

# ENDÜSTRİYEL MİKROBİYOLOJİ

# MİKROORGANİZMALARIN BESLENME GEREKSİNİMLERİ VE FERMENTASYONDA KULLANILAN BESİYERLERİNİN BİLEŞİMLERİ

## ÇOĞALMA

Besin maddesi  Yeni mikroorganizma

- Mikroorganizmanın gelişmesi ve çoğalması için gerekli maddeleri içeren besi yeri mikroorganizma türüne göre değişir ve türe göre özel maddeler ihtiva etmelidir.

- ◉ Bütün bakterilerin kimyasal yapısında bulunan başlıca maddeler şunlardır:
  1. Protein, nükleik asit, polisakkarit ve lipit gibi molekül ağırlığı büyük olan organik maddeler
  2. Koenzim, ara metabolitler gibi molekül ağırlığı küçük olan organik maddeler
  3. Su, fosfor, kükürt, sodyum, potasyum, demir gibi anorganik maddeler.
- ◉ Mantarların kimyasal yapıları bakterilere benzerlik gösterir.
- ◉ Tek farklılık, mantarların hücre duvarında kitin bulunmasıdır.
- ◉ Beslenmede bakteriler için gerekli maddelerin hemen hemen tamamı mantarlar için de geçerlidir.



- ◉ Mantarlar bakterilerden farklı olarak polivinil klorür gibi plastikleri, alkil benzen sülfonat gibi deterjanları ve bazı pestisitleri kullanabilirler.
- ◉ Selüloz yapısındaki maddeleri bakterilerden daha iyi kullanırlar.
- ◉ Bakterilerin vejetatif şekillerinde %75-85 kadar su bulunur.
- ◉ Bir bakteri hücresi gereksinim duyduklarını bulunduğu ortamdaki maddelerden sağlar.
- ◉ Bakteri türlerinin sentez yapma yetenekleri birbirinden farklı olduğu için karbon ve azot kaynağı olarak değişik maddelerden faydalanırlar.



## OTOTROF BAKTERİLER

- ◉ Topraktaki amonyağı nitritlere oksitleyen *Nitrosomonas* ve nitritleri oksitleyen *Nitrobacter* gibi bazı bakteriler *ototroftur*.
- ◉ Ototrof bakteriler CO<sub>2</sub>, nitrat ya da amonyum tuzları gibi basit karbon ve azot kaynağı olan anorganik maddeleri kullanarak kendileri için gerekli karbonhidrat, protein, yağ ve diğer maddeleri sentezlerler.
- ◉ Bu işlemler sırasında enerji kullanılır ve kazanılır.

# HETEROTFOR BAKTERİLER

- ◉ Anorganik maddeleri kullanmazlar.
- ◉ Üremek için karbonhidrat, protein, aminoasit ve yağ asitleri gibi kompleks organik madde gereksinimine sahiptirler.
- ◉ Besin gereksinimi bakımından heterotrof bakteriler arasında ayrıcalık vardır.
- ◉ Heterotrof bakterilerin bir kısmı besinlerini cansız maddelerden sağlarlar. Bunlar saprofit bakterilerdir.
- ◉ Saprofit bakterilerin çoğu besin olarak cansız organik maddelerin bulunduğu toprakta, suda ürerler. Böyle bakteriler besi yerlerinde kolaylıkla üreme yeteneğindedir.

- ◉ Heterotrof bakterin bir kısmı ise parazittir, beslenmeleri için gerekli maddeleri canlı organizmalardan sağlarlar.
- ◉ Parazit bakterilerden bazıları canlı bitki, hayvan ve insan dokularında özel şekilde üremeye yönelmişlerdir.
- ◉ Bunların üremeleri için besiyerine üreme etkenlerinin eklenmesi gerekir.



- Mikroorganizmaların üretilebilmesi için gerekli maddeler başlıca şu ana gruplar altında toplanabilir:
  1. Mikroorganizmanın ana yapısını oluşturan karbon, hidrojen, oksijen ve azot gibi elementleri sağlayan besinler,
  2. Fosfor, potasyum, kükürt ve magnezyum gibi ikinci derecede önemli olan elementleri sağlayan besinler
  3. Mikroorganizmanın metabolizmasında koenzim olarak çeşitli işlevleri olan çeşitli vitaminleri içeren besinler
  4. Üreme için zorunlu ya da az gerekli olan iz elementler.





- ◉ Besiyeri doğal ve yapay olmak üzere iki kısma ayrılır.
- ◉ Doğal besiyerleri genellikle daha ucuz olduklarından fermentasyon teknolojisinde çok kullanılırlar. Bunlara örnek olarak üzüm ve bira şıraları, melas, soya küspesi, süt ve artıkları, pepton, mısır meserasyon sıvısı gibi maddeler gösterilebilir.
- ◉ Doğal besiyerlerinin bileşimlerinin belirlenmesi hayli zordur. Bu nedenle özellikle bilimsel çalışmalarda yapay besiyerleri kullanılır.



- ◉ Bununla birlikte fermentasyon teknolojisinde laboratuvar koşullarında hazırlanan bir mikroorganizma, kültür aktarımı ile, fermentördeki besi ortamına aktarılacağından mikroorganizmaların uyum sürelerinin kısa olması için iki besiyeri bileşiminde benzerlik aranır.
- ◉ Bazı besiyerleri belli mikroorganizmaların geliştirilmesinde kullanılabilir.



FERMENTASYON SÜREÇLERİNDE  
KULLANILAN BESİYERLERİNİ  
OLUŞTURAN ANA MADDELER VE  
GENEL ÖZELLİKLERİ

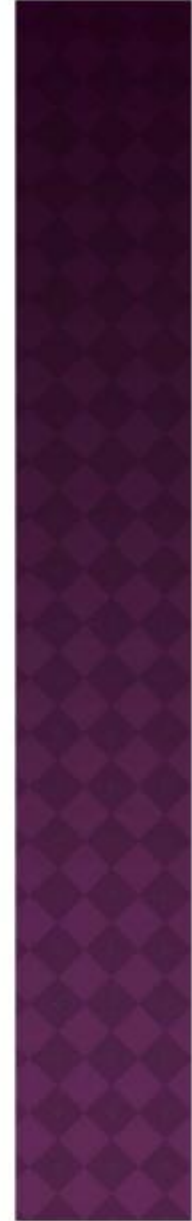


## KARBON KAYNAKLARI

- ◉ Mikroorganizmaların anaerob metabolizmasında besiyerindeki karbonun yaklaşık %10'u; aerob metabolizmasında ise %50-55'i hücre yapısını oluşturmak için kullanılır.
- ◉ Karbon kaynakları aynı zamanda mikroorganizmaların enerji kaynaklarıdır.
- ◉ Karbon kaynağı olarak en çok kullanılan bileşikler karbonhidratlardır.
- ◉ Mısır y ada patatesten elde edilen nişasta, fermentasyonlar için karbonhidrat kaynağı olarak kullanılır.



- ◉ Ancak bu madde sterilizasyon sırasında ısıtılınca jelleştiğinden genellikle %2'den daha yüksek konsantrasyonlarda kullanışlı değildir.
- ◉ Jelleşmeyi önlemek için nişasta ya hidroklorik asit , sülfürik asit gibi mineral asitlerle ya da  $\alpha$ -amilaz gibi enzimlerle hidrolizlenerek çözünür hale getirilir.
- ◉ Karbonhidrat kaynağı olarak bir başka seçenek de nişastanın hidroliz ürünlerinin kullanılmasıdır.
- ◉ Bunlar kısa zincirli dekstrinler olduğu gibi hidrolizleme sürecinin son ürünü olan glikoz da olabilir. Kısa zincirli dekstrinler ticari olarak daha ucuz karbon kaynaklarıdır.



- Kültür ortamında glikoz kullanıldığı zaman ortamın diğer elemanlarının da ayrı olarak steril edilmesi tavsiye edilir.
- Bu durum en iyi olarak glikozun %30\*50 lik çözeltisi yapılıp pH sınırın 3.0 e ayarlanmasıyla gerçekleştirilir.
- Bu zelti otoklavlandığı zaman renksiz kalır.
- Aminoasitlerin ve diğer bileşiklerin varlığında, özellikle nötral pH değerlerinde, otoklavlandığı zaman glikoz reaksiyona girerek m.o.ların üremesini kısmen inhibe eden kahve rengi zelteler oluşturur.



- ◉ Glikoz ve polimerlerine alternatif olarak sakkaroz da karbon kaynağı olarak kullanılabilir.
- ◉ Sakkarozun kullanımını çay şekeri şeklinde çok saf olabileceği gibi, en az saflaştırılan biçimi olan melas şeklinde de olabilir.
- ◉ Melas özellikle ticari ölçüde ekmek mayası üretiminde kullanılmaktadır.
- ◉ Melas şeker fabrikalarından yan ürün olarak elde edilmektedir.
- ◉ Şekerin kristal haline gelmesi için yapılan birçok işlemlerden sonra geri kalan kıvamlı, koyu renkli, yapışkan bir maddedir.
- ◉ Ortalama %50 sakkaroz, %30 şekerden başka maddeler ve %20 su içerir.



- ◉ Özellikle bira endüstrisinde ve önceleri maya üretiminde kullanılan geleneksel bir diğer karbon kaynağı arpadır.
- ◉ Arpadan elde edilen bir diğer karbon kaynağı da malt özeti'dir.
- ◉ Malt özeti karbonhidrat olarak başlıca maltoz ve dekstrinleri içerir ve toplam içerikleri %50-60 arasındadır.
- ◉ Kağıt fabrikalarında atık madde olarak elde edilen sülfat atık likörü de fermentasyon endüstrisinde karbon kaynağı olarak kullanılır.
- ◉ Bu madde etanol, maya, 2,3-bütandiol, laktik asit ve diğer kimyasal maddelerin üretiminde yaygın olarak kullanılır.





- ◉ Karbonhidratlar yanında çok yaygın, ucuz ve oldukça bol oluşları nedeniyle hidrokarbonlar da son yıllarda önem kazanmıştır.
- ◉ Hidrokarbonlar petrol endüstrisi yan ürünü olan yalnız karbon ve hidrojenden oluşmuş bileşiklerdir.
- ◉ Özellikle parafinik yapıdaki hidrokarbonlar fermentasyon endüstrisinde kullanılmaktadır.
- ◉ Ancak hidrokarbonlar suda çok az çözünmeleri nedeniyle mikroorganizmaların yararlanması güç ve üreme hızları yavaş olmaktadır.
- ◉ Hidrokarbonların suda çözünmeyen evreden alabilecek yüzey aktif maddelerin bulunması sonucu bu güçlükler büyük ölçüde yenilebilmiştir.
- ◉ Bunlar dışında çeşitli alkoller, asetatlar, yağlar ve hidrolizleri sonucu oluşan gliserin ile  $\beta$ -oksidasyon yolu üzerinden metabolizmaya katılan yağ asitleri ve bazı m.o.lar için metan da karbon kaynağı olarak kullanılabilir.



## AZOT KAYNAKLARI

- ◉ Azot kaynakları karbon kaynaklarından daha fazla çeşitlilik gösterir.
- ◉ Birçok m.o. ve özellikle mayalar azotu anorganik amonyum tuzları olarak kullanabilirler.
- ◉ Nitrat azotu da sodyum nitrat ya da amonyum nitrat şeklinde azot kaynağı olarak kullanılır.
- ◉ Hidrokarbon oksitleyen bakterilerin çoğu atmosfer azotunu fikse edebilirler.
- ◉ Üre de iyi bir azot kaynağıdır. Fakat sterilizasyonu sırasında anorganik azot kaynakları kadar stabil olamamaktadır.

- ◉ Mikroorganizmaların çoğu anorganik azot kaynakları içeren besiyerlerinde üreyebilmekle birlikte, ortam organik bir azot kaynağıyla desteklendiği zaman üreme daha hızlı olmaktadır.
- ◉ Ticari birçok organik azot kaynağı vardır.
- ◉ Bunlardan biri mısırdan glikoz ve nişasta üretiminde yan ürün olarak çıkan mısır unu özütü sıvısıdır.
- ◉ Mısır unu özütü sıvısının bileşimi, üretiminde kullanılan mısırın bileşimi ve üretim sürecine bağlı olarak değişiklik gösterir.
- ◉ Mısır unu özütü sıvısında bulunan azotlu bileşiklerin çoğu amino asitler olarak bulunmaktadır.



- ◉ En çok alanin, arginin, glutamat, lösin, prolin, izolösin, treonin, valin, fenilalanin, metiyonin ve sistin amino asitlerini ihtiva eder.
- ◉ Kullanılmış bira mayasının otolizi ile elde edilen maya özeti diğer bir azot kaynağıdır.
- ◉ Kullanılan diğer bir azot kaynağı, maya özetine benzeyen bakteriyolojik peptondur.
- ◉ Pepton fermente olabilen karbonhidratlardan arındırılmış olup %12-14 azot içerir. Bu azotun yaklaşık %20si amino azottur.



- ◉ Diğer bir önemli azot kaynağı da soya fasülyesi unudur.
- ◉ Soya fasülyesi unu, çözünmeyen kompleks yapıda bir azot kaynağıdır ve genellikle lipit fraksiyonlarından özütlenerek kullanılır.
- ◉ Ayrıca balık unu, süt ve peynir atık suları, kazein gibi maddeler de fermentasyon endüstrisinde azot kaynağı olarak kullanılabilir.



## VİTAMİN KAYNAKLARI

- ◉ Karbon ve azot kaynaklarının çoğu, birçok m.o.nın üremesi için gerekli ana vitaminlerin tümünü ya da bazılarını içermektedir.
- ◉ Bazen bu kaynakların karıştırılması m.o.nın vitamin gereksinimlerinin karşılanması yönünde iyi sonuçlar verir.
- ◉ Örneğin; ekmek mayası üretiminde şeker kamışı ve pancar melaslarının karışımı kullanılır.
- ◉ Bunlardan ilki biotin bakımından zengin olduğu halde diğeri B-grubu vitaminlerini daha fazla içerir.



- ◉ Maya özeti gibi organik azot kaynakları diğer birçok besinleri içermesi yanında pahalı maddelerdir.
- ◉ Bu yüzden eğer kendilerine kesin gereksinim yoksa sentetik vitaminlerin kullanılması daha ekonomik olur.



## FOSFAT GEREKSİNİMLERİ

- ◉ Fosfor genellikle anorganik fosfat biçiminde sağlanır.
- ◉ Fosfat çoğunlukla nükleik asitlerin, fosfolipitlerin ve hücre duvarı polimerlerinin bileşimine girer.
- ◉ Hücrede polimetafosfat şeklinde depolanır.
- ◉ Hücrelerin fosfor içerikleri kuru ağırlıklarının %1.5 kadardır ve üreme hızı ile artar, sıcaklıkla ters orantılı olarak değişir.
- ◉ Bu değişiklik çoğunlukla hücrelerin RNA içeriklerindeki farklılığı gösterir.
- ◉ Bakterilerde Mg, K , P ve RNA arasında stokiometrik bir oran bulunmaktadır.



- ◉ Gram negatif bakterilerde Mg:K:RNA nükleotiti:  $PO_4$  ın moleküler oranı: 1:4:5:8 yakın a-olup üreme hızı, sıcaklık ve üremeyi sınırlayan substrattan bağımsızdır.
- ◉ Gram pozitif bakterilerde ise aynı oran 1:13:5:13 e yakın olup fosfat üremeyi sınırladığı zaman 1:4:5:8 e yaklaşır.
- ◉ Gram pozitif bakterilerin yüksek fosfat ve potasyum içerikleri fosfat fazlarında üreme olduğu zaman hücre duvarındaki teikoik asitlerin varlığıyla açıklanır.

.

## POTASYUM VE SODYUM GEREKSİNİMLERİ

- ◉ Mikrobiyal büyüme için potasyum gereksinimini gösteren bir üreme verimi yaklaşık olarak 60 gr kuru hücre / gr potasyum olarak belirlenmiştir.
- ◉ Potasyumun çoğu RNA ile bağlı olarak görüldüğünden potasyum gereksinimi hücre kütlesinin RNA içeriğinin artmasıyla artar.
- ◉ Potasyum gereksinimi pH ile ters orantılı olarak değişir.
- ◉ *Klebsiella'* da ortamın pH sı 7 den 6 ya doğru düşerken potasyum içeriği yaklaşık %30 artar.
- ◉ Bazı bakterilerin potasyum içeriği ortamın sodyum klorür içeriğinin artmasıyla üç kat artar.

- ◉ Sodyuma bakterilerde genellikle iz elementlere duyulan miktarlar kadar gereksinim vardır.
- ◉ Yalnız halofilik bakteriler sodyuma büyük miktarda gereksinim duyarlar.
- ◉ Magnezyum iyonlarından oluşan üreme verimi 300-900 gr kuru hücre / gr magnezyum değerlerinde değişir ve hücre kütlesindeki RNA miktarı ile ters orantılıdır.
- ◉ Alglerde magnezyum klorofilin içinde bulunmaktadır.
- ◉ Agrobacterium tumefaciens kemostat kültüründe magnezyum eksikliğinin hücre konsantrasyonlarında büyük osilasyonlara sebep olduğu belirlenmiştir.



## KÜKÜRT GEREKSİNİMLERİ

- ◉ Özümlenen kükürttten oluşan üreme verimi yaklaşık 300 gr kuru hücre / gr kükürttür.
- ◉ Kükürt genellikle sülfat şeklinde anorganik olarak ya da sistein veya metiyonin şeklinde sağlanır.
- ◉ Aerob koşullarda sistein tümüyle sistine dönüşür.
- ◉ Kükürt kaynakları genellikle L-sistein ve L-metiyonin için kükürt sağlamakta kullanılır.
- ◉ Biotin, koenzim A, ferrodoksin, lipoik asit ve tiamin gibi bazı koenzimlerin kükürt grupları için daha az miktarlarda kükürt kaynakları gerekir.

## İZ ELEMENT GEREKSİNİMLERİ

- Mikroorganizmaların üremesi için esas olan iz elementler gerekmektedir.
- Bu elementler atom numarası 4 olan berilyum ile 74 olan tungsten arasına düşmektedir.
- Fakat çoğunluğu 4-35 atom numaraları arasında bulunur.
- İz elementlere olan gereksinimler kalitatiftir, bu nedenle besiyerlerine çok az miktarlarda eklenirler.
- Genellikle besiyerine konan maddelerde kontaminant olarak yeterli miktarlarda bulunurlar.

# FERMENTASYON İÇİN MİKROORGANİZMA SEÇİMİ VE MİKROORGANİZMANIN GELİŞTİRİLMESİ

- ◉ Bir fermentasyon süreci ile üretim şu aşamalarda gerçekleştirilir.
  1. Konu ile ilgili bütün literatürün incelenmesi
  2. Üretilmesi istenen maddeyi en iyi oluşturan m.o.nın seçimi
  3. İstlenen maddenin seçilen m.o. tarafından en yüksek düzeyde üretimini sağlayacak besiyeri bileşiminin belirlenmesi
  4. M.o. Nın üremesine ve ürünün oluşumuna en uygun çevresel koşulların belirlenmesi (pH, sıcaklık, v.b.)
  5. En ekonomik üretimi sağlayacak süreç biçiminin seçilerek fermentör tasarımının yapılması
  6. Oluşan ürünün fermentasyon ortamından en ekonomik yöntemlerle kazanılması.



- ◉ Fermentasyon sürecinde en önemli özellik üretimde kullanılacak m.o.nın seçilmesidir.
- ◉ Belirli m.o.lar belirli koşullarda metabolizmalarının gereği olan maddeleri üretirler.
- ◉ Bu ürünlerin yüksek düzeyde oluşturulmasına göre m.o.nın seçimi yapılır.
- ◉ Örneğin; bütün enterobacter aerogenes suşları anaerob ya da oksijen sınırlı ortam koşullarında pH 5-6 aralığında 2,3-bütandiol üretirler.
- ◉ Fakat enterobacter aerogenes suşunun fermentasyon sürecinde kullanılması uygun değildir. Çünkü seçilecek suş melas gibi ticari besiyerlerinde de 2,3-bütandiolü yüksek verimle üretebilmelidir.



- ◉ Kullanılacak m.o.lar ya doğal kaynaklardan araştırılarak izole edilirler ya da endüstriyel m.o.ları muhafaza eden kültür koleksiyonu laboratuvarlarından sağanırlar.
- ◉ M.o.ların izole edildiği en önemli doğal kaynak topraktır.
- ◉ Bundan başka kanalizasyon suları, hayvanların dışkıları, bitkilerin gövde, kök ve yaprakları önemli kaynaklardır.
- ◉ Doğal kaynaklardan alınan örnekler çeşitli oranlarda sulandırılarak her sulandırmadan petri kutularındaki katı izolasyon besiyerlerine ekilir.
- ◉ Oluşan her koloniden saf kültür alınarak belirli besiyerlerinde çalkalama kültürleri yapılır.





- ◉ Bu kùltùrlerin metabolik ùrünleri incelenir.
- ◉ İstelenen ùrünü oluşturduğu belirlenen saf kùltùrlerin biyokimyasal özellikleri incelenerek son seğim yapılır.
- ◉ Bunu takiben izole edilen suşlar değişik besiyerlerinde ùretilerek ùreme ve ùrün oluşturma verimlerinin artırılmasına çalışılır.
- ◉ Bu işleme “mikroorganizmaların geliştirilmesi” (improvement) adı verilir.



- ◉ Kùltùrlerin geliştirilmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biri de “mutasyon”dur.
- ◉ Mutant suş eldesinde amaç suşun ana kùltüründen elde edilen ürünün birkaç katını vermesi, ayrıca istenmeyen metabolizma ürünlerini de daha az miktarlarda üretmesidir.



- ◉ Mutantlar, hücrelerin çoğunu önemli derecede öldüren mutajen maddelerin hücreler üzerine etkimesiyle oluşur.
- ◉ Canlı kalan hücreler eğri katı besiyerinde saf kültür olarak elde edilirler.
- ◉ Verimleri ana suşların verimleri ile karşılaştırılarak yüksek düzeyde olup olmadıkları araştırılır.
- ◉ Mutajen maddelerin başında kimyasal maddeler ve ultraviyole ışınlar gelmektedir.



## EKİM KÜLTÜRÜNÜN HAZIRLANMASI VE FERMENTÖRE EKİM

- ◉ Tüm fermentasyon işlemlerinde olduğu gibi ekim kültürleri, m.o.ların saf kültürü glikoz, mısır meserasyon sıvısı gibi zenginleştirici maddeler içeren uygun steril besiyerine ekilerek elde edilir.
- ◉ Ekim kültürleri, çalkalama kültür, katı besiyeri kültürü olmak üzere iki şekilde hazırlanabilir.
- ◉ Çalkalama kültürler günümüzde en çok tercih edilen ortamlardır. Daha çok aerob m.o.lar için uygun olan bu yöntemde m.o.lar havalandırma uygulanan tüp, erlenmayer şişesi veya küçük fermentör içindeki sıvı besiyerlerinde üretilirler.



- ◉ Ekim kültürü homojen olmalı, büyük tanecikler içermemeli, mikroskopta incelendiğinde tamamen gelişmiş hücreler görülmelidir.
- ◉ Hücrelerin görünüşü, kantitatif inceleme, pH değişikliği, şeker ve azot tüketimi üremenin yeterliliğini belirler.
- ◉ Bu kültürün uzun süre üreme safhasında kalması ortamdaki besi maddelerinin tükenmesine neden olacağından m.o.lar ölürler.
- ◉ 0.5-1 litre hacimdeki ekim kültürlerinin fermentörde hazırlanması tercih edilir.



- ◉ Ekim kültürünün hacmi fermentördeki besiyeri hacminin %1-10 u kadardır.
- ◉ Yüksek oran, fermentörde üremenin en yüksek değere varmasını hızlandırır.
- ◉ Katı besiyerinden hazırlanan süspansiyonlardan yapılan ekimlerde ya da az sayıda bakterinin ekilmesinde üreme genellikle yavaştır.
- ◉ Belirli bir ürün için katı veya sıvı kültürün tercihi deney sonucunda elde edilen ürün miktarına ve uygulamadaki kolaylığa bağlıdır.



- ◉ Miselyum oluşturan miklroorganizmalar ile ekim kültürünün hazırlanması ve ekim için en uygun zamanın seçimi, deneyler sonucunda belirlenir.
- ◉ Fermentre ekim giriş noktasının birinden kültürün dökülmesi veya ekimi sağlayacak kültür şişesinin fermentöre eklenmesiyle yapılır.
- ◉ Bir fermentrden diğer fermentöre ekim daha kolaydır ve birkaç fermentöre bu şekilde ekim yapılabilir.
- ◉ Ekim safhasında kesinlikle kontaminasyon olmamalıdır.



- ◉ Ekim kültüründe olabilecek kontaminasyon fermentöre ekim yapılmadan önce belirlenmeli ve ekim yapılmamalıdır.
- ◉ Bakteriler ile olan zayıf kontaminasyonlar genellikle mikroskopik incelemede belirlenemez.
- ◉ Kontaminasyonun önlenmesi ancak uygun tekniklerle mümkün olur.





## ENDÜSTRİYEL MİKROBİYOLOJİDE MAYALAR VE KÜFLER

- ◉ Mayalar ve küfler endüstride bir çok ürünün eldesinde kullanılan m.o.lardır.
- ◉ Bu türlerden *Saccharomyces cerevisiae* baş aüzüm olmak üzere meyveler ve sebzeler üzerinde yaygındır.
- ◉ *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis* ve *Candida* türleri etil alkol üretiminde; *Saccharomyces cerevisiae* ve *zygosaccharomyces acidifaciens* gliserin fermentasyonunda; *Saccharomyces cerevisiae* ekmek mayacılığında ve *Candida utilis* besin ve yem mayacılığında kullanılan mayalardır.
- ◉ *Candida* türleri kefir ve meyve sularının fermentasyonunda, taze kıyma ve kanatlı etlerinde bolca bulunur. Sentetik bal üretiminde kullanılırlar.
- ◉ *Debaromyces* süt, yoğurt, salamura peynirin bozulmasına neden olur.
- ◉ *Zygosaccharomyces* reçel, bal, melas gibi gıdaların bozulmasına neden olur.

- ◉ Küflerden; Aspergillus, Penicillium, Rhizopus ve Mucor türleri endüstriyel önemi olan m.o.lardır.
- ◉ Örneğin; Aspergillus niger sitrik, galik ve glükonik asit fermentasyonunda; bazı Penicillium türleri antibiyotik eldesinde, bazı peynirlerin olgunlaştırılmasında, glükonik ve sitrik asit üretiminde; Rhizopus ve mucor türleri nişastalı maddelerin sakarifikasyonunda kullanılırlar.



## MAYALAR

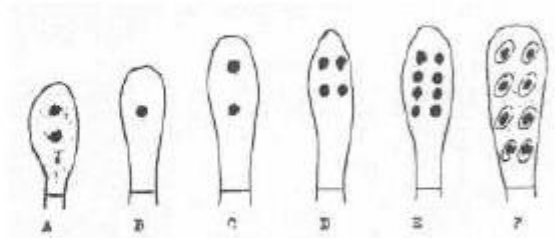
- ◉ Maya hücresinin % 75'i su ve %25'i kuru maddedir. Kuru maddenin %30-75'i protein, %25-50'si karbonhidrattır. Ayrıca, lipit, vitamin ve mineral madde bulunur.
- ◉ Mayalar; Eumycetes altbölümünde, klorofil içermeyen, gerçek mantar olan ve doğada yaygın olarak bulunan m.o.lardır.
- ◉ Toprağın yüzeysel katmanlarında, özellikle yüksek oranda karbonhidrat içeren toprak kökenli organik maddelerde yaşarlar.
- ◉ Meyve bahçelerinin ve bağların toprağında; üzüm, elma ve diğer tatlı meyvelerin ve turuncgillerin yüzeyinde bulunurlar.
- ◉ Bazı hayvansal ürünlerde de saptanabilirler.

- ◉ Morfolojik olarak birbirlerinden ayrılmaları genel olarak imkansız olsa da genellikle yuvarlak, yuvarlağımsı, yumurtamsı veya elips biçimindedirler. Örneğın; *S. Cerevicea* küresel ve eliptik şekillidir. Çoğalmaları tomurcuklanma ile olur.
- ◉ Genel olarak cins, tür, yaş ve gelişme ortamına göre 8-10  $\mu$  büyüklüğe sahiptirler. Endüstride kullanılan mayaların çoğı 4-6  $\mu$  büyüklüktedir.
- ◉ Ökaryot olan maya hücresinin çevresinde yarı geçirgen bir hücre duvarı ve protoplastında sitoplazma zarı, sitoplazma, çekirdek, yedek besin depoları olan vaküoller ve metakromatik cisimcikler bulunur.
- ◉ Mayaların çoğı tomurcuklanarak eşeysiz üreme gösterir.



## MAYALARDA SPORÜLASYON

- Mayalarda sporülasyon önemli bir olaydır.
- Sporülasyon, üreme biçimlerinden biri olduğu gibi ayrıca yeni hibritlerin oluşumunu sağlar ve ortam koşulları uygunsuzlaştığında mayanın canlılığını korur.
- Askosporlar ısı ve kuruluğa vejetatif hücrelerden daha dayanıklıdırlar. Askospor oluşumu şekilde görüldüğü gibidir.



- ◉ Ascomycetes mantarlarında seksüel sporlar askus (ascus) denen genişlemiş ve uzamış hücre keseleri içinde oluşurlar.
- ◉ Aynı veya ayrı hifalarda, birbirine komşu iki hücrenin (askogonium ve anteridium) uzaması ve bunların birbirleriyle birleşmesi sonu askosporlar meydana gelirler.
- ◉ Önce, iki hücre arasındaki membran eriyerek kaybolur.
- ◉ Sonra, anteridial çekirdek, askogoniumun içine girer ve yeni hücre, iki nukleuslu hale gelir.
- ◉ Nukleuslar birleştikten sonra, meiosis tarzında bölünmeye başlar.
- ◉ İki veya daha fazla bölünmeden sonra, çekirdeklerin etrafı kalın bir muhafaza ile çevrilir.
- ◉ Böylece, 4 veya 8 haploid askospor meydana gelmiş olur.
- ◉ Sporlar olgunlaşınca, etrafında bulunan kese yarılarak sporlar dışarı çıkarlar. Örn. Aspergilluslarda olduğu gibi.
- ◉ Sporülasyon ortamındaki besin maddelerinde azalma ve toksik metabolizma artıklarının birikmesi sonucu başlayabilir.



- ◉ Bununla birlikte sporülasyonun başlayabilmesi için bazı diğer koşullar da gereklidir:
  1. Maya hücrelerinin canlılığı: Maya hücreleri canlı, genç olmalıdır. Bunu sağlamak için maya uygun besiyerlerinde üretilmeli ve sık olarak pasajları yapılmalıdır.
  2. Oksijen: Oksijensiz ortamda sporülasyon olmaz.
  3. Optimal ısı: Türler göre değişmekle birlikte genellikle 25-30 °C'dir. Sporülasyon, optimal ısıda ilk 21 saat içinde veya daha geç olarak görülür.



4. Diğer fakt6rler: Ortamdaki kalsiyum s6lfat, glikoz ve diğer Őekerler ve jelatin spor6lasyonu hızlandırır. Amonyum tuzları ileri derecede asit ve alkale pH; yeŐil, mavi, mor ve mor6tesi ışınlar spor6lasyonu engeller.
- Spor6lasyon ortamı olarak genellikle bitki ve/veya meyveler ve besin değerli olmayan bazı maddeler kullanılır.



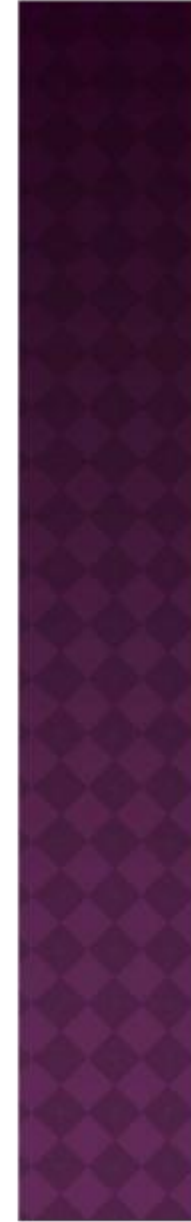


## MAYALARIN ÜRETİLMESİNDE KULLANILAN BESİYERLERİ

- Mayalar gelişmek ve üremek için bazı maddelere gereksinim gösterirler.
- Bunlar; başta yeterli miktarda su olmak (%35-40 su) üzere karbon, hidrojen, oksijen, azot, fosfor, potasyum, sülfür, kalsiyum, demir, magnezyum, bazı iz elementler, B grubu vitaminler ve bazı diğer organik maddelerdir.
- Enerjilerini oksijen varlığında solunum, oksijen yokluğunda ise fermentasyon ile sağlarlar.
- Ortam sıcaklığı istenen ürüne göre 0-45<sup>0</sup> C arasında değişir.
- Yüksek tuz ve şeker konsantrasyonlarına uyum sağlayabilirler.



- ◉ Zayıf asitli ortamlarda gelişirler. Örneğin ekmek mayası glikozlu ortamda 3-7 pH' ta; maltozlu ortamda 3,5-6 pH'da gelişir.
- ◉ Maya besiyerleri; mayaların gelişmesi, üremesi veya fermentasyon için gerekli maddeleri içerirler.
- ◉ Yapay; yarı yapay veya doğal besiyeri olabilirler. Yapay ve yarı yapay besiyerlerinde genellikle bazı şeker ve tuzlar, bazı diğer kimyasal maddeler, pepton veya sığır eti özütü bulunur.



## MAYA İZOLASYONUNDA KULLANILAN BESİYERLERİ

1. **Wickerham'ın maya özütü-malt özütü besiyeri:** Maya ve malt özütü, pepton, glikoz ve agar içeren bir besiyeridir. Bakteri üremesini engellemek için pH 3 ve 4'e ayarlanmıştır. Küf üremesini önlemek için besiyeri üzerine steril sıvı parafin eklenir.
2. **Asitleştirilmiş yapay agar besiyeri:** Wickerman'ın azotlu maya ana besiyerine glikoz ve agar eklenmesi ve pH'ın aside kaydırılmasıyla yapılır. Özellikle bitkilerin maya izolasyonunda kullanılır.

3. **Patates-dekstroz agar besiyeri:**Roz bengal veya öküz safrası içeren ve pH'ı ortalama 4 olan bir besiyeridir. Roz bengal veya öküz safrası bakteri ve küf üremesini önler.
  4. **Malt özütü besiyeri:** pH'ı 4.5 olan bir besiyeridir.
- ◉ Besiyerlerine bakterileri önlemek için antibiyotik ve küfleri önlemek için sikloheksimit de katılabilir, ancak izole edilmek istenen maya türünün sikloheksimite duyarlı bir tür olmaması gerekir.



## MAYALARDAN ARI EKİN (SAF KÜLTÜR) ELDE ETME YÖNTEMLERİ

- ◉ Bir maya türünün arı ekinini elde etmek için o maya türünün tek bir hücrecini ayırmak ve bu hücreden olacak üremeyi izlemek gerekir.
- ◉ Bu amaçla çeşitli yöntemler kullanılabilir:
  1. Hansen'in nemli kamara yöntemi
  2. Lindner yöntemi
  3. Plak sulandırım yöntemi
  4. Mikromanipulator yöntemi
  5. Diğer yöntemler

## TEK SPOR İZOLASYONU

- ◉ Maya sporu en küçük biyolojik birim olduğundan bazı araştırmacılar askus içindeki sporları izole ederek bunlardan ekin yapar.
- ◉ Maya ekini alçı blok üzerine dökülerek en az 30 saat tutulup sporlanması sağlanır.
- ◉ Lamel üzerindeki bir damla sıvı besiyerine bir iğne ile aktarılır.
- ◉ Lamel mikroskopla incelenerek askospor içeren bir tek maya hücresi özel bir iğne ile ayrılıp çekilerek ayrı bir lamel üzerindeki bir damla besiyerine aktarılır.
- ◉ Yine mikroskop altında özel bir iğne ile sıkıştırılıp patlatılan askustan açığa çıkan her bir askospor ayrı bir lamel üzerindeki sıvı besiyerine alınır. Sporların birkaç gün için üremesi beklenerek her spordan oluşan tek koloni iğne ile alınarak sıvı bir besiyerine ekilir.

## MAYALARIN LABORATUVAR TANISI

- ◉ Mayaların tanısı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılır.
- ◉ Tanı için;
  - ❖ karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyon;
  - ❖ azot asimilasyon;
  - ❖ vitamin gereksinimi;
  - ❖ değişik ısı derecelerinde ve osmotik basınçlarda üreme;
  - ❖ jelatini eritme;
  - ❖ nişasta ve ester oluşturma vb. deneyleri yapılır.
- ◉ Deneylerde karbonhidrat kaynağı olarak genellikle glikoz, galaktoz, sakaroz, maltoz, laktoz ve rafinoz kullanılır.



- ◉ Azot kaynağı olarak, birçok maya türünün kullanmadığı potasyum nitrattan yararlanılır.
- ◉ Mayaların vitamin gereksiniminin saptanması özellikle endüstriyel mikrobiyolojide önemlidir.
- ◉ rneğin; *Saccharomyces* türlerinin ayırımında vitamin gereksinim deneyi kullanılır.

