

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SÜTTEKİ LAKTOZUN ENZİMATİK HİDROLİZİNİN  
İNCELENMESİ ve MODELLENMESİ**

168353

**Kimya Mühendisi Neslihan ŞENER**

**F.B.E. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında  
Hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Belma KIN ÖZBEK**



**Prof. Dr. Esen BOLAT**



**Prof. Dr. Kutlu ÜLGEN**



**İSTANBUL, 2005**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	v
KISALTIMA LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ÖNSÖZ.....	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. ENZİMLER.....	2
2.1 Enzim Nedir?.....	2
2.2 Enzimlerin Özellikleri.....	2
2.3 Enzimlerin Yapısı .....	3
2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması .....	4
2.5 Enzimlerin Etki Mekanizması .....	5
2.6 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler .....	7
2.7 Enzim İnhibisyonu.....	7
2.8 Enzimlerin Uygulama Alanları.....	9
3. SÜT .....	10
3.1 Sütün Yapısı .....	10
3.2 Sütün Bileşimi .....	10
3.3 Sütün Besin Değeri .....	11
3.4 Üretilen Sütün Değerlendirilmesi .....	14
3.5 Pastörize ve Uzun Ömürlü Süt .....	14
3.6 Sütün Yararları .....	14
3.7 Laktoz Alerjisi .....	15
4. LAKTOZ.....	16
4.1 Karbonhidratlar ve Laktoz.....	16
4.2 Laktozun Hidrolizi .....	17
5. SONİKASYON .....	20
5.1 Sonikasyon Tanımı .....	20
5.2 Frekans Aralığı .....	20
5.3 Sonikasyonun Genel Prensipleri.....	21
5.4 Kavitasyon.....	22
5.5 Kavitasyonu Etkileyen Faktörler .....	24

5.6	Sonikasyon İşleminde Kullanılan Cihazlar .....	25
5.6.1	Ultrasonik banyo .....	25
5.6.2	Ultrasonik prob .....	26
5.7	Sonikasyonun Yararları.....	27
5.8	Sonikasyonun Kullanım Alanları .....	28
6.	$\beta$ -GALACTOSIDASE ENZİMİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ .....	32
6.1	$\beta$ -Galactosidase Enziminin Yapısı.....	32
6.2	$\beta$ -Galactosidase Enziminin Endüstriyel Uygulamaları.....	34
7.	$\beta$ -GALACTOSIDASE ENZİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR.....	35
8.	MATERYAL VE YÖNTEM .....	40
8.1	Kullanılan Materyaller .....	40
8.2	Kullanılan Cihazlar .....	40
8.2.1	Biyoreaktör.....	40
8.2.1.1	Biyoreaktör kontrol modülleri .....	44
8.2.2	Sonikatör .....	44
8.2.2.1	Sonikatör kontrol modülleri .....	47
8.3	Deneylerin Yapılışı .....	47
8.4	Analiz Yöntemleri.....	48
8.4.1	Laktoz konsantrasyonu tayini.....	48
8.4.2	% Enzim aktivite tayini .....	48
8.5	Hesaplamalar .....	50
8.5.1	Laktoz konsantrasyonunun hesaplanması .....	50
8.5.2	Enzim aktivitesinin hesaplanması.....	51
9.	ARAŞTIRMA BULGULARI .....	52
9.1	Biyoreaktörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular .....	52
9.1.1	Sıcaklığın enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi .....	52
9.1.2	Karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi.....	58
9.1.3	Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi .....	65
9.2	Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular .....	73
9.2.1	Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi .....	73
9.2.1.1	%10 Frekans aralığı için akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi.....	73
9.2.1.2	%50 Frekans aralığı için akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi.....	78
9.2.2	% Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi.....	83
9.2.2.1	40 watt akustik güç için % frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi.....	83
9.2.2.2	80 watt akustik güç için % frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi.....	89
9.2.3	Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi .....	94
9.3	Enzim Konsantrasyonuna Karşılık Biyoreaktör ve Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylerden Elde Edilen Deneysel Verilerin Karşılaştırılması .....	100
10.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	103
	KAYNAKLAR .....	108

EKLER.....	112
Ek 1 Aşırı enzim ilavesi ile elde edilen laktozsuz SEK marka süt ile Pınar marka laktozsuz süte ait deneysel veriler .....	113
Ek 2 Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler .....	114
Ek 3 Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler .....	116
Ek 4 Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler .....	118
Ek 5 Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler .....	120
Ek 6 Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....	122
Ek 7 Sonikatörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler .....	124
ÖZGEÇMİŞ.....	125



## SİMGE LİSTESİ

[S <sub>0</sub> ]	t=0 anındaki laktoz konsantrasyonu, g/L
[S <sub>1</sub> ]	İşlem sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu, g/L
[M <sub>LAKTOZ</sub> ]	Laktozun molekül ağırlığı, 342.32 g/mol
[M <sub>GLUKOZ</sub> ]	Glukozun molekül ağırlığı, 180.17 g/mol
C <sub>G</sub>	İşlem sonunda oluşan glukozun absorbens değeri
C <sub>St</sub>	Standart çözeltisinin absorbens değeri
f	Seyreltme faktörü
[H]	% Hidroliz derecesi
[A <sub>0</sub> ]	t=0 anındaki ONP'nin absorbens değeri
[A <sub>1</sub> ]	İşlem sonundaki ONP'nin absorbens değeri
[A]	% Enzim aktivitesi
[G]	Akustik güç, watt
[F]	% Frekans aralığı
σ	Standart sapma
R <sup>2</sup>	Regresyon katsayısı
T	Sıcaklık, °C
N	Karıştırıcının bir dakikadaki devir sayısı, devir/dak
E	Enzim konsantrasyonu, ml/L
t	Zaman, dakika

## KISALTIMA LİSTESİ

ONPG	Orto-nitrophenol- $\beta$ -D-galactoside
ONP	Orto-nitrophenol
Hz	Hertz
kDa	Kilodalton



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Enzimin yapısı.....	3
Şekil 2.2	Enzimlerin etki mekanizması.....	6
Şekil 2.3	Tersinir inhibitörler .....	8
Şekil 2.4	Tersinmez inhibitörler .....	8
Şekil 4.1	Laktoz molekülü.....	17
Şekil 4.2	Laktozun enzimatik hidrolizi .....	19
Şekil 5.1	Ultrasonik dalgaların ilerleyişi .....	23
Şekil 5.2	Kaviteasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönmesi .....	24
Şekil 5.3	Ultrasonik temizleme banyosu.....	26
Şekil 5.4	Ultrasonik prob sistemi.....	26
Şekil 6.1	$\beta$ -Galactosidase enziminin kimyasal görünümü .....	33
Şekil 8.1	Biyoreaktör sisteminin genel görünüşü .....	41
Şekil 8.2	Biyoreaktör ve kontrol modüllerinin şeması .....	42
Şekil 8.3	Sonikatör sisteminin genel görünüşü .....	45
Şekil 8.4	Sonikatör ve kontrol modüllerinin şeması .....	46
Şekil 8.5	ONPG hidrolizi .....	49
Şekil 9.1	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun sıcaklık ile değişimi (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) ...	53
Şekil 9.2	Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	55
Şekil 9.3	Laktozlu sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	56
Şekil 9.4	Laktozsuz sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	57
Şekil 9.5	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun karıştırıcı hızı ile değişimi (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L).....	60
Şekil 9.6	Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	62
Şekil 9.7	Laktozlu sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	63
Şekil 9.8	Laktozsuz sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	64
Şekil 9.9	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)...	67
Şekil 9.10	Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	69
Şekil 9.11	Laktozlu sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) .....	70
Şekil 9.12	Laktozsuz sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) .....	71
Şekil 9.13	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	74
Şekil 9.14	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	76

Şekil 9.15	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	77
Şekil 9.16	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	79
Şekil 9.17	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	81
Şekil 9.18	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	82
Şekil 9.19	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	85
Şekil 9.20	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	87
Şekil 9.21	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	88
Şekil 9.22	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	90
Şekil 9.23	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	92
Şekil 9.24	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	93
Şekil 9.25	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi (Frekans aralığı= %10, Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C).....	96
Şekil 9.26	Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C).....	98
Şekil 9.27	Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C).....	99

## ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2.1	Çeşitli enzimler ve uygulama alanları .....	9
Çizelge 3.1	Süte ait enerji ve besin değerleri .....	13
Çizelge 3.2	Laktöz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı (%).....	15
Çizelge 5.1	Ses dalgaları ve frekansları .....	20
Çizelge 5.2	Güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulamaları.....	20
Çizelge 5.3	Frekans aralığı ve titreşim oranlarının karşılaştırılması .....	21
Çizelge 5.4	Sonikasyonun kullanım alanları .....	29
Çizelge 8.1	Biyoreaktör ile ilgili komponentler ve değerleri.....	43
Çizelge 8.2	Sek ve Pınar süte ait enerji ve besin değerleri .....	50
Çizelge 9.1	Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	52
Çizelge 9.2	Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L).....	54
Çizelge 9.3	37 °C reaksiyon sıcaklığı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	58
Çizelge 9.4	Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	59
Çizelge 9.5	Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L).....	61
Çizelge 9.6	300 devir/dak karıştırıcı hızı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	65
Çizelge 9.7	Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) .....	66
Çizelge 9.8	Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) .....	68
Çizelge 9.9	1 ml/L enzim konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) .....	72
Çizelge 9.10	Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	73
Çizelge 9.11	Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	75
Çizelge 9.12	20 watt akustik güç için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	78
Çizelge 9.13	Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	78
Çizelge 9.14	Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	80
Çizelge 9.15	20 watt akustik güç için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	83
Çizelge 9.16	% Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	84

Çizelge 9.17	% Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	86
Çizelge 9.18	%10 frekans aralığı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	89
Çizelge 9.19	% Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	89
Çizelge 9.20	% Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	91
Çizelge 9.21	%10 frekans aralığı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	94
Çizelge 9.22	Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C) .....	95
Çizelge 9.23	Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C).....	97
Çizelge 9.24	1 ml/L enzim konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C) .....	100
Çizelge 9.25	Biyoreaktörde (N= 300 devir/dak) ve sonikatörde (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt) enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilerin karşılaştırılması.....	101
Çizelge 9.26	0.4 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktörden (N= 300 devir/dak) elde edilen deneysel veriler ile farklı akustik güçler için sonikatörden (Frekans Aralığı= %10) elde edilen deneysel verilerin karşılaştırılması .....	101
Çizelge 9.27	0.4 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktörden (N= 300 devir/dak) elde edilen deneysel veriler ile farklı % frekans aralıkları için sonikatörden (Akustik Güç= 40 watt) elde edilen deneysel verilerin karşılaştırılması .....	102
Çizelge E1.1	Laboratuar koşullarında aşırı enzim ilavesi ile laktozu parçalanmış SEK marka süt ve Pınar marka laktozsuz süt için 0.2 ml/L ve 1 ml/L enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	113
Çizelge E2.1	Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	114
Çizelge E2.2	Laktozlu sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	115
Çizelge E2.3	Laktozsuz sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	115
Çizelge E3.1	Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) .....	116
Çizelge E3.2	Laktozlu sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) ....	117
Çizelge E3.3	Laktozsuz sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L) ....	117
Çizelge E4.1	Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	118
Çizelge E4.2	Laktozlu sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) ...	119

Çizelge E4.3	Laktozsuz sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak) ...	119
Çizelge E5.1	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	120
Çizelge E5.2	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	120
Çizelge E5.3	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	121
Çizelge E5.4	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	121
Çizelge E6.1	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	122
Çizelge E6.2	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	122
Çizelge E6.3	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	123
Çizelge E6.4	Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L) .....	123
Çizelge E7.1	Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C).....	124
Çizelge E7.2	Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C) .....	124

## ÖNSÖZ

Tez çalışmamı değerli fikir ve önerileri ile yönlendiren, yardım eden ve her aşamada beni destekleyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Belma Kın Özbek'e, çalışmam boyunca benden desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Salih Dinçer ve Sayın Prof. Dr. Sabriye Pişkin'e, çalışmam süresince hiçbir yardımdan kaçınmayan Araştırma Görevlisi Dilek Kılıç Apar'a, yetişmemi sağlayan tüm saygıdeğer Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine, maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyip yalnız öğrenim hayatım değil tüm yaşantım boyunca beni destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## ÖZET

Laktoz, sütte bulunan bir karbonhidrattır ve süt tek doğal laktoz kaynağıdır. Birçok kişi, vücudundaki  $\beta$ -galactosidase eksikliği ya da inaktifliği nedeniyle laktozu sindirememektedir. Bu nedenle, tükettikleri besinler laktoz içeriyorsa gaz, ağrı, diare gibi sağlık sorunları yaşamaktadırlar. Ayrıca, laktoz kendi hidroliz ürünleri olan glukoz ve galaktoza kıyasla daha az tatlılığa ve çözünürlüğe sahiptir. Bunlara ek olarak, higroskopik bir şeker olması nedeniyle aroma ve kokuları adsorblamaya yatkındır. Laktoz hidrolizi, dondurma ve diğer süt ürünlerinin üretim proseslerinin geliştirilmesi ile yeni gıda katkılarının elde edilmesi açısından oldukça önemlidir. Enzimatik laktoz hidrolizinde  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılır. Bu enzim doğada; mikroorganizmalarda, bitkisel ve hayvansal yapılarda bulunmaktadır.

Bu çalışmada, proses parametrelerinin sütteki laktoz hidrolizi ve enzim aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi ile laktoz hidrolizi deneyleri için hem Gallenkamp marka modüler biyoreaktör hem de Bandelin Sonopuls marka sonikatör kullanılmıştır. Hidroliz reaksiyonları 250 ml süt içerisinde gerçekleştirilmiştir. Biyoreaktöre ait proses değişkenleri; sıcaklık, karıştırıcı hızı ve enzim konsantrasyonu; sonikatöre ait proses değişkenleri ise % frekans aralığı, akustik güç ve enzim konsantrasyonudur. Belirtilen proses değişkenlerinde; zamana karşılık laktoz konsantrasyonu (g/L), hidroliz derecesi (%) ve enzim aktivitesi (%) değerlerinin değişimi incelenmiştir. Ayrıca, laktoz konsantrasyonu ve % enzim aktivite değerlerine ait elde edilen deneysel veriler kullanılarak ilgili matematiksel modeller kurulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Laktoz hidrolizi,  $\beta$ -galactosidase, biyoreaktör, sonikatör, süt, modelleme, proses değişkenleri

## ABSTRACT

Lactose is the dominant carbohydrate in milks which are, in turn, the only significant natural source of lactose. Due to a lack or inactivity of the intestinal  $\beta$ -galactosidase, a large number of people do not digest lactose properly. Therefore, they suffer from intestinal dysfunctions such as; gas, abdominal pain and diarrhea if their diet contains lactose. These people should consume products without lactose ingredient. Moreover, lactose is a sugar with low sweetness and low solubility when compared to the products of its hydrolysis (glucose and galactose) and being a hygroscopic sugar has a strong tendency to adsorb flavours and odours. The hydrolysis of this sugar is very attractive towards the improvement of processes for the production of refrigerated dairy products (such as, ice cream) and it would be very interesting for the development of additives for animal and human alimentation. The enzymatic hydrolysis of lactose is carried out by  $\beta$ -galactosidases, enzymes that are widely distributed in nature; appearing in micro-organisms, plants and animal tissues.

The present investigation describes the effects of the process parameters on enzymatic hydrolysis of milk lactose and enzyme stability. Both the Gallenkamp Modular Bioreactor System and Bandelin Sonopuls Sonicator were used for the lactose hydrolysis experiments.  $\beta$ -galactosidase enzyme used is produced from *Kluyveromyces marxianus*. The reactions were carried out in 250 ml of milk. While process variables for the bioreactor are temperature, impeller speed and enzyme concentration; process variables for the sonicator are duty cycle, acoustic power and enzyme concentration. The amount of lactose concentration (g/L), the degrees of lactose hydrolysis (%) and enzyme activity (%) against time were investigated versus process variables. Beside of this; the mathematical models depending on the operating conditions were also derived by using the experimental data of lactose concentration and enzyme activity.

**Keywords:** Lactose hydrolysis,  $\beta$ -galactosidase, bioreactor, sonicator, milk, modelling acoustic power, duty cycle, process variables

## 1. GİRİŞ

Biyoteknoloji, canlı organizmaların yapısal özelliklerinin değiştirilmesini sağlayan tekniklerin tümü olarak tanımlanır. Son yüzyılda, çevre ve insan sağlığının ön plana çıkması nedeniyle biyoteknoloji hızla gelişmiştir. Bu nedenle; verimlilikleri, seçicilikleri, ılımlı koşullar altında çalışabilmeleri, istenmeyen ürün oluşumunu büyük ölçüde azaltabilmeleri ve çevre dostu olmaları nedeniyle biyolojik katalizörler olarak adlandırılan enzimlerin kullanımı artmıştır.

Günümüzde doğal olarak hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalardan elde edilen 3000'in üzerinde enzim bulunmaktadır. Enzimler başta gıda sektörü olmak üzere tarım, deterjan, tekstil, kimya gibi endüstriyel alanlar ve biyokimya, moleküler biyoloji, bakteriyoloji, genetik, farmakoloji, tıp, mühendislik gibi bilim dalları için büyük bir önem taşımaktadır.

Biyoreaktörlerde mikrobiyolojik, bitki ve hayvan hücrelerindeki metabolik verimliliğin artması biyoteknolojik proseslere ekonomik yararlar sağlamaktadır. Ayrıca, sonikasyon işleminin kullanımı, biyolojik katalizörlerin ve proseslerin verimliliğini büyük ölçüde arttırmaktadır.

Yapılan deneysel çalışmada hidrolizlenen laktoz, süt ve süt ürünleri endüstrisinin yanı sıra gıda endüstrisinin birçok alanında da hammadde olarak kullanılmaktadır. Laktozun hidrolizi, özellikle laktozsuz süt ve süt ürünlerinin geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Laktozun hidroliz işleminde  $\beta$ -galactosidase enzimleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; Bölüm 2'de enzimler, Bölüm 3'te sütün yapısı ve özellikleri, Bölüm 4'te laktozun yapısı ve özellikleri, Bölüm 5'te sonikasyon, Bölüm 6'da  $\beta$ -galactosidase enzimi ve genel özellikleri hakkında bilgi verilmiştir. Bölüm 7'de literatürde yer alan  $\beta$ -galactosidase enzimi ile ilgili bazı çalışmalar özetlenmiştir. Bölüm 8'de deneysel çalışmalarda kullanılan maddeler ve cihazlar ile analiz yöntemleri ve hesaplamalar anlatılmıştır. Bölüm 9'da deneysel çalışmalar ve bunlara ait deneysel veriler kullanılarak elde edilen matematiksel ve istatistik ifadeler yer almaktadır. Bölüm 10'da ise deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar özetlenmiştir.

## 2. ENZİMLER

### 2.1 Enzim Nedir?

Enzimler, bütün canlı organizmalarda bulunan, hücre içerisinde meydana gelen binlerce tepkimenin hızını ve özgülüğünü belirleyen, organizmadaki metabolik olayları hızlandıran ve çoğunluğu protein yapısında olan biyokatalizörlerdir. Enzimler, diğer proteinler gibi birbirlerine peptit bağları ile bağlanmış uzun amino asit zincirlerinden oluşmaktadır (Demirsoy, 1989; Telefoncu, 1995; [1]).

Enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek kimyasal reaksiyonları hızlandırır ve reaksiyon sonunda hiç bozulmadan ayrılırlar. Bu nedenle, hücrede tekrar tekrar kullanılırlar. Bütün enzimler proteindir, fakat tüm proteinler enzim değildir. Enzimatik reaksiyonlar çok hızlı reaksiyonlardır. Enzimler yardımı ile enzimler olmaksızın gerçekleştirilecek kimyasal reaksiyonlar  $10^8$ - $10^{11}$  kez daha hızlandırılabilir (Bailey ve Ollis, 1986; [2]).

Enzimler, atmosferik basınçta, düşük sıcaklık ve asitliği yüksek olmayan ortamlarda çalışırlar. Birçok enzimin fonksiyonlarını sürdürebilmesi için en uygun koşullar; 30-70°C arasında sıcaklık ve nötr değere yakın pH değerleridir [3].

Yaşamın devamlılığı için enzimlerin varlığı önemlidir. Hayvan, bitki ve mikroorganizmaların hücrelerinde gerçekleşen karmaşık ve birbiriyle bağlantılı kimyasal tepkimelerin hemen hemen hepsi enzimlerce denetlenir. Üreme, sindirim ve solunum süreçlerinden görme olayına kadar pek çok işlevin yerine getirilmesinde rol oynayan enzimler, bütün canlı hücrelerde bulunur. Her enzim, tek bir kimyasal tepkime türüne özgü olduğundan, canlının yapısı karmaşıklaştıkça hücredeki enzim sayısı da artar [1].

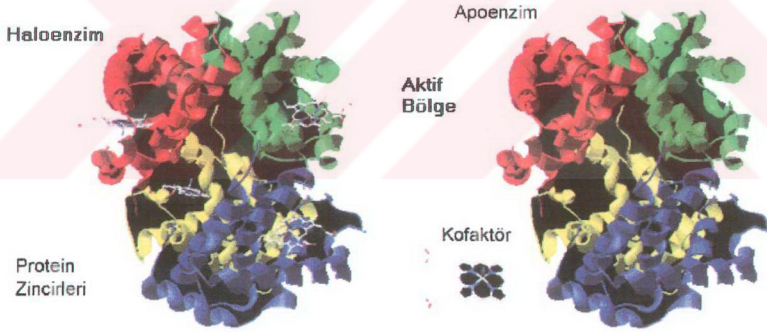
### 2.2 Enzimlerin Özellikleri

- Enzimlerin tümü protein yapısındadır ya da protein kısmı bulundurlar.
- Etki ettiği maddenin sonuna “-az” eki getirilerek ya da katalizlediği tepkimenin çeşidine göre adlandırılırlar.
- Suda yada sulandırılmış tuz çözeltilerinde çözülebilirler.
- Enzimin etki ettiği bileşiğe “substrat” denir. Bazı enzimler çok spesifiktir ve yalnızca bir substrata etki ederler. Bazı enzimler ise çeşitli substratlara etki ederler.

- Enzimler hücrede bir takım halinde beraber çalışır. Bir enzimin son ürünü kendisinden sonraki enzimin substratını oluşturur.
- Kuramsal olarak enzimli tepkimeler döngüseldir. Enzim, tepkimenin yönünü değil dengenin oranını saptar. Denge noktası, yani tepkimenin hangi yöne gideceği termodinamik yasalarına göre belirlenir (Demirsoy, 1989).

### 2.3 Enzimlerin Yapısı

Enzimler, kimyasal bakımdan proteinler gibi uzun aminoasit zincirlerinden oluşan makromoleküllerdir. Ağırlıkları genellikle 6000 ile 600000 arasında değişmektedir. Tüm enzim proteinleri genler tarafından şifrelendiğinden her enzimin aminoasit dizilimi kendine özgüdür. Bazı enzimler (pepsin ve üreaz gibi) sadece proteinlerden oluşmuştur. Ancak çoğu durumda söz konusu proteine, protein olmayan daha küçük yapıllı organik veya anorganik moleküllerin bağlanmasıyla oluşmuş bir yapı gözlenir. Bu durumda enzimin protein kısmı "Apoenzim", protein olmayan kısmı ise "Koenzim" olarak tanımlanmaktadır (Demirsoy, 1989; Gates, 1992; Telefoncu, 1997). Enzimlerin yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Enzim yapısı [4]

- **Apoenzim kısmı:** Enzimlerin protein kısmıdır. Bu kısım, enzimin hangi maddeye etki edeceğini saptar.
- **Koenzim kısmı:** Organik veya inorganik, çoğu zaman fosfattan meydana gelmiş, protein kısmına göre çok daha küçük molekülü, enzime katalitik aktivite özelliği veren kısımdır. Koenzim kısım metal iyonu ise (Ca, K, Mg, Zn gibi) kofaktör olarak adlandırılır. Apoenzim ve koenzim kısımlarının ikisine birden haloenzim adı verilir (Çetin, 1983; Demirsoy, 1989).

## 2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması

1961 yılındaki ilk enzim komisyonu raporuna göre enzimler katalizledikleri reaksiyon tipine göre altı ana sınıfa ayrılmışlar ve bu sınıflarda yer alan her enzim EC olarak kısaltılmış ve 4 rakamdan oluşan kod numarasıyla karakterize edilmiştir. EC numarasının kapsadığı dört rakamdan ilki enzimin altı ana sınıftan hangisi içinde yer aldığını, ikinci rakam alt sınıfı, üçüncü rakam grubunu ve dördüncü rakam ise o enzimin kendine özgü sıra numarasını ifade eder. (Demirsoy, 1989; Telefoncu, 1997).

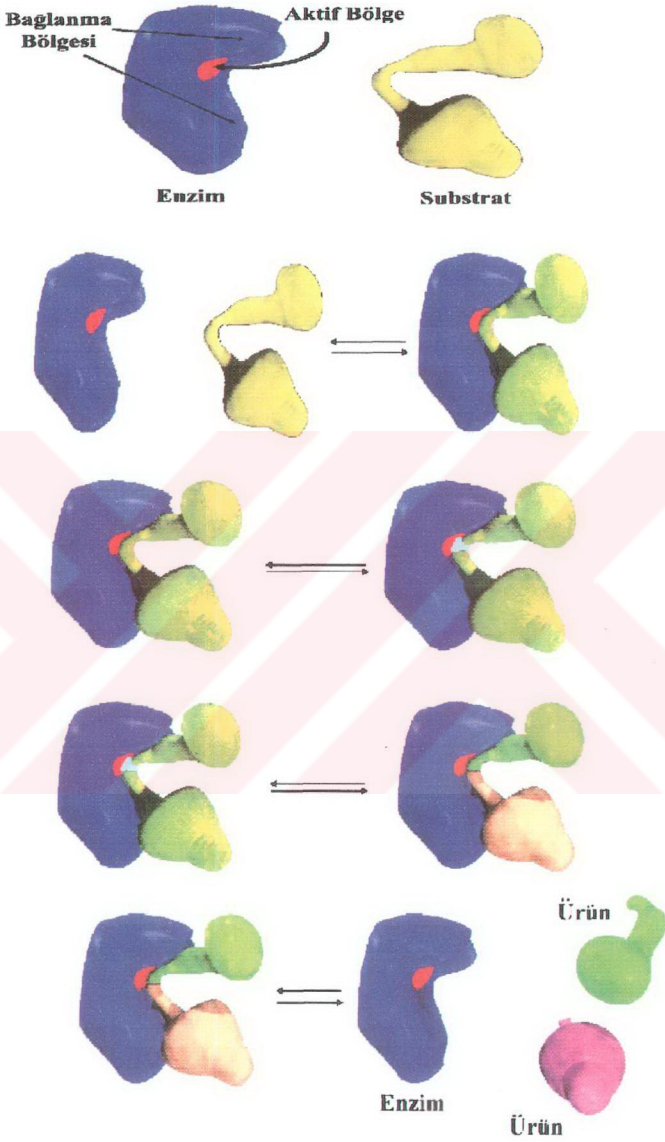
1. Oksiredüktazlar: Redoks reaksiyonlarında indirgenme ve yükseltgenmeyi sağlayan enzimlerdir (katalaz, dehidrojenaz vb.).
2. Tranferazlar: Metil, açıl, amino, glukozil ya da fosfat gibi spesifik bir grubun bir maddeden diğerine transferini sağlarlar (glükokinaz, dekarboksilaz vb.).
3. Hidrolazlar: Hidrolizlenmeyi katalizleyen enzimlerdir;
  - Proteazlar (pepsin, tripsin)
  - Esterazlar ve Lipazlar (pektin esteraz, pankreatik lipaz)
  - Karbohidrazlar (laktaz, sakkaraz,  $\alpha$ -amilaz, selülaz)
  - Fosfatazlar (lektinaz-c)
  - Amidazlar (üreaz)
4. Liyazlar: Su molekülü çıkarmadan molekülleri parçalayan enzimlerdir (aldolaz vb.).
5. İzomerazlar: Molekül içinde geometrik ya da yapısal yeniden düzenlemeyi katalizleyen enzimlerdir (glukoz izomeraz, mutarotaz vb.).
6. Ligazlar: Enerji kullanarak küçük molekülleri birbirine bağlayıp sentez gerçekleştiren enzimlerdir (amidsintetaz).

## 2.5 Enzimlerin Etki Mekanizması

Her enzimin katalizleyici etkisi yalnızca bir tip tepkimeye ve yalnızca belirli türden maddelere özgüdür. Enzimin etki ettiği bu maddeye ise “*substrat*” denir. Enzimlerin molekül ağırlığı, substratın molekül ağırlığından çok daha büyük olduğu için, bu iki molekül karşılaştığında enzimin ancak bir bölümü substrata rastlar; iki bileşiğin birbirine temas ettiği bu bölgeye “aktif bölge” denir. Bir enzim, karşılaştığı substratı fiziksel yada kimyasal kuvvetlerle aktif bölgesine doğru çeker; bütün katalizörler gibi kimyasal tepkimeyi başlatır, ama kendisi kimyasal tepkimeye katılmaz (Çetin, 1983). Enzimatik reaksiyonlar genellikle üç aşamada gerçekleşir;

- Substrat enzimi fark eder ve enzime tutunur. Enzim substrat kompleksi oluşur.
- Enzimin katalitik kısmı (aktif bölgesi) substratla temas eder ve substratı ürüne dönüştürür.
- Ürünler enzim yüzeyinden uzaklaştırılır, böylece enzim diğer substrat molekülleri ile etkileşmek üzere serbest kalır. (Demirsoy, 1989; [5; 6]).

Enzimlerin etki mekanizması Şekil 2.2’de şematik olarak gösterilmiştir [7].



Şekil 2.2 Enzimlerin etki mekanizması [7]

## 2.6 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler

- Enzim/substrat derişimi: Substrat ya da enzimin fazla olması reaksiyon hızını değişik şekillerde etkileyebilir. Fazla substrat bulunan bir ortama eklenecek enzim, son ürün miktarını arttıracaktır.
- Sıcaklık: Reaksiyon hızını artırır, enzimin bozulmasına sebep olur.
- pH: Enzimler genellikle çok fazla asidik ve bazik ortamda etki gösteremezler ve yapıları bozulabilir.
- Suyun etkisi: Enzimleri büyük bir kısmı işlevlerini su içerisinde gösterdiklerinden su miktarı az olduğunda işlev gösteremezler.
- İnhibitörler/Protein bozucular
- Zaman (Demirsoy, 1989)

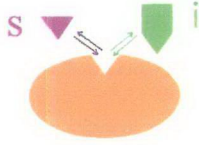
## 2.7 Enzim İnhibisyonu

İnhibitörler; enzime bağlanarak enzim aktivitesini azaltan ya da reaksiyonu durduran maddelerdir. Enzim inhibitörleri iki ana gruba ayrılır;

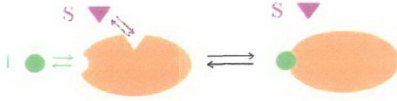
**1) Tersinir inhibitörler:** Enzime zayıf bağlarla bağlanan ve etkileri tersinir olan inhibitörlerdir. Konsantrasyonları düşürüldüğünde enzimlerden ayrılma eğilimi gösterdiklerinden enzim aktivitesi normal seviyeye döner. Tersinir inhibitörler enzime bağlandıkları yere göre üçe ayrılır (Şekil 2.3);

- **Rekabetçi (competitive) inhibitörler:** Yapıları bakımından substrata benzeyen inhibitörlerdir. Substratın bağlanacağı aktif kısma bağlanıp substrat molekülünün enzime bağlanmasını engelleyerek reaksiyon hızını düşürürler. Yani, substrat ve inhibitör enzimin aktif bölgesine bağlanabilmek için rekabete girerler.
- **Rekabetçi olmayan (non-competitive) inhibitörler:** Enzim molekülünde aktif bölgenin dışında bir yere bağlanırlar, aktif kısımda şekil değişikliği yapar ve ardından substrat bağlandığında ürün oluşumunu engellerler. Yani, enzim konformasyonunu değiştirerek reaksiyonun oluşumunu engellerler. Bu inhibitörlerin substrata benzerliği yoktur.
- **Yarı rekabetçi (uncompetitive) inhibitörler:** Daha önce substrat bağlanmış enzime (enzim substrat kompleksine) bağlanırlar.

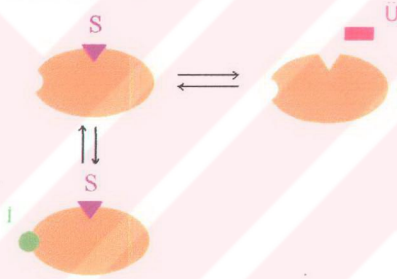
Rekabetçi inhibitörler



Rekabetçi olmayan inhibitörler



Yarı rekabetçi inhibitörler



Şekil 2.3 Tersinir inhibitörler [8]

2) **Tersinmez inhibitörler:** Enzime sıkıca, genellikle kovalent bağlarla bağlanan ya da enzim yapısındaki kovalent bağları parçalayan inhibitörlerdir (Şekil 2.4). Bu tip inhibitörlerin etkisi tersinmezdir [8-10].

Tersinmez inhibitörler



Şekil 2.4 Tersinmez inhibitörler [8]

## 2.8 Enzimlerin Uygulama Alanları

Kimyasal katalizörlere göre pek çok avantajı olan enzimlerin endüstride kullanımını teknolojinin gelişimi ile hızlı bir şekilde artmaktadır. Çizelge 2.1'de çeşitli enzimler ve uygulama alanları özetlenmiştir (Çetin, 1983; Telefoncu, 1997).

Çizelge 2.1 Çeşitli enzimler ve uygulama alanları (Çetin, 1983; Telefoncu, 1997)

Enzim	Uygulama alanları
Lipazlar	Yağların parçalanması ve interesterifikasyonu
Rennin	Peynir üretimi
Proteazlar	Protein hidrolizi
Papain	Etin gevrekleştirilmesi
Papain, fisin, bromelain	Biranın soğuğa dayanıklılığının artırılması
Tripsin, papain, fisin, bromelain	Balık pres suyu viskozitesinin düşürülmesi
Amilaz ( $\alpha$ ve $\beta$ )	Nişasta hidrolizi
Invertaz	Sakkaroz inversiyonu
Pektinazlar	Meyve suyu, sirke ve şarap berraklaştırılması
Nükleazlar	Lezzet kontrolü
Oksidazlar	Oksidasyonu önleme ve toksik bileşenlerin uzaklaştırılması
Pronoz, aminopeptidaz	Aminoasit üretimi
Laktaz ( $\beta$ -galactosidase)	Süt ve peynir altı suyundaki laktozun hidrolizi
Selülaz	Selüloz üretimi
Penisilin amilaz	Penisilin üretimi
Katalaz	Sterilizasyon ve soğuk pastörizasyon
Glukoz izomeraz	Glukozun fruktoza dönüştürülmesi
Keratinaz	Keratin katmanlarının hidrolizi
Pepsin	Proteinlerin peptid bağlarını hidrolizi

### 3. SÜT

#### 3.1 Sütün Yapısı

Süt, kendine özgü tad, koku ve kıvamda olan, hemen hemen tüm besin öğelerini yeterli ve dengeli bir şekilde bünyesinde bulunduran değerli bir besindir [11].

Sütün, elde edildiği canlı türüne göre değişiklik gösterebilen karmaşık bir bileşimi vardır. İçerdiği süt yağı, süt şekeri ve kazein gibi maddeler vücutta ve süttten başka hiçbir besinde bulunmaz. Bu nedenle insanların bebeklikten başlayarak ömür boyu süt tüketmeleri gerektiği bilinen bilimsel bir gerçektir. Son derece değerli olan bu besin maddesi, bazı durumlarda insan vücudunda tepkiye (alerji) neden olur. İnsan vücudunun özellikle inek sütüne gösterdiği duyarlılık, daha çok sütün içerdiği laktoz ve proteinden kaynaklanmaktadır (Binkey, 1996)

#### 3.2 Sütün Bileşimi

Sütün bileşimi çeşitli etkenlere bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte, ortalama inek sütünün bileşiminde;

- Su % 87.3
- Mineral maddeler % 0.75
- Protein % 3.40
- Laktoz % 4.70
- Yağ % 3.50
- Vitaminler % 0.35 oranında bulunur [11].

Sütün bileşimini etkileyen en önemli faktörler;

- Besleme
- İklim
- Hayvanın türü ve ırkı
- Hastalıklar
- Mevsimsel değişimler
- Laktasyon dönemi

- Çevre faktörleri' dir [11].

### 3.3 Sütün Besin Değeri

Sütün besin değeri, bileşimine göre beş ana başlık altında toplayarak açıklanabilir [11; 12];

#### Laktoz (Süt şekeri)

- Doğada yüksek oranda sadece sütte bulunan laktoz enerji sağlar.
- Sütte bulunan galaktoz, beyin ve sinir dokularının oluşumunda rol oynar.
- Laktozun hidrolizi sonucu oluşan laktik asit bağırsaklarda istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini dolaylı olarak inhibe eder ve tipik barsak florasını geliştirici etki yapar.
- Laktoz vücudun kalsiyum ve fosfordan daha iyi yararlanmasını sağlar. Bu nedenle kemik ve diş oluşumunda, bebeklerin beslenmesinde önemli rol oynar.
- Laktoz enzimi yetersizliği nedeniyle laktoz intoleransı gösteren kişilerin süt yerine fermente süt ürünlerini tüketmeleri önerilmektedir.

#### Süt yağı

Dengeli beslenmede yeterli miktarda yağın gıdalarla birlikte alınması önemlidir.

- Süt yağı enerji kaynağıdır.
- Süt yağı, laktozun en iyi şekilde kullanımını ve vücudumuz için gerekli olan A, D, E, K vitaminlerinin taşınmasını sağlar.
- Süt yağındaki fosfolipitler, beyin ve sinir hücrelerinin hayati önem taşıyan kısımlarını oluşturur.
- Vücut için gerekli olan doymamış yağ asitlerini bünyesinde bulundurmasından dolayı süt yağının beslenmede önemli fonksiyonları bulunmaktadır.
- Çeşitli gıda maddelerinde bulunan kolesterol miktarına göre süt, sanıldığı kadar yüksek oranda kolesterol içermemektedir. 100 ml sütün içerdiği kolesterol miktarı 12 g'dır.

## **Süt proteini**

Vücudun yapı taşı olarak kabul edilen proteinlerin beslenmede önemli bir yeri bulunmaktadır.

- Süt proteininin biyolojik değeri bitkisel proteinlere göre daha yüksek olduğundan, vücut diğer proteinlere oranla süt proteininden daha iyi yararlanmaktadır.
- Hücre ve dokuların oluşmasında önemli rol oynar.
- Büyüme ve gelişmeyi sağlar.
- Saç ve tırnakların oluşumunda büyük rol oynar.
- Kasların kasılmasına yardımcı olur.
- Vücutta ödem yapan sıvıların toplanmasını önler.
- Süt proteinlerinde büyük bir kısmı "esansiyel aminoasit" olan yaklaşık 23 tane aminoasit bulunmakta olup, bunların bir kısmı hayati önem taşımaktadır.

## **Mineral maddeler**

İnsanların sağlıklı beslenmesi için bütün minerallere ihtiyaçları vardır. Sütte bulunan başlıca mineraller fosfor ve kalsiyumdur.

- Kalsiyum özellikle çocukların kemik ve diş oluşumlarının tamamlanmasında büyük rol oynar.
- Kemik yoğunluğunun en üst noktaya ulaştığı 25-30 yaşlarına kadar alınan kalsiyum kemik yoğunluğunun artmasına neden olmaktadır. Bu yaşlardan sonra kemik yoğunluğu artmamakta ancak kalsiyum alımına düzenli olarak devam edildiğinde kemik yoğunluğundaki azalma yavaşlamakta veya gecikmektedir. Süt içmenin kemik yapısına olan olumlu etkisi en fazla çocukluk ve gençlik yıllarında görülmektedir. Bu dönemlerde yeterli süt tüketimi, dolayısıyla kalsiyum alımı, tüm yaşam boyunca kemik sağlığı için önemlidir.
- Kalsiyum ihtiyacı özellikle hamilelik ve emzirme döneminde de önemli olup, bu dönemlerde yetersiz kalsiyum alımı, ileri yaşlarda "osteomalacia" ve "osteoporosis" gibi kemik hastalıklarına yol açmaktadır.
- Sütte bulunan fosfor, kemik oluşumunda önemli rol oynamaktadır.

## Vitaminler

Süt, beslenmemiz için gerekli olan, yağda ve suda eriyen vitaminlerin hepsini içermektedir.

- Özellikle zeka gelişiminde etkili olan, deri ve göz sağlığında gerekli B2 vitamini (riboflavin) için süt en iyi kaynaktır.
- Vücudun ihtiyacı olan B12, A ve C vitaminleri süt içerek önemli ölçüde karşılanabilmektedir.
- Sütteki vitaminler hastalıklara karşı direnci artırır.
- Sütteki vitaminler büyümeye yardım eder.

Çizelge 3.1 Süte ait enerji ve besin değerleri [11]

<b>100 g. Sütün Enerji ve Besin Değerleri</b>			
	<b>Yağlı</b>	<b>Yarım Yağlı</b>	<b>Yağsız</b>
<b>Su (g)</b>	87.9	89.2	90.8
<b>Enerji (kcal)</b>	61	50	35
<b>Protein (g)</b>	3.3	3.3	3.4
<b>Yağ (g)</b>	3.3	1.9	0.2
<b>Karbonhidrat (g)</b>	4.7	4.8	4.9
<b>Kül (g)</b>	0.7	0.7	0.8
<b>Kalsiyum (mg)</b>	119	122	123
<b>Demir (mg)</b>	0.1	0.1	0.0
<b>Fosfor (mg)</b>	93	95	101
<b>Potasyum (mg)</b>	152	154	166
<b>Sodyum (mg)</b>	49	50	52
<b>Vit. A ve Karoten (IU)</b>	126	205	204
<b>Tiamin (mg)</b>	0.04	0.04	0.04

### 3.4 Üretilen Sütün Değerlendirilmesi

Ülkemizde üretilen sütün ancak %60'ı pazarlanmakta, bunun da %40'ına yakın kısmı işlem görmeden tüketiciye ulaşmaktadır. Geri kalan kısmı ise modern işletmelerde ve mandıralarda işlenmektedir. İşlenen sütün %20'si içme sütü, %80'i ise dayanıklı süt ürünleri (peynir, yoğurt, ayran, tereyağ v.b) olarak değerlendirilmektedir [11].

### 3.5 Pastörize ve Uzun Ömürlü Süt

İşlenmiş içme sütleri, fabrikalarda süzülme, yabancı maddelerden temizlenme, istenmeyen kokuların alınması (deoderizasyon), standardizasyon ve homojenizasyon işlemlerinden geçmektedir.

Pastörize sütler, kaynama derecesinin altında belli bir sıcaklıkta, sütün doğal niteliklerinde değişiklikler oluşturmadan, hastalık yapan etmenlerinden tamamen, diğer etmenlerden de çoğunlukla arınmış bir içme sütü çeşididir. Soğukta muhafaza edilmek şartıyla dayanma süreleri iki gündür.

Uzun ömürlü sütler, tüketici tarafından sterilize, kutu ve UHT olarak da tanımlanırlar. Özel bir teknolojik işlemle 135-150 °C'de 2-4 saniye tutularak içlerinde sütün bozulmasına neden olan ve hastalık yapan etkenlerin tümü yok edilmiş bir içme sütü çeşididir [11; 12].

### 3.6 Sütün Yararları

- Kemik erimesini önler.
- Mikrobik enfeksiyonlara karşı etkilidir.
- Mide rahatsızlıklarını giderir.
- Sindirim sistemini düzene sokar.
- Ülseri önler.
- Beyne enerji verir.
- Diş çürüklerini önler.
- Kronik bronşiti önler.
- Tansiyonu düşürür.
- Yağsız süt, kolestrolü düşürür.
- Kanserin önlenmesine yardımcı olur.

### 3.7 Laktoz Alerjisi

Süt şekeri olarak tanımlanan laktoz, sütün tek karbonhidratıdır. Glukoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarit olan laktozun, anne sütündeki ortalama miktarı yaklaşık % 7, inek sütündeki miktarı ise yaklaşık % 4.8'dir. Süt ve süt ürünleri ile alınan laktoz, organizmada glukoz ve galaktoza parçalanır. Ancak, bazı kişilerin organizmaları laktaz enzimi eksikliği ya da yetersizliği nedeniyle bu görevi yerine getiremez. Hidrolize olamayan laktozun yoğunluğu artmakta ve sonuçta barsakta yüksek osmotik basınç oluşmaktadır. Bu basınç, barsak boşluklarına su akımına yol açmakta; kişide şişkinlik, barsakta gaz toplanması, kramplar ve diare görülmektedir (Binkey, 1996; Ladero vd.; 2001; Jelen ve Tossavainen, 2003). Çizelge 3.2'de laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı ile ilgili bilgi verilmiştir.

Çizelge 3.2 Laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı (%) (Korukluoğlu, 1999)

Sosyal Gruplar	Rastlanma Sıklığı (%)
	<b>Çok yüksek (&gt; %70)</b>
Eskimolar	80-100
Asyalılar	75-100
Kızılderililer	60-100
Zenciler	65-100
	<b>Yüksek (%50-70)</b>
Orta Doğu/Afrikalılar	40-80
Güney Amerikalılar	45-75
Meksikalılar	50-70
Hintliler	35-70
	<b>Orta (%25-50)</b>
Avrupalılar	35-60
	<b>Düşük (%10-25)</b>
Beyazlar	15-25
Avustralya Yerlileri	15-20
Almanlar/İskandinavlar	8-15
	<b>Çok düşük (&lt; %10)</b>
Danimarkalılar	3

## 4. LAKTOZ

### 4.1 Karbonhidratlar ve Laktoz

Karbonhidratlar; karbon, hidrojen ve oksijen atomlarından oluşurlar. Birinci derecede enerji kaynağıdır ve yeryüzünde en çok bulunan organik bileşiklerdir. Canlılarda fotosentez veya kemosentez sonucu sentezlenirler. Karbonhidratlar hem canlının yapısına katılan, hem de enerji sağlayan organik bileşiklerin bir grubudur. Bütün canlı hücrelerde bulunur. Doğada genellikle büyük moleküller halindedir. Vücuda alınan bu büyük moleküllerin hücrelere iletilmesi için canlı tarafından sindirilmesi ve uygun molekül büyüklüğüne kadar parçalanması gerekir.

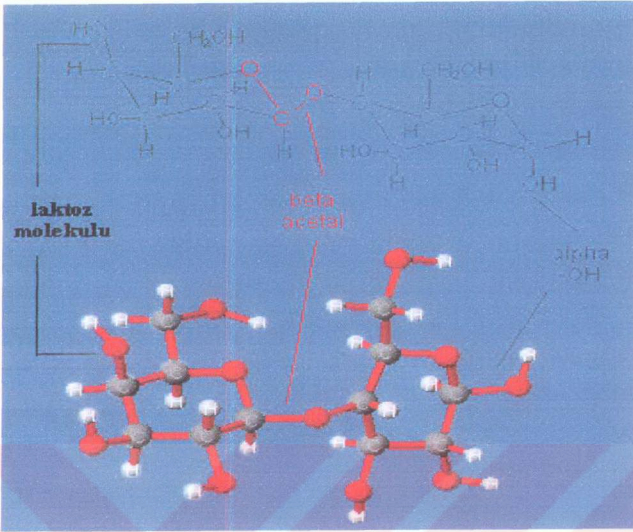
Monosakkaritler, hücre zarından geçebilecek kadar küçük karbonhidratlardır. Sindirime uğramazlar. Karbon sayısı 3-8 arasında değişir. Disakkaritler, iki tane 6 karbonlu monosakkaritin dehidrasyon reaksiyonuyla birleşmesi sonucunda oluşur. Disakkaritler hücre zarından geçemez [13].

Glukoz + Glukoz → Maltoz (Arpa şekeri) + H<sub>2</sub>O

Glukoz + Fruktoz → Sakkaroz (Çay şekeri) + H<sub>2</sub>O

Glukoz + Galaktoz → Laktoz (Süt şekeri) + H<sub>2</sub>O

Laktoz, 6 karbonlu moleküller olan glukoz ve galaktozun aralarında glukozit bağı ile bağlanmaları sonucunda oluşan 12 karbonlu bir disakkarittir. Sadece memeli canlılar tarafından sentezlenir [14]. Laktoz molekülünün yapısı ve kimyasal görünümü Şekil 4.1'de gösterilmiştir [15].



Şekil 4.1 Laktöz molekülü [15]

#### 4.2. Laktözün Hidrolizi

Laktöz, sütün yapısında bulunan bir karbonhidrattır (disakkarit). Birçok insan,  $\beta$ -galaktosidase eksikliği ya da yetersizliği nedeniyle laktozu tam olarak sindirememektedir (yalnız USA'de yaklaşık 50 milyon kişi). Bu nedenle de gaz, mide ağrısı ve diare gibi problemlerle karşılaşmaktadırlar. Bu kişilerin laktoz içermeyen diyetler yapmaları ya da laktozsuz gıdaları tüketmeleri gerekmektedir. Bu nedenle yeni gıda ürünlerinin geliştirilebilmesi açısından laktozun hidrolizi büyük önem taşımaktadır.

Diğer şekerlere göre laktozun çözünürlüğü ve tatlılığı daha azdır. Bu nedenle hidrolizatların çözünürlük ve tatlılık değerleri daha fazladır. Higroskopik bir şeker olarak laktoz, aroma ve kokuyu adsorbe etmeye oldukça yatkındır. Bu nedenle de, iyi bir kontrol sağlanmazsa dondurulmuş gıdalarda (dondurma gibi) bozulmalara neden olabilir. Laktozun hidrolizlenmesi, gıda katkılarının çeşitlenmesini, enerji maliyetlerinin düşmesini ve laktozun kristalli yapısından kaynaklanan kumsu dokunun engellenmesini sağlayabilir. Laktoz, sadece glukoz ve galaktoza ayrışabilir. Bu nedenle laktozun hidrolizlenmesi yeni laktozsuz ürünlerin

elde edilmesi ve laktozun hidrolizlenmiş olarak dışarı verilmesi (yeniden besin kaynağı olabilecek alanlara-insanlar ve hayvanlar için) önemli bir prosestir.

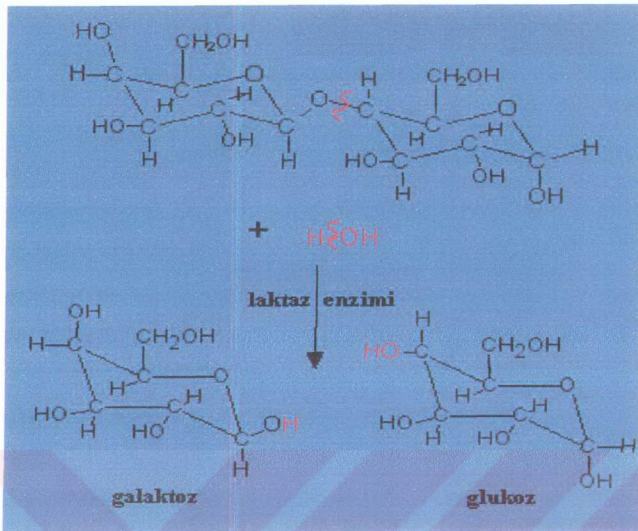
Laktozun hidrolizlenmesinde iki yöntem kullanılmaktadır;

- 1- asidik
- 2- enzimatik

Asit ile hidrolizde, asit çözeltisi ya da asidik iyon değiştirici reçineler kullanılarak 150<sup>0</sup>C ve pH 1-2'de hidrolizlenme gerçekleştirilir. Reaksiyon çok hızlı gerçekleşir. Ancak, hidrolizlenmenin çok yüksek sıcaklıklarda olması dolayısıyla asitler, proteinler ve yağlar arasında oluşan ikincil reaksiyonlar, koku ve aromada oluşan yaygın değişimler, süt içeriğindeki besin değerlerinin azalması gibi nedenler dolayısıyla hidrolizlenme yetersiz olmaktadır.

Enzim ile hidrolizde, herhangi bir ön işleme gerek duyulmaksızın elde edilen son ürünlerde besin değerlerinde herhangi bir kayıp söz konusu değildir. Ayrıca, pH ve sıcaklık değerlerinin düşük olması enerji ve madde maliyetlerini azaltmaktadır. Laktoz hidrolizinde,  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılmaktadır. Enzimle hidrolizlemede karşılaşılan problemler enzim maliyetlerinin yüksek olmasıdır. Bu problem daha kararlı enzimlerin geliştirilmesi sayesinde en aza indirilebilir (Ladero vd., 2001; Numanoğlu ve Sungur, 2004; Tanriseven, 2002).

Laktozun enzimatik yolla hidrolizi şematik olarak Şekil 4.2'de gösterilmiştir [15]. Hidrolizasyon sonucu oluşan glukoz ve galaktoz moleküllerinin yapısı da Şekil 4.2'de görülmektedir.



Şekil 4.2 Laktozun enzimatik hidrolizi [15]

## 5. SONİKASYON

### 5.1 Sonikasyon Tanımı

Sonikasyon, insan kulağının işitebileceği ses frekansının üzerindeki akustik dalgalara denir. Ultrasonik dalgaları insan kulağı duyamaz [16]. Diğer bir deyişle sonikasyon, akustik spektrumunda frekansı 20 kHz'den (saniyede 2000 devir) büyük yüksek frekanslı sesler olarak adlandırılmaktadır (Yalçın vd., 2002). Sonikasyon bir mekanik enerji çeşididir, elektrik enerjisi değildir. Çizelge 5.1'de ses dalgalarının frekanslara göre gruplandırılması ve Çizelge 5.2'de ise güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulama alanları görülmektedir.

Çizelge 5.1 Ses dalgaları ve frekansları (Povey ve Mason, 1998; Cracknell 1980)

	Frekans Aralığı
İnfrases (kızılötesi ses)	0 Hz – 15 Hz
İnsan kulağının işitebildiği sesler	16 Hz - 20 kHz
Güç sonikasyon dalgaları	20 kHz - 2 MHz
Tanı (diagnostik) ses dalgaları	5 MHz - 10 MHz
Mikroses (eski adıyla "hiperses")	> 500 MHz

Çizelge 5.2 Güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulamaları [17]

Uygulama alanı	Frekans	Güç	Örnek
Düşük güç uygulamaları	Yüksek frekans (>100 kHz)	Düşük güç (< 1 W/cm <sup>2</sup> )	Malzeme bilimi, tıbbi tanı
Yüksek güç uygulamaları	Düşük frekans (<100 kHz)	Yüksek güç (> 1 W/cm <sup>2</sup> )	Temizleme, homojenizasyon, sonokimyasal uygulamalar

### 5.2 Frekans Aralığı

Sonikasyon cihazlarında kullanılan parametrelerden biri frekans aralığıdır. Frekans aralığı yüzde olarak ifade edilir ve prosesteki aktif zamanın toplam zamana oranıdır (Schlager, 1998). Diğer bir deyişle, güç çeviricideki titreşim süresinin bir fraksiyonudur.

$$\text{Frekans aralığı} = \frac{\text{Aktif zaman (on)}}{\text{Aktif zaman (on)} + \text{Aktif olmayan zaman (off)}} \quad (5.1)$$

Kesikli ve sürekli olmak üzere iki çeşit sonikasyon işlemi bulunmaktadır. %100 frekans aralığı, sürekli işlemi ifade eder. Eğer, frekans aralığı %100' den küçükse kesikli proses olarak adlandırılır. Frekans aralığı sistemdeki zararlı etkilerin (aşırı sıcaklık yükselmesi gibi) oluşmasını önler. Frekans aralığı arttıkça daha yüksek sıcaklık ortaya çıkar [18; 19].

Titreşim oranı, zamana göre enerji konsantrasyonunu ifade eder. Yani, cihazın açık olduğu sürenin kapalı olduğu süreyle karşılaştırılması sonucu elde edilen bir orandır. Örneğin, titreşim oranı 1:4 ve toplam titreşim süresi 10 milisaniye ise; sonikasyon ünitesi bir birim süre (2 milisaniye) enerji vermekte, 4 birim süre (8 mili saniye) enerji vermemektedir. Yani; sürenin % 20'sinde cihaz çalışmaktadır. Sonikasyon cihazı daha yüksek frekans aralığında, daha fazla enerji verir. Çizelge 5.3'te frekans aralığı ile titreşim oranlarının karşılaştırılması yapılmıştır [20].

Çizelge 5.3 Frekans aralığı ve titreşim oranlarının karşılaştırılması [20]

İşlem Modu	Titreşim Oranı	Frekans Aralığı
Sürekli		%100
Kesikli	1:1	%50
	1:2	%33
	1:3	%25
	1:9	%10

### 5.3 Sonikasyonun Genel Prensipleri

Ultrasonik dalgalar; mekanik, elektromanyetik ve termal enerji kaynakları kullanılarak ultrasonik güç çeviriciler ile üretilir [16]. Ultrasonik güç çeviriciler, mekanik ve elektrik enerjisini ses enerjisine çeviren cihazlardır (Povey ve Mason, 1998). Ultrasonik dalgalar; gazlar (hava gibi), sıvılar ve katılar içinde üretilir [16]. Ultrasonik dalgalarının elde edildiği başlıca 3 çeşit dönüştürücü mevcuttur;

- **Sıvı sürücü dönüştürücüler:** Bir sıvının ince bir metal yüzeye hızla çarpmasıyla çalışır. Böylelikle, titreşimler meydana gelir. Bu titreşimsel hareketler ile basınç ve dolayısıyla da kavitasyon oluşur (Povey ve Mason, 1998).
- **Manyetostriktif (manyetik büzülümlü) dönüştürücüler:** Ters manyetostriktif etkisini kullanarak, manyetik enerjiyi ultrasonik enerjiye çevirirler. Bu, metal alaşımlara (ferrometalik gibi) güçlü bir alternatif manyetik alan uygulanarak sağlanır. Bu tip dönüştürücülerin 2 dezavantajı bulunmaktadır. Birincisi, frekans aralığı 100 kHz den küçük olması; ikincisi ise kayıplar nedeniyle sadece %60'a yakın elektriksel verimlilik sağlanabilmesidir (Povey ve Mason, 1998; [16]).
- **Piezoelektrik dönüştürücüler:** Kuvvetli piezoelektrik davranışı gösteren doğal veya yapay tek kristal (kuvars gibi) veya seramik (baryum titanat gibi) kullanıp ters piezoelektrik etki oluşturarak çalışırlar. Seramiklerin şekillendirilmesi daha kolay olduğundan kristallerden daha avantajlıdır. Piezoelektrik etki, ilk olarak 1880 yılında Pierre Curie tarafından ortaya atılmıştır. Kuvars ve roşel tuzu (potasyum sodyum tartarat) gibi asimetrik kristallerin mekanik basınç altında elektrik enerjisi ürettiğini bulmuştur. Aslında mekanik titreşimler, elektriksel salınımların uygulanmasıyla elde edilmektedir. En yaygın olarak kullanılan dönüştürücü piezoelektrik dönüştürücülerdir. Piezoelektrik dönüştürücüler, tüm frekans aralıklarında kullanılabilmekte ve %95 elektriksel verim sağlamaktadır (Povey ve Mason, 1998; [16]).

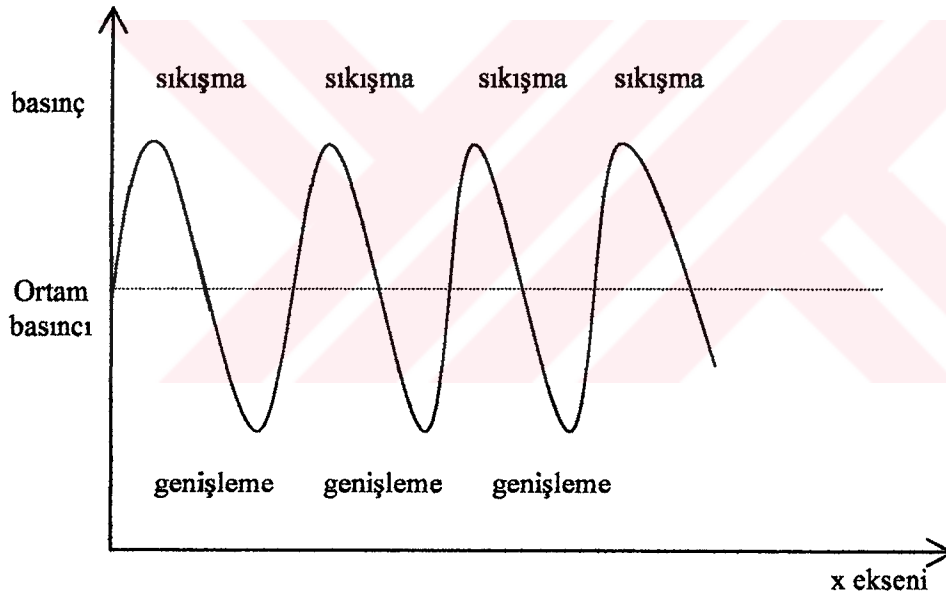
Ultrasonik güç kaynakları, voltaj hattındaki normal elektirik enerjisini yüksek frekanstaki elektrik enerjisine dönüştürmektedir. Bu elektrik enerjisi, mekanik enerjiye dönüştüren proba iletilmektedir. Prob, boylamsal yönde titreşir ve bu hareket çözeltiliye daldırılmış titanyum uca iletilir. Probdaki titreşimler, titanyum uç tarafından şiddetlendirilmektedir. Çözeltiliye yayılan güçlü şok dalgaların etkisiyle oluşan mikroskopik kabarcıkların anlık olarak oluşup sönmesiyle kavitasyon oluşur (Cropek ve Dankowski, 2000; [21]).

#### 5.4 Kavitasyon

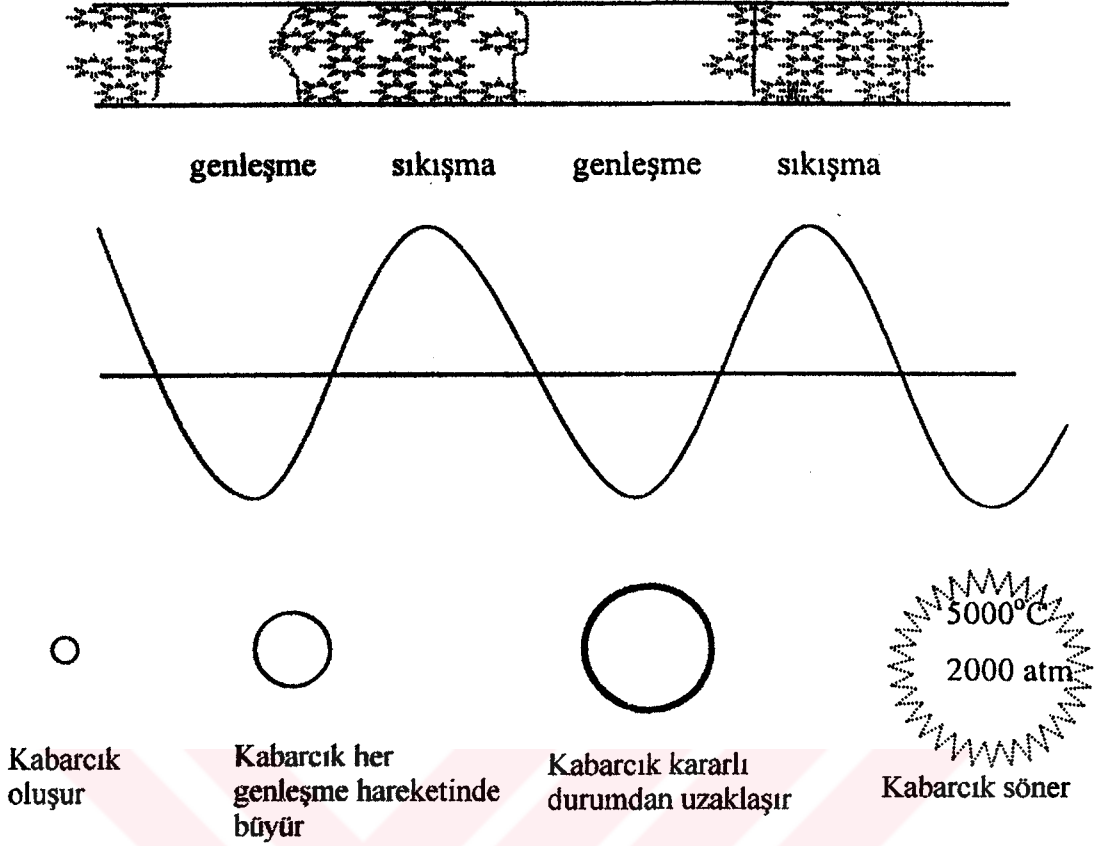
Kavitasyon; sonikasyon uygulanan bir çözeltide, ultrasonik dalgaların genişleme evresinde sıvının içinde mikro kabarcıkların ve çukurların oluşması ve dalgaların sıkıştırma evresinde bu kabarcıkların sönmesi şeklinde gerçekleşen bir akustik prosestir (Schlager, 1998). Sönen kabarcıklar ile ortamda şiddetli dalgalar oluşmaktadır. Kabarcığın oluşması ve sönmesi çok

hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Kaviteasyon, sadece ultrasonik güç uygulandığında oluşmaktadır.

Ses, Şekil 5.1'de gösterildiği gibi ardarda gelen sıkışma ve genişmelerden oluşan basınç dalgaları halinde ilerler. Bu basınç dalgaları, içinde ilerledikleri ortamdaki moleküllerin titreşimlerini etkiler (Andaç, 2002). Bir sıvı sıkışma dalgalarına kolaylıkla dayanırken, yeterince güçlü bir genişleme dalgası sıvı molekülleri arasındaki bağların kopmasına sebep olabilir. Bu durumda oluşan boşluk, sıvı içinde bulunan gaz yada buhar tarafından doldurulur ve kaviteasyon baloncuğu oluşur. Oluşan bu baloncuk peşpeşe birkaç genişleme dalgası boyunca ortamdaki gaz yada buhar olarak büyümeye devam eder ve kararlı durumunu kaybeder. Böylece bir sıkışma dalgası kaviteasyon baloncuğunun patlamasına neden olur (Andaç, 2002; Casadonte, 2000). Şekil 5.2'de bir kaviteasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönməsi gösterilmiştir.



Şekil 5.1 Ultrasonik dalgaların ilerleyişi (Andaç, 2002)



Şekil 5.2 Kaviteasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönməsi (Casadonte, 2000; Giz, 2000)

### 5.5 Kaviteasyonu Etkileyen Faktörler

- **Uygulanan frekansın etkisi:** Ultrasonik dalgaların frekansı arttıkça, sıvılardaki kaviteasyonun şiddeti ve üretimi azalır. Bunun sebebi, çok yüksek frekanslarda genişleme ve sıkışma evrelerinin çok kısa olmasıdır. Genişleme evresinin sınırlı zamanı, kabarcığın yeterli derecede büyümesine izin vermez. Genişleme sırasında kabarcık üretilse bile, sönməsi için belirli bir süre gereklidir. Bu nedenle, yüksek frekanslarda meydana gelen kaviteasyon etkiler daha az olur.
- **Çözücünün etkisi:** Bir sıvıda boşlukların ve mikrokabarcıkların oluşması için, sıvının kohesiv kuvvetlerinin üstesinden gelebilecek genişleme evresiyle etkisini gösteren negatif bir sabit basınç gereklidir. Viskoz veya yüksek yüzey gerilimli sıvılarda bu daha zordur. Bu durumda daha büyük şiddet gereklidir. Bununla birlikte; viskoz sıvı kaviteasyon kabarcığını üretebilirse, kabarcıkların çökmesinden ortaya çıkan sıcaklık ve basınç etkileri oldukça büyük olur. Çünkü çökme başlangıcında basınç çok fazladır. Kaviteasyona etki eden diğer çözücü faktörü de buhar basıncıdır. Bu direkt olarak sıcaklıkla ilgilidir.

- **Sıcaklığın etkisi:** Reaksiyon sıcaklığının artması, daha düşük akustik şiddetlerde kavitasyona izin verir. Bu, sıvının ısıtılmasıyla buhar basıncının artmasının direkt bir sonucudur. Buhar basıncı artarsa, uygulanan akustik basıncın etkisi azalır, dolayısıyla kavitasyon kabarcıklarının çökmesinin sonucu olan etkiler azalır. Sonuç olarak, maksimum sonokimyasal yarar sağlamak için deneylerin düşük sıcaklıkta yapılması gerekir. Çözücünün düşük buhar basıncına sahip olması tercih edilmelidir.
- **Gaz tipi ve içeriği:** Küçük atomlu gazların kullanımı, içi gaz dolu kabarcıkların daha büyük sonokimyasal etkiler yaratmasını sağlayacaktır. Bu nedenle tek atomlu gazlar (He, Ar, Ne) iki atomlulara göre tercih edilir. Sıvının gaz içeriği arttıkça, zayıf noktalarda artma olur ve kavitasyon eşiği düşer.
- **Uygulanan dış basıncın etkisi:** Dış basıncın artırılmasıyla kavitasyon eşiğinde ve kabarcık çökme şiddetinde bir artma olur.  $P_h$  (sıvının basıncı) -  $P_a$  (akustik basınç)  $> 0$  ise, kavitasyon kabarcığının oluşmadığı kabul edilir. Yüksek dış basınç, yüksek  $P_a$  değeri vereceğinden,  $P_h - P_a < 0$  olur. Bu durum ultrasonik şiddeti yeterli derecede attıracak ve kavitasyon üretecektir (Koç (Öncül), 2001).

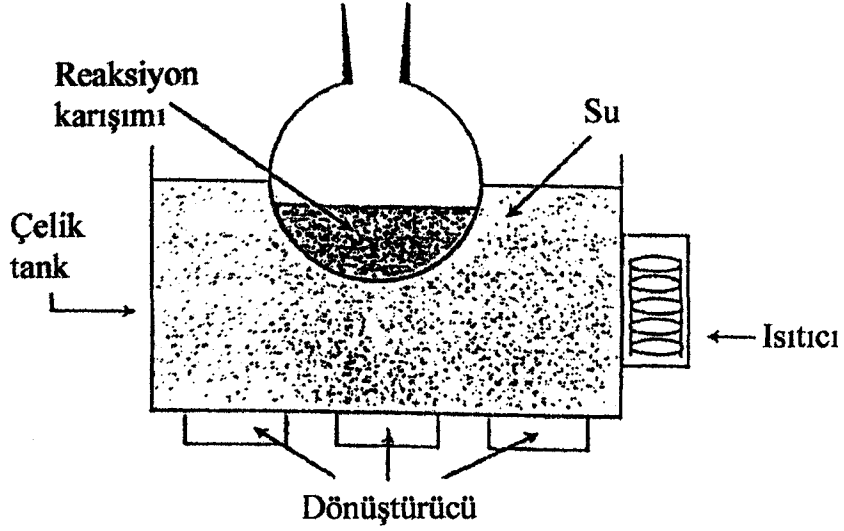
## 5.6 Sonikasyon İşleminde Kullanılan Cihazlar

Sonikasyon kaynağı olarak, elektrik enerjisini ses enerjisine çeviren bir dönüştürücü kullanılır. Laboratuarlarda en çok kullanılan sonikasyon cihazları, ultrasonik banyo ve ultrasonik prob sistemidir (Koç (Öncül), 2001).

### 5.6.1 Ultrasonik banyo

Basit bir ultrasonik temizleme banyosu en fazla kullanılan ve en ucuz ultrases kaynağıdır (Şekil 5.3). Banyonun kendisini reaksiyon kabı olarak kullanmak mümkün ise de bu genellikle banyo duvarlarının korozyonu, buharların veya gazların yayılmasının kontrolü gibi problemlerden dolayı çok nadir yapılır. Standart kullanımda, cam reaksiyon kapları ultrasonik banyo içine daldırılır.

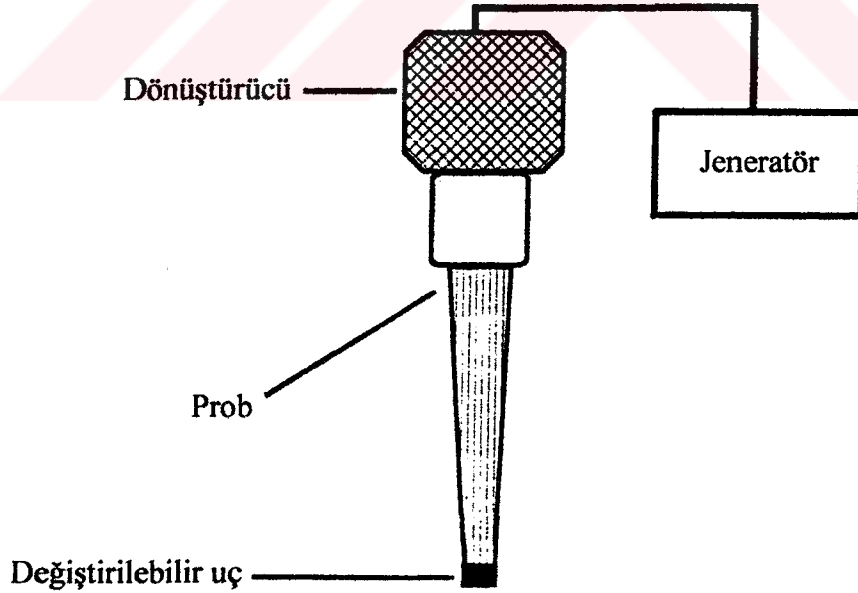
Reaksiyon kabı için özel bir adaptör gerekli değildir. Kap içerisinde inert bir atmosfer veya basınç sağlanabilir. Cihazın duvarlarından reaksiyon ortamına ulaşan enerji miktarı düşüktür, normal olarak  $1-5 \text{ W cm}^{-2}$  arasındadır. Ticari ultrasonikasyon banyolarında termostatik kontrol genellikle zayıftır ve bu nedenle sistem ek olarak termostatik kontrol gerektirir (Koç (Öncül), 2001; Povey ve Mason, 1998).



Şekil 5.3 Ultrasonik temizleme banyosu (Povey ve Mason, 1998)

### 5.6.2 Ultrasonik prob

Ultrasonik prob, reaksiyon ortamına direkt olarak ultrasonik enerjinin uygulanmasını sağlar. Prob sisteminde, banyo sisteminde bulunan reaktör duvarları ve dalganın transfer edildiği su ortamı aradan çıkarılmıştır (Şekil 5.4).



Şekil 5.4 Ultrasonik prob sistemi (Povey ve Mason, 1998)

Bu tip sistemlerin gücü kontrol edilebilir ve banyo sistemine göre daha yüksek güç yoğunluğu (maksimum birkaç yüz  $W\text{ cm}^{-2}$ ) sağlanabilir. Ancak, prob sistemi banyodan daha pahalıdır (Koç (Öncül), 2001; Povey ve Mason, 1998).

### 5.7 Sonikasyonun Yararları

Kimyasal ve biyokimyasal proseslere sonikasyon işleminin uygulanmasındaki en önemli amaç, kimyasal reaktifliği arttırmaktır (Lii vd., 1999). Reaksiyon hızını arttırmak için kullanılan yöntemler;

- Reaksiyon sıcaklığını arttırmak,
- Reaktanların konsantrasyonunu arttırmak,
- Dış basıncı arttırmak,
- Katalizör kullanımı,
- Sonikasyon'dur.

Sonikasyonun reaksiyona etkisi, katalizörün reaksiyonu hızlandırma etkisine benzemektedir. Sonikasyon, en çok katalitik bazlı (katalizörün kullanıldığı) proseslerde etkili olmaktadır. Ultrasonik ve enzimatik etkiler; proses süresini kısaltmakta ve yüksek oranda dönüşüm sağlamaktadır. Ayrıca, sonikasyon cihazı yaydığı dalgalarla ortamın sıcaklığını yükseltmektedir. Bu nedenle sistemde soğutucu bulundurulmalıdır (Schlager, 1998). Yapılan çalışmalar sonucu, ses ötesi dalgaların enzimatik reaksiyonlar üzerinde 1000 kat daha etkili olduğu görülmüştür. Aynı tepkime süresine sahip bir kimyasal çalışmada, ses ötesi dalgaların uygulandığı sistemde, karıştırmalı sisteme göre daha yüksek dönüşüm değerlerine ulaşılmıştır. Diğer bir kimyasal çalışmada ise, ses ötesi dalgalar ve karıştırmalı sistem birlikte uygulanarak yüksek dönüşüm değerleri elde edilebilmiştir (Yalçın vd., 2002).

Sıvı ortamda, sonikasyonun biyokimyasal reaktifliğe etkileri iki temel akustik olaydan elde edilir (Schlager, 1998);

- Akustik dalga
- Kaviteasyon

Ses ötesi dalgaların uygulandığı sistemlerde meydana gelen titreşim, etkili bir karışma meydana getirir (Yalçın vd., 2002). Sonikasyonun karıştırıcı etkisi;

- Kütle transferi
- Aktif kısımlardaki yenilenme ve üretim hızı
- Enzim yüzeylerindeki ürün ve toksinlerin desorpsiyonunu sağlar (Schlager, 1998).

Organik maddelerin büyüklükleri, onların biyolojik degradasyon hızının saptanmasını sağlar. Büyük moleküllerin ve kolloidal maddelerin degradasyonu yavaştır. Çünkü, moleküllerin hücre zarına nüfuz etmeleri zordur. Yavaş hidroliz reaksiyonları sonikasyonun uygulanmasıyla hızlandırılabilir (Neis, 2002).

Kimyada sonikasyon kullanımının diğer avantajları şu şekilde özetlenirse; sonikasyon uygulandığı zaman, reaksiyon hızlandırılır veya daha kolay şartlarda gerçekleştirilebilir. Reaksiyonlarda indüksiyon süresi önemli derecede azaltılır. Reaksiyonlar, genellikle ek kimyasal madde gerektirmeden sonikasyon ile başlatılabilir. Bazı sentezlerde reaksiyon basamağı sayısı azaltılabilir. Bazı durumlarda ise reaksiyon, sonikasyon etkisi ile tamamen farklı bir yolla gerçekleştirilebilir (Koç (Öncül), 2001). Sonikasyon kullanımının çok az dezavantajı bulunmaktadır. Bu dezavantajlar ise, cihazın gürültülü çalışması ve sonikasyonun endüstriye uygulanmasındaki maliyettir.

## **5.8 Sonikasyonun Kullanım Alanları**

Teknolojide görülen gelişmelere paralel olarak sonikasyonun kullanım alanları hızlı bir şekilde artmaktadır. Çizelge 5.4'de sonikasyonun kullanım alanları verilmiştir.

Çizelge 5.4 Sonikasyonun kullanım alanları (Andaç, 2002; Cropek ve Dankowski, 2000; Chisti, 2003; Koç (Öncül), 2001; [16])

Alan	Uygulama
Biyoloji, Biyokimya	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Homojenleştirme</li> <li>• Hücre parçalanması</li> </ul> <p>Akustik güç, çeşitli çalışmalar için hücre duvarlarını parçalayarak, hücrelerdeki istenmeyen yapıları ayırmada kullanılır. Ayrıca, hücreler inaktive edilebilir.</p>
Kimya	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reaksiyon süresini azaltma</li> <li>• Reaksiyon verimini arttırma</li> <li>• Reaksiyon mekanizması değiştirme</li> <li>• Katalizör aktivitesini arttırma</li> <li>• Radikal oluşturma</li> <li>• İndüksiyon süresini azaltma</li> <li>• Homojenizasyon ve karıştırma</li> <li>• Hidroliz</li> </ul>
Coğrafya, Jeoloji	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vuruş/yankı teknikleri</li> <li>• Petrol yataklarının yerinin saptanması</li> <li>• Deniz ve okyanuslarda derinlik ölçümü</li> <li>• Sonar (ultrasonik radar)</li> </ul>
Endüstri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Boyalar ve katıların; boya, mürekkep ve reçineler içinde kolayca dağılmasını sağlar.</li> <li>• Ultrasonik banyolara daldırılarak yağlamayı azaltma ve temizleme işlemleri yapılır.</li> <li>• Akustik filtrasyon ve ultrasonikasyon ile kurutma uygulamaları ise pek yaygın değildir.</li> </ul>
Plastikler ve Polimerler	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Termoplastiklerle kaynak yapımında,</li> <li>• Polimerizasyon reaksiyonlarını başlatmada,</li> <li>• Polimer zincirlerinin kırılmasında.</li> </ul>

Çizelge 5.4 (Devam)

Okyanus bilimi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Su altının izlenmesi</li> <li>• Deniz tabakasının hatlarının çizilmesi</li> <li>• Batık gemilerin bulunması</li> <li>• Balık sürülerinin aranması</li> </ul>
Metalurji ve Malzeme	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metal oksit katalizör hazırlama</li> <li>• Kolloid ve dispersiyon hazırlama</li> <li>• Elektroliz</li> <li>• Metal ve plastik birleştirme-kesme</li> <li>• Yüzey temizleme: Elektronik aksamalar, otomotiv, uçaklarda kullanılan metal, seramik veya kristal yüzeylerden gres (katı yağ), pas ve boyaların çıkarılması gibi</li> <li>• Lehimleme ve kaynak</li> <li>• Malzemelerin işlenmesi: Karmaşık şekillerin, çok sert ve aşındırıcı malzemelerin işlenmesinde kullanılabilir. Yumuşak çelik, seramik, cam, tungsten gibi malzemeler bu teknikle işlenebilir.</li> <li>• Malzemelerdeki hataların bulunması: Vuruş yankı tekniği kullanılır. Bu teknikte ses dalgaları, muayene edilecek nesneye gönderilir ve yankı analiz edilen içteki hata veya geometrik yüzeyin bir bölümünden alıcıya geri döner. Hatalar ve maddenin içindeki diğer düzensizlikler dalgaların yansımada değişiklikler meydana getirir. Vuruş yankı metodu öncelikle kaynak ve dökümlerin incelenmesinde kullanılır.</li> <li>• Akustik mikroskop: 1 <math>\mu</math> seviyesine kadar detaylar görülebilir.</li> <li>• Malzeme özelliklerinin belirlenmesi (parçacık büyüklüğü, gözeneklilik, kırılma mukavemeti gibi özellikler)</li> </ul>
Gıda	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Köpük giderme</li> <li>• Karıştırma ve oksidasyon</li> </ul>
Diş hekimliği	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dişlerin temizlenmesi ve delinmesinde kullanılır.</li> </ul>

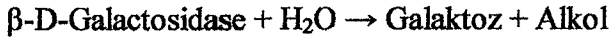
Çizelge 5.4 (Devam)

İlaç	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enzim aktifleştirme</li> <li>• Emülsiyon haline getirme</li> <li>• Kemoterapi uygulamaları</li> </ul>
Tıp	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cerrahi aletlerin sterilizasyonu</li> <li>• Görüntüleme teknikleri: İnsan kalbindeki kanın akışı, kalp kapakçıklarının durumu (doppler); böbrek, safrataşı ve tümörlerin tetkikinde kullanılmaktadır. 2-10 MHz frekans aralığı sonikasyon ile görüntüleme, özellikle doğumlarda, fetusu (cenini) gözlemek için ve ameliyatlarda kesim aletlerine rehberlik etmek için kullanılır.</li> <li>• Fizyoterapi: Düşük frekanslarda (20-50 kHz) kas incinmelerin tedavisinde kullanılır.</li> </ul>
Elektronik	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elektronik komponentlerin muayenesi, temizliği ve montajı</li> <li>• Yüzey akustik dalga filtreleri ultrasonik frekanslarla çalışır. Bunlar cep telefonu ve TV alıcıları için önemlidir.</li> </ul>
Tarım	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hayvanlardaki yağ tabakasının kalınlığını ölçmek</li> <li>• Homojenleştirilmiş sütün kalitesini artırma</li> <li>• Haşerelelele ile mücadele</li> </ul>

## 6. $\beta$ -GALACTOSIDASE ENZİMİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ

$\beta$ -Galactosidase enzimi, süt endüstrisinde, süt ve süt ürünlerinden laktozun hidrolizinde kullanılan çok saflaştırılmış laktazdır. Kaynakları farklı mikroorganizmalar olan birçok  $\beta$ -galactosidase enzimi bulunmaktadır.

$\beta$ -Galactosidase enzimi, süt şekeri laktozu, glukoz ve galaktoz olarak iki monosakkarite hidrolize eder.  $\beta$ -Galactosidase enzimi, aşağıdaki hidroliz reaksiyonunu katalizler, hidroliz reaksiyonu sırasında, bir molekül su kullanılır ve şeker molekülü bağlanır. Optimum pH 6-8 aralığındadır. Enzim suda çözünürdür [22].



Reaksiyonun oluştuğu ortam, sıcaklık, asitlik, işlem zamanı, laktoz konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu reaksiyonun hızını belirler. Çözelti yüksek konsantrasyonda laktoz içeriyorsa, transgalaktosidasyon reaksiyonu gerçekleşir. Bu reaksiyonda, hidrolizin son ürünü olan glukoz ve galaktozdan disakkarit ve trisakkaritler oluşur. Hidroliz süresi uzatıldığında oluşan ürünlerin tekrar parçalanmasına rağmen çözelti % 25-30 laktoz içeriyorsa, % 8'e kadar disakkarit ve % 5'e kadar trisakkarit oluşabilir (DSM Food, 2004).

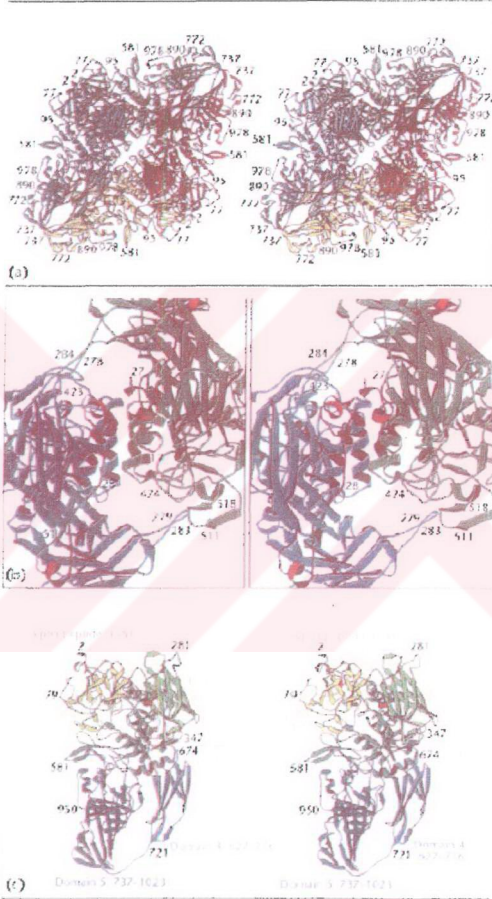
$\beta$ -Galactosidase enzimi, rengi sarıdan açık kahverengiye doğru bir tonda olan viskoz bir sıvıdır.  $\beta$ -Galactosidase enzimi, yapısında birçok element bulundurmaktadır. Bunların başlıcaları kurşun, arsenik, civa, kadmiyumdur.

### 6.1 $\beta$ -Galactosidase Enziminin Yapısı

Moleküler ağırlığı yaklaşık 540.000 olan  $\beta$ -galactosidase dört eşdeğer alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Her bir alt birim yaklaşık 120-135 kDa molekül ağırlığındadır.  $\beta$ -Galactosidase açıklanan en uzun protein zincire sahip enzimdir. Her bir alt birimi yaklaşık 1021-1170 amino asit içermektedir (Nichtl, 1998; Ullman, 2001; [22]).

2.5 Å çözünürlükte kristal yapıdaki çift sarmal  $\beta$ -galactosidase'ın boyutları kabaca 175x135x90 Å' dır. Molekül çapı yaklaşık 5.39 nm' dir (Nichtl, 1998).

Şekil 6.1'de  $\beta$ -galactosidase'nin 3 boyutlu yapısı görülmektedir. Şekil 6.1(a)'da  $\beta$ -galactosidase tetramer molekülünün en geniş yüzünü gösteren kurdele şekli bulunmaktadır. Kırmızı/yeşil ve mavi/sarı dimerlerin etkileşimi uzun arayüzeyleri oluşturmaktadır.



Şekil 6.1  $\beta$ -Galactosidase enziminin kimyasal görünümü [13]

Şekil 6.1(b)'de molekülün çift sarmal yapıdaki kurdele diyagramındaki mavi/yeşil dimer aktifleşmiş arayüzeyin kompozisyonunu göstermektedir. Her zincirdeki  $\alpha$ -tamamlayıcı bölgeyi oluşturan 1-50 arasındaki aminoasitler kırmızıyla gösterilmiştir. Ara yüzey; tamamlayıcı peptidler ile ara yüzeye ulaşan ve komşu molekülün aktif bölgesine kadar genişleyerek yapıyı kararlı kılan her monomerdeki genişlemiş düğüm (272-288 arasındaki aminoasitler) arasındaki etkileşimi içermektedir. Şekil 6.1(c)'de zincirdeki bölümlerin organizasyonunu gösteren  $\beta$ -Galactosidase monomerinin kurdele diyagramı bulunmaktadır. Birbirini izleyen bölümlerdeki aminoasitler, renk skalasında birbirini izleyen renklerle gösterilmiştir (Ullman, 2001).

## 6.2 $\beta$ -Galactosidase Enziminin Endüstriyel Uygulamaları

Sütte bulunan laktozun hidrolizinde kullanılan  $\beta$ -galactosidase enzimi birçok gıda prosesinde kullanılmaktadır. Bunlardan başlıcaları;

- Sütün hidrolizi
- Laktozsuz süt ürünlerinin eldesi
- Dondurma üretimi
- Peynir altı suyunun hidrolizi
- Hayvansal besin uygulamaları'dır.

## 7. $\beta$ -GALACTOSIDASE ENZİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Endüstride kullanılan enzimler için optimum şartların belirlenmesi birçok araştırmacının ilgisini çeken bir konu olmuştur. Yapılan literatür araştırması sonucunda laktozun enzimatik hidrolizi ve  $\beta$ -galactosidase ile ilgili bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

**Kim vd., (2004)** tarafından yapılan çalışmada; *Kluyveromyces lactis* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılarak yapılan laktoz hidrolizasyonunun, Michaelis-Menten kinetiğine uymadığı görülmüştür. Yeni bir kinetik modeli oluşturmak amacıyla, galaktoz ve glukozun  $\beta$ -galactosidase aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Düşük galaktoz ve laktoz konsantrasyonlarında galaktoz, inhibitör etkisi göstermiştir. Buna karşılık, galaktozun (50 mM'den yüksek) ve laktozun (100 mM'den yüksek) yüksek konsantrasyonlarında, galaktoz  $\beta$ -galactosidase'in aktivitesini inhibe etmemiştir. 50 mM'den düşük glukoz konsantrasyonlarda reaksiyon hızının artışı gözlenmiştir ve optimum hidroliz değeri yaklaşık %87 olarak belirlenmiştir. Hidroliz reaksiyonlarında *Kluyveromyces lactis* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi için glukoz ve laktozun konsantrasyonuna bağlı yeni bir model oluşturulmuştur. *Kluyveromyces lactis* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılarak yapılan hidroliz işleminde zamana bağlı reaksiyonlardan elde edilen laktoz konsantrasyon değerlerinin, oluşturulan yeni modelle açıklanabildiği ileri sürülmüştür.

**Numanoğlu ve Sungur, (2004)** tarafından yapılan çalışmada; hücre dışı enzim üreten hücrelerin direkt olarak immobilize edilebildiği, fakat hücre içi enzim üreten hücrelerin öncelikle hücre geçirgenliklerinin artırılması gerektiği belirtilmiştir. Bu çalışmada, *Kluyveromyces lactis* (ATTC 8583) kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılmıştır.  $\beta$ -Galaktosidase enzimi hücre içi bir enzim olduğundan; geçirgen hale getirilmiş ölü hücreler, glüteraldehit kullanılarak jelatin içerisinde immobilize edilmiştir. İki kimyasal, bir fiziksel proses test edilmiştir. Kimyasal metotlarda toksitlenme oranları daha yüksek olduğundan, fiziksel metodun daha uygun olduğuna karar verilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, serbest hücrelere oranla immobilize hücrelerin aktivitesinin %30 oranında daha fazla olduğu gözlenmiştir.

**Roy ve Gupta, (2003)** tarafından yapılan çalışmada; ticari adı Lactozym<sup>TM</sup> olan *Kluyveromyces fragilis* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase seltüloz tanecikleri üzerinde epiklorodin yardımıyla immobilize edilmiştir. Peynir altı suyundan elde edilen laktozun %90 oranında hidrolizlenmesi akışkan yataklı reaktörde 5 saatte gerçekleşirken, aynı işlem sürekli sistemde

48 saat belirlenmiştir. İmmobilize enzimin, akışkan yataklı reaktörde performansında herhangi bir azalma olmadan 3 kere kullanılabilirdiği belirtilmiştir. İmmobilizasyon sonunda enzim için optimum pH 7 ve sıcaklık 55 °C olarak bulunmuştur. Akışkan yataklı reaktörde %60 verimde süt hidrolizinin 5 saat sonunda elde edilebileceği ileri sürülmüştür.

**Pessela vd., (2003)** tarafından yapılan çalışmada; *Thermus* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi; galaktoz (3.1 mM) ile rekabetçi olacak ve glukoz (49.9 mM) ile rekabetçi olmayacak şekilde inhibe edilmiştir. Bu durum enzimin endüstriyel performansı üzerinde etkili olmuştur. %5'lik laktoz hidrolizinde, çözünebilir enzimler kullanılırken, reaksiyon %90'lık hidroliz oranında durmuştur. Bu çalışmanın sonucunda,  $\beta$ -Galactosidase enzimi immobilizasyonunun, süt içerisindeki laktoz hidrolizinde veya 70°C'deki peynir altı suyundaki laktozun hidrolizinde kullanılabilineceği gösterilmiştir. Çözülebilir enzimlerle yapılan bu çalışmada, galaktoz ve glukozun güçlü inhibisyonu nedeniyle, laktoz %85 oranında hidrolizlenmiştir. İmmobilize edilmiş  $\beta$ -galactosidase enziminin yüksek stabilitesi nedeniyle, reaksiyonun 70°C'de yapılması önerilmiştir.

**Burin vd., (2003)** tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus oryzae* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enziminin peynir altı suyundaki aktivitesi renk koyulaşması ve matrisindeki fiziksel değişimlere bakılarak analiz edilmiştir. Amorf sistemler,  $\beta$ -galactosidase ve peynir altı suyu içeren ama maltodekstrin içermeyen çözeltilerin soğutularak kurutulması yöntemiyle elde edilmiştir. Numuneler (gözenekli ya da önceden sıkıştırılmış) %0, %22 ve %44 relatif nem içeren atmosferlere maruz bırakılmış ve 70 °C'de saklanmıştır. Kalan enzim aktivitesi ve renk gelişimi seçilen zaman aralıklarında analiz edilmiştir. Enzim aktivitesindeki düşüşün kahverengin oluşumu ile ters orantılı olduğu ve az gözenekli sistemlerde daha belirgin olarak gözlemlendiği belirtilmiştir. Maltodekstrin ilavesi ile enzim aktivitesindeki düşüş yavaşlatılmış, renk gelişimi ve laktoz kristallenmesi geciktirilmiştir.

**Di Serio vd., (2003)** tarafından yapılan çalışmada alüminyum oksit ve silisyum oksit gibi farklı oksit destekleri üzerine immobilize edilmiş *Kluyveromyces marxianus* (*Saccharomyces*) *lactis* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enziminin kinetik davranışı incelenmiştir. İmmobilize enzim aktivitesinin, destek malzemesinin kimyasal yapısı ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Destek malzemesinin partikül büyüklüğünün artışıyla enzim aktivitesinin hızla düştüğü tespit edilmiştir. En uygun immobilize destek malzemesi silisyum oksit olarak belirlenmiştir. Silisyum oksit kürecikleri üzerine immobilize edilmiş  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılarak pH=7 için laktoz hidrolizi; farklı besleme hızları, ürün

konsantrasyonları ve sıcaklıklar gibi farklı operasyon koşulları için gerçekleştirilmiştir. En yüksek laktoz dönüştürme oranı Milipore Silica 150A üzerine immobilize edilmiş 4 g  $\beta$ -galactosidase enzimi kullanılarak 37 °C sıcaklık ve 4 cm<sup>3</sup>/dakika besleme hızı için elde edilmiş olup yaklaşık %80'dir. İlgili kinetik modeller Michaelis-Menten'e uygun olarak kurulmuştur.

**Tanriseven ve Doğan, (2002)** tarafından yapılan çalışmada; *Aspergillus oryzae* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi, gliteraldehit ile katılaştırılmış jelatinden oluşan tüpler içerisinde, immobilize edilmiştir. Immobilizasyon işlemi sonucunda, 35 gün boyunca relatif aktivite %56 oranında sabit tutulmuştur. Optimum şartlar immobilizasyon işleminden etkilenmemiş, serbest ve immobilize edilmiş enzimler için optimum pH değeri 4.5, optimum sıcaklık değeri de 50°C olarak belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık ve pH'da immobilize edilmiş  $\beta$ -galactosidase enzimlerinin daha kararlı oldukları gözlenmiştir. Çözünabilir ve immobilize edilmiş  $\beta$ -galactosidase'nin kinetik parametreleri belirlenmiştir. Yeni geliştirilen immobilizasyon metodu, basit ancak etkilidir. Bu metodun, diğer enzimlerin immobilizasyon işlemlerinde de kullanılabilineceği belirtilmiştir.

**Vasiljevic ve Jelen, (2002)** tarafından yapılan çalışmada;  $\beta$ -galactosidase kaynağı olarak kullanılan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842'nin üreme ortamında pH'ı ayarlamak için NaOH, KOH ve NH<sub>4</sub>OH gibi üç farklı nötralleştirici kullanılmıştır. Süt için laktoz hidroliz kinetikleri ile proteolitik aktivite değerleri incelenmiştir. NH<sub>4</sub>OH kullanımının NaOH, KOH kullanımına kıyasla enzim aktivitesini oldukça arttırdığı tespit edilmiştir. Sütteki laktoz hidrolizi için Michaelis-Menten modeline ait  $k_{cat}$  ve  $k_m$  katsayıları %1 (hacim/hacim) enzim konsantrasyonu için hesaplanmıştır. Laktoz hidroliz hızının başlangıçtaki enzim aktivitesi ve sıcaklığa bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. En yüksek laktoz hidroliz hızı 65 °C için elde edilmiş; ancak, 1-1.5 saat sonunda enzimin deaktive olduğu belirlenmiştir. HPLC peptit haritalama yöntemi kullanılarak tayin edilen proteolitik aktivitenin 20-37 °C arasındaki sıcaklıklar için daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

**Elliot vd., (2001)** tarafından yapılan çalışmada; laktozun katalitik hidrolizini içeren proseste, şeker alkolünü üreten katalitik hidrojenasyon ve katalitik hidrojenoliz, peynir altı suyu laktozu üretiminde kullanılmıştır. Bu çalışmada hidroliz derecesi yaklaşık %92 olarak bulunmuştur.

**Ladero vd., (2001)** tarafından yapılan çalışmada; hem çözelti içinde hem de silika alüminyum üzerinde immobilize edilmiş *Escherichia coli* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi

kullanılarak laktoz ve orto-nitrophenol- $\beta$ -D-galactoside'in (ONPG) hidrolizi incelenmiştir. Bu araştırmada kullanılan enzim genetik mühendisleri tarafından modifiye edilmiş ve kromotografik yolla homojenize edilmiştir. Laktozun hidrolizinde, glukozdan dolayı inhibe edilmiş, rekabetçi olmayan enzimin özellikleri gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, galaktozun herhangi bir inhibisyon etkisine rastlanmamıştır. ONPG hidrolizinde, hem serbest enzimler hem de immobilize enzimler için optimum pH 7.5-8 olarak bulunmuştur. Laktoz hidrolizinde ise serbest enzimler için optimum pH yaklaşık 6 olarak gözlemlenirken immobilize enzimler için optimum pH yaklaşık 7'dir. Immobilize edilmiş enzimler katalizör görevi görürken; laktoz, hidroliz işleminde rekabetçi olmayan inhibitör görevi yapmıştır. 40 °C üzerindeki sıcaklıklarda enzim immobilizasyon işleminin katalitik aktiviteyi etkilemediği gözlemlenmiştir. Fakat Michaelis-Menten sabiti ( $k_m$ ), serbest enzimlerde, 5 °C'de yüksek değerde, 40 °C'de daha düşük değerdedir. Sıcaklığın artırılması ile, serbest enzimlere kıyasla immobilize enzimlerde aktivitenin daha az etkilendiği görülmüştür. 40 °C'de laktoz ve glukoz inhibisyonu birbirine benzer olduğu halde 5 °C'de bir benzerlik gözlemlenmemiştir. Düşük sıcaklıklara kıyasla yüksek sıcaklıklarda immobilizasyon prosesi, enzimlerin katalitik aktivitesini düşürmüştür. Hidroliz, bunun tam tersi bir özellik göstererek; 40 °C'de yaklaşık %50 iken, 5 °C'de yaklaşık %2 olarak hesaplanmıştır.

**Bury vd., (2001)** tarafından yapılan çalışmada, maya ekstraktı ile desteklenmiş peynir altı suyunda yetiştirilen *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842 kültürleri sonikasyon, yüksek hızlı dolgu malzemeleri ile öğütme ve yüksek basınçlı homojenizasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak hücre içi enzim olan  $\beta$ -galactosidase'ın hangi oranlarda dışarı verildiği tayin edilmiştir.  $\beta$ -galactosidase aktivitesi orto-nitrophenol- $\beta$ -D-galactoside (ONPG) kullanılarak ölçülmüştür. Hücre dışına verilen aktif  $\beta$ -galactosidase'ın %12-46 (ağırlıkça) arasındaki hücre konsantrasyonları için çok fazla değişmediği gözlenmiştir. Maksimum aktivite 2-3 dakika sonunda dolgu malzemeleri ile öğütme ve yüksek basınçlı homojenizatörden (135 MPa) 3 geçişten sonra elde edilmiştir. 200 MPa'daki homojenizatörden tek geçişte hücre dışına verilen aktif  $\beta$ -galactosidase miktarı ile 135 MPa'daki homojenizatörden 3 geçiş sonunda hücre dışına verilen  $\beta$ -galactosidase miktarı hemen hemen aynıdır. Sonikasyonun,  $\beta$ -galactosidase enziminin hücre dışına verilmesinde yüksek hızlı dolgu malzemeleri ile öğütme ve yüksek basınçlı homojenizasyon kadar etkili olmadığı tespit edilmiştir.

**Szczodrak, (2000)** tarafından yapılan çalışmada; *Kluyveromyces fragilis* kaynaklı, %90'dan yüksek aktivitede tutuklanmış ve hidrojen bağları modifiye edilmiş, doğal  $\beta$ -galactosidase

enzimi gözenekli cam üzerinde immobilize edilmiştir. Yüksek katalitik aktivite, geniş pH aralığındaki stabilite ve serbest kalan enzimlerin aktivitesini koruduğu sıcaklık aralığı incelenmiştir. Aynı zamanda, sıvı fazdaki enzimlerin, optimum pH aralığındaki (pH=6-7) ve optimum sıcaklık aralığındaki (35-50°C) değişimleri gözlemlenmiştir. Hem kesikli proseste hem de geri dönüşümlü dolgulu yatak biyoreaktörlerinde; peynir altı suyunun içindeki yüksek verimlilikteki laktozun şekerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.



## 8. MATERYAL VE YÖNTEM

### 8.1 Kullanılan Materyaller

- $\beta$ -Galactosidase enzimi
- Süt
- Glukoz Deney Kiti
- ONPG çözeltisi
- Glukoz Standart Çözeltisi
- 100 mM fosfat tampon çözeltisi
- Kimyasal maddeler (5 M HCL, 1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

Sütteki laktozun hidroliz işleminde kullanılan, ticari adı Maxilact LX 5000 olan, *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi (ürün kodu: EC 3.2.1.23) oldukça saflaştırılmış sıvı laktaz preparatı olup likit kıvamda DSM Food Speacialties firmasından sağlanmış ve çalışmalar süresince 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Rengi soluk kahverengiden koyu kahverengiye doğru bir tonda olan, bulanık viskoz bir sıvıdır. Aktivitesi gramında 5000 Doğal Laktaz Birimidir (NLU). 1 NLU deneysel koşullarda bir orto-nitrophenol- $\beta$ -D-galactoside (ONPG) substratından 1.3  $\mu$ mol orto-nitro-fenol oluşturan enzim miktarıdır.

Toz haldeki ONPG (ürün kodu: EC 206-716-1) Sigma firmasından sağlanmış olup çalışmalar süresince -20 °C'de dondurucuda saklanmıştır. ONPG çözeltisi, 100 ml pH 7.3'teki 100 mM'lık fosfat tampon çözeltisi içerisinde 300 mg ONPG çözülerek hazırlanmıştır.

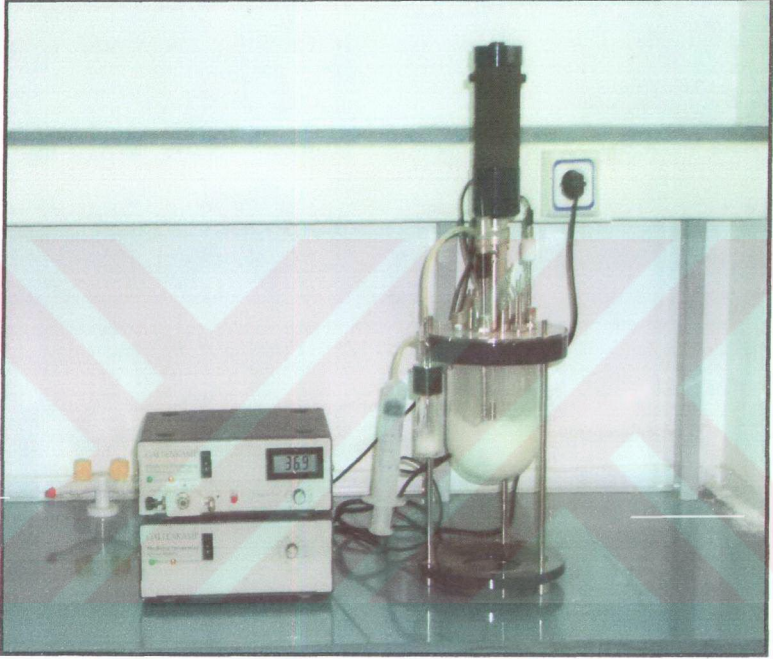
Hidroliz işlemi için kullanılan süt SEK Süt'ten, glukoz deney kiti (ürün kodu: 02-0541) Elitech firmasından sağlanmış olup çalışmalar süresince 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

### 8.2 Kullanılan Cihazlar

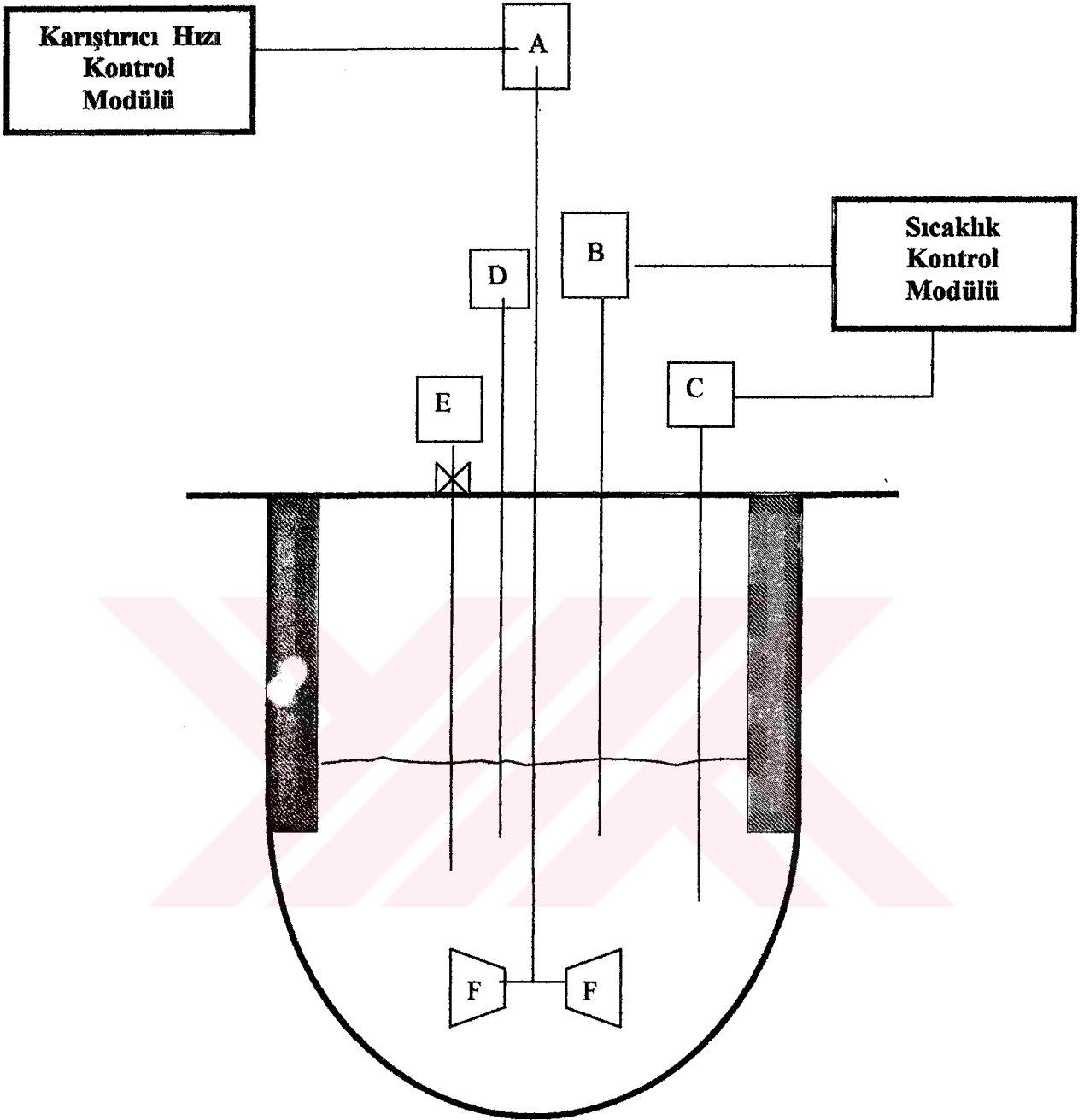
#### 8.2.1 Biyoreaktör

Bu çalışmada, Sanyo Gallenkamp firması tarafından üretilen modüler biyoreaktör sistemi (FER-195-010) kullanılmıştır. Bu sistem, bir biyoreaktör ile karıştırıcı hızı, sıcaklık, pH'ı kontrol eden modüllerden oluşmaktadır. Ayrıca, örneklerin hidroliz tayini için 37°C'ye

ayarlanmış bir su banyosu, enzim aktivite tayini için 28 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu ve absorban değerlerini okumak için de Shimadzu marka UV-150-02 çift ışınlı spektrofotometre kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan biyoreaktör sisteminin genel görünüşü Şekil 8.1'de, şeması Şekil 8.2'de verilmiştir.



Şekil 8.1 Biyoreaktör sisteminin genel görünüşü



- |                       |                          |
|-----------------------|--------------------------|
| A : Karıştırıcı motor | E : Örnek alma kabı      |
| B : Isıtıcı           | F : Karıştırıcı kanatlar |
| C : Termistör         | ■ : Engeller             |
| D : Termometre        | ⊗ : Örnek alma vanası    |

Şekil 8.2 Biyoreaktör ve kontrol modüllerinin şeması

Kullanılan biyoreaktör 1 litre hacminde, çelik kapaklı ve yuvarlak tabanlı, tüm parçaları paslanmaz çelikten yapılmış, pyrex cam bir reaktördür. Biyoreaktörün kapağı üzerinde problemlerin yerleştirilmesi ve gerekli ilavelerin yapılmasına olanak sağlayan girişler (15 adet) bulunmaktadır. Reaktörde, reaksiyon çözeltisinden örnek alınabilmesi için, bir örnek vanası ve kabı mevcuttur. Karıştırma, çelik kapağa monte edilen bir karıştırıcı motor ile gerçekleştirilmektedir. Karıştırıcı şaftında, altı kanatlı, reaktör tabanından yüksekliği ayarlanabilir Rushton tipi bir karıştırıcı palet mevcuttur. Reaktörde her biri 1.5 cm genişliğinde dört adet simetrik, takılıp çıkartılabilen engeller vardır. Biyoreaktör ile ilgili komponentler ve boyutları Çizelge 8.1’de verilmiştir.

Çizelge 8.1 Biyoreaktör ile ilgili komponentler ve değerleri

<b>Komponentler</b>	<b>Değerler</b>
Reaktör hacmi	1 litre (yuvarlak tabanlı)
Reaktör iç çapı	11 cm
Reaktör dış çapı	12.1 cm
Reaktör yüksekliği	17 cm
Karıştırıcı palet tipi	6 kanatlı Rushton
Karıştırıcı palet sayısı	1
Karıştırıcı palet çapı	4.8 cm
Karıştırıcı kanat genişliği	1.4 cm
Karıştırıcı kanat yüksekliği	1.9 cm
Engel sayısı	4
Engel yüksekliği	13.5 cm
Engel genişliği	1.5 cm
Reaktör tabanından karıştırıcının yüksekliği	3 cm

### 8.2.1.1 Biyoreaktör kontrol modülleri

Deneysel çalışmalar sırasında karıştırıcı hızı ve sıcaklık kontrolünü sağlayan kontrol modülleri ve özellikleri aşağıda sıralanmıştır.

- **Karıştırıcı hızı kontrol modülü:**

Karıştırıcı hızı: 50-1000 rpm

Karıştırıcı motor: 65 W, 24V dc

Karıştırıcı hızının kalibrasyonu bir takometre ile yapılmıştır.

- **Sıcaklık kontrol modülü:**

Sıcaklık: 15-90°C

Doğruluk:  $\pm$  %1

Isıtıcı tipi: dc rezistans

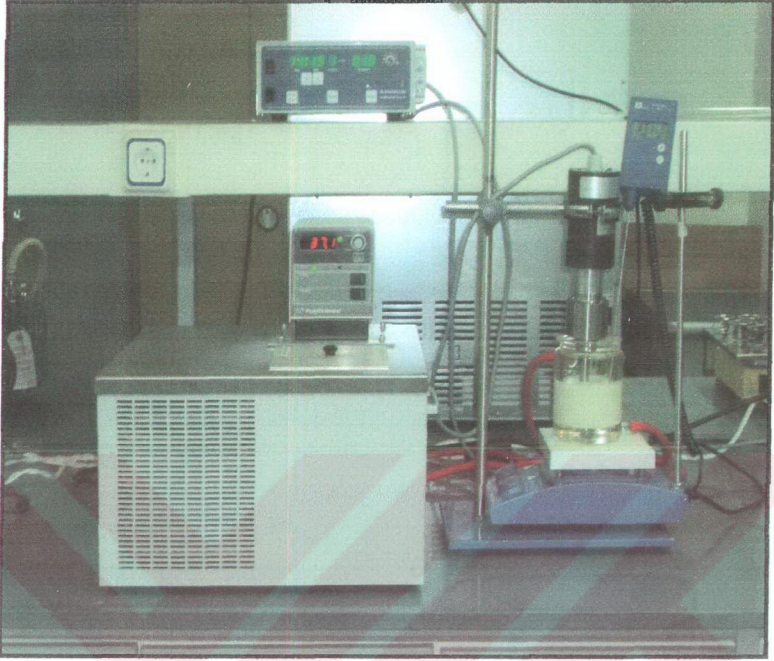
Isıtıcı gücü: 24V dc 100W

Termistör tipi: Yarı iletken LM5DZ

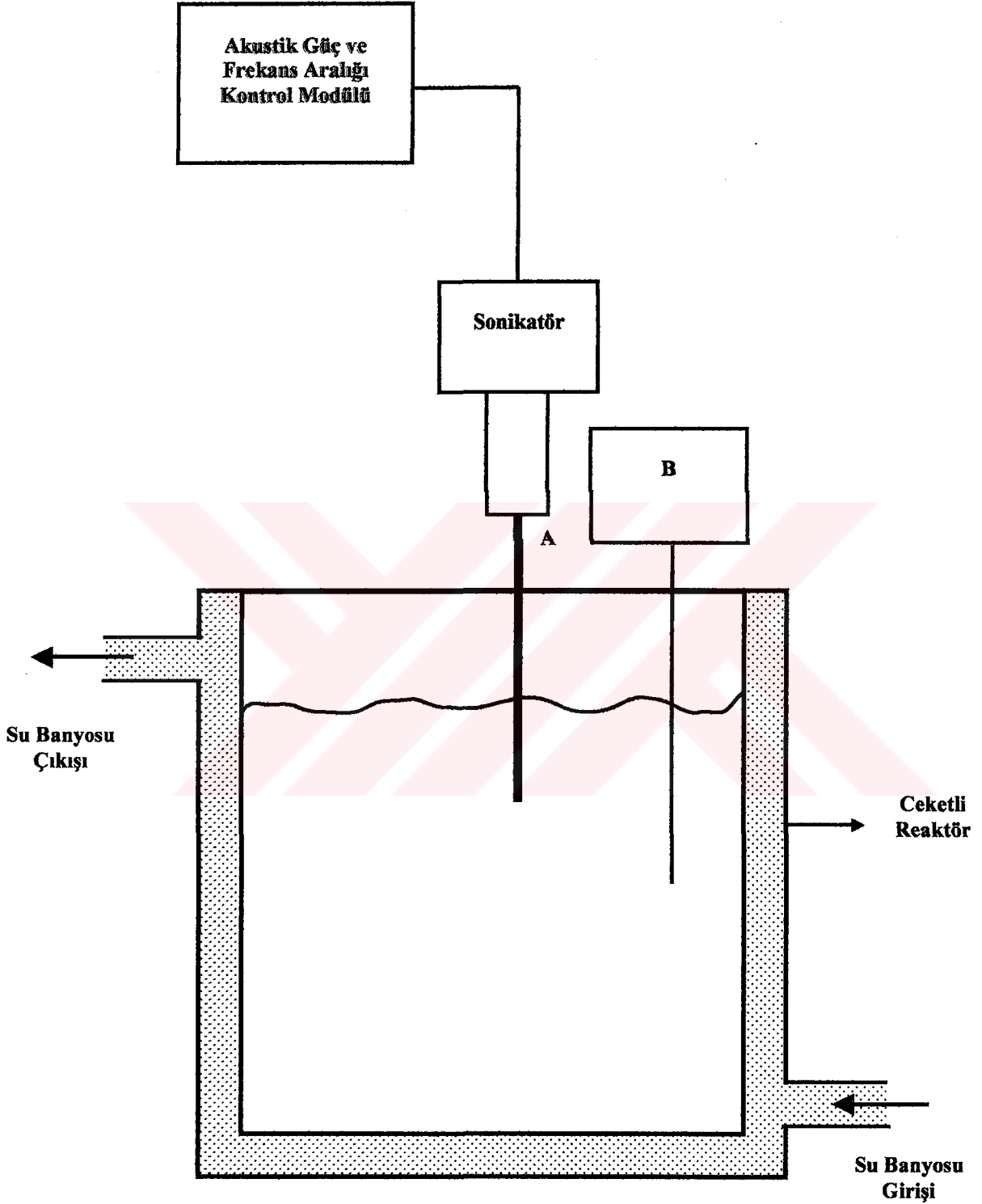
Sıcaklık kontrol modülünün kalibrasyonu bir termometre yardımıyla yapılmış olup, deney sırasında reaktör içerisindeki sıcaklık, bu termometre ile kontrol edilmiştir.

### 8.2.2 Sonikatör

Sonikasyon deneyleri, 20 kHz'de Bandelin Sonopuls HD 2200 sonikatör sisteminde 12.7 mm çapında TT 13 (Kod no: 497) titanyum uç kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sütün sıcaklık değerleri, PolyScience marka (9005 model) sıcaklık kontrollü su banyosu ile kontrol edilmiştir. Reaktörün iç sıcaklığı (IKA Labortechnik, ETS-D4 fuzzy) marka dijital termometre ile reaksiyon süresi boyunca ölçülmüştür. Ayrıca, örneklerin hidroliz tayini için 37°C'ye ayarlanmış bir su banyosu, enzim aktivite tayini için 28 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu ve örneklerin absorbans değerlerini okumak için Shimadzu marka UV-150-02 çift ışıklı Spektrofotometre kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan deney düzeneğinin genel görünüşü Şekil 8.3'te, şeması ise Şekil 8.4'te verilmiştir.



Şekil 8.3 Sonikatör sisteminin genel görünüşü



A: Sonikatör probu

B: Dijital termometre

Şekil 8.4 Sonikatör ve kontrol modüllerinin şeması

Deneyleerde kullanılan çift cidarlı cam reaktör; 400 ml hacminde, cam kapaklı, düz tabanlı, silindirik, 8 cm çapında ve 10 cm yüksekliğinde bir reaktördür. Reaktörün kapağı üzerinde problemlerin yerleştirilmesi ve gerekli ilavelerin yapılmasına olanak tanıyan girişler (6 adet) bulunmaktadır.

### 8.2.2.1 Sonikatör kontrol modülleri

Deneysel çalışmalar sırasında sonikasyon kontrolünü sağlayan modülün ve sıcaklığın kontrolünü sağlayan su banyosunun özellikleri aşağıda sıralanmıştır.

- **Akustik güç ve frekans aralığı kontrol modülü:**

Çalışma frekansı : 20 kHz  
 Akustik güç : max. 200 W  
 Frekans aralığı : %5 - %100

- **Su banyosu:**

Sıcaklık aralığı : (-20) - 150°C  
 Doğruluk :  $\pm 0.05^\circ\text{C}$   
 Pompalama hızı : 7 veya 15 (L/dak)  
 Kapasite : 6 L

Çift cidarlı cam reaktörün su banyosuna bağlanmasıyla sıcaklık kontrolü sağlanmıştır.

### 8.3 Deneyleerin Yapılışı

Biyoreaktörde gerçekleştirilen deneyleerde 250 ml süt, istenilen karıştırıcı hıza ve sıcaklığa getirildikten sonra, 0.2 ml/L enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonlar 30 dakika sürmüştür. Reaksiyon süresince belirli zaman aralıklarında süttten örnekler alınarak, ortamda kalan laktöz miktarı ve % enzim aktivitesi tayini için hazırlanmıştır. Örneklerin analizleri 5'er kez tekrar edilmiş ve elde edilen değerlerin ortalamaları alınmıştır.

Sonikatördetörde gerçekleştirilen deneyleerde 250 ml süt, istenilen akustik güce, % frekans aralığına ve sıcaklığa getirildikten sonra, 0.4 ml/L enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonlar, sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika

sürmüştür. Reaksiyon süresince belirli zaman aralıklarında süttten alınan örnekler, ortamda kalan laktoz miktarı ve % enzim aktivitesi tayini için hazırlanmıştır. Örneklerin analizleri 5'er kez tekrar edilmiş ve elde edilen değerlerin ortalamaları alınmıştır.

## 8.4 Analiz Yöntemleri

### 8.4.1 Laktoz konsantrasyonu tayini

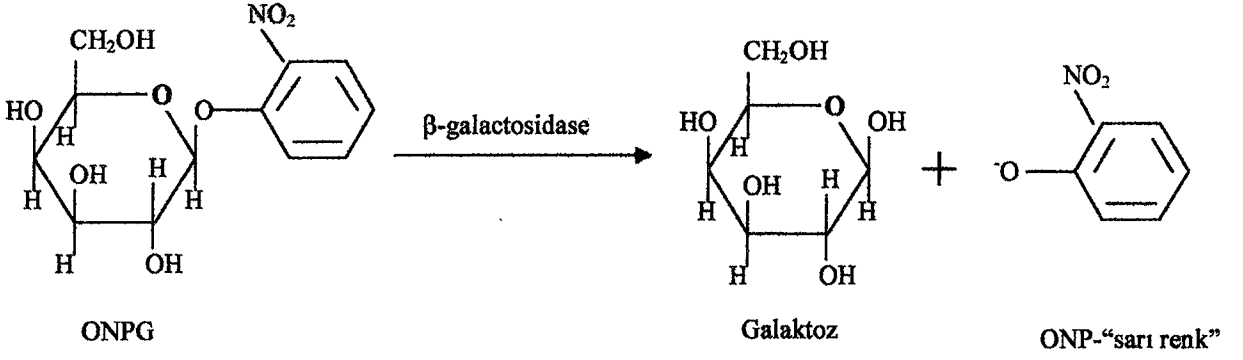
Ortamda kalan laktoz miktarının tayini için, 30 dakikalık işlem süresi boyunca 5 dakika aralıklarla biyoreaktördeki süttten 0.5 ml numune alınmış, 50 µl 5 N HCL ilavesi ile reaksiyon durdurulmuştur. Ayrıca; 0.5 ml'lik numuneler, 5 ml saf su ilave edilerek seyreltilmiştir. Elde edilen son karışımdan, 30 µl örnek alınarak, üzerine 3 ml reaktif çözeltisi ilave edilmiştir. Buna ek olarak, 30 µl standart çözeltisi üzerine, 3 ml reaktif çözeltisi ilave edilmiştir. Referans çözeltisi de, 30 µl saf su üzerine 3 ml reaktif çözeltisi ilavesiyle hazırlanmıştır. Bu işlemlerin sonucunda; referans, standart ve örnek çözeltileri 10 dakika süreyle 37°C'deki su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra, 500 nm dalga boyunda Shimadzu marka UV-150-02 çift ışınli spektrofotometrede, referans çözeltisine karşılık olarak, standart ve örnek çözeltilerinin absorbans değerleri okunmuştur. Okunan absorbans değerleri ortamdaki glukoza aittir. Glukoz miktarından yararlanılarak ortamda kalan laktoz miktarı hesaplanmıştır (Trinder, 1969).

Kullanılan süttteki başlangıç laktoz konsantrasyonunu belirlemek amacıyla; 250 ml süt, 300 devir/dak karıştırıcı hızı ve 37 °C sıcaklığa getirildikten sonra 10 ml/L aşırı enzim ilavesi ile süt içeriğindeki laktozun tümünün parçalanması sağlanmıştır. Reaksiyon 30 dakika sürmüştür.

### 8.4.2 % Enzim aktivite tayini

Ortamdaki % enzim aktivitesinin tayini için, 30 dakikalık işlem süresi boyunca belirli zaman aralıklarında biyoreaktördeki süttten 0.1 ml numune alınmış ve üzerine 2 ml ONPG çözeltisi ilave edilerek β-galactosidase ile ONPG'nin hidrolizi sağlanmış ve 28 °C'de 5 dakika bekletilmiştir. 5 dakika sonunda karışım üzerine 1 ml 1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Referans çözeltisi de, 0.1 ml enzim içermeyen süt numunesi üzerine 2 ml ONPG ve 1 ml 1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilavesiyle hazırlanmıştır. Bu işlemlerin sonucunda; ONPG hidrolizi sonunda oluşan ONP (orto-nitrophenol)'ye ait sarımsı renkten yararlanılarak 420 nm dalga boyunda Shimadzu marka UV-150-02 çift ışınli spektrofotometrede, referans

çözeltisine karşılık olarak örnek çözeltilerinin absorbands değerleri okunmuştur (Craven, 1965; [23; 24]). ONPG hidrolizasyonu şematik olarak Şekil 8.5'te verilmiştir.



Şekil 8.5 ONPG hidrolizi [25]

% Enzim aktivite değerleri sonikatörde sadece laktozlu süt, biyoreaktörde ise hem laktozlu hem de laktozsuz süt için tayin edilmiştir. Laktozsuz süt eldesi için, aşırı enzim ilavesi (10 ml/L) ile 30 dakika sonunda süt içindeki laktoz tamamen parçalanmış, daha sonra süt 10 dakika süreyle 80 °C'de tutularak enzim öldürülmüştür. Elde edilen süte enzim ilave edilerek, ilgili proses şartlarında zamana bağlı olarak % enzim aktivite değerleri ölçülmüştür. Gerek bu yöntemle edilen edilen laktozsuz süt, gerekse piyasada satılan Pınar marka laktozsuz süttten elde edilen enzim aktivite değerlerine ait deneysel veriler birbirine çok yakın bulunmuştur (Ek 1, Çizelge E1.1). Ayrıca, her iki numunenin içeriklerinin de birbirine çok yakın olması dolayısıyla; enzim, enerji ve zaman kayıplarını engellemek amacıyla laktozsuz sütteki enzim aktivite değerlerinin tayininde Pınar marka laktozsuz süt kullanılmıştır (Çizelge 8.2).

Çizelge 8.2 Sek ve Pınar süte ait enerji ve besin değerleri [11; 12]

100 ml Sütün Enerji ve Besin Değerleri		
	SEK Süt	Pınar Süt
<b>Enerji (kcal)</b>	57.4	61.1
<b>Protein (g)</b>	3.1	3.3
<b>Yağ (g)</b>	3.0	3.4
<b>Karbonhidrat (g)</b>	4.5	4.7
<b>Kalsiyum (mg)</b>	110	120

## 8.5 Hesaplamalar

### 8.5.1 Laktoz konsantrasyonunun hesaplanması

Laktoz konsantrasyonu tayinlerinde aşağıdaki bağıntılar kullanılmıştır;

$$[S_1] = [S_0] - ([M_{\text{LAKTOZ}}] / [M_{\text{GLUKOZ}}]) * (C_G / C_{St}) \quad (8.1)$$

$$[H] = 100 * ([S_1] / [S_0]) * f \quad (8.2)$$

Burada;

- [S<sub>0</sub>] : t=0 anındaki laktoz konsantrasyonu, g/L  
[S<sub>1</sub>] : İşlem sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu, g/L  
[M<sub>LAKTOZ</sub>] : Laktozun molekül ağırlığı, 342.32 g/mol  
[M<sub>GLUKOZ</sub>] : Glukozun molekül ağırlığı, 180.17 g/mol  
C<sub>G</sub> : İşlem sonunda oluşan glukozun absorbans değeri  
C<sub>St</sub> : Standart çözeltisinin absorbans değeri  
f : Seyreltme faktörü  
[H] : % Hidroliz derecesi

olarak tanımlanmıştır. Hesaplamalarda seyreltme faktörü, f=11 olarak kullanılmıştır.

### 8.5.2 Enzim aktivitesinin hesaplanması

Enzim aktivite tayinlerinde aşağıdaki bağıntı kullanılmıştır;

$$[A] = 100 * ([A_1] / [A_0]) \quad (8.3)$$

Burada;

- [A<sub>0</sub>] : t=0 anındaki ONP'nin absorbans değeri  
[A<sub>1</sub>] : İşlem sonundaki ONP'nin absorbans değeri  
[A] : % Enzim aktivitesi

olarak tanımlanmıştır.



## 9. ARAŞTIRMA BULGULARI

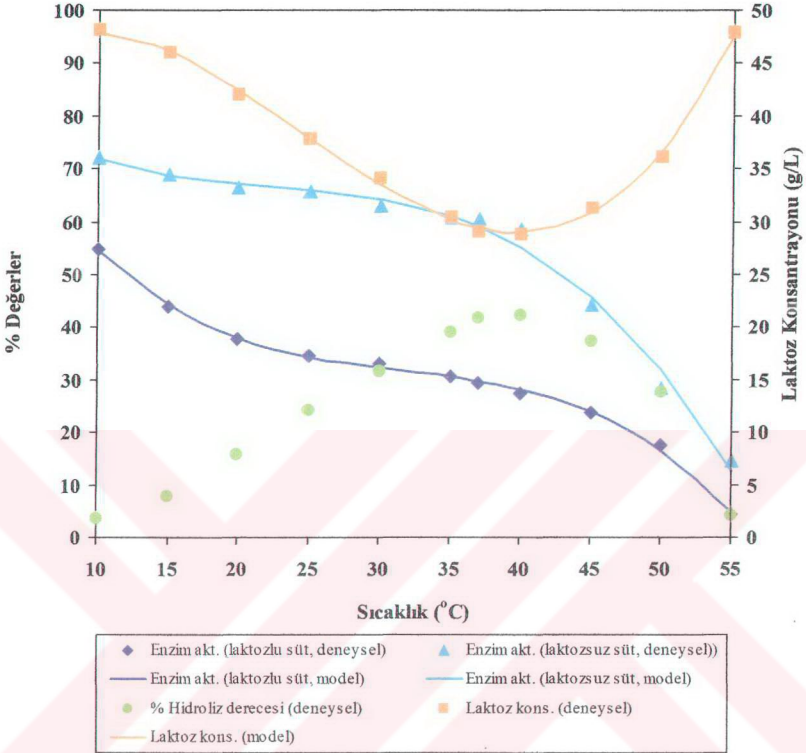
### 9.1 Biyoreaktörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

#### 9.1.1 Sıcaklığın enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Enzimatik reaksiyonlarda sıcaklık artışının reaksiyon hızını arttırdığı ancak enzimlerde yapısal bozunmalara neden olduğu bilinmektedir. Laktozlu ve laktozsuz sütte sıcaklık artışının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. 250 ml süt, pH 6.7 ve 300 devir/dak karıştırıcı hızında, 0.2 ml/L enzim ilavesi ile 10-55 °C arasındaki sıcaklıklar için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.1’de verilmiş ve Şekil 9.1’de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.1 Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Sıcaklık (°C)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz süt) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
10	3.80	54.88	72.25	48.10
15	8.00	44.08	69.05	46.00
20	15.84	37.81	66.70	42.08
25	24.34	34.75	65.95	37.83
30	31.56	33.06	63.23	34.22
35	39.12	30.73	60.82	30.44
37	41.92	29.37	60.65	29.04
40	42.22	27.49	58.55	28.89
45	37.34	23.70	44.40	31.33
50	27.66	17.57	28.49	36.17
55	4.14	4.56	14.54	47.93



Şekil 9.1 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktöz konsantrasyonunun sıcaklık ile değişimi (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Çizelge 9.1 ve Şekil 9.1'de görüldüğü gibi 37 °C'ye kadar sıcaklık artışıyla sütteki hidroliz derecesi artarken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 10 °C'deki hidroliz derecesi yaklaşık %4 iken sıcaklık ile artarak 37 °C'de yaklaşık %42 olmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 55 °C'de hidroliz derecesi yaklaşık %4'e kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen sıcaklık aralığı boyunca enzim aktivitesi %55'ten %5'e (yaklaşık %92) azalmıştır. Kullanılan enzim 10 °C için yaklaşık %45, 37 °C için %71 ve 55 °C için %95 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş enzimin yapısal bozunmaya uğradığına bağlanmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum sıcaklık 37 °C olarak belirlenmiştir.

$\beta$ -galactosidase enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, sıcaklık deneyleri aynı koşullarda laktozsuz süt için tekrarlanmış ve sonuçlar Çizelge 9.1'de verilmiştir. Laktozsuz sütte gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu sütte gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi sıcaklık ile azaldığı Şekil 9.1'de görülmektedir. Laktozsuz sütteki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, hidrolizlenmenin gerçekleşmemesi ve dolayısıyla laktoz partiküllerinin enzimi inaktive etmemesinden kaynaklanmaktadır.

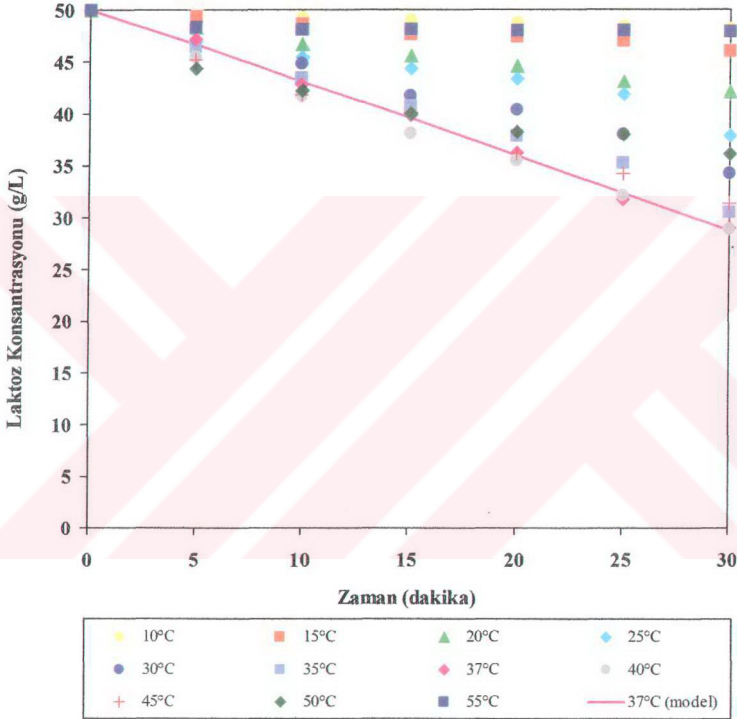
Sıcaklığın ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz sütteki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.2'de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.2 Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma ( $\delta$ )	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [T] + c_S [T]^2 + d_S [T]^3$	$a_S = 42.2069$ $b_S = 1.3943$ $c_S = -0.0952$ $d_S = 0.0013$	0.4640	0.9987
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [T] + c_A [T]^2 + d_A [T]^3$	$a_A = 91.2904$ $b_A = -4.9699$ $c_A = 0.1461$ $d_A = -0.0015$	0.6456	0.9992
$[A_{\text{LAKTOZSUZ}}] = a_A + b_A [T] + c_A [T]^2 + d_A [T]^3$	$a_A = 86.1736$ $b_A = -2.1666$ $c_A = 0.0876$ $d_A = -0.0013$	2.1848	0.9950

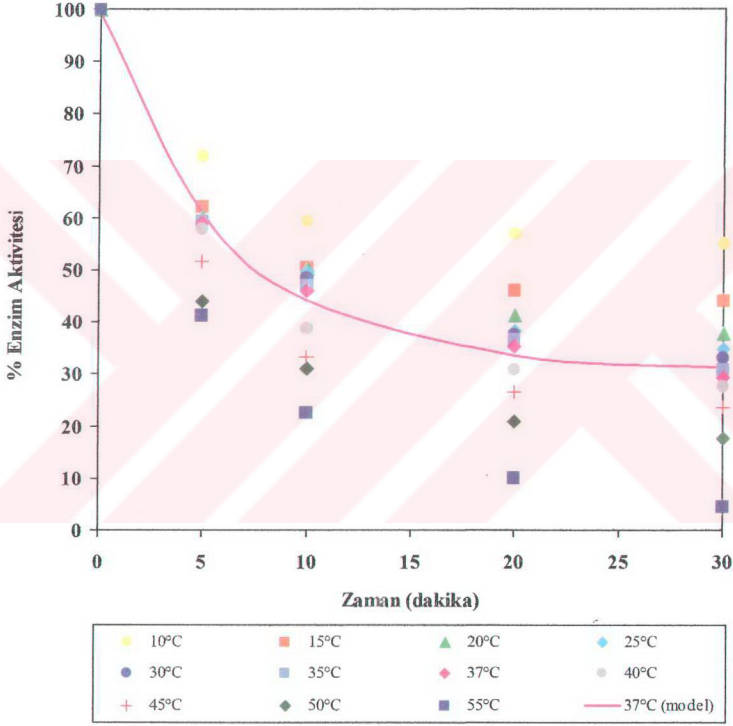
\*Katsayılara ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L. $^{\circ}$ C),  $c_S$ : (g laktoz/L. $^{\circ}$ C<sup>2</sup>),  $d_S$ : (g laktoz/L. $^{\circ}$ C<sup>3</sup>),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : ( $^{\circ}$ C)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : ( $^{\circ}$ C)<sup>-2</sup>,  $d_A$ : ( $^{\circ}$ C)<sup>-3</sup>

Laktoz konsantrasyonunun farklı sıcaklıklarda zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 2, Çizelge E2.1'de verilmiş ve Şekil 9.2'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 37 °C sıcaklıkta laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.3'te verilmiştir.



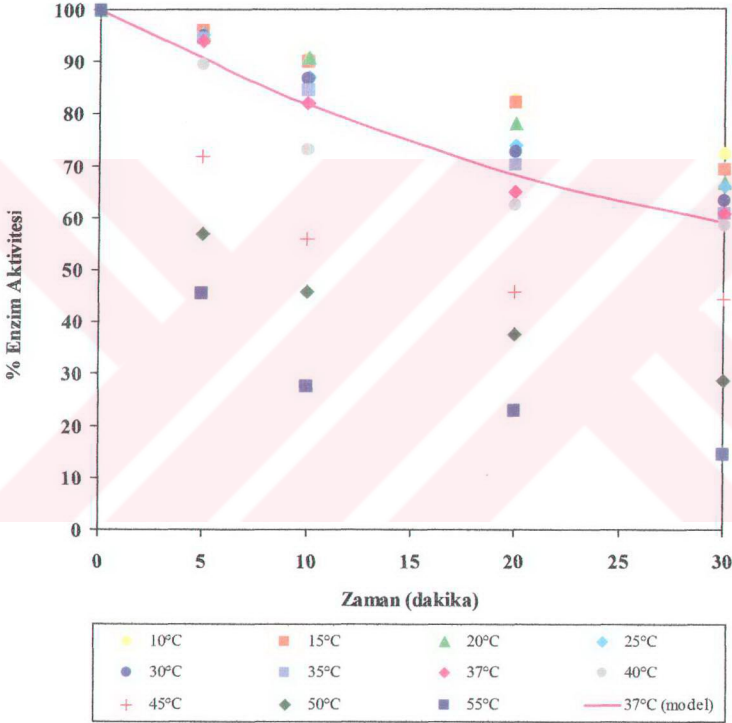
Şekil 9.2 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Laktozlu sütteki % enzim aktivitesinin farklı sıcaklıklarda zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 2, Çizelge E2.2'de verilmiş ve Şekil 9.3'te grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 37 °C sıcaklıkta % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.3'te verilmiştir.



Şekil 9.3 Laktozlu sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Laktosuz sütteki % enzim aktivitesinin farklı sıcaklıklarda zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 2, Çizelge E2.3'te verilmiş ve Şekil 9.4'te grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 37 °C sıcaklıkta laktosuz sütteki enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.3'te verilmiştir.



Şekil 9.4 Laktosuz sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Çizelge 9.3 37 °C reaksiyon sıcaklığı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S \cdot [t]$	$a_S = 50.3446$ $b_S = 0.7188$	0.4811	0.9984
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A \quad (\Psi)$	$a_A = 68.5569$ $b_A = 0.1641$ $c_A = 30.9590$	2.7698	0.9976
$[A_{\text{LAKTOZSUZ}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A \quad (\Psi)$	$a_A = 62.1328$ $b_A = 0.0390$ $c_A = 39.7000$	3.7241	0.9884

\*Katsayılara ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.dakika),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

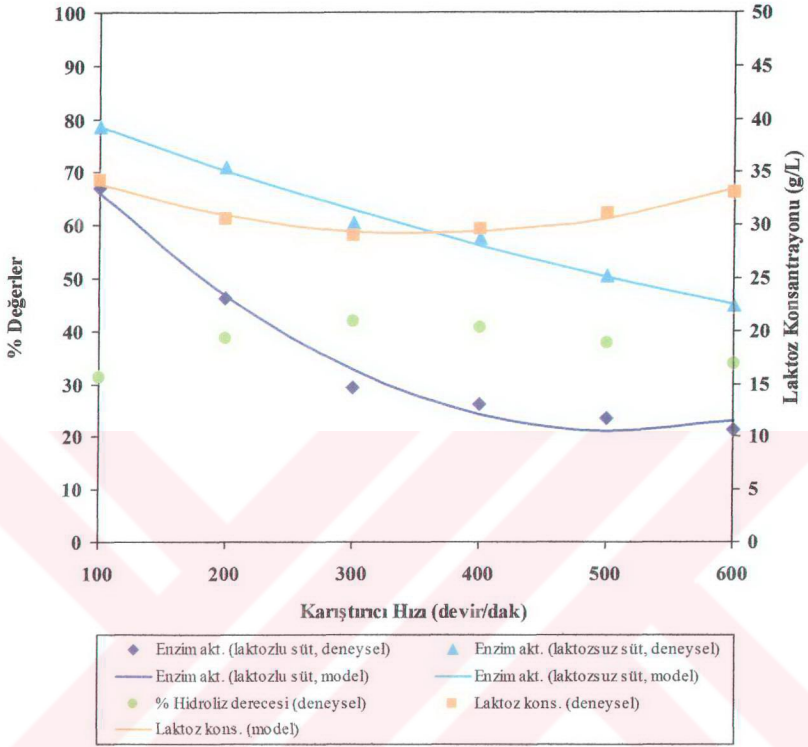
¶Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

### 9.1.2 Karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Laktozlu sütte karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. 250 ml süt, pH 6.7 ve 37 °C sıcaklıkta, 0.2 ml/L enzim ilavesi ile 100-600 devir/dak arasındaki karıştırıcı hızları için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.4'te verilmiş ve Şekil 9.5'te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.4 Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

<b>Karıştırıcı Hızı (devir/dak)</b>	<b>Hidroliz Derecesi (%)</b>	<b>Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)</b>	<b>Enzim Aktivitesi (Laktozsuz süt) (%)</b>	<b>Laktoz Kons. (g/L)</b>
100	31.48	67.22	78.67	34.26
200	38.62	46.24	71.10	30.69
300	41.92	29.37	60.65	29.04
400	40.68	26.34	57.71	29.66
500	37.64	23.63	50.57	31.18
600	33.86	21.30	44.76	33.07



Şekil 9.5 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun karıştırıcı hızı ile değişimi (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Çizelge 9.4 ve Şekil 9.5'te görüldüğü gibi 300 devir/dak'a kadar karıştırıcı hızı artışıyla sütteki hidroliz derecesinde artış olurken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 100 devir/dak'daki hidroliz derecesi yaklaşık %31 iken karıştırıcı hızı ile artarak 300 devir/dak'da yaklaşık %42 olmuştur. Daha yüksek karıştırıcı hızlarında ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 600 devir/dak'da hidroliz derecesi yaklaşık %34'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen karıştırıcı hızı aralığı boyunca enzim aktivitesi %67'den %21'e (yaklaşık %68) azalmıştır. Kullanılan enzim 100 devir/dak için yaklaşık %33, 300 devir/dak için yaklaşık %71 ve 600 devir/dak için yaklaşık %79 inaktive olmuştur. Düşük karıştırıcı hızlarında yeterli miktarda kütle transfer hızı sağlanmadığı için hidrolizlenme az olmaktadır. Yüksek karıştırıcı hızlarında ise (400 devir/dak ve sonrası için) enzim yapısal olarak zarar

görmekte ve aktivitesini yitirmektedir. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum karıştırıcı hızı 300 devir/dak olarak belirlenmiştir.

$\beta$ -galactosidase enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, karıştırıcı hızı deneyleri aynı koşullarda laktozsuz süt için tekrarlanmış ve sonuçlar Çizelge 9.4'te verilmiştir. Laktozsuz sütte gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu sütte gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi karıştırıcı hızı ile azaldığı Şekil 9.5'te görülmektedir. Laktozsuz sütteki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, hidrolizlenmenin gerçekleşmemesi ve dolayısıyla laktoz partiküllerinin enzimi inaktive etmemesinden kaynaklanmaktadır.

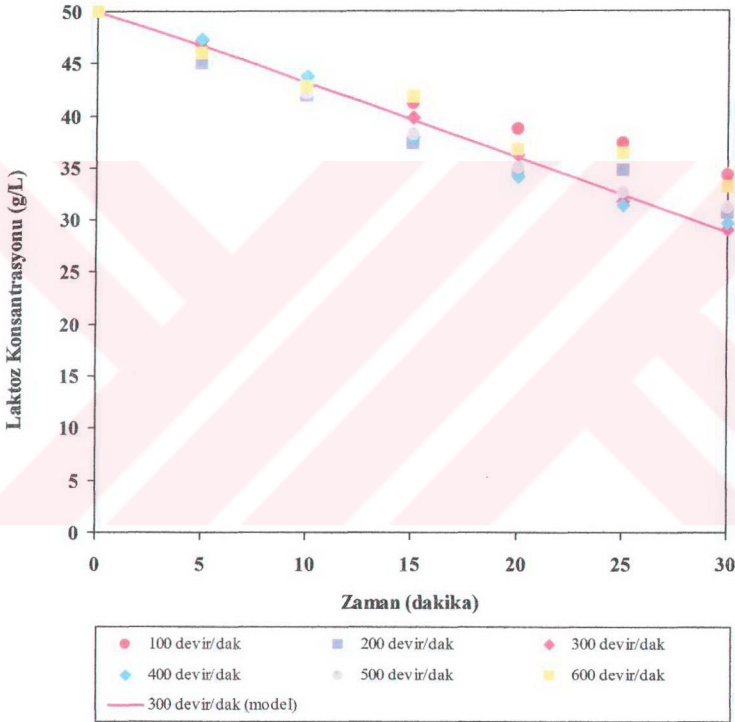
Karıştırıcı hızının ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz sütteki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.5'te verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.5 Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma ( $\delta$ )	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [N] + c_S [N]^2$	$a_S = 38.3660$ $b_S = -0.0511$ $c_S = 0.0001$	0.5276	0.9789
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [N] + c_A [N]^2$	$a_A = 90.7110$ $b_A = -0.2732$ $c_A = 0.0003$	3.0659	0.9911
$[A_{\text{LAKTOZSUZ}}] = a_A + b_A [N] + c_A [N]^2$	$a_A = 87.6580$ $b_A = -0.0944$ $c_A = 0.0001$	1.6418	0.9949

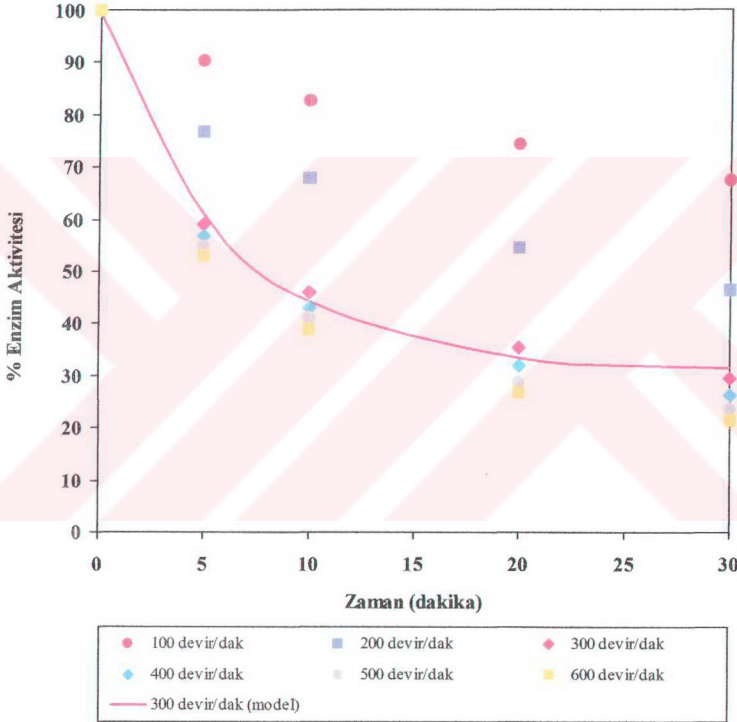
\*Katsayılarla ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.(devir/dakika)),  $c_S$ : (g laktoz/L.(devir/dakika)<sup>2</sup>),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (devir/dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (devir/dakika)<sup>-2</sup>

Laktoz konsantrasyonunun farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.1’de verilmiş ve Şekil 9.6’da grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 300 devir/dak karıştırıcı hızında laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.6’da verilmiştir.



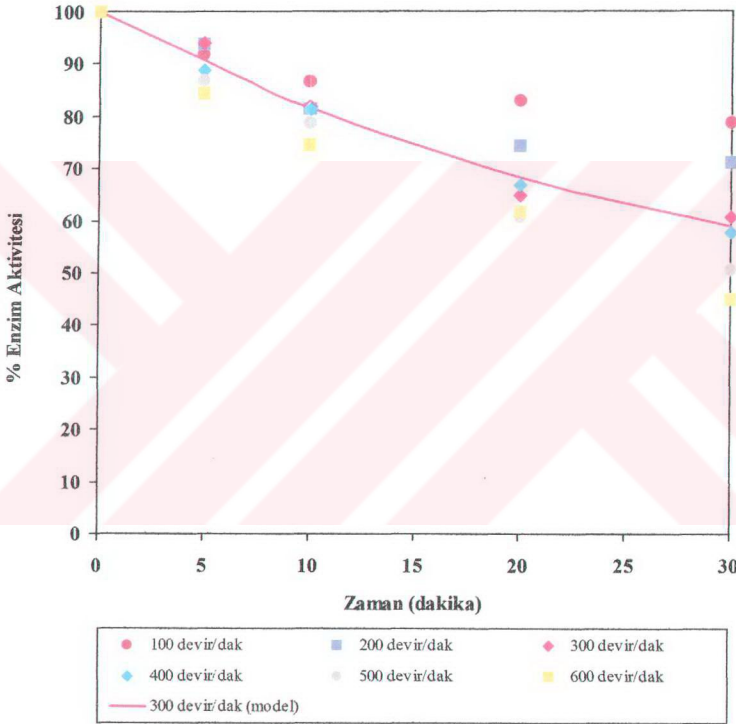
Şekil 9.6 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Laktozlu sütteki % enzim aktivitesinin farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.2'de verilmiş ve Şekil 9.7'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 300 devir/dak karıştırıcı hızında % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.6'da verilmiştir.



Şekil 9.7 Laktozlu sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Laktosuz sütteki % enzim aktivitesinin farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.3'te verilmiş ve Şekil 9.8'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 300 devir/dak karıştırıcı hızında laktosuz sütteki enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.6'da verilmiştir.



Şekil 9.8 Laktosuz sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Çizelge 9.6 300 devir/dak karıştırıcı hızı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar <sup>*</sup>	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S \cdot [t]$	$a_S = 50.3446$ $b_S = 0.7188$	0.4811	0.9984
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A$ (Ψ)	$a_A = 68.5569$ $b_A = 0.1641$ $c_A = 30.9590$	2.7698	0.9976
$[A_{\text{LAKTOZSUZ}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A$ (Ψ)	$a_A = 62.1328$ $b_A = 0.0390$ $c_A = 39.7000$	3.7241	0.9884

\*Katsayılarla ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.dakika),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

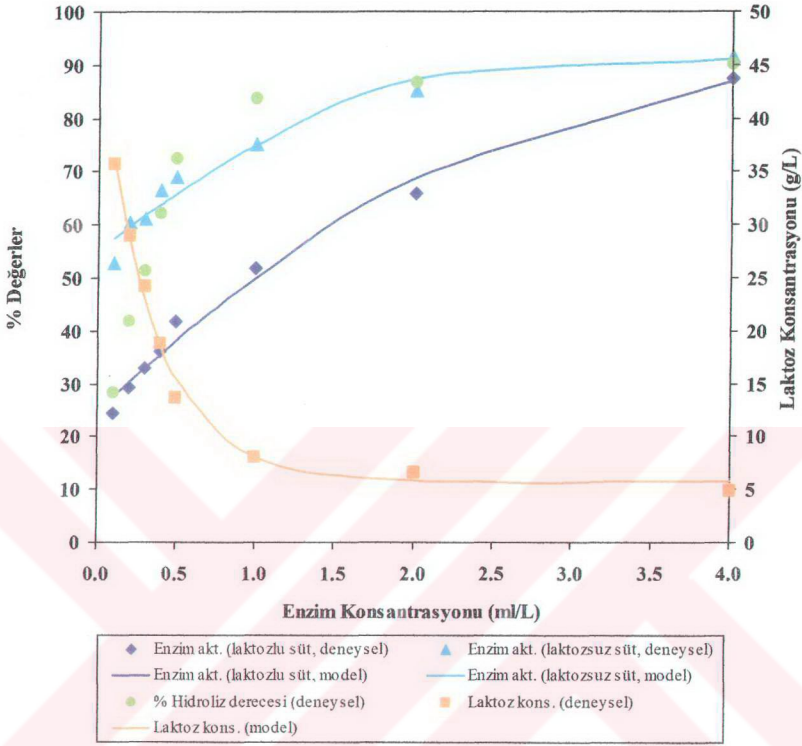
<sup>Ψ</sup>Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

### 9.1.3 Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Laktozlu sütte enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. 250 ml süt, pH 6.7 ve 37 °C sıcaklıkta, 300 devir/dak karıştırıcı hızı ile 0.1-4 ml/L arasındaki enzim konsantrasyonları için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.7'de verilmiş ve Şekil 9.9'da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.7 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

<b>Enzim Kons. (m/L)</b>	<b>Hidroliz Derecesi (%)</b>	<b>Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)</b>	<b>Enzim Aktivitesi (Laktozsuz süt) (%)</b>	<b>Laktoz Kons. (g/L)</b>
0.1	28.42	24.52	52.98	35.79
0.2	41.92	29.37	60.65	29.04
0.3	51.46	33.07	61.31	24.27
0.4	62.12	36.24	66.67	18.92
0.5	72.58	41.94	69.10	13.71
1.0	83.72	51.94	75.31	8.14
2.0	86.86	65.92	85.27	6.57
4.0	90.28	87.43	91.69	4.86



Şekil 9.9 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Çizelge 9.7 ve Şekil 9.9'da görüldüğü gibi enzim konsantrasyonu artışıyla sütteki hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. 0.1 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %28 iken, 1 ml/L enzim konsantrasyonunda yaklaşık %84 olmuş ve 4 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %90 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyonu aralığı boyunca enzim aktivitesi %25'ten %87'ye (yaklaşık 3.5 kat) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1 ml/L olarak belirlenmiştir.

$\beta$ -galactosidase enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, enzim konsantrasyon deneyleri aynı koşullarda laktozsuz süt için tekrarlanmış ve sonuçlar

Çizelge 9.7'de verilmiştir. Laktozsuz sütte gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu sütte gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi enzim konsantrasyonu ile arttığı Şekil 9.9'da görülmektedir. Laktozsuz sütteki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, hidrolizlenmenin gerçekleşmemesi ve dolayısıyla laktoz partiküllerinin enzimi inaktive etmemesinden kaynaklanmaktadır.

Enzim konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz sütteki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.8'de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

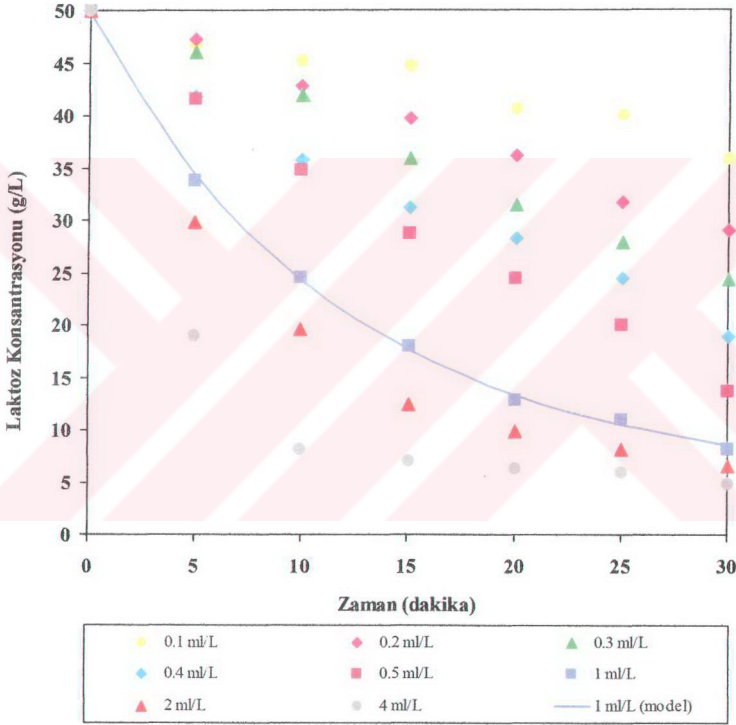
Çizelge 9.8 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S \cdot \exp(-b_S \cdot [E]) + c_S$ (Ψ)	$a_S = 40.8853$ $b_S = 2.8371$ $c_S = 5.5374$	1.1267	0.9965
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [E] + c_A [E]^2$	$a_A = 24.7702$ $b_A = 28.4616$ $c_A = -3.2322$	2.7151	0.9942
$[A_{\text{LAKTOZSUZ}}] = a_A + b_A [E] + c_A [E]^2$	$a_A = 55.3445$ $b_A = 23.0884$ $c_A = -3.5280$	2.9719	0.9814

\*Katsayılara ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (ml enzim/L)<sup>-1</sup>,  $c_S$ : (g laktoz/L),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (ml enzim/L)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (ml enzim/L)<sup>2</sup>

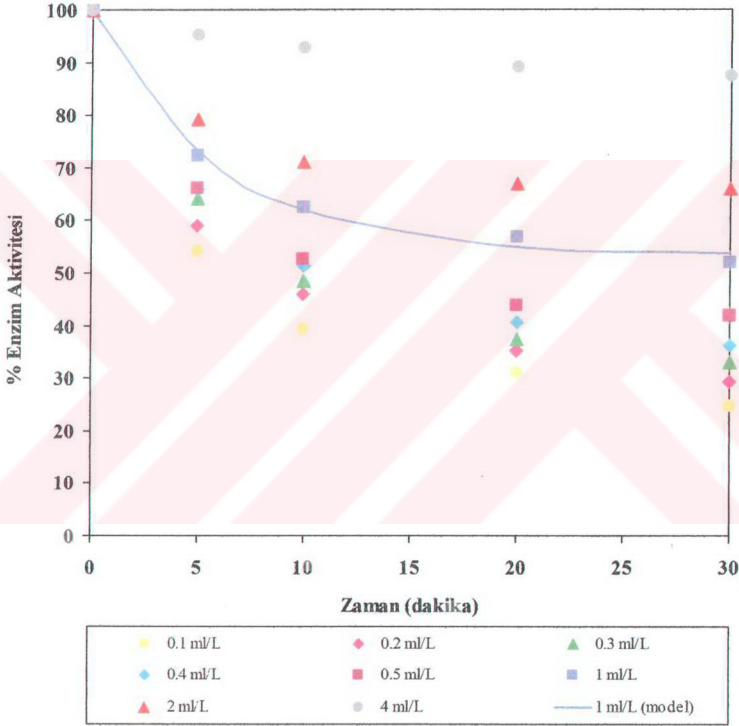
\*Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

Laktoz konsantrasyonunun farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.1'de verilmiş ve Şekil 9.10'da grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 1 ml/L enzim konsantrasyonunda laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.9'da verilmiştir.



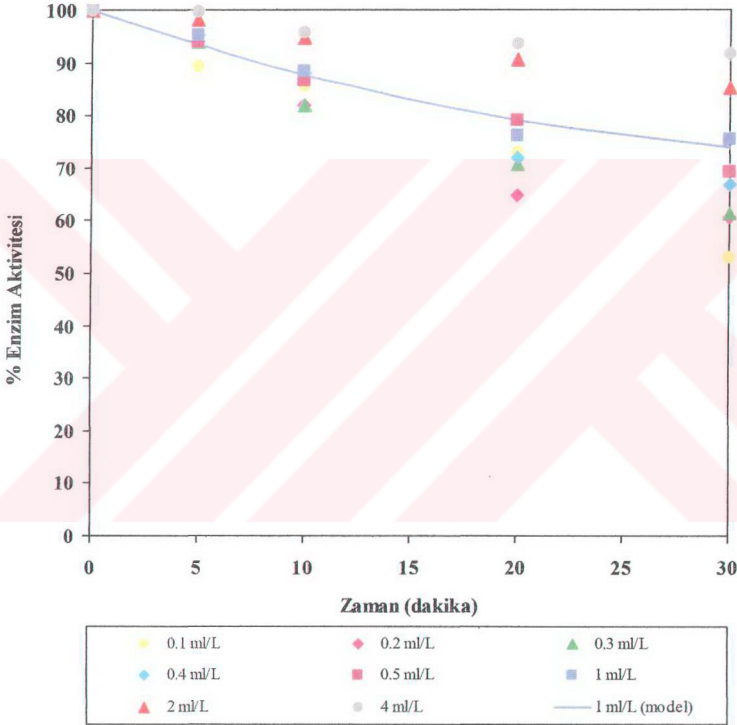
Şekil 9.10 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Laktozlu sütteki % enzim aktivitesinin farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.2’de verilmiş ve Şekil 9.11’de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 1 ml/L enzim konsantrasyonunda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.9’da verilmiştir.



Şekil 9.11 Laktozlu sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Laktosuz sütteki % enzim aktivitesinin farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.3'te verilmiş ve Şekil 9.12'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 1 ml/L enzim konsantrasyonunda laktosuz sütteki enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.9'da verilmiştir.



Şekil 9.12 Laktosuz sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Çizelge 9.9 1 ml/L enzim konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S \cdot \exp(-b_S \cdot [t]) + c_S \quad (\Psi)$	$a_S = 44.8049$ $b_S = 0.0842$ $c_S = 4.9857$	0.5666	0.9995
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A \quad (\Psi)$	$a_A = 46.3023$ $b_A = 0.1694$ $c_A = 53.4528$	2.0275	0.9972
$[A_{\text{LAKTOZSUZ}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A \quad (\Psi)$	$a_A = 36.1827$ $b_A = 0.0470$ $c_A = 64.9865$	2.8773	0.9932

\*Katsayılara ait birimler;  $a_S$ : (g laktöz/L),  $b_S$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_S$ : (g laktöz/L),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

<sup>†</sup>Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

## 9.2 Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

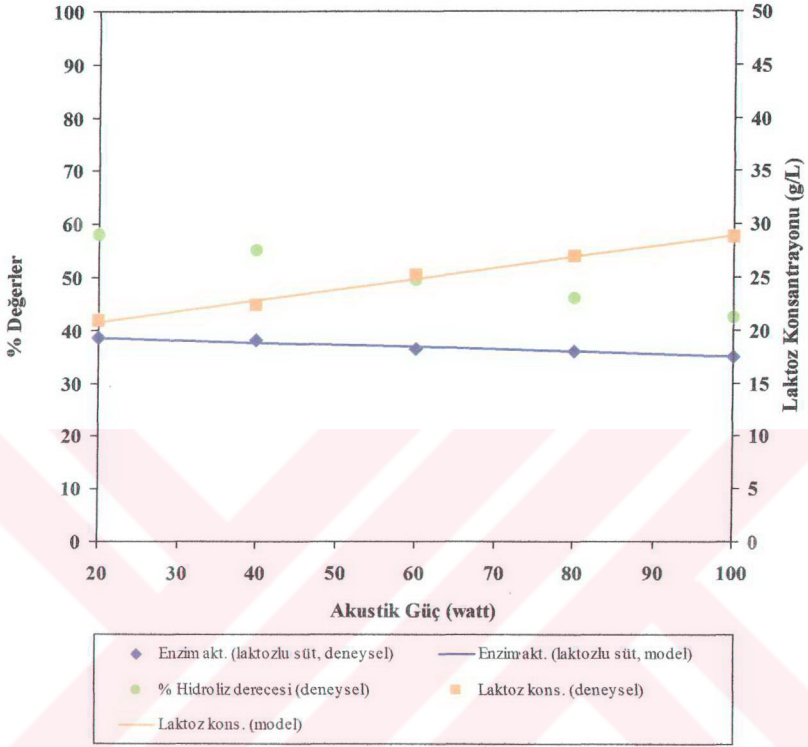
### 9.2.1 Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

#### 9.2.1.1 %10 Frekans aralığı için akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml süt, pH 6.7 ve %10 frekans aralığında, 0.4 ml/L enzim ilavesi ile 20-100 watt arasındaki akustik güçler için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda sütteki enzim aktiviteler ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.10'da verilmiş ve Şekil 9.13'te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.10 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Akustik Güç (watt)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
20	58.06	38.70	20.97
40	55.14	38.19	22.43
60	49.56	36.57	25.22
80	46.04	36.03	26.98
100	42.42	35.17	28.79



Şekil 9.13 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.10 ve Şekil 9.13'te görüldüğü gibi %10 frekans aralığında akustik güç artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. 20 watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %58 iken akustik güç ile azalarak 100 watt'ta yaklaşık %42 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %39'dan %35'e (yaklaşık %9) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 watt akustik güç için yaklaşık %61 ve 100 watt akustik güç için yaklaşık %65 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş akustik gücün enzim yapısında bozunmaya neden olduğuna bağlanmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum akustik güç 20 watt olarak belirlenmiştir.

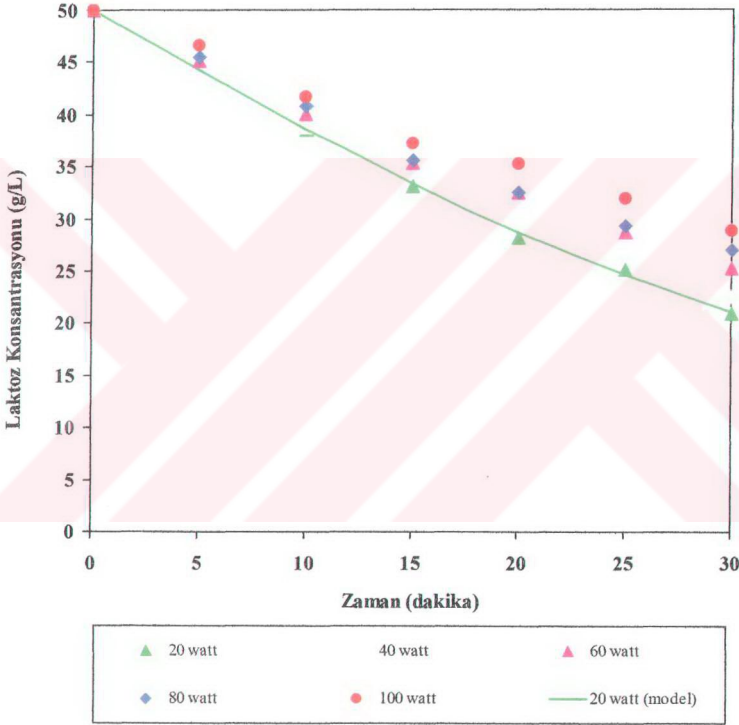
%10 frekans aralığında akustik gücün ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.11'de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.11 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma ( $\delta$ )	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [G]$	$a_S = 18.8210$ $b_S = 0.1010$	0.3370	0.9959
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [G]$	$a_A = 39.6980$ $b_A = -0.0461$	0.2926	0.9852

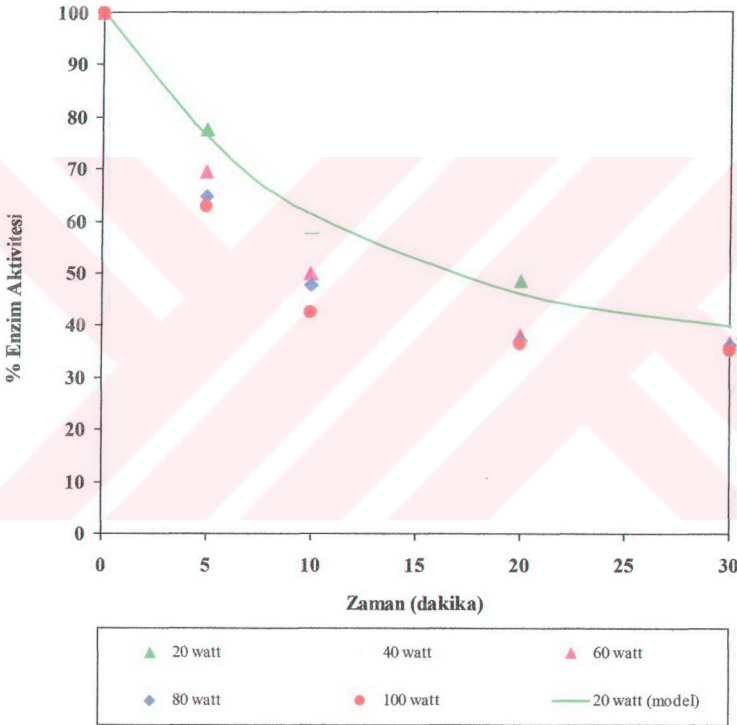
\*Katsayılara ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.watt),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (watt)<sup>-1</sup>

Laktoz konsantrasyonunun %10 frekans aralığında farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.1'de verilmiş ve Şekil 9.14'te grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 20 watt akustik güçte laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.12'de verilmiştir.



Şekil 9.14 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

% Enzim aktivitesinin %10 frekans aralığında farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.2'de verilmiş ve Şekil 9.15'te grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 20 watt akustik güçte % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.12'de verilmiştir.



Şekil 9.15 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.12 20 watt akustik güç için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [t] + c_S [t]^2$	$a_S = 50.5007$ $b_S = -1.2956$ $c_S = 0.0104$	0.6583	0.9987
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A (\Psi)$	$a_A = 64.2698$ $b_A = 0.0925$ $c_A = 35.8876$	2.8014	0.9967

\*Katsayılarla ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.dakika),  $c_S$ : (g laktoz/L.(dakika)<sup>2</sup>),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

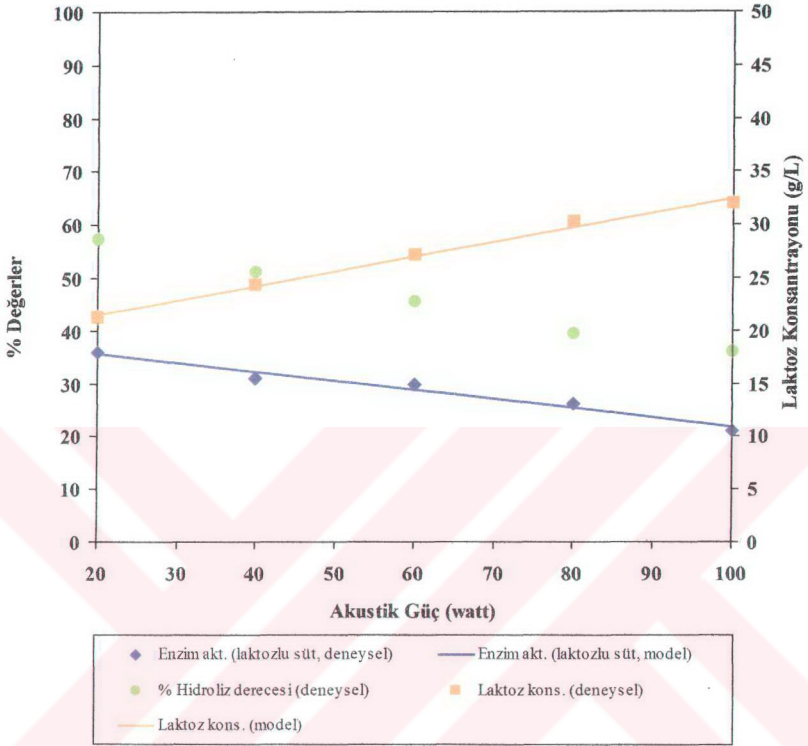
¶Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

### 9.2.1.2 %50 Frekans aralığı için akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml süt, pH 6.7 ve %50 frekans aralığında, 0.4 ml/L enzim ilavesi ile 20-100 watt arasındaki akustik güçler için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda sütteki enzim aktiviteler ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.13'te verilmiş ve Şekil 9.16'da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.13 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Akustik Güç (watt)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
20	57.30	35.93	21.35
40	51.28	31.03	24.36
60	45.60	29.92	27.20
80	39.38	26.28	30.31
100	35.92	21.01	32.04



Şekil 9.16 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.13 ve Şekil 9.16'da görüldüğü gibi %50 frekans aralığında akustik güç artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. 20 watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %57 iken akustik güç ile azalarak 100 watt'ta yaklaşık %36 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %36'dan %21'e (yaklaşık %42) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 watt akustik güç için yaklaşık %64 ve 100 watt akustik güç için yaklaşık %79 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş akustik gücün enzim yapısında bozunmaya neden olduğuna bağlanmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum akustik güç 20 watt olarak belirlenmiştir.

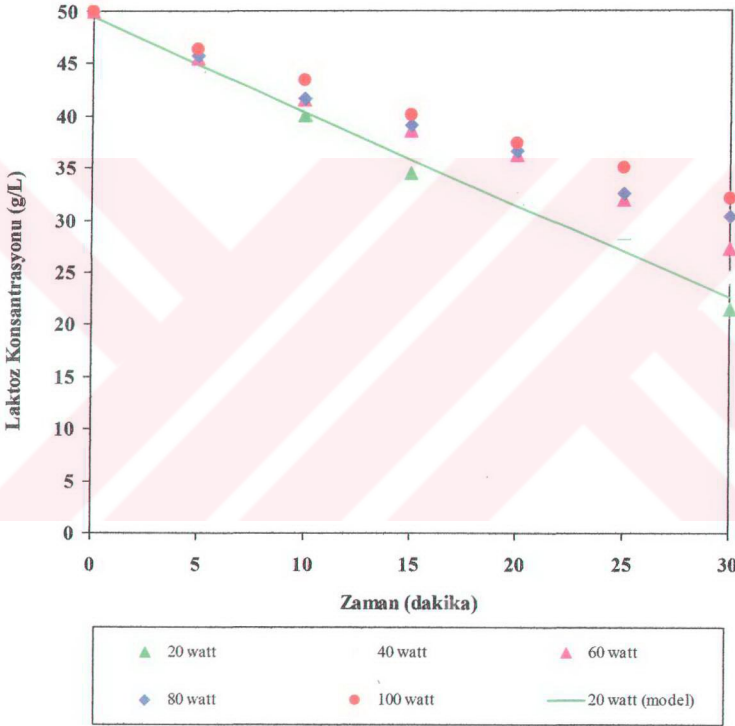
%50 frekans aralığında akustik gücün ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.14'te verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.14 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [G]$	$a_S = 18.8530$ $b_S = 0.1367$	0.4410	0.9961
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [G]$	$a_A = 39.2110$ $b_A = -0.1730$	1.2174	0.9819

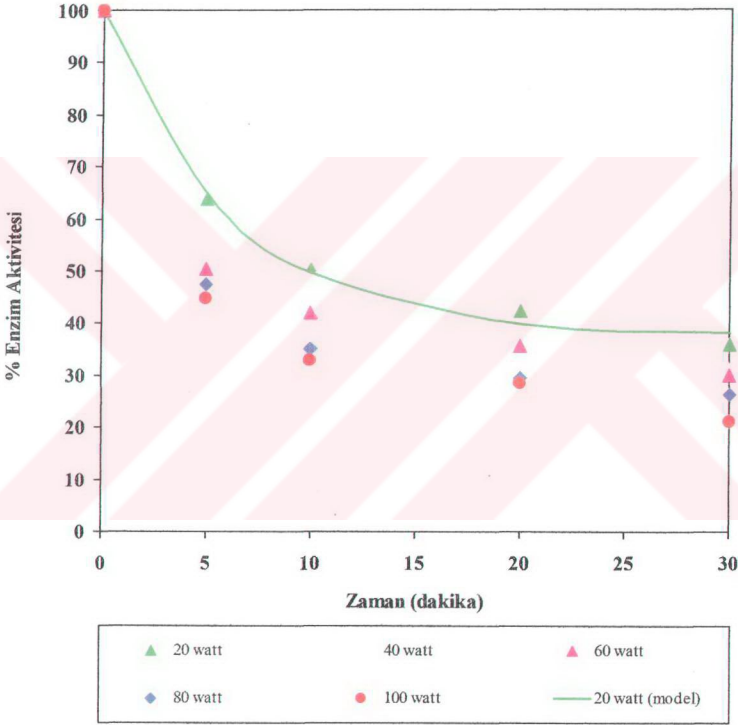
\*Katsayılarla ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.watt),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (watt)<sup>-1</sup>

Laktoz konsantrasyonunun %50 frekans aralığında farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.3'te verilmiş ve Şekil 9.17'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 20 watt akustik güçte laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.15'te verilmiştir.



Şekil 9.17 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

% Enzim aktivitesinin %50 frekans aralığında farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.4'te verilmiş ve Şekil 9.18'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak 20 watt akustik güçte % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.15'te verilmiştir.



Şekil 9.18 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.15 20 watt akustik güç için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [t] + c_S [t]^2$	$a_S = 49.5612$ $b_S = -0.9321$ $c_S = 0.0011$	1.3302	0.9938
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A$ (Ψ)	$a_A = 62.1072$ $b_A = 0.1635$ $c_A = 37.5920$	2.4135	0.9978

\*Katsayılar a ait birimler;  $a_S$ : (g laktöz/L),  $b_S$ : (g laktöz/L.dakika),  $c_S$ : (g laktöz/L.(dakika)<sup>2</sup>),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

Ψ Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

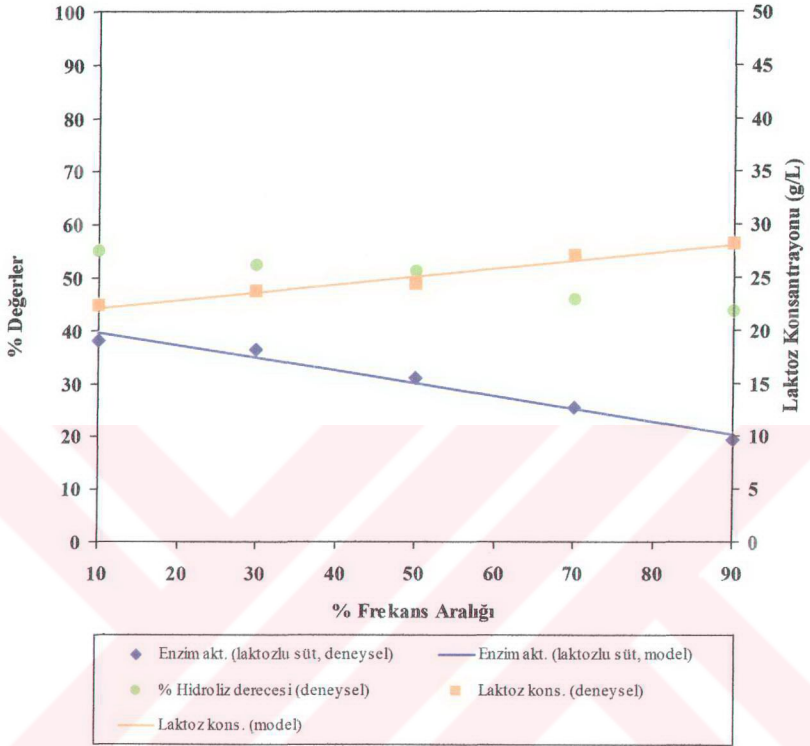
## 9.2.2 % Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

### 9.2.2.1 40 watt akustik güç için % frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

% Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml süt, pH 6.7 ve 40 watt akustik güçte, 0.4 ml/L enzim ilavesi ile %10-%90 arasındaki % frekans aralıkları için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda sütteki enzim aktiviteler ile ortamda kalan laktöz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.16'da verilmiş ve Şekil 9.19'da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.16 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

<b>Frekans Aralığı (%)</b>	<b>Hidroliz Derecesi (%)</b>	<b>Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)</b>	<b>Laktoz Kons. (g/L)</b>
10	55.14	38.19	22.43
30	52.54	36.40	23.73
50	51.28	31.03	24.36
70	45.92	25.48	27.04
90	43.72	19.28	28.14



Şekil 9.19 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktöz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.16 ve Şekil 9.19'da görüldüğü gibi 40 watt akustik güçte % frekans aralığı artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %55 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %44 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %38'den %19'a (yaklaşık %50) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %62 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %81 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş % frekans aralığı artışının enzim yapısında bozunmaya neden olduğuna bağlanmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum frekans aralığı %10 olarak belirlenmiştir.

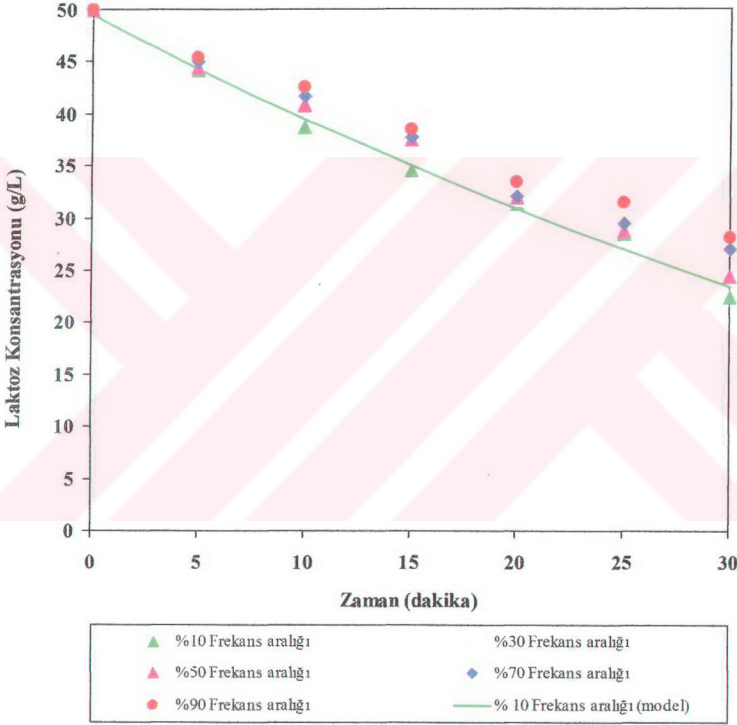
40 watt akustik güçte % frekans aralığının ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.17'de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.17 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [F]$	$a_S = 21.4575$ $b_S = 0.0737$	0.5333	0.9809
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [F]$	$a_A = 42.2610$ $b_A = -0.2437$	1.5120	0.9859

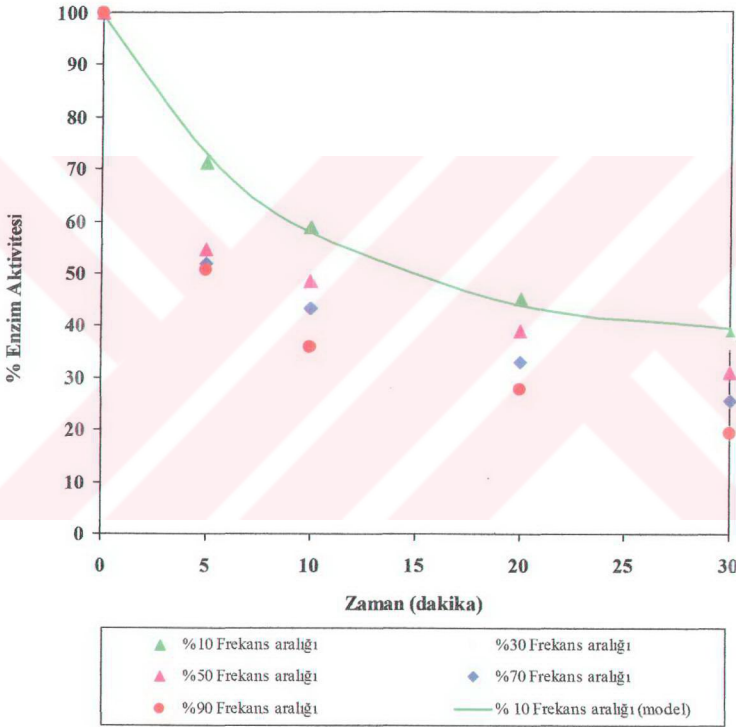
\*Katsayılar ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (birimsiz)

Laktoz konsantrasyonunun 40 watt akustik güçte farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.1'de verilmiş ve Şekil 9.20'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak %10 frekans aralığında laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.18'de verilmiştir.



Şekil 9.20 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

% Enzim aktivitesinin 40 watt akustik güçte farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.2'de verilmiş ve Şekil 9.21'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak %10 frekans aralığında % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.18'de verilmiştir.



Şekil 9.21 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.18 %10 frekans aralığı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar <sup>a</sup>	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [t] + c_S [t]^2$	$a_S = 49.5157$ $b_S = -1.0651$ $c_S = 0.0065$	1.0430	0.9959
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A \quad (\Psi)$	$a_A = 62.5404$ $b_A = 0.1095$ $c_A = 36.9037$	1.8720	0.9985

\*Katsayılar a ait birimler;  $a_S$ : (g laktöz/L),  $b_S$ : (g laktöz/L.dakika),  $c_S$ : (g laktöz/L.(dakika)<sup>2</sup>),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

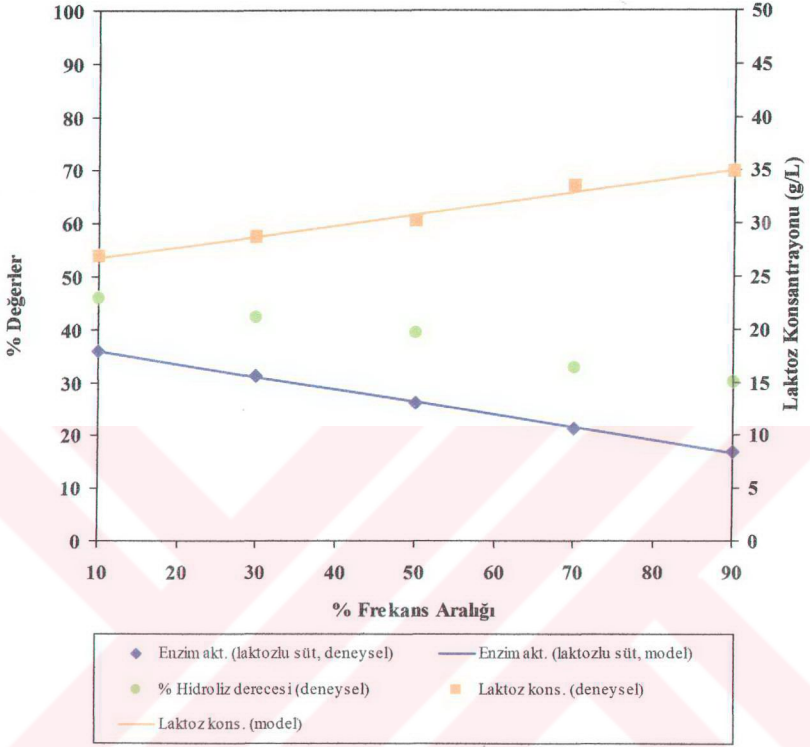
<sup>†</sup>Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

#### 9.2.2.2 80 watt akustik güç için % frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

% Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml süt, pH 6.7 ve 80 watt akustik güçte, 0.4 ml/L enzim ilavesi ile %10-%90 arasındaki % frekans aralıkları için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda süttteki enzim aktiviteler ile ortamda kalan laktöz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.19'da verilmiş ve Şekil 9.22'de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.19 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Frekans Aralığı (%)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktözlu süt) (%)	Laktöz Kons. (g/L)
10	46.04	36.03	26.98
30	42.38	31.40	28.81
50	39.38	26.28	30.31
70	32.92	21.31	33.54
90	30.24	17.02	34.88



Şekil 9.22 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.19 ve Şekil 9.22'de görüldüğü gibi 80 watt akustik güçte % frekans aralığı artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %46 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %30 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %36'dan %17'ye (yaklaşık %53) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %64 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %83 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş % frekans aralığı artışının enzim yapısında bozunmaya neden olduğuna bağlanmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum frekans aralığı %10 olarak belirlenmiştir.

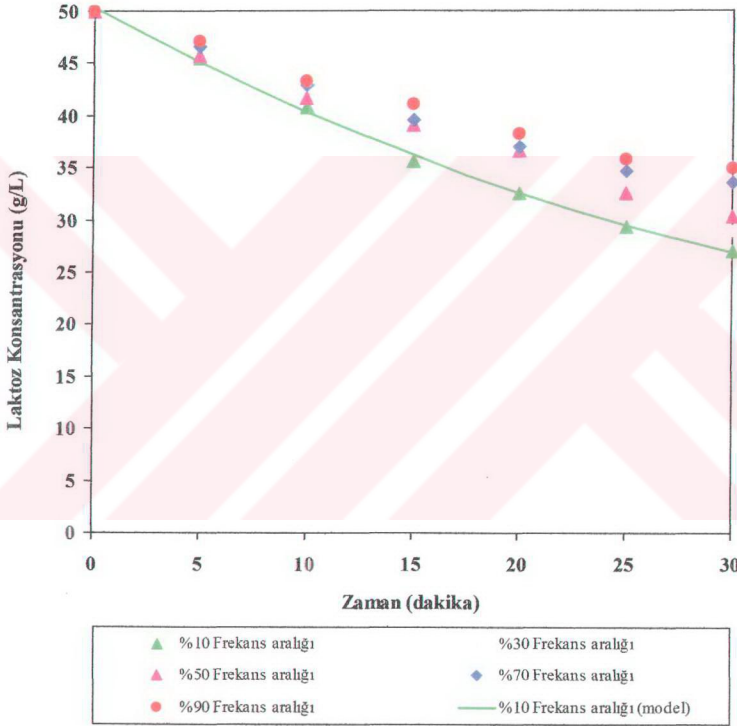
80 watt akustik güçte % frekans aralığının ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.20'de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.20 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [F]$	$a_S = 25.7715$ $b_S = 0.1027$	0.4981	0.9913
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [F]$	$a_A = 38.4355$ $b_A = -0.2406$	0.2492	0.9996

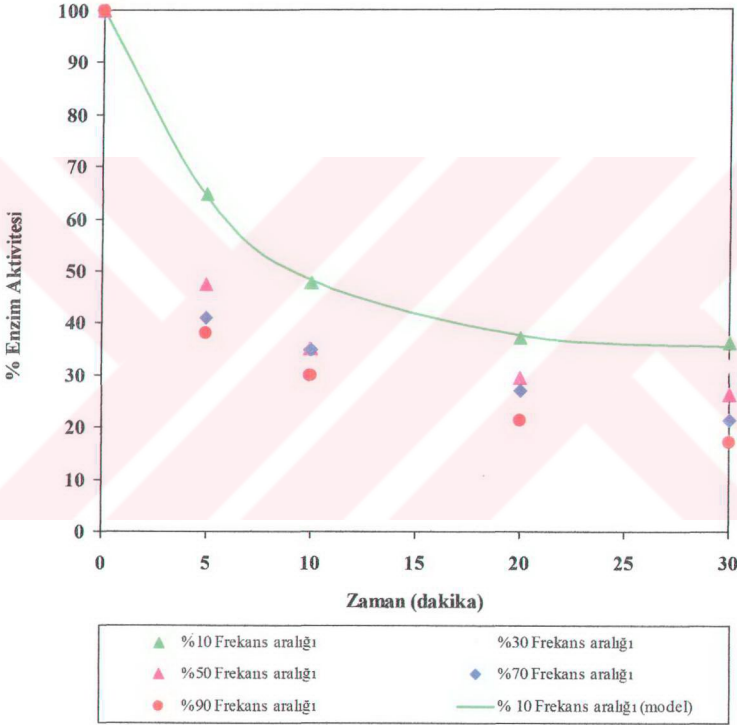
\*Katsayılara ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (birimsiz)

Laktoz konsantrasyonunun 80 watt akustik güçte farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.3'te verilmiş ve Şekil 9.23'te grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak %10 frekans aralığında laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.21'de verilmiştir.



Şekil 9.23 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

% Enzim aktivitesinin 80 watt akustik güçte farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.4'te verilmiş ve Şekil 9.24'te grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak %10 frekans aralığında % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.21'de verilmiştir.



Şekil 9.24 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Çizelge 9.21 %10 frekans aralığı için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [t] + c_S [t]^2$	$a_S = 50.3581$ $b_S = -1.0999$ $c_S = 0.0105$	0.4602	0.9990
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A \quad (\Psi)$	$a_A = 65.1447$ $b_A = 0.1594$ $c_A = 34.9689$	0.6544	0.9999

\*Katsayılar ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (g laktoz/L.dakika),  $c_S$ : (g laktoz/L.(dakika)<sup>2</sup>),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

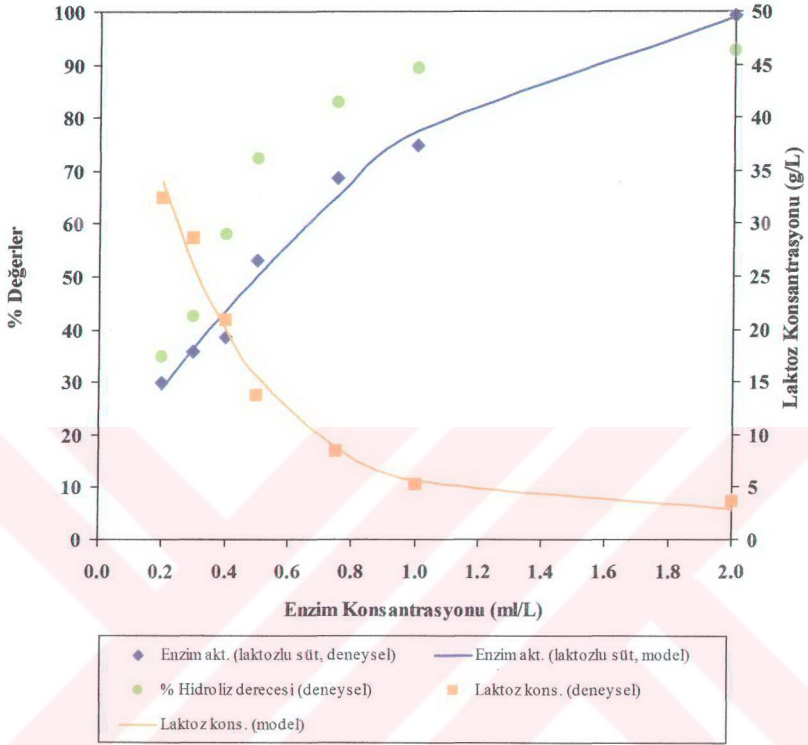
†Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

### 9.2.3 Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Enzimatik reaksiyonlarda enzim konsantrasyonu artışının reaksiyon hızını arttırdığı bilinmektedir. Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml süt, pH 6.7 ve %10 frekans aralığında, 20 watt akustik güçte 0.2-2.0 ml/L arasındaki enzim konsantrasyonları için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda sütteki enzim aktiviteler ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.22'de verilmiş ve Şekil 9.25'te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.22 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

<b>Enzim Kons. (ml/L)</b>	<b>Hidroliz Derecesi (%)</b>	<b>Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)</b>	<b>Laktoz Kons. (g/L)</b>
0.2	34.96	30.02	32.52
0.3	42.64	35.99	28.68
0.4	58.06	38.70	20.97
0.5	72.42	53.10	13.79
0.75	83.00	68.61	8.50
1.0	89.40	74.99	5.30
2.0	92.60	99.15	3.70



Şekil 9.25 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

Çizelge 9.22 ve Şekil 9.25'te görüldüğü gibi %10 frekans aralığı ve 40 watt akustik güçte enzim konsantrasyonu artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. 0.2 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %35 iken, 2 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %93 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyonu aralığı boyunca enzim aktivitesi %30'dan %99'a (yaklaşık 3.3 kat) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1 ml/L olarak belirlenmiştir.

%10 frekans aralığının ve 20 watt akustik güçte enzim konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.23'te verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

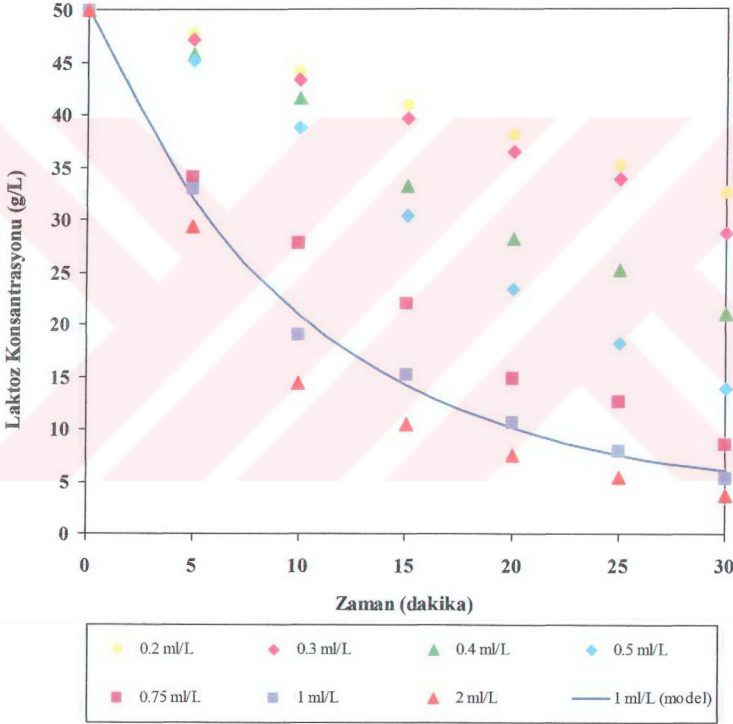
Çizelge 9.23 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

Matematiksel model	Katsayılar <sup>a</sup>	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S \cdot \exp(-b_S \cdot [E]) + c_S \quad (\Psi)$	$a_S = 56.7280$ $b_S = 2.9782$ $c_S = 2.8331$	1.9032	0.9907
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A + b_A [E] + c_A [E]^2$	$a_A = 12.1446$ $b_A = 87.2184$ $c_A = -21.8971$	3.5568	0.9932

<sup>a</sup>Katsayılarla ait birimler;  $a_S$ : (g laktoz/L),  $b_S$ : (ml enzim/L)<sup>-1</sup>,  $c_S$ : (g laktoz/L),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (ml enzim/L)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (ml enzim/L)<sup>-2</sup>

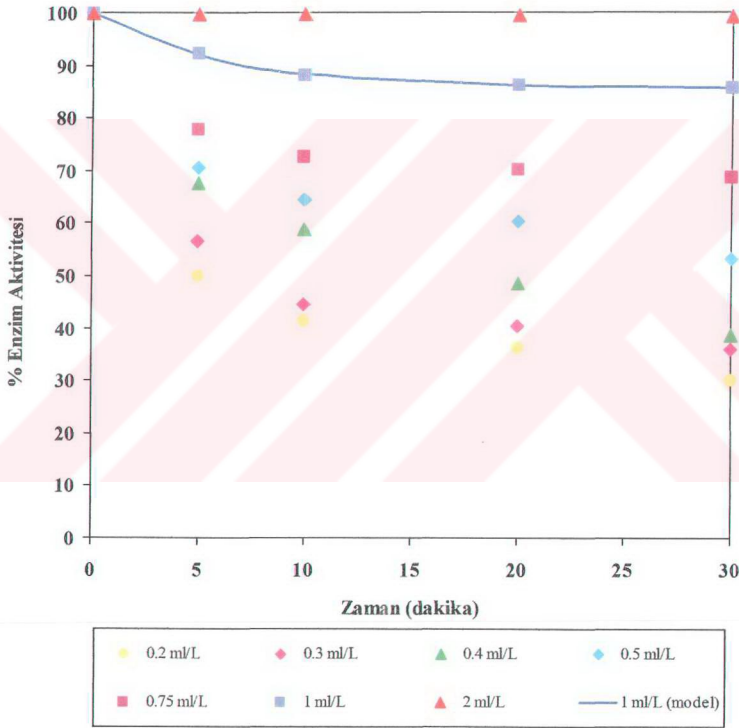
<sup>¶</sup>Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

Laktoz konsantrasyonunun %10 frekans aralığı ve 20 watt akustik güçte farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 7, Çizelge E7.1'de verilmiş ve Şekil 9.26'da grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak %10 frekans aralığı ve 20 watt akustik güçte laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.24'te verilmiştir.



Şekil 9.26 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

% Enzim aktivitesinin %10 frekans aralığı ve 20 watt akustik güçte farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini gözlemleyebilmek amacıyla hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 7, Çizelge E7.2'de verilmiş ve Şekil 9.27'de grafiksel olarak sunulmuştur. Curve Expert 1.3 programı kullanılarak %10 frekans aralığı ve 20 watt akustik güçte % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel model ve istatistik veriler Çizelge 9.24'te verilmiştir.



Şekil 9.27 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

Çizelge 9.24 1 ml/L enzim konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R <sup>2</sup>
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S \cdot \exp(-b_S \cdot [t]) + c_S$ (Ψ)	$a_S = 46.5573$ $b_S = 0.0983$ $c_S = 3.5596$	1.2745	0.9979
$[A_{\text{LAKTOZLU}}] = a_A \cdot \exp(-b_A \cdot [t]) + c_A$ (Ψ)	$a_A = 75.5424$ $b_A = 0.0115$ $c_A = 22.8235$	3.3163	0.9667

\*Katsayılarla ait birimler;  $a_S$ : (g laktöz/L),  $b_S$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_S$ : (g laktöz/L),  $a_A$ : (birimsiz),  $b_A$ : (dakika)<sup>-1</sup>,  $c_A$ : (birimsiz)

<sup>Ψ</sup>Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen model

### 9.3 Enzim Konsantrasyonuna Karşılık Biyoreaktör ve Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylelerden Elde Edilen Deneysel Verilerin Karşılaştırılması

Farklı enzim konsantrasyonlarına karşılık biyoreaktör (N= 300 devir/dak) ve sonikatörde (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt) gerçekleştirilen deneylerden elde edilen veriler karşılaştırılmış ve elde edilen değerler Çizelge 9.25'te verilmiştir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundan daha düşük enzim konsantrasyonları için biyoreaktördeki hidroliz derecelerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 0.2 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktördeki hidroliz derecesi yaklaşık %42 iken, sonikatördeki hidroliz derecesi %35'tir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonu için hem biyoreaktör hem de sonikatörde hemen hemen aynı hidroliz derecesi elde edilmiş olup yaklaşık %73'tür. 0.5 ml/L'den yüksek enzim konsantrasyonlarında ise sonikatördeki hidroliz dereceleri daha yüksektir. 2 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktördeki hidroliz derecesi yaklaşık %87 iken, sonikatördeki hidroliz derecesi %93 olmuştur. Diğer taraftan, tüm enzim konsantrasyonları için elde edilen % enzim aktivite değerlerinin sonikatörde daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum, sonikatörün enzim aktivitesini artırıcı bir etkisinin olmaması ile açıklanabilir.

Çizelge 9.25 Biyoreaktörde (N= 300 devir/dak) ve sonikatörde (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt) enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler karşılaştırılması

Enzim Kons. (ml/L)	Hidroliz Derecesi (%)		Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)		Laktoz Kons. (g/L)	
	Biyoreaktör	Sonikatör	Biyoreaktör	Sonikatör	Biyoreaktör	Sonikatör
0.2	41.92	34.96	29.37	30.02	29.04	32.52
0.3	51.46	42.64	33.07	35.99	24.27	28.68
0.4	62.12	58.06	36.24	38.70	18.92	20.97
0.5	72.58	72.42	41.94	53.10	13.71	13.79
1.0	83.72	89.40	51.94	74.99	8.14	5.30
2.0	86.86	92.60	65.92	99.15	6.57	3.70

0.4 ml/L enzim konsantrasyonda biyoreaktör (N= 300 devir/dak) ve farklı akustik güçler için sonikatörde (Frekans Aralığı= %10) gerçekleştirilen deneylerden elde edilen veriler karşılaştırılmış ve elde edilen değerler Çizelge 9.26'da verilmiştir. Hidroliz derecesinin biyoreaktörde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Biyoreaktördeki hidroliz derecesi %62 iken, %10 frekans aralığında sonikatörde en yüksek hidroliz derecesi 20 watt akustik güçte elde edilmiş olup yaklaşık %58'dir. Buna karşılık, 20 watt akustik güçte sonikatördeki enzim aktivitesi biyoreaktördeki enzim aktivitesine kıyasla %7 daha fazladır.

1

Çizelge 9.26 0.4 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktörden (N= 300 devir/dak) elde edilen deneysel veriler ile farklı akustik güçler için sonikatörden (Frekans Aralığı= %10) elde edilen deneysel verilerin karşılaştırılması

Değerler	Biyoreaktör	Sonikatör				
		20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
Hidroliz Derecesi (%)	62.12	58.06	55.14	49.56	46.04	42.42
Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)	36.24	38.70	38.19	36.57	36.03	35.17
Laktoz Kons. (g/L)	18.92	20.97	22.43	25.22	26.98	28.79

0.4 ml/L enzim konsantrasyonda biyoreaktör (N= 300 devir/dak) ve farklı % frekans aralıkları için sonikatörde (Akustik Güç= 40 watt) gerçekleştirilen deneylerden elde edilen veriler karşılaştırılmış ve elde edilen değerler Çizelge 9.27'de verilmiştir. Hidroliz derecesinin biyoreaktörde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Biyoreaktördeki hidroliz derecesi %62 iken, 40 watt akustik güçte sonikatörde en yüksek hidroliz derecesi %10 frekans aralığında elde edilmiş olup yaklaşık %55'tir. Buna karşılık, %10 frekans aralığında sonikatördeki enzim aktivitesi biyoreaktördeki enzim aktivitesine kıyasla %38 daha fazladır.

Çizelge 9.27 0.4 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktörden (N= 300 devir/dak) elde edilen deneysel veriler ile farklı % frekans aralıkları için sonikatörden (Akustik Güç= 40 watt) elde edilen deneysel verilerin karşılaştırılması

Değerler	Biyoreaktör	Sonikatör				
		%10	%30	%50	%70	%90
Hidroliz Derecesi (%)	62.12	55.14	52.54	51.28	45.92	43.72
Enzim Aktivitesi (Laktozlu süt) (%)	36.24	38.19	36.40	31.03	25.48	19.28
Laktoz Kons. (g/L)	18.92	22.43	23.73	24.36	27.04	28.14

## 10. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, sütteki laktozun; ticari bir enzim olan *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi (ürün kodu: EC 3.2.1.23) ile biyoreaktördeki hidroliz işlemine ait proses parametrelerinin (sıcaklık, karıştırıcı hızı, enzim konsantrasyonu) ve sonikatördeki hidroliz işlemine ait proses parametrelerinin (akustik güç, % frekans aralığı, enzim konsantrasyonu) hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

### A) Biyoreaktörde;

- 1) Sıcaklığın etkisi incelendiğinde, 37 °C'ye kadar sıcaklık artışıyla sütteki hidroliz derecesi artarken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. 10 °C'deki hidroliz derecesi yaklaşık %4 iken sıcaklık ile artarak 37 °C'de yaklaşık %42 olmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 55 °C'de hidroliz derecesi yaklaşık %4'e kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen sıcaklık aralığı boyunca enzim aktivitesi %55'ten %5'e (yaklaşık %92) azalmıştır. Kullanılan enzim 10 °C için yaklaşık %45, 37 °C için %71 ve 55 °C için %95 oranında inaktive olmuştur. Elde edilen deneysel verilere göre optimum sıcaklık 37 °C olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla lineer denklem ve Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 2) Karıştırıcı hızının etkisi incelendiğinde, 300 devir/dak'a kadar karıştırıcı hızı artışıyla sütteki hidroliz derecesinde artış olurken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 100 devir/dak'daki hidroliz derecesi yaklaşık %31 iken karıştırıcı hızı ile artarak 300 devir/dak'da yaklaşık %42 olmuştur. Daha yüksek karıştırıcı hızlarında ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 600 devir/dak'da hidroliz derecesi yaklaşık %34'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen karıştırıcı hızı aralığı boyunca enzim aktivitesi %67'den %21'e (yaklaşık %68) azalmıştır. Kullanılan enzim 100 devir/dak için yaklaşık %33, 300 devir/dak için yaklaşık 71 ve 600 devir/dak için yaklaşık %79 inaktive olmuştur. Elde edilen deneysel verilere göre optimum karıştırıcı hızı 300 devir/dak olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel

modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla lineer denklem ve Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 3) Enzim konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde, enzim konsantrasyonu artışıyla sütteki hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. 0.1 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %28 iken, 1ml/l enzim konsantrasyonunda yaklaşık %84 iken, 4 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %90 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %25'ten %87'ye (yaklaşık 3.5 kat) artmıştır. Elde edilen deneysel verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1 ml/L olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ile ilgili değerlerin Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 4) Optimum koşullar olan, 37 Ç sıcaklık, 300 devir/dak karıştırıcı hızı ve 1 ml/L enzim konsantrasyonunda hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %84 ve %52'dir.

## **B) Sonikatörde;**

- 1) Akustik gücün etkisi incelendiğinde, hem %10 frekans aralığında hem de %50 frekans aralığında akustik güç artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir.

%10 frekans aralığında 20 watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %58 iken akustik güç ile azalarak 100 watt'ta yaklaşık %42 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %39'dan %35'e (yaklaşık %9) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 watt akustik güç için yaklaşık %61 ve 100 watt akustik güç için yaklaşık %65 oranında inaktive olmuştur.

%50 frekans aralığında 20 watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %57 iken akustik güç ile azalarak 100 watt'ta yaklaşık %36 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %36'dan %21'e (yaklaşık %42) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 watt akustik güç için yaklaşık %64 ve 100 watt akustik güç için yaklaşık %79 oranında inaktive olmuştur.

Sonuç olarak, hem %10 frekans aralığı hem de %50 frekans aralığı için elde edilen deneysel verilere göre optimum akustik güç 20 watt olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla polinom modele ve Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 2) % Frekans aralığının etkisi incelendiğinde, hem 40 watt akustik güçte hem de 80 watt akustik güçte % frekans aralığı artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir.

40 watt akustik güçte %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %55 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %44 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %38'den %19'a (yaklaşık %50) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %62 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %81 oranında inaktive olmuştur.

80 watt akustik güçte %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %46 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %30 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %36'dan %17'ye (yaklaşık %53) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %64 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %83 oranında inaktive olmuştur.

Sonuç olarak, hem 40 watt akustik güç hem de 80 watt akustik güç için elde edilen deneysel verilere göre optimum frekans aralığı %10 olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu;

zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla polinom modele ve Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 3) Akustik güç ile % frekans aralığının laktoz hidrolizi üzerindeki etkileri incelendiğinde % frekans aralığının laktoz hidroliz prosesi için daha etkili olduğu belirlenmiştir.
- 4) Enzim konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde, %10 frekans aralığı ve 40 watt akustik güçte enzim konsantrasyonu artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. 0.2 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %35 iken, 2 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %93 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %30'dan %99'a (yaklaşık 3.3 kat) artmıştır. Elde edilen deneysel verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1 ml/L olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ile ilgili değerlerin Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise Komolprasert ve Ofoli (1991) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 5) Optimum koşullar olan, %10 frekans aralığı, 20 watt akustik güç ve 1 ml/L enzim konsantrasyonunda hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %89 ve %75'tir.

### **C) Biyoreaktör ve sonikatör verileri karşılaştırıldığında;**

- 1) % Hidroliz derecelerine ait elde edilen veriler incelendiğinde; 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundan daha düşük enzim konsantrasyonları için biyoreaktördeki hidroliz derecelerinin sonikatördekilere kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 0.2 ml/L enzim konsantrasyonu için biyoreaktördeki hidroliz derecesi yaklaşık %42 iken, sonikatördeki hidroliz derecesi %35'tir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonu için hem biyoreaktör hem de sonikatörde hemen hemen aynı hidroliz derecesi elde edilmiş olup yaklaşık %73'tür. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundan daha yüksek enzim konsantrasyonlarında ise sonikatördeki hidroliz dereceleri daha yüksektir. 2 ml/L

enzim konsantrasyonu için biyoreaktördeki hidroliz derecesi yaklaşık %89 iken, sonikatördeki hidroliz derecesi %93 olmuştur.

- 2) % Enzim aktivitelerine ait elde edilen veriler incelendiğinde; 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundan daha düşük enzim konsantrasyonları için hem biyoreaktörden hem de sonikatörden elde edilen % enzim aktivite değerleri hemen hemen aynıdır. Ancak, 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundan daha yüksek enzim konsantrasyonları için elde edilen % enzim aktivite değerlerinin sonikatörde daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum, sonikasyon işleminin enzim aktivitesini artırıcı bir etkisinin olması ile açıklanabilir.

**Sonuç olarak,** biyoreaktöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %84 ve %52 bulunurken; sonikatöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %89 ve %75 bulunmuştur. Dolayısı ile, sonikatörden elde edilen % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesinin biyoreaktörden elde edilen % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesinden sırasıyla, yaklaşık %7 ve %44 daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, sütteki laktozun *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimi ile hidrolizi için sonikasyon işleminin uygulanmasının kesikli biyoreaktöre kıyasla daha verimli bir proses olduğu tespit edilmiştir.

Bundan sonraki çalışmalarda, sütteki laktozun hidrolizi ile ilgili sonikasyon proses veriminin artırılabilmesi için aşağıda sıralanan faktörler incelenebilir:

- Farklı kaynaklı  $\beta$ -galactosidase enzimleri
- İmmobilize edilmiş  $\beta$ -galactosidase enzimleri
- Farklı hacimlerin etkisi
- Farklı sonikatör uçların hidroliz reaksiyonuna etkisi

**KAYNAKLAR**

- Andaç, Ö., (2002), *Ultras ses Dalgalarının Zeolit A Sentezi Üzerindeki Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bailey, J.E. ve Ollis, D.F., (1986), *Biochemical Engineering Fundamentals*, Mc Graw Hill Book Co., Second Edition, New York.
- Binkey, E., (1996), "Allergy to Supplemental Lactase Enzyme", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 97(6):1413-1416.
- Burin, L., Touppila, K., Roos, Y. H., Kansikas, J., Buera, M. P., (2004), "Retention of  $\beta$ -galactosidase activity as related to Maillard reaction, lactose crystallization, collapse and glass transition in low moisture whey systems", *International Dairy Journal*, 14:517-525.
- Bury, D., Jelen, P., Kalab, M., (2001) "Disruption of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842 cells for lactose hydrolysis in dairy products: a comparison of sonication, high-pressure homogenization and bead milling", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2:23-29.
- Casadonte, D. J., (2000), "The Sound of Science: The Chemical Effect of High-Intensity Ultrasound", *Texas Technical University, Lubbock Magazine*, January:40-43.
- Chisti, Y., (2003), "Sonobioreactors: Using Ultrasound for Enhanced Microbial Productivity", *Trends in Biotechnology*, 21(2):89-93.
- Cracknell, A.P., (1980), *Ultrasonics*, Wykeham Publications, London and Basingstoke.
- Craven GR., Steers E. Jr., Anfinsen CB., (1965), "Purification, composition and molecular weight determination of the  $\beta$ -galactosidase of *Escherichia coli* K12", *J. Biol. Chem.*, 240:2468-2471.
- Cropek D. ve Dankowski B., (2000), "Sonolysis of Nitrocellulose Fines", US Army Corps of Engineers Research and Development Center, Technical Report, (May) ERDC/CERL TR-00-14.
- Çetin, E. T., (1983), *Endüstriyel Mikrobiyoloji*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Demirsoy, A., (1989), *Genel Biyoloji/Genel Zooloji Cilt1*, Meteksan A.Ş., Ankara.
- Di Serio, M., Maturo, C., De Alteriis, E., Parascandola, P., Tesser, R., Santacesaria E., (2003), "Lactose hydrolysis by immobilized  $\beta$ -galactosidase: the effect of the supports and the kinetics", *Catalysis Today* 79-80:333-339.
- DSM Food Specialties, (2004),  $\beta$ -Galactosidase Enzyme Product Specification Sheet, 1-10.
- Elliott, D.C., Wend, C.F., Alnajjar, M.S., (2001), "Lactose Processing Technology-Creating New Utilization Opportunities", *Cheese Seminar File*, 55:147-165, Washington, USA.
- Gates, B., (1992), "Catalytic Chemistry", John Wiley&Sons Inc., New York.

Giz, H., (2000), Serbest Radikal Polimerizasyonunda Ultrases Kullanılarak Sonlanma Mekanizmasının Belirlenmesi, Araştırma Fonu Raporu, İTÜ.

Jelen P. ve Tossavainen O., (2003), "Low lactose and lactose-free milk and dairy products-prospects, technologies and applications", Australian Journal of Dairy Technology, 58(2):161-165.

Kim, C.S., Ji, E., Oh, D., (2004), "A New Kinetic Model of Recombinant  $\beta$ -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis* for Both Hydrolysis and Transgalactosylation Reactions", Biochemical and Biophysical Research Communications, 316:738-743.

Koç (Öncül), A., (2001), Ultrases Kullanılarak Elde Edilen Etiketli Polimerler ve Uygulamaları, Doktora Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

Komolprasert, V. ve Ofoli, R.Y., (1991), "Starch Hydrolysis Kinetics of *Bacillus Licheniformis*  $\alpha$ -Amylase", J.Chem.Biotechnol., 51:209-224.

Korukluoğlu, M. (1999) "Süt Alerjisi", Gıda-Haziran 1999, 44-48.

Ladero, M., Santos, A., Garcia, J.L., Garcia-Ochoa, F., (2001), "Activity Over Lactose and ONPG of a Genetically Engineered  $\beta$ -Galactosidase from *Escherichia coli* in Solution and Immobilized: Kinetic Modelling", Enzyme and Microbial Technology, 29:181-193.

Lii, C., Chen, C. H., Yeh, A., Lai V. M. F., (1999), "Preliminary Study on the Degredation Kinetics of Agarose and Carregeenans by Ultrasound", Food Hydrocolloids, 13:477-481.

Neis, U., (2002), "Intensification of Biological and Chemical Process by Ultrasound", Ultrasound in Enviromental Engineering II, TU Hamburg-Harburg Reports on Sanitary Engineering 35.

Nichtl A., Buchner J., Jaenicke R., Rudolph R. and Scheibel (1998), "Folding and Association of  $\beta$ -Galactosidase", J. Mol. Biol. 282: 1083-1091.

Numanoğlu, Y. ve Sungur, S., (2004), " $\beta$ -Galactosidase From *Kluyveromyces lactis* Cell Disruption and Enzyme Immobilization Using a Cellulose-Gelatin Carrier System", Process Biochemistry, 39: 703-709.

Pessela, B., Mateo, C., Fuentes, M., Vian, A., Garcia, J.L., Carrascosa, A.V., Guisan, J.M., Lafuente, R.F., (2003), "The Immobilization of a Thermophilic  $\beta$ -Galactosidase on Sepabeads Supports Decreases Product Inhibition Complete Hydrolysis of Lactose in Dairy Products", Enzyme and Microbial Technology, 33:199-205.

Povey, M. J. W. ve Mason, T. J., (1998), Ultrasound in Food Processing, Blakie Academic & Professional, London.

Roy, I. ve Gupta, M. N., (2003), "Lactose hydrolysis by Lactozym<sup>TM</sup> immobilized on cellulose beads in batch and fluidized bed modes", Process Biochemistry, 39:325-332.

Schlager, K. J., (1998), "Progress in Ultrasonic Bioreactors for Cells Applications", Adv. Space Res., 22(10):1453-1464.

Szczodrak, J., (2000), "Hydrolysis of Lactose in Whey Permeate by Immobilized  $\beta$ -Galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*" Department of Industrial Microbiology, Maria Curie-Sklodowska University, Akademicka 19, 20-033 Lublin, Poland, 10:631-637.

Tanriseven, A. ve Doğan, Ş., (2002), "A Novel Method for the Immobilization of  $\beta$ -Galactosidase", Department of Biochemistry, Gebze Institute of Technology, Gebze, Kocaeli, 38:27-30.

Telefoncu, A., (1995), Biyoteknoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir.

Telefoncu, A., (1997), Enzimoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir.

Trinder P., (1969), "Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor", Ann. Clin Biochem., 6:24-30.

Ullman A., (2001) Escherichia coli Lactose Operon. Encyclopedia of Life Sciences.

Vasiljevic, T. ve Jelen P. (2002), "Lactose hydrolysis in milk as affected by neutralizers used for the preparation of crude  $\beta$ -galactosidase extracts from *Lactobacillus bulgaricus* 11842", Innovative Food Science & Emerging Technologies 3:175-184.

Yalçın, E., Güvenç, A., Kapucu, N., Mehmetoğlu, Ü., (2002), "İzoamil Asetatın Enzimatik Üretimine Ses Ötesi Dalgaların Etkisi", V. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 2-5 Eylül 2002, Ankara.

## İNTERNET KAYNAKLARI

[1] [http://www.europabio.org/pages/module\\_14.asp](http://www.europabio.org/pages/module_14.asp)

[2] [http://www.metrex.com/TechInfo/TechBulletins/Canada%20-%20EmPower-MetriZymeDetergeZyme%20Technical%20Bulletin%20\(metrex\).pdf](http://www.metrex.com/TechInfo/TechBulletins/Canada%20-%20EmPower-MetriZymeDetergeZyme%20Technical%20Bulletin%20(metrex).pdf)

[3] <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/dergi/99/ekim/enzim.pdf>

[4] <http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/Metabolism/Enzymes.html>

[5] <http://www.ann.com.au/MedSci/enzymes.html>

[6] <http://www.mills.edu/RESARCH/FUTURES/JOHNB/Structurefunction/727.html>

[7] <http://www.biochem.purdue.edu/teaching/courses/307/fall2004/03-enzymes-part1.pdf>

[8] [http://www.cf.ac.uk/biosi/staff/kille/dentals/dentals5\\_99/sld001.html](http://www.cf.ac.uk/biosi/staff/kille/dentals/dentals5_99/sld001.html)

[9] <http://ceiba.cc.ntu.edu.tw/603371B1/lecture6.ppt>

[10] <http://www.nti.tamuk.edu/cell/kinetics.html>

[11] <http://www.kkgm.gov.tr/Genel/index.asp?Prm=/Kampanyalar/sut/sut03.html>

- [12] <http://www.seksut.com.tr>
- [13] <http://www.bioclub.sitemynet.com>
- [14] [http://www.apv.com/Industries/Dairy/whey\\_lactose.html](http://www.apv.com/Industries/Dairy/whey_lactose.html)
- [15] <http://www.elmhurst.edu/chm/vchembook/546.lactose.html>
- [16] <http://www.angelfire.com/nj3/soundweapon/ultrales.html>
- [17] <http://www.bandelin.com/english/index.html>
- [18] [http://www.electrotherapy.org/electro/ultrasound/therapeutic\\_ultrasound.html](http://www.electrotherapy.org/electro/ultrasound/therapeutic_ultrasound.html)
- [19] <http://science.concerresearchuk.org/sci/fs/downstream1/sonication/?version=1>
- [20] <http://www.rehabpub.com/features/102002/2.asp>
- [21] [http://www.biologics-inc.com/ultrasonic\\_homogenizers.html](http://www.biologics-inc.com/ultrasonic_homogenizers.html)
- [22] [http://www.worthington\\_biochem.com/BG/default.html](http://www.worthington_biochem.com/BG/default.html)
- [23] [http://www.tcd.ie/Genetics/staff/Miguel\\_De\\_Arce\\_GE3020/Experiment3.doc](http://www.tcd.ie/Genetics/staff/Miguel_De_Arce_GE3020/Experiment3.doc)
- [24] <http://www.waksmanfoundation.org/labs/wisteb/genereg.html>
- [25] <http://acad.erskine.edu/facultyweb/baker/lab%20manual%202003/Backup%20of%20Enzymes.doc>

**EKLER**

- Ek 1 Aşırı enzim ilavesi ile elde edilen laktozsuz SEK marka süt ile Pınar marka laktozsuz süte ait deneysel veriler
- Ek 2 Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler
- Ek 3 Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler
- Ek 4 Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler
- Ek 5 Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler
- Ek 6 Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler
- Ek 7 Sonikatörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler



**Ek 1. Aşırı enzim ilavesi ile elde edilen laktozsuz SEK marka süt ile Pınar marka laktozsuz süte ait deneysel veriler**

Çizelge E1.1 Laboratuvar koşullarında aşırı enzim ilavesi ile laktozu parçalanmış SEK marka süt ve Pınar marka laktozsuz süt için 0.2 ml/L ve 1 ml/L enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)			
	0.2 ml/L enzim kons.		1 ml/L enzim kons.	
	SEK Süt*	Pınar Süt**	SEK Süt*	Pınar Süt**
0	100	100	100	100
5	59.11	58.86	72.36	72.99
10	46.10	46.74	62.54	60.48
20	35.32	33.27	56.94	56.17
30	29.37	28.51	51.94	51.83

\*Laboratuvar koşullarında aşırı enzim ilavesi ile laktozu parçalanmış SEK marka süt

\*\*Piyasadan satın alınan Pınar marka laktozsuz süt

**Ek 2. Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E2.1 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri  
(pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)										
	10 (°C)	15 (°C)	20 (°C)	25 (°C)	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)	55 (°C)
0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
5	49.39	49.43	48.39	47.06	46.58	46.47	47.31	45.53	45.29	44.36	48.37
10	49.20	48.61	46.78	45.49	44.90	43.45	42.82	41.74	41.92	42.23	48.16
15	48.99	47.64	45.60	44.34	41.80	40.72	39.81	38.11	40.18	40.02	48.10
20	48.78	47.39	44.59	43.36	40.41	37.86	36.23	35.47	36.27	38.24	48.04
25	48.36	46.97	43.10	41.91	38.04	35.22	31.73	32.17	34.31	38.01	48.04
30	48.10	46.00	42.08	37.83	34.22	30.44	29.04	28.89	31.33	36.17	47.93

Çizelge E2.2 Laktozlu sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)										
	10 (°C)	15 (°C)	20 (°C)	25 (°C)	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)	55 (°C)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
5	71.77	62.15	60.19	59.75	59.46	59.37	59.11	58.01	51.66	43.92	41.29
10	59.37	50.52	50.31	49.78	48.46	47.13	46.10	38.86	33.36	31.08	22.52
20	56.99	46.10	41.25	38.27	37.51	36.63	35.32	30.87	26.54	20.95	9.92
30	54.88	44.08	37.81	34.75	33.06	30.73	29.37	27.49	23.70	17.57	4.56

Çizelge E2.3 Laktozsuz sütte farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)										
	10 (°C)	15 (°C)	20 (°C)	25 (°C)	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)	55 (°C)
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
5	95.69	96.06	95.64	95.28	95.14	94.53	94.11	89.57	71.90	56.95	45.54
10	90.66	90.05	90.78	87.01	86.71	84.65	81.97	73.11	55.85	45.81	27.57
20	82.53	82.21	78.07	73.94	72.57	70.26	64.90	62.44	45.87	37.48	22.84
30	72.25	69.05	66.70	65.95	63.23	60.82	60.65	58.55	44.40	28.49	14.54

**Ek 3. Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E3.1 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)					
	100 (devir/dak)	200 (devir/dak)	300 (devir/dak)	400 (devir/dak)	500 (devir/dak)	600 (devir/dak)
0	50	50	50	50	50	50
5	46.54	45.01	47.31	47.44	46.06	46.05
10	42.22	41.88	42.82	43.83	42.16	42.79
15	41.19	37.39	39.81	37.99	38.20	41.82
20	38.76	34.66	36.23	34.12	35.03	36.69
25	37.29	34.68	31.73	31.39	32.69	36.30
30	34.26	30.69	29.04	29.66	31.18	33.07

Çizelge E3.2 Laktozlu sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	100 (devir/dak)	200 (devir/dak)	300 (devir/dak)	400 (devir/dak)	500 (devir/dak)	600 (devir/dak)
0	100	100	100	100	100	100
5	90.46	76.84	59.11	56.87	54.93	53.04
10	82.57	67.94	46.10	43.13	41.14	38.83
20	74.27	54.42	35.32	31.91	28.69	26.85
30	67.22	46.24	29.37	26.34	23.63	21.30

Çizelge E3.3 Laktozsuz sütte farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.2 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	100 (devir/dak)	200 (devir/dak)	300 (devir/dak)	400 (devir/dak)	500 (devir/dak)	600 (devir/dak)
0	100	100	100	100	100	100
5	91.73	93.71	94.11	88.78	86.78	84.29
10	86.67	81.36	81.97	81.36	78.74	74.55
20	82.93	74.25	64.90	66.93	60.54	61.63
30	78.67	71.10	60.65	57.71	50.57	44.76

**Ek 4. Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E4.1 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)							
	0.1 (ml/L)	0.2 (ml/L)	0.3 (ml/L)	0.4 (ml/L)	0.5 (ml/L)	1 (ml/L)	2 (ml/L)	4 (ml/L)
0	50	50	50	50	50	50	50	50
5	46.82	47.31	46.10	41.87	41.62	33.80	29.83	19.03
10	45.24	42.82	41.92	35.82	34.82	24.56	19.58	8.13
15	44.64	39.81	35.93	31.29	28.81	18.01	12.48	7.04
20	40.56	36.23	31.49	28.30	24.50	12.90	9.92	6.27
25	40.06	31.73	27.85	24.39	20.02	11.03	8.15	5.90
30	35.79	29.04	24.27	18.92	13.71	8.14	6.57	4.86

Çizelge E4.2 Laktozlu sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)							
	0.1 (ml/L)	0.2 (ml/L)	0.3 (ml/L)	0.4 (ml/L)	0.5 (ml/L)	1 (ml/L)	2 (ml/L)	4 (ml/L)
0	100	100	100	100	100	100	100	100
5	54.13	59.11	64.33	66.01	66.27	72.36	79.19	95.41
10	39.48	46.10	48.52	51.43	52.75	62.54	71.22	92.90
20	31.07	35.32	37.52	40.63	43.73	56.94	66.98	89.20
30	24.52	29.37	33.07	36.24	41.94	51.94	65.92	87.43

Çizelge E4.3 Laktozsuz sütte farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)							
	0.1 (ml/L)	0.2 (ml/L)	0.3 (ml/L)	0.4 (ml/L)	0.5 (ml/L)	1 (ml/L)	2 (ml/L)	4 (ml/L)
0	100	100	100	100	100	100	100	100
5	89.39	94.11	94.21	95.32	93.97	95.44	98.28	99.67
10	85.71	81.97	82.08	88.08	86.65	88.42	94.84	95.90
20	72.79	64.90	70.65	71.95	79.15	76.14	90.65	93.57
30	52.98	60.65	61.31	66.67	69.10	75.31	85.27	91.69

### Ek 5. Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E5.1 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	50	50	50	50	50
5	45.17	44.17	45.17	45.55	46.68
10	38.59	38.75	40.04	40.86	41.73
15	33.16	34.58	35.43	35.69	37.28
20	28.17	31.29	32.50	32.51	35.28
25	25.16	28.41	28.73	29.29	31.96
30	20.97	22.43	25.22	26.98	28.79

Çizelge E5.2 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	77.66	71.33	69.52	64.78	62.82
10	58.91	58.92	50.04	47.83	42.56
20	48.54	45.06	38.13	37.17	36.48
30	38.70	38.19	36.57	36.03	35.17

Çizelge E5.3 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	50	50	50	50	50
5	44.75	44.46	45.56	45.85	46.38
10	40.06	40.81	41.54	41.71	43.43
15	34.56	37.53	38.65	39.11	40.05
20	32.03	31.94	36.24	36.60	37.42
25	28.73	28.66	31.92	32.53	34.98
30	21.35	24.36	27.20	30.31	32.04

Çizelge E5.4 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	63.91	54.69	50.42	47.51	44.76
10	50.27	48.58	42.08	35.07	33.01
20	42.30	38.83	35.53	29.47	28.37
30	35.93	31.03	29.92	26.28	21.01

**Ek 6. Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E6.1 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	50	50	50	50	50
5	44.17	44.83	44.46	45.05	45.44
10	38.75	40.60	40.81	41.66	42.56
15	34.58	35.48	37.53	37.72	38.46
20	31.29	31.62	31.94	32.11	33.37
25	28.41	28.64	28.66	29.49	31.41
30	22.43	23.73	24.36	27.04	28.14

Çizelge E6.2 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 40 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	100	100	100	100	100
5	71.33	59.17	54.69	52.04	50.83
10	58.92	48.97	48.58	43.31	35.87
20	45.06	40.58	38.83	32.93	27.70
30	38.19	36.40	31.03	25.48	19.28

Çizelge E6.3 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	50	50	50	50	50
5	45.55	46.50	45.85	46.70	47.10
10	40.86	41.63	41.71	42.97	43.32
15	35.69	38.83	39.11	39.61	41.05
20	32.51	35.78	36.60	37.04	38.20
25	29.29	32.36	32.53	34.60	35.82
30	26.98	28.81	30.31	33.54	34.88

Çizelge E6.4 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 80 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 0.4 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	100	100	100	100	100
5	64.78	50.42	47.51	41.09	38.05
10	47.83	39.93	35.07	34.96	29.99
20	37.17	33.85	29.47	27.02	21.31
30	36.03	31.40	26.28	21.31	17.02

**Ek 7. Sonikatörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E7.1 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)						
	0.2 (ml/L)	0.3 (ml/L)	0.4 (ml/L)	0.5 (ml/L)	0.75 (ml/L)	1 (ml/L)	2 (ml/L)
0	50	50	50	50	50	50	50
5	47.64	47.16	45.77	45.17	34.08	32.94	29.37
10	44.03	43.32	41.59	38.71	27.78	19.03	14.42
15	40.83	39.60	33.16	30.41	21.97	15.19	10.45
20	38.01	36.45	28.17	23.32	14.86	10.66	7.57
25	35.11	33.85	25.16	18.16	12.55	7.85	5.46
30	32.52	28.68	20.97	13.79	8.50	5.30	3.70

Çizelge E7.2 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	0.2 (ml/L)	0.3 (ml/L)	0.4 (ml/L)	0.5 (ml/L)	0.75 (ml/L)	1 (ml/L)	2 (ml/L)
0	100	100	100	100	100	100	100
5	50.10	56.70	67.66	70.74	77.92	92.41	99.86
10	41.38	44.51	58.91	64.61	72.71	88.19	99.86
20	36.31	40.41	48.54	60.34	70.19	86.11	99.57
30	30.02	35.99	38.70	53.10	68.61	74.99	99.15

**ÖZGEÇMİŞ**

Doğum Tarihi	05.02.1981	
Doğum Yeri	İstanbul	
Lise	1995-1998	Terakki Vakfı Özel Şişli Terakki Lisesi
Lisans	1998-2002	Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans	2002-	Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

**Çalıştığı Kurum(lar)**

2003-Devam Ediyor YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü  
Araştırma Görevlisi