

# Enzimlerin ve Mikroorganizmaların Tutuklanmaları ve Bunların Gıda Sanayiinde Kullanılmaları (\*)

Prof. Dr. M. Hilmi PAMİR  
A.Ü. Ziraat Fakültesi  
Fermentasyon Teknolojisi  
Kürsüsü

Enzimler pratikte ya serbest yahut tutuklanmış olarak kullanılırlar. Birinci kullanım biçimi birçok nedenlerle kısıtlıdır. Birçok hallerde yeterli miktarda bulunmayışı pratikte enzimlerin kullanılmasına bir engel teşkil eder. Tutuklanmış enzim tekniği bu engeli kaldırır. Çünkü tutuklanma aynı enzimin tekrar kullanılmasına olanak sağlar. Bu nedenle birçok enzimlerin ekonomik olarak kullanılması sağlanmıştır. Ayrıca tutuklanma sürekli işlemler için uygun olduğundan daha az yer ve daha düşük ekipman sermayesi ister. Diğer taraftan serbest enzimlerin kullanıldığı hallerde, örneğin beyaz şarap üretiminde pektinazın kullanılmasında olduğu gibi, ortama esmerleşmeyi teşvik eden protein ilâvesi demek olacağı için, istenmez. Tutuklanmış enzim bu sakıncaya da ortadan kaldırır.

Bazı organik hastalıkların vücuttaki enzim yetersizliğinden ileri geldiği bilinmektedir. Bu çeşit hastalıkların tedavisi vücuttaki enzim noksanlığının giderilmesiyle mümkün olduğu düşünülebilir. Fakat enzim bir protein olduğundan antijenik etkiye sahiptir. Bu nedenle enzim enjekte edilmesi vücudun hastalıklara duyarlılığını artırabilir. Halbuki kanın vücut dışındaki oluşturulan taşıyıcıya bağlı enzim sisteminde geçirilmesi bu sakıncayı ortadan kaldıracaktır.

Diğer taraftan süresiz fermentasyon yönteminde reaksiyonun belli bir düzeyde kesilmesi istenir. Bu takdirde serbest enzimin inaktifleştirilmesi söz konusudur. Halbuki burada tutuklanmış enzim kullanılırsa, tutuklanmış enzimin içinde bulunduğu torbanın veya delikli

kabın ortamdaki alınması aynı amaç için yeterli olur. Yukarıda sayılan ve tutuklanmış enzimin serbest enzime olan üstün taraflarına tutuklanmış enzimin artık suların ekonomik olarak değerlendirilmesinde büyük olanaklar vaad etmesi, pH ve ısı değişmelerine daha da dayanıklı olması gibi özelliklerini de katabiliriz.

Tutuklanmış enzimler analitik uygulamada da kullanılabilir. Bu amaçla enzim elektrodu, örneğin katı bir taşıyıcı üzerine tutuklanmış glukoz oksidaz, ortamda bulunan glukozdan oksijen ayırır ve bu poligrafik olarak ölçülebilir.

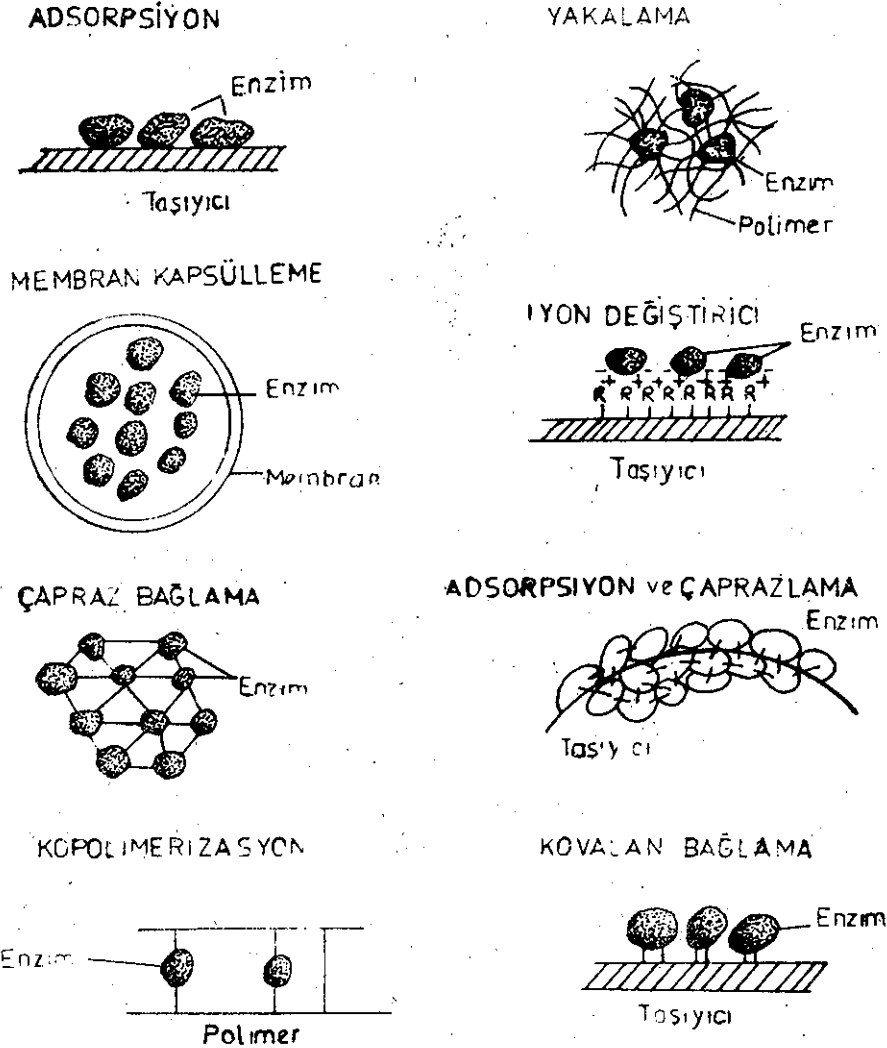
Tutuklanmış mikroorganizmalara gelince, bugün steroid tabiattaki ilâçlar tercihan mikrobiyolojik transformasyonla üretilmektedir. Bu amaç için serbest enzimler kullanılmaktaysa da, bu çeşit enzimlerin yeterli derecede stabil olmaması ve pahalı elektron akseptörü kullanma gereksinimi, steroid dönüşümü için ekonomik olarak çekici olan enzimatik proseslerin kullanılmasını zorlaştırmaktadır.

Halbuki tutuklanmış mikroorganizma daha stabil bir katalizördür ve elektron akseptörü bakımından da çok daha az sorun teşkil eder.

Enzimler katalitik aktivitelerini kaybetmeden suda erimeyen destek maddeleri üzerinde çeşitli yöntemlerle tutuklanabilirler. Şekil: 1'de tutuklanmanın mekanizması şematik olarak açıklanmıştır.

**Adsorbsiyon :** Bu yöntem en eskisidir ve bu amaçla organik polimerler, cam, mineral

(\*) I. Endüstriyel Mikrobiyoloji Simpozyumu'nda tebliğ olarak sunulmuştur.



Şekil 1. Enzimlerin çeşitli tutuklanma yöntemlerinin şematik olarak açıklanması.

tuzlar, metal oksitler, bentonit, kalsiyum silikat (Wollastinite) ve koloidal silisyum oksit (silica) gibi çeşitli silisli maddeler kullanılır. Bu yöntem çok basittir ve enzimin destek maddesinin parçacıklarıyla reaktif olmayan koşullar altında temasa getirilmesi yeterlidir. Bu nedenle enzimin tabiatında bir değişme söz konusu değildir. Buna karşın bu şekilde bağlanmış enzimler ortamda substratın bulunması halinde desorbe olurlar veya elektrik yükünü artırırlar. Buna ek olarak enzimi bağlamak için destek maddesi üzerinde bulunması gerekli elektrik yükleri enzim yerine substrat veya ürünle bağlanırlar ki, bu gibi durumlar bu yöntemin zayıf tarafını teşkil ederler.

**Yakalama :** Bu amaçla sentetik veya doğal menşeli polimerler kullanılır ki, bunların arasında en çok kullanılan poliakrilamiddir.

**Membran kapsülleme :** Bu amaçla kullanılan membran çeşitli polimerlerden yapılmıştır. Bunların büyüklükleri 1 mikron ve daha fazla olabilir. Kapsül içindeki enzim dışarıya çıkamadığı halde, substrat içeri girebilir.

**İyon değiştiricilere bağlanma :** Enzimler elektrostatik ilişkilerden yararlanılarak iyon değiştiriciler üzerine bağlanabilirler. Bu yöntem basit ve ucuzdur. Endüstriyel amaçla taşıyıcıya bağlı enzimlerin ilk defa başarılı ve ekonomik kullanılmasında bu yöntem uygulanmış-

tır. Bu yöntemle DL-aminoasitlerin elde olmasında bir açılaz kullanılır.

**Çapraz bağlanma (Cross-Linking) :** Enzimler çift işlevli (bi-functional) benzidin, diizotiyosiyanat, çift alkileştirici maddeler ve glütaraldehid ile çapraz bağlanma yoluyla polimerize edilmişlerdir. Bu çeşit bağlanmış enzimler jelatinimsi bir tabiatta olurlar ve bu nedenle bunların kullanılmaları biraz zordur.

**Adsorpsiyon ve çapraz bağlanma:** Bu yöntemle elde olunan bağlanmış enzimlerin stabiliteleri, bu yöntemlerin yalnız başlarına kullanılmalarından daha yüksektir. Bir örnek olmak üzere enzimlerin önce kolloidal silisyuma adsorbe edilip sonra glütaraldehidle parçacıkların yüzeyine çaprazlama bağlanmasını verebiliriz.

**Kopolimerizasyon :** Bu yöntemle enzimler bir kopolimerin bir kısmı olarak tutuklanmışlardır. Burada en çok maleik anhidrid ve etilen ile kopolimerizasyon bahis konusudur.

**Kovalan bağlanma :** Bu yöntemle enzimler çeşitli polimerlere bağlanır. Bu bağlantı biçimi en stabil olanıdır.

Tutuklanmış enzimlerin endüstride kullanılmalarına son 10-15 yıldanberi çok önem verilmektedir. Ancak bu yöntemin bazı sorunları vardır.

Bazı bağlanma biçimlerinde kullanılan polimerlerin istenilmeyen bazı fiziksel özellikleri yanında onların mikroorganizmalar tarafından bir substrat olarak kullanılabilmesi, birçoklarının da çözücülere ve pH değişikliklerine hassas olmaları üniversal veya ideal bir tutucunun bulunmasını olanaksız yapmaktadır.

Diğer taraftan bir tutuklanmış enzimin stabilitesi değişebilir. Bazı türevler bu stabiliteyi artırırken, diğerleri zayıflatırlar.

Bunlara ilâve olarak reaktörlerde kullanılacak taşıyıcı parçacıkların büyüklükleri de seçilecek prosesi tayin eden bir faktör olarak önem kazanır. Örneğin substrat difüzyon hızı söz konusu olmadıkça küçük taşıyıcılar büyük reaktörlerde kullanılmamalıdır. Buna karşın difüzyonu yavaşlattığından ve sürekli olarak sıvı içinde tutmak oldukça zor olduğundan, sürekli

çalışan bir reaktörde de büyük parçacıklı taşıyıcılar seçilmemelidir.

Endüstride kullanılacak bir enzimin bir taşıyıcıya bağlanması için kullanılacak yöntem gelince, birçok enzimler yüksek molekülülü substratlara karşı etken olmadıklarından, bir enzim yüksek molekülülü substrat katalize etmek için kullanılacaksa, o takdirde tutuklama için membran kapsül veya kopolimerizasyon yöntemleri seçilmemelidir. Bundan başka substrat yüksek tuz konsantrasyonlu veya ekstrem pH derecesi gösteren bir eriyik ise, tutuklama için adsorpsiyon yöntemi kullanılamaz. Bu takdirde enzimlerin tutucudan dezorbe olması çok olasıdır.

Tutuklanmış enzimlerin endüstride kullanılma alanlarından önemli olanları proteinlerin hidrolizasyonu, peynir üretimi, nişastanın glükoza dönüştürülmesi, glüközün früktoza dönüştürülmesi ve yumurta beyazından glüközün alınmasıdır.

Protein ve protein hidrolizatları gıda endüstrisinde çok kullanılan maddeler arasında bulunurlar. Örneğin protein ekstraktları, meşrubat ve çocuk mamalarını aminoasitlerince zenginleştirmek için, önemli bir katkı maddesidir.

Proteinin serbest enzimlerle hidrolizasyonu, protein ve peptidaz enzimlerinin pahalı olmaları nedenleriyle, çok sınırlıdır. Halbuki, bağlı enzimlerle proteinlerin hidrolizasyonu üretimi sürekli sistemlerin kullanılmasına, enzimin birçok defa kullanılmasına, hidrolizasyon olayını daha iyi kontrol etmeye ve nihayet enzimin üründe kalmamasına olanak sağlar. Araştırmalar taşıyıcıya bağlı proteaz ve peptidaz enzimleriyle proteinlerin % 90 arasında serbest aminoasitlerine parçalanabildiğini ve bu parçalanmanın istenilen oranda ayarlanabileceğini göstermiştir.

Tutuklanmış enzimler peynircilikte sütün pıhtılaştırılması sırasında kullanılabilir. Gerçekten yapılan bir araştırmada süt 15°C'de ve içinde tutulmuş enzim bulunan bir kolondan geçirilmekte ve sonra ısıtılarak süt pıhtılaştırılmaktadır. Diğer taraftan laktozun  $\beta$ -galaktozidaz ile glüköz ve galaktoza hidrolizasyonu, laktoza karşı hassas büyük bir insan kitlesi olan siyah ırkın sütü hastalanmadan kullanma-

sını ve aynı sütün tatlılığının artmasını sağlar.

Bundan başka  $\beta$ -galaktozidaz peynir altı suyunda % 75 oranında bulunan laktozun parçalanmasını sağlayarak birçok sütün işletmelerinin peynir altı suyundan ayırdıkları ve beslenme değeri düşük olan proteini nişasta şurubuna benzer tatlılıkta bir ürüne dönüştürebilir. Serbest enzim kullanıldığı zaman, 1 quart sütün veya 1 pound saf laktozun hidrolizi için 10-15 cent sarfedildiği halde, tutuklanmış enzim sistemi ile çalışıldığı zaman bunun 1-4 cent'e düşeceği tahmin ediliyor.

Bütün bu anlatılanlar,  $\beta$ -galaktozidaz enzimi uygulamada kullanıldığı takdirde tutuklanmış enzime ne ölçekte gereksinme olacağını göstermektedir.

Tutuklanmış enzimlerin kullanılabilmesi bir diğer alan glüköz elde olunmasıdır. Bugün enzimlerin endüstride en çok kullanıldığı alan nişastanın glüköze dönüştürülmesidir. Son zamanlarda bu amaçla sürekli çalışan bir yöntem de geliştirilmiştir.

Tutuklanmış enzimler glüközün früktoza dönüştürülmesi amacıyla da kullanılabilir. Bu prosteşte kullanılan enzim glüköz izomerazdır. Bu enzim bir hücre içi enzim olduğundan, izole etmek zordur. Bu nedenle pahalı olan bu enzimin tutuklanmış olarak kullanılması prosesin maliyetini düşürür. Sanayide glüköz veya nişasta şurubunun yerine kullanılabilme şansına sahip olan früktoz şurubunun hazırlanmasında enzim ya hücre içerisinde bırakılarak hücreye bağlı bir enzim gibi kullanılır yahut önce hücre dışına alınarak ve suda erimeyen bir taşıyıcıya bağlanarak kullanılır.

Tutuklanmış enzimlerin en uygun kullanılabilmesi diğer bir alan şarap ve meyve sularının pektinaz enzimi yardımıyla berraklaştırılmasıdır. Bunun yanında pektolitik enzimlerin kullanılması, şıra randımanını % 15 kadar artırmakta ve filtrasyonu kolaylaştırmaktadır. Aynı enzimler kırmızı şarap yapımında rengin şıraya geçişini kolaylaştırmakta, bu nedenle fermentasyon süresinde % 20 tasarruf edilebilmekte ve dolayısıyla şıra kabukla daha kısa bir zaman temas halinde kalacağından, fenoller şıraya daha az geçebilmektedir.

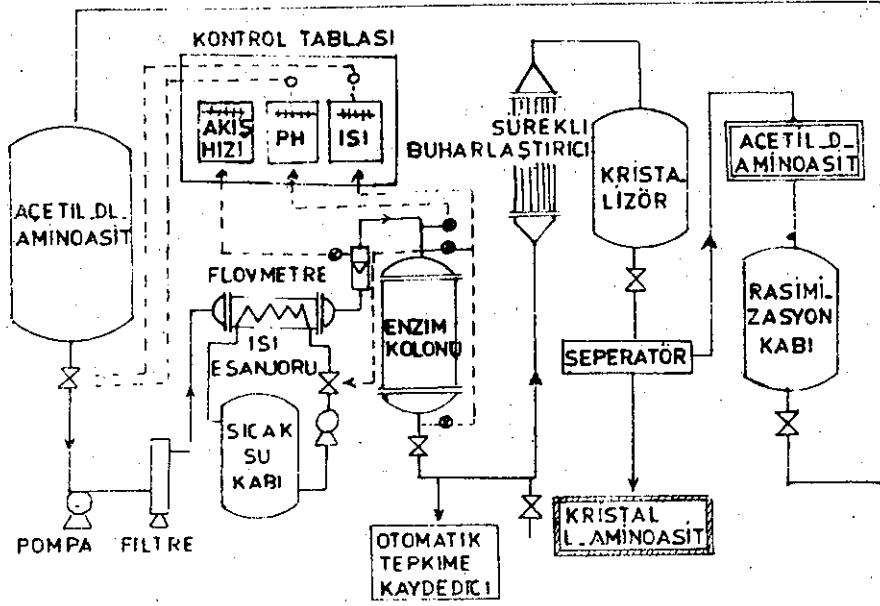
Pasta ve kek yapımında kullanılan kurutulmuş yumurta akı içinde bulunan glüköz daha önce alınmadığı takdirde, acılaşıma ve renkte esmerleşme ortaya çıkmaktadır. Bu sakıncaları gidermek için yumurta akı içine glüköz oksidaz katılır. Bir hücre içi enzim olan glüköz oksidaz pahalıdır ve nedenle tutuklanmış glüköz oksidaz enziminin pratikte kullanılması ekonomik olur.

Yukarıda verilen tutuklanmış enzimlerin pratikte kullanılması olasılıklarına papain kullanılarak birada bulanıklığın önlenmesini, etin işlenmesinde lipaz ve proteazlar kullanılarak yağın alınmasını, invertaz kullanılarak şekerin inverziyonunu tripsin kullanılarak sütün stabilizasyonunu, proteaz, karbonhidraz ve lipazlar kullanılarak ucuz protein kaynaklarından yapay besinler elde edilmesini katabiliriz.

Bugün tutuklanmış enzimler pratikte birkaç yerde kullanılmaktadır. Japonya'da DEAE-Sephadex L-aminoasidasilaz ile doldurulmuş 2000 lt kapasiteli kolonlar Di-aminoasitlerin ve özellikle treonin ve metiyonin elde edilmesinde kullanılmaktadır (Şekil : 2). Keza Amerika Birleşik Devletleri'nde ve İngiltere'de yapay penisilin üretiminde kullanılan b-amino penisilanic asidin elde edilmesinde bağlanmış penisilin amilazlarının kullanıldığı bilinmektedir. Bununla beraber tutuklanmış enzimlerin saf kimyasal maddeler, antibiyotik ve steroid sentezleri ve hatta oksijen yayılması yoluyla köpük kauçuk (**foam rubber**) üretimi gibi alanlarda büyük bir potansiyeli olduğu açıktır.

Tutuklanmış enzimler laboratuvar analizlerinde de kullanılmışlardır. Bunlar glüköz, üre, asetilkolinesteraz, aminoasit ve ürit asit gibi çeşitli organik bileşiklerin analizleridir. Son zamanlarda tutuklanmış enzimleri kullanan inorganik anyonların saptanması ve miktarlarının tayininde kullanılmak üzere bir yöntem geliştirilmiştir. Analiz amacıyla kullanılan yöntemler genellikle elektrod (enzim elektrodları) ve sürekli akışlı kolonlardır.

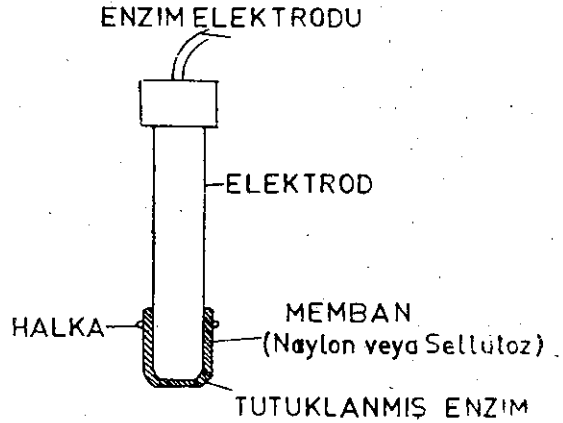
Enzim elektrodları bir tutuklanmış enzimle yakın temas halinde bulunan iyon özgül elektrod veya oksijen elektrodan oluşur (Şekil : 3). Enzim ya bir reaktan kullanır yahut elektrod tarafından ölçülebilen bir ürün oluşturur.



Şekil 2. L-Amino asid üreten bir sürekli sistemin akış şeması.

Tutuklanmış enzimler pratikte bazı sentez prosesleri için büyük ölçekte kullanılabilirlerse de, bunların yalnız ve kofaktör gereksinmeyen bir tepkimeyle sınırlı olmaları yaygın olarak kullanılmalarını önlemektedir. Bu nedenle son yıllarda mikrobik hücreleri bir bütün olarak taşıyıcıya bağlamayı amaçlayan çalışmalar hız kazanmıştır. Bu yöntemin çeşitli avantajları olduğu muhakkaktır. Gerçekten de bu yöntemin esas değeri enzimin ne ekstraksiyonuna ne de saflaştırılmasına gerek kalmamasıdır. Bu işlemler sırasında aynı zamanda enzim aktivitesinde kayıplar da ortaya çıkmaktadır. Bazı hallerde tutuklanmış hücre kullanma, enzimin doğal durumda doğal koşullar içinde bulunması nedeniyle, enzimin dayanıklılığı sorunu çözülmüş olur.

Buna ek olarak tutuklanmış hücrelerin hazırlanması ve kullanılması tutuklanmış enzimlerden daha kolaydır. Ancak bu üstün tarafları yanında hücrelerin bütünlüğünü muhafaza etmek güçlüğü, gelişmeyen hücrelerde sık ortaya çıkan enzim inaktifleşmesi olayı, hücre zarı ve membranın bir geçirgenlik ve difzyon engeli teşkil etmeleri ve hücrede bulunan çok sayıda başka aktif enzimlerin istenilmeyen yan tepkimeleri gibi sakıncaları içermektedir. Diğer yandan tutuklanmış hücre yöntemi birbirini izleyen bir dizi tepkimeleri katalize ve ba-



Şekil 3. Tipik bir enzim elektrodunun şematik görünüşü

zı tepkimelere gerekli olan kofaktörleri rejenere etmek için daha uygundur.

Bu yöntemlerin sayısı enzimler için olduğu kadar fazla sayıda değildir. Bunlar aşağıda sırasıyla verilmiştir.

**Doğrudan hücrelerin kullanılması :** Hücre içindeki enzimlerin bazıları aktifliklerinden kısa sürede çok kaybettikleri halde, bazıları aktifliklerini sürdürürler. Bununla beraber hücrelere yapılan bazı işlemler yardımıyla aktiflikteki bu kayıp önlenmektedir. Bu durumda taşıyıcı madde bizzat hücrenin kendisidir. Bu

yönteme bir örnek olarak bir hücre içi enzimi olan glükoz izomerazı verebiliriz. **Streptomyces albus** hücreleri 60°C'de 10 dakika süreyle ısıtıldıkları zaman, bir hücre içi enzimi olan glükoz izomeraz otoliz yoluyla hücre dışına çıkmayıp hücreye bağlı olarak kalır. Isı uygulanmış hücre kitlesi glükoz izomerizasyon tepkimelerinde kullanılır. Bu amaçla hücre kitlesi cam bir kolona doldurulur. Kolon enzimatik aktivitesini uzun süre kaybetmeden kullanılabilir.

Mikrobik hücrelerin tutuklanmaları için başka araçlar da kullanılmıştır. Bunlar hücrelerin topaklanmasını sağlayan katyon veya anyon tabiatındaki poliamin gibi polielektrolitler veya hücre çöktürücü yapan Mg, Ca, Fe ve Mn'in oksitleri, hidroksitleri, sülfatları ve fosfatları gibi bileşiklerdir. Bu hücre çöktürücü kurutularak glükoz izomeraz tepkimelerinde kullanılır. Bugün glükoz izomerazdan başka birçok enzim bu yöntemle hücreye bağlanabilmiştir. Buna **Pseudomonas mephitica** var. **lipolytica**'ya ısıya dayanıklı bir lipaz, **Mortierella vinacea**'ya rafinozu hidrolize eden bir enzim, **Aspergillus ochraceus**'a amino açilaz örnek gösterilebilir.

**Poliakrilamid jelinde tutuklama** : Bu yöntem, hücreleri çevredeki substrata bırakmayan, fakat substratın geçmesini ise engellemeyen bir madde içinde tutmak esasına dayanır. Bu maddeler arasında en çok kullanılan poliakrilamittir.

Poliakrilamid içinde mikroorganizmaların tutuklanması aktivitenin muhafazası bakımından çok önemlidir. Jel hazırlanmasında önemli faktörler akrilamidin miktarı, bakterilerin akrilamide oranı ve jel parçacıklarının büyüklüğüdür. Bunlardan ilk ikisi jelin sertliğini ve hücrelerin içinde tutuklandıkları hücrenin büyüklüğünü, üçüncüsü ise, enzim aktivitesini, dayanıklılığını ve bir kolon içine konulduklarında basınç düşüşünü etkiler.

Jel parçacıklarının büyüklüğüne gelince, akrilamitle tutuklanmış hücrelerde en yüksek enzim aktivitesi **Achromabacter guttatus** için optimum 5-10 meş (mesh) dir.

Poliakrilamid jelinin aktivitesi polimerizasyon 0°C'de yapıldığı zaman en yüksek bulunmuştur. 20 ve 37°C'lerde aktivite sırasıyla

% 85 ve 75 olmuştur. Polimerizasyon süresi de aktivite üzerine etki yapar. Örneğin 0°C'de 5 saat bırakıldığı zaman aynı derecede 1 saat bırakılana göre 1,4 defa daha aktif bulunmuştur. Bununla beraber tutuklanma süresinin mümkün olduğu kadar kısa olması istenir. Çünkü akrilamid monomeri ve organik çözücüler enzimin inaktifleşmesine neden olurlar.

Diğer yönden hazırlanan jelin yüklediği bakteri sayısı da önemlidir. Örneğin % 10 (g/g) bakteri yüklenmiş olan bir jelin yaklaşık % 40'luk oldukça yüksek sayılabilen bir aktiflik gösterdiği bulunmuştur. Halbuki % 5'lik bir konsantrasyon kullanıldığında jel enzimin aynı aktifliğini göstermemiştir.

Mikroorganizma hücrelerinin tutuklanmasında başka destek maddeleri de vardır. Bunlar arasında kollojen membran, agar jeli, kalsiyum alginat, sellüloz triasetat, sellüloz nitrat, polistiren, poliüretan, metal hidroksitler ve sıvı membranları sayabiliriz.

Adsorptif maddeler kullanılarak da hücreleri tutuklama mümkündür. Bu maddeler tuğla, odun, çeşitli polimerler, DEAE - sellüloz, CM/DEAE/TEAE sellüloz, sellüloz, anyon reçineleri gibi çeşitlilik gösterirler.

Mikroorganizmaların adsorpsiyonunda şu faktörler dikkate alınmalıdır. Bunlar adsorbantın, mikroorganizmanın ve çevrenin özellikleridir. Örneğin adsorbe edilen mikroorganizma miktarı taşıyıcı maddesine ve mikroorganizmanın türüne göre değişmektedir. Keza **S. carlsbergensis** ile kieselguhr, bentonit —H<sup>+</sup> ve amin-bentonit destek maddeleri kullanılarak yapılan bir denemede ilk iki destek maddesi kullanıldığı zaman, adsorpsiyonun pH 3'de, sonuncu taşıyıcı maddesi için pH 5'de en fazla olduğu saptanmıştır ki, bu taşıyıcı maddesi çeşidinin adsorpsiyon gücünün çevre koşullarıyla ilgili olarak değiştirilebileceğini gösterir.

Taşıyıcı maddesi olarak katı yüzeylere tutuklanma en yaygın biçimde endüstriyel atık suların temizlenmesinde kullanılan yağmurlama sistemlerinde adı geçen bir yöntemdir. Burada çakıl taşı veya sentetik doğadaki katı maddelerle hazırlanan yastıklar üzerine artık su damlalar halinde dağıtılarak organik maddeler mikroorganizmalar tarafından parçatılır.

Bu yöntem hızlı sirkeleştirme prosesinde de kullanılır. Burada taşıyıcı madde olarak parçalanmış mısır koçanı ve kıvrık yongalar kullanılır.

Mikroorganizmaların katı taşıyıcı maddeler üzerine kovalan bağlarla tutulmaları da mümkündür. Yapılan çalışmalarla **Saccharomyces carlsbergensis** glutaraldehidle aktifleştirilmiş cam bilyalar üzerine bağlanabilmiş ve önemli derecede yüksek alkol verimi elde edilebilmiştir. Aynı şekilde **Micrococcus luteus**'da CMC üzerine kovalan olarak tutuklanabilmiş ve hücrelerin histidin amonyakliyz aktivitesi korunabilmiştir.

Tutuklanmış enzimlere göre tutuklanmış mikroorganizma hücrelerinin aktiviteleri genellikle daha düşüktür. Örneğin **Candida tropicalis**'in fenol - oksidaz aktivitesi poliakrilamid kullanıldığında % 8, polisitren kullanıldığında % 23 ve alg-alginatı kullanıldığında ise % 28'e düşer. Bu durumu polimerlerin substratların, fenolün ve oksijenin difizyon hızlarını düşürmesinden ileri gelmektedir.

Bununla beraber bazı örneklerde aktivite serbest hücrelere göre daha yüksek olabilir. Örneğin titanyum hidroksit üzerine tutuklanmış **Acetobacter** hücreleri alkollü bir ortamdan sürekli bir reaktörde günde 263 g asetik asit (alkolün asetik aside dönüşü % 99) ürettikleri halde, serbest hücrelerle günde ancak 87 g asetik asit üretilenmiştir.

Bir başka örnek olarak **S. cerevisiae**'nin etil alkol üretimi verilebilir. Gerçekten de anılan maya serbest hücre olarak kullanıldığı zaman, etil alkol üretimi 472 ve 388 m MI<sup>-1</sup> iken, tutuklanmış hücrelerle üretim bunun 5 katına çıkmıştır. Aynı şekilde gözenekli cam üzerine tutuklanmış **S. carlsbergensis** ile de glukozun etil alkole dönüştürülmesi serbest hücreye göre daha yüksek bulunmuştur.

Tutuklanmış mikrobik sistemlerin dayanıklılığı sorununa gelince, aspartik asit üretiminde kullanılan **Escherichia coli**'nin aktivitesinde önemli sayılabilecek bir kayıp olmamış ve 1 M amonyum fumaratın tamamının dönüşmesi bir aydan daha fazla bir süre aynı kalmıştır.

Serbest ve tutuklanmış hücrelerin ısıya karşı dayanıklılığı da incelenmiş ve bütün durumlarda tutuklanmış hücrelerin dayanıklılığı daha yüksek bulunmuştur. Optimal sıcaklık derecesi de tutuklanmış hücreler için daha yüksektir. Örneğin **Pseudomonas putida**'nın deaminaz aktivitesi için optimal sıcaklık derecesi serbest hücrede 37°C iken, tutuklanmış durumda 55°C'dir.

Ortamın pH'sı da her iki hal için birbirinden farklı rol oynamaktadır. Örneğin bir katyon değiştirici reçine üzerine tutuklanmış **Nitrobacter** serbest hücreye göre daha yüksek bir optimal pH'da nitrifikasyon yapmıştır.

Mikrobik sistemlerin aktiviteleri üzerine ortamda bulunan iyonların etkisi de incelenmiş ve tutuklanmış **Achromabacter liquidus** hücrelerinin L-histidin amonyakliyz aktivitesinin Ca<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, ve Zn<sup>2+</sup> gibi iki değerli katyonların bulunması halinde bir kaç defa tuzlu su ve substrat ile yıkıldığı halde azalmadığı saptanmıştır.

Diğer taraftan serbest ve tutuklu hücre zarlarının substrat ve ürüne karşı geçirgenlikleri arasında da önemli bir fark vardır. Serbest hücre ile ortamda yüzey aktif bir madde olan CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) bulunmazsa **Achromabacter liquidus**'un üretilen asit üretimi çok düşüktür. Çünkü ortamda bu madde olmadığı için substrat veya ürünün hücre zarından geçişi çok düşüktür. Halbuki tutuklanmış hücreli bir sistem için bu yüzey aktif maddeye gereksinim yoktur. Bu duruma poliakrilamide tutuklanma ile hücre membranı geçirgenliğinin artmasının neden olduğu sanılmaktadır.

Tutuklanmış hücreler pratikte çok eskiden beri jenaratörle çalışan sirkecilikte uygulanmaktadır. Bunun dışında 1973 yılından beri poliakrilamid jelle tutuklanmış mikrobik hücrelerin aspartik asit üretiminde başarıyla kullanılabileceği kanıtlanmıştır. Ayrıca endüstriyel ve kestsel kirli suların temizlenmesinde «yağmurlama yöntemi» birçok memleketlerde pratiğe geçmiş durumdadır.

Sonuç olarak tutuklanmış mikroorganizma hücrelerinin endüstride uygulanması henüz yay-

gın olmamakla beraber, bu yeni yöntem alışılmış fermantasyon ve enzimatik reaksiyonlara göre bazı hallerde daha üstündür. Bu nedenle

bu yöntem steroid, antibiyotik, peptid, birçok endüstriyel kimyasal maddenin üretiminde gelecekte kullanıma şansı çok büyüktür.

### SAYIN OKUYUCULARIMIZ

Dergimizin basım giderlerinde oluşan artışlar nedeniyle 1980 yılı abone bedellerinde değişiklik yapılmıştır.

Elimizde olmayan nedenlerle yaptığımız bu değişikliği olumlu karşılayacağınızı ummaktayız.

Saygılarımızla

**G I D A**

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| Yıllık Yurtiçi Abone .....  | 180,— TL. |
| Yıllık Yurtdışı Abone ..... | 350,— TL. |
| Gıda - Der Üyeleri .....    | 150,— TL. |
| Her Sayının Ederi .....     | 30,— TL.  |