu saptanmıştır (18). Etanol konsantrasyonunun sıcaklık yükseldikçe arttığı, ancak yüksek sıcaklığın azalmaya yol açtığı, 50 °C'de ise en düşük seviyeye ulaştığı gözlenmiştir. Aynı şekilde etanol konsantrasyonu ile pH arasında da bir paralellik olduğu, ancak sıcaklıkta olduğu gibi yüksek pH'nın da azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (18).

Fermentasyon işleminde ortama bazı

yardımcı maddelerin ilave edilmesi, verimin artmasına yol açmaktadır. Örneğin *Aspergillus niger* yardımıyla melasdan sitrik asit eldesinde, biyoreaktöre potasyum ferrosiyaniid ilave edilmesi verimi arttırmaktadır. Çünkü bu madde melasda bulunan metal iyonlarının çözünmeyen kompleksler haline dönüşmesine yol açmakta bu komplekslerde mikroorganizmanın gelişimini sağlamaktadır (19). Aynı şekilde L-prolin oluşturan mikroorganizmalardan prolin eldesi sırasında, fermentasyon ortamına % 2'lik L-glutamat eklenmesinin üretimi arttırdığı bildirilmiştir (20).

Bütün bunların dışında mikrobiyal kültürlerin karıştırılması ve uygun bir şekilde havalandırılması hem aerobik bir ortam temini ve hem de üretimin artırılması açısından önemli bir faktördür (21, 22).

Sonuç olarak endüstride ve pratikte yukarıda özellemeye çalışılan ve fermentasyonda etkin rol oynayan faktörlere dikkat edildiği takdirde yüksek düzeyde ürün elde edilmesi mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Stanbury P.F., Whitaker A., "Principles of Fermentation Technology", England, Pergamon Press, 8-74, 1984.
2. Sikyta B., "Methods in industrial microbiology", England, Ellis Horwood Limited, 75-311, 1983.
3. Leland C.C., "A family of polarographic enzyme electrodes and the measurement of alcohol", *Biotechnol. and Bioeng. Symp.*, No: 3, 377-394, 1972.
4. Leland C.C., "A family of polarographic enzyme electrodes and the measurement of alcohol", Wingard L.B. (ed.), "Enzyme engineering", Interscience Publishers, 377-394, 1972.
5. Enfors S.O., "An enzyme electrode for control of glucose concentration in fermentation broths", *Abstracts of Communications, Second Eur. Cong. of Biotech.*, Eastbourne, 141, 1981.
6. Hewetson J.W., Jong T.H., Gray P.P., "Use of an immobilized penicillinase electrode in the monitoring of the penicillin fermentation", *Biotech. Bioeng. Symp.*, 9, 125-135, 1979.
7. Janssen F.W., Ruelius H.W., "Alcohol oxidase, a flavoprotein from several basidiomycetes species: Crystallization by fractional precipitation with polyethylene glycol", *Biochem. Biophys. Acta.*, 151, 330, 1968.
8. Suzuki S., Korube I., "Microbial electrode sensors for cephalosporins and glucose", Venkat Subramanian K. (ed.), "In immobilized microbial cells", Washington, American Chemical Society, 1979.
9. Solomons G.L., Perkins M.P., "The measurement and mechanism of oxygen transfer in submerged culture", *J. Appl. Chem.*, 8, 251-259, 1958.
10. Miller B.M., Litsky M., "Industrial microbiology", USA, McGraw-Hill Book Company, 143-164, 1976.
11. Nisbet L.J., Winstonley D.J., "Bioactive microbial products II, Development and Production, Special Publications of the Society for General Microbiology, 10, 1983.
12. Gersch D., "Metabolic regulation by cyclic AMP in macrolide antibiotic-producing strains of *Streptomyces hygroscopicus*", *Process Biochemistry*, 15, 21-25, 1980.
13. Ragan C.M., Vining L.C., "Intracellular cyclic adenosine 3' - 5' - monophosphate levels and streptomycin production in cultures of *Streptomyces griseus*", *Can. J. Microbiol.*, 24, 1012-1015, (1978).
14. Revilla G., Lvengo J.M., Villanueva J.R., Martin J.F., "Carbon catabolite repression of penicillin biosynthesis", Vezzina C., Singh K.

- (ed), In *Advances in Biotechnology*, Pergamon Press, 3, 155-160, 1981.
15. Mardy N., Sprinkmeyer H., Pape H., "Regulation of tylosin synthesis in *Streptomyces*: Effect of glucose analogs and inorganic phosphate", *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, 7, 365-370, 1979.
 16. Martin J.F., Demian A.L., "Control of antibiotic biosynthesis", *Microbiol. Rev.*, 44, 230 - 251, 1980.
 17. Drew S.W., Demain A.L., "Effect of primary metabolites on secondary metabolism", *Ann. Rev. Microbiol.*, 31, 343-356, 1977.
 18. Pramod B.K., Argyrios M., "Effect of temperature and pH on immobilized *Zymomonas mobilis* for continuous production of ethanol", *Biotech. and Bioeng.*, 28, 824-828, 1986.
 19. Oderinde A.R., Ngoka C.L., Adesogan E.K., "Comparative study of the effect of ferrocyanide and EDTA on the production of ethyl alcohol from molasses by *Saccharomyces cerevisiae*", *Biotech. and Bioeng.*, 28, 1462-1465, 1986.
 20. Nakanishi T., Hirao T., Azuma T., "Application of L-glutamate to L-proline fermentation by *Corynebacterium acetoacidophilum*", *J. Ferment. Technol.*, 65 (2), 139-144, 1987.
 21. Brown D.E., "Aeration in the submerged culture of microorganisms", Norris J.R., Ribbons D.W. (eds.), *Methods in Microbiology*, London and New York, Academic Press, 2, 125 - 174, 1970.
 22. Tsao G.T., Lee Y.H., "Aeration", *Ann. Report on Ferm. Processes*, 1, 64-96, 1977.

Geçmiş sorunlar için yakınmak, yeni sorunlar edinmektir.

Sheakespeare