

Sıvı Ortam Küf Fermantasyonunda Fermantasyon Ortamının Reolojik ve Morfolojik Karakterizasyonu: Fermentör Uygulamaları

Şelale Öncü, Sevcan Ünlütürk*, Canan Tarı, Nihan Göğüş

İzmir Y. T. Enstitüsü, Gıda Müh. Bölümü, Gülbahçe Köyü, Urla, İzmir

* sevcanunluturk@iyte.edu.tr

Özet

Sıvı ortam küf fermantasyonunda oksijen transferi, küfün morfolojik yapısını, büyüme kinetiğini ve ürün üretme yeteneğini etkilemesi bakımından büyük önem taşır. Küf fermantasyonlarında maksimum ürün ve verimliliği olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden birisi de fermantasyon sırasında oluşan morfolojik değişimdir. Bu çalışmada sıvı tip fermantasyona örnek olan pektinaz enzimi üretimi model olarak alınmıştır. Fermantasyon ortamının reolojik yapısının incelenmesi, morfolojik yapıyı etkilediği gibi fermantasyon sırasında maksimum verimin eldesi ve fermantasyon sonrasındaki alt işlemlerin performansı açısından da büyük önem taşımakta ve bu çalışmanın başlıca konusunu oluşturmaktadır. Bu çalışmada *Aspergillus sojae* suşu BioFlo 3000 tipi New Brunswick Bioreaktöründe 96 saat süresince 30 °C'de fermantasyona tabi tutulmuştur. Kullanılan besiyeri kompozisyonu, sıcaklık, inokulasyon oranı ve havalandırma hızı sabit tutularak; farklı karıştırma hızı, çözünmüş oksijen miktarı ve pH üzerine denemeler yapılmıştır. Bu üç parametrenin de reoloji, morfoloji ve aktiviteyi etkilediği görülmüştür. Yapılan çalışmaların sonucu olarak Newtonian ortamın ve küçük peletlerin daha yüksek aktivite verdiği ve bu koşulların pH'nın kendi haline bırakılması, düşük karıştırma hızı ve oksijen konsantrasyonunda gerçekleştiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Küf fermantasyonu, *Aspergillus sojae*, reoloji, morfoloji

Giriş

Küflerin morfolojik yapısı (pelet veya misel) endüstriyel ürünlerin üretiminde önemli bir parametredir. Pelet morfolojisi, Newtonian yapı göstermesinden dolayı enerji tüketimini azaltır ve endüstriyel uygulamalarda tercih edilir. Bu tip sistemlerde karıştırma ve havalandırma daha kolay olduğu için kullanılan güç miktarı ve dolayısıyla işletme maliyetleri azalır. Bununla beraber misel yapının dominant olduğu fermantasyonlarda hücre büyümesi ve verimlilik yüksek olabilir fakat ortam daha viskoz olduğu için heterojen ve durgun bölgeler oluşur ve böyle sıvılarda çalışmak hem zor hem de pahalı olur. Bu yüzden bu parametreler arasında bir denge oluşturulmalıdır ve bu denge sadece morfolojinin kontrolüyle mümkündür. Morfoloji verimliliği etkiler ve sıvı

ortamın reolojisinin değişmesine neden olur. Kısaca, fermantasyon ortamının reolojik ve morfolojik yapısının incelenmesi fermantasyon sırasında maksimum verimin eldesi ve de fermantasyon sonrasında alt işlemlerin performansı açısından büyük önem taşır ve bu çalışmanın amacını oluşturur.

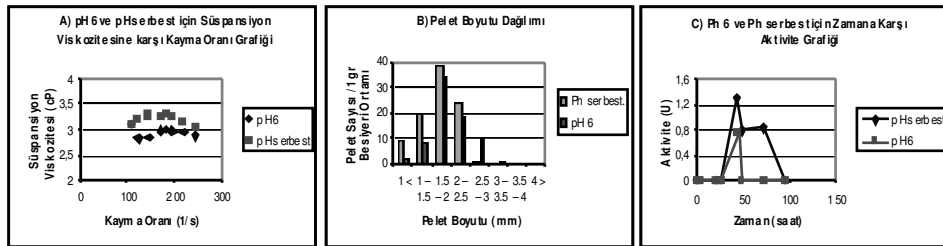
Materyal ve Yöntem

Aspergillus sojae ATCC 20235 "American Type of Collection" organizasyonundan temin edilmiştir. Kullanılan besiyeri; mısır şurubu şırası (5 g/L), pepton (5 g/L), maltrin 50 (75 g/L), disodyum fosfat (3.2 g/L), monosodyum fosfat (3.3 g/L) ve glukoz (3 g/L) ile 4 litre olarak hazırlanmıştır. Toplam 2×10^6 spor oranında inokulasyon yapılmıştır. DO, rpm ve pH istenilen değerlere ayarlandıktan sonra 30 °C'de 96 saat sürecek fermantasyona başlanmıştır. Belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin pektinaz enzim aktiviteleri ölçülmüştür (1). 96. saatin sonunda fermantasyon ortamının morfolojik yapısı (pelet sayısı ve büyüklükleri) sabitleştirici solüsyonla 1:1 oranında karıştırıldıktan sonra görüntü (image) analiz programı ile hesaplanmıştır (2). Ortamın reolojisi ise Brookfield LVDV II+ dijital viskometre kullanılarak belirlenmiştir. Örnekler bir süspansiyon olarak düşünülmüş ve ölçülen değerler Metzner'in geliştirdiği model kullanılarak da değerlendirilmiştir (3).

Bulgular ve Tartışma

Çözünmüş oksijen miktarının, pH'nın ve karıştırma hızının ortamın reolojik ve morfolojik özelliklerine etkisi incelenmiş ve aktivite üzerine olan etkisine bakılmıştır. Tüm denemelerde besiyeri kompozisyonu, sıcaklık, inokulasyon oranı, havalandırma hızı ve başlangıç koşulları sabit tutulmuştur.

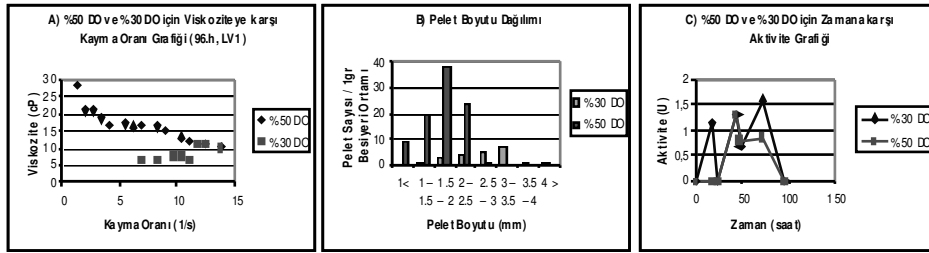
pH'nın etkisi: pH 6'da sabit tutularak ve kendi haline bırakılarak denemeler yapılmıştır.



Şekil 1. pH'nın reoloji, morfoloji ve aktivite üzerine etkisi

Şekil 1-A'da görüldüğü üzere elde edilen süspansiyon viskozitesi pH serbest iken daha yüksektir. Bu da pelet boyutu dağılımı (Şekil 1-B) ile açıklanabilir. Ortamın viskozitesi Newtonian olmakla beraber oluşan peletler küçük ve sayıca fazladır. Aktivitelerine baktığımızda (Şekil 1-C) pH'nın serbest bırakılmasıyla aktivitesinin daha yüksek olduğu ve yaklaşık 50. saatte maksimum değere ulaştığını görüyoruz.

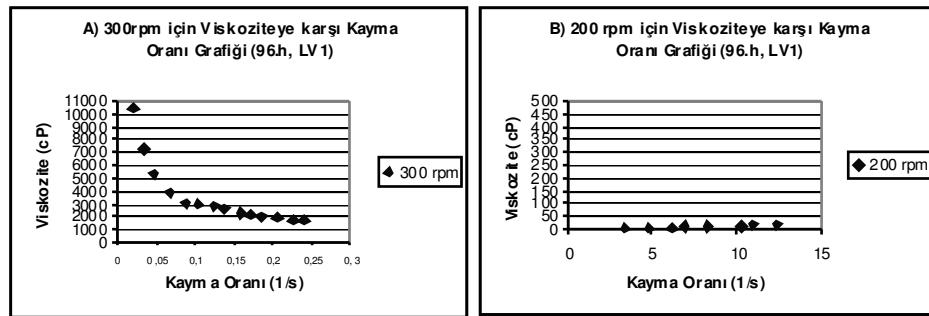
Çözünmüş oksijen konsantrasyonu (DO) etkisi: DO %50 ve %30'da denemeler yapılmıştır.

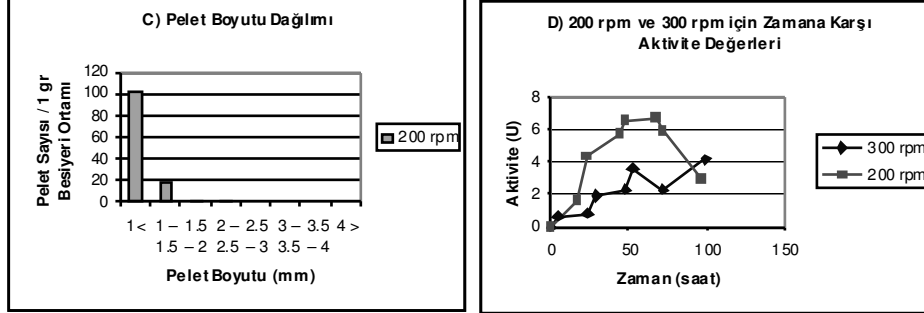


Şekil 2. DO'nun reoloji, morfoloji ve aktiviteye etkisi

Şekil 2-A'da viskozite değerlerine baktığımızda DO %30'da ortamın Newtonian'a yakın fakat DO %50'de Non – Newtonian psödoplastik özelliğe olduğu görülmektedir. Şekil 2-B'deki pelet boyutu dağılımına bakıldığında ise DO %30'da elde edilen peletlerin 1-4,5 mm arasında geniş bir dağılım gösterdiği ve az miktarda olduğu gözlenmektedir. Şekil 2-C'de de görüldüğü üzere DO %30'da (Newtonian) elde edilen maksimum aktivitenin daha yüksek olduğu görülmüştür. Dolayısıyla düşük oksijen konsantrasyonu ve Newtonian ortam bu mikroorganizmanın enzim üretimini tetikler diyebiliriz. Çünkü oksijen transferi Newtonian sıvıda daha hızlı olup mikroorganizma tarafından kullanımı ve enzime dönüştürülmesi daha kolay olmaktadır.

Karıştırma hızının etkisi: Karıştırma hızı 300 rpm ve 200 rpm'de sabit olarak denemeler yapılmıştır.





Şekil 3. Karıştırma hızının reoloji, morfoloji ve aktiviteye etkisi

Şekil 3-A ve B'de fermantasyon ortamının 300 rpm'de çalışıldığında Non – Newtonian psödoplastik, 200 rpm'de çalışıldığında ise Newtonian'a yakın özellikte olduğu görülmektedir. 300 rpm daha çok misel yapı oluşturmuştur. 200 rpm'de hız daha düşük olmasına rağmen gözlemlenen pelet boyutu (Şekil 3-C) 1mm'nin altındadır. Aktivite değerlerine bakıldığında (Şekil 3-D) 300 rpm'de daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun sebebi şu şekilde açıklanabilir:Yüksek karıştırma hızı (300 rpm) bu mikroorganizmanın misel yapı oluşturmaya sebep olmaktadır. Misel yapıda ortamın viskozitesini arttırarak oksijen transferini olumsuz etkilemiş ve dolayısıyla aktivite düşmüştür.

Sonuç

pH'nın kendi haline bırakıldığı, düşük karıştırma hızlarında ve düşük DO konsantrasyonundaki fermantasyon denemeleri sonucunda, Newtonian ortam, küçük peletler oluşmakta ve bu da daha yüksek aktiviteye neden olmaktadır. Bu çalışma optimizasyon denemeleri ve oksijen transferi incelemelerine baz oluşturacaktır. Aynı zamanda pektinaz üretimi için ilk kez kullanılacak olan bu suşun fermantasyon koşullarının da daha iyi tanınmasına yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

1. Panda, T., Naidu, G.S.N., Sinha, J., "Multiresponse analysis of microbiological parameters affecting the production of pectolytic enzymes by *Aspergillus niger*: a statistical view", Process Biochem. 35 (1999) 187-195 .
2. Park, J.P., Kim, Y.M., Kim, S.W., Hwang, H.J., Cho, Y.J., Lee, Y.S., Song, C.H., Yun, J.W., "Effect of aeration rate on the mycelial morphology and exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*", Process Biochem. 37(2002) 1257-1262.
3. Metzner, A.B., "Rheology of suspensions in polymeric liquid", Society Rheology 29(6) (1985) 739-775.