**ENZİM MÜHENDİSLİĞİ – Hafta 9**

*Prof.Dr.Zekiye Serpil Takaç*

**ENZİMLERİ AYIRMA VE SAFLAŞTIRMA YÖNTEMLERİ**

Enzimlerin üretildiği fermentasyon ortamları kompleks yapıda oldukları için ve çok yüksek enzim saflığı istenildiği için ardışık basamaklar ile ayırma yapmak gerekir ve çoğu zaman ayırma maliyeti üretim maliyetinden daha fazladır. İlgili bileşenler hassas ve seyreltik çözeltide oldukları için kimya mühendisliğinin klasik ayırma yöntemleri özel teknikler ile geliştirilmiştir.

Fermentasyon ortamından enzimlerin ayırma ve saflaştırılmasında yer alan başlıca basamaklar aşağıda verilmiştir:

Fermentasyon; Hücre uzaklaştırılması ve deriştirme; Hücre parçalanması; Hücre atıklarının ayrılması; Protein çöktürme; Ultrafiltrasyon; Kromatografik ayırma; Çözücü uzaklaştırma; Diyaliz; Liyofilizasyon

Enzimlerin hücreden ayırılarak saflaştırılması yapılarının aydınlatılması; katalitik mekanizmaları hakkında bilgi üretilmesi, substrata karşı spesifikliğinin anlaşılması ve biyotransformasyonda biyokatalizör olarak kullanılabilmesi için önem taşımaktadır.

###### BOYUT VE KÜTLEYE BAĞLI AYIRMA YÖNTEMLERİ

Fermentasyon ürünlerinin ayrılmasında biyokütle, çözünmez tanecikler ve makromoleküller gibi katıların ayrılması ilk basamaklardır. Bazı durumlarda fermentasyon ortamından katıların ayırılması için önişlem gereklidir. Hücre içi ürünler için ise hücre parçalanmalı ve hücresel ürünler istenen üründen ayrılmalıdır.

Biyokütle gibi çözünmez katıyı ayırmak için uygulanan yöntemler:

filtrasyon,

santrifüj

çöktürme (koagülasyon, flotasyon)

**FİLTRASYON**

Büyük molekülleri ve hücreyi fermentasyon ortamından ayırmada en etkili yöntemdir. Filtrasyon pozitif basınç farkında veya vakumda yapılır. Filtrasyon hızı, katı ve akışkanın özelliklerine bağlıdır. Kristal yapıda, düşük viskoziteli, bastırılamayan akışkanların filtrasyonu kolaydır. Ancak fermentasyon ortamı, hücreler nedeniyle non-Newtonian özellik gösterirler ve filtrasyonu zorlaştırırlar. Fermentasyon ortamı bir filtreden geçirilir ve katıların filtre yüzeyinde birikmesi ile bir kek oluşur. Birçok mikrobiyal kek bastırılabilirdir; yani filtrasyon süresince basınç düşmesi arttıkça kekin gözenekliliği azalır. Bu filtrasyon hızını azaltan bir etkendir. Ayrıca filtrasyon sırasında kontaminasyon olmamalıdır. Sürekli döner filtreler (rotary vacuum filter) fermentasyon endüstrisinde en çok kullanılan cihazlardır.

**ULTRAFİLTRASYON, MİKROFİLTRASYON VE DİYALİZ**

Membranlar, protein gibi büyük molekülleri boyutlarına göre ayırmada çok kullanılırlar. Farklı MA’ndaki proteinler farklı molekül ağırlığı tutma değerindeki (MWCO) membranlar ile ayrılırlar. Mikrofiltrasyon membranlar çapları 10-10-2 μm arasındaki parçacıkları ayırmada, ultrafiltrasyon membranlar ise MA 2000-500.000 Da arasındaki proteinler için kullanılırlar. Tüm membran ayırma işlemleri aynı kuramsal temele dayanır. İlk ticari membranlar selülozik maddelerden yapılmışlardır. Günümüzde ise membranlar polisülfon, poliamid, poliester gibi çeşitli sentetik materyal ve modifiye sellülozdan üretilmektedir. Diyaliz, enzimlerin ayrılmasından daha çok enzim çözeltisinden tuzların, organik asitlerin, organik çözücülerin veya düşük molekül ağırlıklı inhibitörlerin uzaklaştırılmasında kullanılır. Selofan gibi diyaliz membranları MA=20.000 Da’a kadar küresel proteinlerin geçişine izin verecek kadar büyük gözeneklere sahiptir. Gözenek çapını çeşitli mekanik ve kimyasal işlemlerle değiştirmek mümkündür.

**Kaynak:**

* Bailey JE and Ollis DF, Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill, Second Edition, 1986.
* Shuler ML and Kargı F, Bioprocess Engineering: Basic Concepts, 2. Baskı, Prentice Hall, 2001.
* Doran PM, Bioprocess Engineering Principles, Academic Press, 1995.