

ENZİM MÜHENDİSLİĞİ – Hafta 8

Prof.Dr.Zekiye Serpil Takaç

ENZİM ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Bitki, hayvan ve mikrobiyal hücreler uygun besi ortamı ve çevre koşullarında çoğalırken metabolik fonksiyonlarını gerçekleştirmek üzere enzimleri üretirler.

Mikroorganizma kaynaklı enzimlerin elde edilmesinde iki yöntem kullanılmaktadır.

1. Sıvı faz fermentasyonu: Sıvı besi ortamında derin kültürleme (submerged fermentation)
2. Katı faz fermentasyonu: Katı besi ortamında kültürleme veya Koji yöntemi

SIVI FAZ FERMENTASYONU

Mikroorganizmalar uygun besi ortamını sağlayacak maddeler suda çözünerek hazırlanan sıvı fazda, oksijen aktarımının sağlandığı koşullarda, optimum sıcaklık ve pH değerlerinde çoğaltılırken enzim üretimini de gerçekleştirirler. Sıvı faz fermentasyonunda üretimi etkileyen başlıca parametreler besi ortamının tasarımı, pH, sıcaklık, çözülmüş oksijen derişimi ve kalma süresidir.

KATI FAZ FERMENTASYONU (SSF)

Mikroorganizmalar katı faz üzerinde çoğalırken enzim ve antibiyotik gibi maddeleri üretebilirler. “Katı faz fermentasyonu” veya “katı materyalin aerobik mikrobiyal transformasyonu” yüksek su aktivitesinde su absorplayan katı gözenekli matris cinsinden ifade edilmektedir.

Katı faz fermentasyonunda maya, küf ve bakteriler kullanılabilir. Filamentous fungi en fazla kullanılan türdür. Koji ve tempeh, filamentous fungi ile gerçekleştirilen katı faz fermentasyonlarının en önemli iki örneğidir.

ENZİM ENZİMLERİN KARARLILIĞI

Enzimin kararlılığı, aktivitesini koruyabilme özelliğidir. Enzimlerin üretim, saflaştırma ve kullanılmaları sırasında karşılaşılan problemlerden biri enzimin kararsız olması, yapısını veya katalitik aktivitesini kaybetmesidir. Enzimin aktivite kaybını minimum yapmak için öncelikle kararlılık ve inaktivasyon hızı üzerine fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal faktörlerin etkileri araştırılır. Böylece kararlılığı en fazla yapacak koşullar belirlenir.

Kararlılık sağlamak için uygulanan yöntemler

Genetik mühendisliği

Protein mühendisliği

Ortam mühendisliği

Tutuklama

Kararlılık artırıcı maddeler

HÜCRE PARÇALANMASI

Çoğalan hücrelerden hücre içi enzimleri -özellikle bitki kaynaklı olanları- ayırarak özütlemek zordur. Bunun için öncelikle hücre zarının mekaniksel, fiziksel ya da kimyasal yöntemlerle parçalanması gerekir. Bu yöntemlerle hücre dışına çıkarılan enzimler daha önce anlatıldığı gibi özütlenir.

Mekanik olmayan yöntemler

- a) Enzimatik liziz
- b) Kimyasal işlem (deterjan, çözücü, asit, baz)
- c) Fiziksel işlem (ozmotik şok, dondurma-throwing (hafifçe ısıtma))

Mekanik yöntemler

- a) Katı kesme gerilimi (bilyalı değirmen, basınç)
- b) Sıvı kesme gerilimi (yüksek basınç homojinatörü: Fransız presi, ultrasonik)

Enzimatik liziz, bakterilerin hücre duvarlarının lizozim enzimi ile parçalanması ile gerçekleştirilir.

Ozmatik şok ve buz kristalleri ile kırılma çok kullanılan yöntemlerdir

Ultrasonik titreşim (sonikasyon) bakteri hücrelerinin hücre duvarı ve membranının parçalanmasında kullanılır..

Fransız presi elik bir blok içinde i boş bir silindiridir. Kesikli alışır. Bu silindir hücre kütlesi ile doldurulur ve yüksek basınç uygulanır. Silindirin tabanında bir iğne vana vardır. Hücreler bu vanadan atmosferik basına çıkarken parçalanırlar.

Bilyalı değirmende 20-50 meş byklğnde küçük bilyalar vardır. Bazı değirmenler, oldukça büyük ölçekte kullanılabilir.

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.