

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEYNİR ALTI SUYUNDAN ELDE EDİLEN
LAKTOZUN ENZİMATİK HİDROLİZİNİN
İNCELENMESİ ve MODELLENMESİ**

Kimya Mühendisi Elçin DEMİRHAN

F.B.E. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında

Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Belma KIN ÖZBEK

İSTANBUL, 2007

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	vi
KISALTIMA LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ÖNSÖZ	xxi
ÖZET	xxii
ABSTRACT	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. ENZİMLER	3
2.1 Enzim Nedir?	3
2.2 Enzimlerin Özellikleri	3
2.3 Enzimlerin Yapısı	4
2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması	5
2.5 Enzim Kaynakları	5
2.6 Enzimlerin Etki Mekanizması	6
2.7 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler	7
2.8 Enzim İnhibisyonu	7
2.9 Enzimlerin Uygulama Alanları	9
3. PEYNİR ALTI SUYU	12
3.1 Peynir Altı Suyunun Yapısı	12
3.2 Peynir Altı Suyu ve Çevre Kirlenmesi	13
3.3 Peynir Altı Suyunun Endüstriyel Olarak Değerlendirilmesi	14
3.4 Peynir Altı Suyunun Kullanım Alanları	16
3.5 Peynir Altı Suyundan Laktoz Üretimi	19
3.5.1 Ham laktozun üretimi	19
3.5.1.1 Ön işlemler	19
3.5.1.2 Koyulaştırma	19
3.5.1.3 Kristalizasyon	20
3.5.1.4 Kristal lapasının santrifüjlenmesi	20
3.5.1.5 Kurutma	21
3.5.2 Saf laktozun elde edilmesi	22
4. LAKTOZ	24
4.1 Karbonhidratlar ve Laktoz	24

4.2	Laktozun Hidrolizi.....	25
4.3	Laktozun Kullanım Alanları.....	27
4.4	Laktoz Alerjisi	28
5.	SONİKASYON	29
5.1	Sonikasyonun Tanımı	29
5.2	Frekans Aralığı	30
5.3	Sonikasyonun Genel Prensipleri.....	31
5.4	Kavitasyon	32
5.5	Kavitasyonu Etkileyen Faktörler	34
5.6	Sonikasyon İşleminde Kullanılan Cihazlar	35
5.6.1	Ultrasonik banyo.....	35
5.6.2	Ultrasonik prob	36
5.7	Sonikasyonun Yararları	36
5.8	Sonikasyonun Kullanım Alanları	38
6.	β -GALAKTOZİDAZ ENZİMİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ	41
6.1	β -Galaktozidaz Enziminin Yapısı.....	42
6.2	β -Galaktozidaz Enziminin Endüstriyel Uygulamaları.....	44
7.	β -GALAKTOZİDAZ ENZİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR.....	45
8.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	51
8.1	Kullanılan Materyaller.....	51
8.2	Kullanılan Cihazlar.....	52
8.2.1	Biyoreaktör	52
8.2.1.1	Biyoreaktör kontrol modülleri	55
8.2.2	Sonikatör.....	56
8.2.2.1	Sonikatör kontrol modülleri.....	58
8.3	Deneylerin Yapılışı.....	59
8.4	Analiz Yöntemleri	59
8.4.1.1	Laktoz konsantrasyonu tayini	59
8.4.1.2	% Enzim aktivite tayini	60
8.5	Hesaplamalar	61
8.5.1	Laktoz konsantrasyonunun hesaplanması.....	61
8.5.2	Enzim aktivitesinin hesaplanması.....	61
8.6	İstatistiksel Hesaplamalar	62
9.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	63
9.1	Biyoreaktörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular	63
9.1.1	Başlangıç laktoz konsantrasyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	63
9.1.2	Enzim konsantrasyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	70
9.1.3	Sıcaklığın hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	77
9.1.4	pH'ın hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	84
9.1.5	Karıştırıcı hızının hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	91
9.1.6	Viskozitenin hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	98
9.1.7	Hidrolizat miktarının hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi	107
9.1.8	Glikozun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi	114

9.1.9	Galaktozun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	121
9.1.10	Çeşitli iyonların hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi	128
9.1.10.1	Mg ²⁺ iyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	128
9.1.10.2	Mn ²⁺ iyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	135
9.1.10.3	Ca ²⁺ iyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	142
9.2	Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular.....	149
9.2.1	Akustik gücün hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	149
9.2.1.1	%10 Frekans aralığı için akustik gücün hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	149
9.2.1.2	%50 Frekans aralığı için akustik gücün hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	156
9.2.2	% Frekans aralığının hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi.....	163
9.2.3	Reaksiyon hacminin hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi	170
9.3	Biyoreaktör ve sonikatörde gerçekleştirilen deneylere ait elde edilen sonuçların değerlendirilmesi	177
10.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	179
KAYNAKLAR.....		187
EKLER		192
Ek 1. Biyoreaktörde başlangıç laktoz konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		192
Ek 2. Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler ..		194
Ek 3. Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....		196
Ek 4. Biyoreaktörde pH etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		198
Ek 5. Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		200
Ek 6. Biyoreaktörde viskozite etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....		202
Ek 7. Biyoreaktörde hidrolizat etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		204
Ek 8. Biyoreaktörde glikoz etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		206
Ek 9. Biyoreaktörde galaktoz etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....		208
Ek 10. Biyoreaktörde iyonların etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....		210
Ek 10.1 Biyoreaktörde Mg ²⁺ iyonlarının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		210
Ek 10.2 Biyoreaktörde Mn ²⁺ iyonlarının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		212
Ek 10.3 Biyoreaktörde Ca ²⁺ iyonlarının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler		214

Ek 11. Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....	216
Ek 12. Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler	220
Ek 13. Sonikatörde hacim etkisinin incelendiği deneylere ait veriler	222
ÖZGEÇMİŞ	224

SİMGE LİSTESİ

$[C_{L0}]$	$t=0$ anındaki laktoz konsantrasyonu, g/L
$[C_L]$	İşlem sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu, g/L
$[M_{LAKTOZ}]$	Laktozun molekül ağırlığı, 342.32 g/mol
$[M_{GLIKOZ}]$	Glikozun molekül ağırlığı, 180.17 g/mol
C_G	İşlem sonunda oluşan glikozun absorbans değeri
C_{St}	Standart çözeltisinin absorbans değeri
f	Seyreltme faktörü
$[H]$	% Hidroliz derecesi
$[A_0]$	$t=0$ anındaki ONP'nin absorbans değeri
$[A_1]$	İşlem sonundaki ONP'nin absorbans değeri
$[A]$	% Enzim aktivitesi
T	Sıcaklık, °C
N	Karıştırıcının bir dakikadaki devir sayısı, devir/dak
$[E]$	Enzim konsantrasyonu, ml/L
t	Zaman, dakika
$[\mu]$	Viskozite, cPoise
$[G]$	Gliserin miktarı, hacim/hacim
$[H]$	Hidrolizat miktarı, hacim/hacim
$[G]$	Glikoz konsantrasyonu, g/L
$[Ga]$	Galaktoz konsantrasyonu, g/L
$[P]$	Akustik güç, watt
$[FA]$	% Frekans aralığı
δ	Standart sapma
R^2	Regresyon katsayısı

KISALTMA LİSTESİ

ONPG	Ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside
ONP	Orto-nitrophenol
Hz	Hertz
kDa	Kilodalton
BOI	Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı
KOI	Kimyasal Oksijen İhtiyacı

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Enzimin yapısı [3]	4
Şekil 2.2 Enzim-substrat etkileşim modelleri [7]	7
Şekil 2.3 Tersinir inhibitörler [8].....	9
Şekil 2.4 Tersinmez inhibitörler [8]	9
Şekil 3.1 Peynir üretiminde süt bileşenlerinin dağılımı (Üçüncü, 2004)	12
Şekil 3.2 Ham laktoz üretiminde işlem basamakları ve rafinasyon (Üçüncü, 2004)	20
Şekil 3.3 Saf laktoz üretiminde işlem basamaklarının şematik gösterimi (Üçüncü, 2004).....	23
Şekil 4.1 Laktoz molekülü [13]	24
Şekil 4.2 Laktozun enzimatik hidrolizi [14].....	26
Şekil 5.1 Ultrasonik dalgaların ilerleyişi (Andaç, 2002).....	33
Şekil 5.2 Kavitasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönməsi (Casadonte, 2000; Giz, 2000).....	33
Şekil 5.3 Ultrasonik banyo (Povey ve Mason, 1998).....	35
Şekil 5.4 Ultrasonik prob sistemi (Povey ve Mason, 1998).....	36
Şekil 6.1 β -Galaktozidaz enziminin kimyasal görünümü [13].....	43
Şekil 8.1 Biyoreaktör sisteminin genel görünümü	52
Şekil 8.2 Biyoreaktör ve kontrol modüllerinin şeması	53
Şekil 8.3 Sonikatör sisteminin genel görünümü.....	56
Şekil 8.4 Sonikatör ve kontrol modüllerinin şeması	57
Şekil 8.5 ONPG hidrolizi [25].....	60
Şekil 9.1 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun başlangıç laktoz konsantrasyonu ile değişimi (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L).....	64
Şekil 9.2 Farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L)	66
Şekil 9.3 Laktozlu ortamda farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L).....	67
Şekil 9.4 Laktozsuz ortamda farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak,	

Enzim Kons.=3 ml/L)	68
Şekil 9.5 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak).....	71
Şekil 9.6 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak).....	73
Şekil 9.7 Laktozlu ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak).....	74
Şekil 9.8 Laktozsuz ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak).....	75
Şekil 9.9 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun sıcaklık ile değişimi (pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=1ml/L).....	78
Şekil 9.10 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	80
Şekil 9.11 Laktozlu ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)	81
Şekil 9.12 Laktozsuz ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)	82
Şekil 9.13 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun pH ile değişimi (T= 37°C, N=300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)	85
Şekil 9.14 Farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T= 37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	87
Şekil 9.15 Laktozlu ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T= 37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	88
Şekil 9.16 Laktozsuz ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T= 37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	89
Şekil 9.17 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun karıştırıcı hızı ile değişimi (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	92
Şekil 9.18 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	94
Şekil 9.19 Laktozlu ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	95
Şekil 9.20 Laktozsuz ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	96
Şekil 9.21 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun viskozite ile	

değişimi (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)	99
Şekil 9.22 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun gliserin miktarı ile değişimi (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)	100
Şekil 9.23 Farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	103
Şekil 9.24 Laktozlu ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	104
Şekil 9.25 Laktozsuz ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	105
Şekil 9.26 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun hidrolizat miktarı ile değişimi (T=37°C, pH= 6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	108
Şekil 9.27 Farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	110
Şekil 9.28 Laktozlu ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	111
Şekil 9.29 Laktozsuz ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	112
Şekil 9.30 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun glikoz konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	115
Şekil 9.31 Farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	117
Şekil 9.32 Laktozlu ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	118
Şekil 9.33 Laktozsuz ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	119
Şekil 9.34 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun galaktoz konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	122
Şekil 9.35 Farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	124
Şekil 9.36 Laktozlu ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	125
Şekil 9.37 Laktozsuz ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)...	126
Şekil 9.38 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun Mg ²⁺	

	konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	129
Şekil 9.39	Farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	131
Şekil 9.40	Laktozlu ortamda farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	132
Şekil 9.41	Laktozsuz ortamda farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	133
Şekil 9.42	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun Mn ²⁺ konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	136
Şekil 9.43	Farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	138
Şekil 9.44	Laktozlu ortamda farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	139
Şekil 9.45	Laktozsuz ortamda farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	140
Şekil 9.46	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun Ca ²⁺ konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	143
Şekil 9.47	Farklı Ca ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	145
Şekil 9.48	Laktozlu ortamda farklı Ca ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	146
Şekil 9.49	Laktozsuz ortamda farklı Ca ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	147
Şekil 9.50	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	150
Şekil 9.51	Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)....	152
Şekil 9.52	Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	153
Şekil 9.53	Laktozsuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	154
Şekil 9.54	% Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç	

ile değişimi (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	157
Şekil 9.55 Farklı akustik g¼çler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	159
Şekil 9.56 Laktozlu ortamda farklı akustik g¼çler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	160
Şekil 9.57 Laktozsuz ortamda farklı akustik g¼çler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	161
Şekil 9.58 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi (Akustik G¼ç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	164
Şekil 9.59 Farklı % frekans aralığları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik G¼ç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L) ...	166
Şekil 9.60 Laktozlu ortamda farklı % frekans aralığları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik G¼ç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	167
Şekil 9.61 Laktozsuz ortamda farklı % frekans aralığları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik G¼ç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	168
Şekil 9.62 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun reaksiyon hacmi ile değişimi (Frekans Aralığı=%10, Akustik G¼ç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	171
Şekil 9.63 Farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik G¼ç= 20 Watt, Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	173
Şekil 9.64 Laktozlu ortamda farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik G¼ç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	174
Şekil 9.65 Laktozsuz ortamda farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik G¼ç= 20 Watt, Frekans aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	175

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Çeşitli enzimler ve endüstride kullanım alanları (Çetin, 1983; Telefoncu, 1995)	10
Çizelge 3.1 Taze peynir altı suyunun bileşimi (Üçüncü, 2004)	13
Çizelge 3.2 Peynir altı suyu ve permeatının kimyasal ve biyokimyasal oksijen gereksinimi (Üçüncü, 2004)	14
Çizelge 3.3 Peynir altı suyu ve peynir altı suyu ürünlerinin bazı kullanım yerleri (Üçüncü, 2004)	17
Çizelge 4.1 Laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı (%) (Korukluoğlu, 1999)	28
Çizelge 5.1 Ses dalgaları ve frekansları (Povey ve Mason, 1998; Cracknell, 1980)	29
Çizelge 5.2 Güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulamaları [16]	29
Çizelge 5.3 Frekans aralığı ve titreşim oranlarının karşılaştırılması [19]	30
Çizelge 5.4 Sonikasyonun kullanım alanları (Andaç, 2002; Cropek ve Dankowski, 2000; Chisti, 2003; Koç (Öncül), 2001; [15, 21])	38
Çizelge 6.1 β -Galaktozidaz enziminin kimyasal özellikleri (DSM Food, 2004)	42
Çizelge 6.2 β -Galaktozidaz enziminin mikrobiyolojik özellikleri (DSM Food, 2004)	42
Çizelge 8.1 Biyoreaktör ile ilgili komponentler ve değerleri	54
Çizelge 9.1 Başlangıç laktoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak, Enzim kons.=3 ml/L)	63
Çizelge 9.2 Başlangıç laktoz konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (T=37°C, pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 3 ml/L)	65
Çizelge 9.3 Farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (T=37°C, pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 3 ml/L)	69
Çizelge 9.4 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T= 37°C, N=300 devir/dak)	70
Çizelge 9.5 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak)	72
Çizelge 9.6 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)	76

Çizelge 9.7 Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	77
Çizelge 9.8 Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	79
Çizelge 9.9 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	83
Çizelge 9.10 pH değerlerine karşılık elde edilen deneysel veriler (T= 37°C, N=300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	84
Çizelge 9.11 pH değerlerine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (T=37°C, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=1 ml/L).....	86
Çizelge 9.12 Farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	90
Çizelge 9.13 Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	91
Çizelge 9.14 Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	93
Çizelge 9.15 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	97
Çizelge 9.16 Viskozite değerlerine karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	98
Çizelge 9.17 Viskozite değerlerine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	101
Çizelge 9.18 Gliserin konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	102
Çizelge 9.19 Farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	106
Çizelge 9.20 Farklı hidrolizat miktarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T=37°C, Enzim kons.=1 ml/L).....	107
Çizelge 9.21 Hidrolizat miktarına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel	

ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	109
Çizelge 9.22 Farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	113
Çizelge 9.23 Farklı glikoz konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	114
Çizelge 9.24 Glikoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	116
Çizelge 9.25 Farklı glikoz miktarları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	120
Çizelge 9.26 Farklı galaktoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	121
Çizelge 9.27 Galaktoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	123
Çizelge 9.28 Farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	127
Çizelge 9.29 Farklı Mg ²⁺ konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	128
Çizelge 9.30 Mg ²⁺ konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	130
Çizelge 9.31 Farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	134
Çizelge 9.32 Farklı Mn ²⁺ konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	135
Çizelge 9.33 Mn ²⁺ konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	137
Çizelge 9.34 Farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	141

Çizelge 9.35 Farklı Ca^{2+} konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	142
Çizelge 9.36 Ca^{2+} konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	144
Çizelge 9.37 Farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	148
Çizelge 9.38 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	149
Çizelge 9.39 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	151
Çizelge 9.40 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	155
Çizelge 9.41 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1ml/L).....	156
Çizelge 9.42 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	158
Çizelge 9.43 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	162
Çizelge 9.44 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	163
Çizelge 9.45 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	165
Çizelge 9.46 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	169
Çizelge 9.47 Reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	170
Çizelge 9.48 Reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel	

ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	172
Çizelge 9.49 Farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	176
Çizelge 9.50 Laktoz dönüşüm oranlarının karşılaştırılması	177
Çizelge E1. 1 Farklı başlangıç laktoz konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C, Enzim Kons.= 3 ml/L).....	192
Çizelge E1. 2 Laktozlu ortamda farklı başlangıç laktoz konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C, Enzim Kons.= 3 ml/L)	193
Çizelge E1. 3 Laktozsuz ortamda farklı başlangıç konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C, Enzim Kons.= 3 ml/L).....	193
Çizelge E2. 1 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C).....	194
Çizelge E2. 2 Laktozlu ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C).....	195
Çizelge E2. 3 Laktozsuz ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C).....	195
Çizelge E3. 1 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)	196
Çizelge E3. 2 Laktozlu ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)	197
Çizelge E3. 3 Laktozsuz ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)	197
Çizelge E4. 1 Farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	198
Çizelge E4. 2 Laktozlu ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	199
Çizelge E4. 3 Laktozsuz ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	199
Çizelge E5. 1 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon	

değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	200
Çizelge E5. 2 Laktozlu ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	201
Çizelge E5. 3 Laktozsuz ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	201
Çizelge E6. 1 Farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	202
Çizelge E6.2 Laktozlu ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	203
Çizelge E6.3 Laktozsuz ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	203
Çizelge E7. 1 Farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	204
Çizelge E7. 2 Laktozlu ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	205
Çizelge E7. 3 Laktozsuz ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	205
Çizelge E8. 1 Farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	206
Çizelge E8. 2 Laktozlu ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	207
Çizelge E8. 3 Laktozsuz ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	207
Çizelge E9. 1 Farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	208
Çizelge E9. 2 Laktozlu ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	209
Çizelge E9. 3 Laktozsuz ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	209
Çizelge E10.4 Farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	210
Çizelge E10. 5 Laktozlu ortamda farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	211
Çizelge E10. 6 Laktozsuz ortamda farklı Mg ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde	

edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	211
Çizelge E10.4 Farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	212
Çizelge E10. 5 Laktozlu ortamda farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	213
Çizelge E10. 6 Laktozsuz ortamda farklı Mn ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	213
Çizelge E10.7 Farklı Ca ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	214
Çizelge E10. 8 Laktozlu ortamda farklı Ca ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	215
Çizelge E10. 9 Laktozsuz ortamda farklı Ca ²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)	215
Çizelge E11. 1 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	216
Çizelge E11. 2 Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	217
Çizelge E11. 3 Laktozsuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	217
Çizelge E11. 4 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	218
Çizelge E11. 5 Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	219
Çizelge E11. 6 Laktozsuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	219
Çizelge E12. 1 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	220
Çizelge E12. 2 Laktozlu ortamda farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim	

Kons.= 1 ml/L).....	221
Çizelge E12. 3 Laktozsuz ortamda farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	221
Çizelge E13. 1 Farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)	222
Çizelge E13. 2 Laktozlu ortamda farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	223
Çizelge E13. 3 Laktozsuz ortamda farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L).....	223

ÖNSÖZ

Tez çalışmam sırasında kıymetli fikir ve önerileri ile beni yönlendiren, yardım eden ve her aşamada beni destekleyen Tez Danışmanım Sayın Prof. Dr. Belma KIN ÖZBEK'e,

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimimi yaptığım Kimya Mühendisliği Bölümümüzün tüm saygıdeğer Öğretim Üyelerine,

Çalışmam süresince hiçbir yardımdan kaçınmayan Araştırma Görevlisi Dilek KILIÇ APAR'a, tez çalışmamda kullandığım laktozu temin etmeme yardımcı olan Mahir BATTAL'a,

Yüksek Lisans eğitimim sırasında bana maddi destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu TÜBİTAK'a,

Gerek okuldaki çalışmalarım, gerekse özel yaşamımda bana devamlı destek veren sevgili arkadaşlarım Gökçe DADALI ve Semra KIRBOĞA'ya,

Maddi ve manevi desteklerini benden esirgemedi, hayatımın her anında yanımda olan annem Esin DEMİRHAN, babam Cemalettin DEMİRHAN ve kardeşim Ersin DEMİRHAN'a ve tüm sevdiklerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elçin DEMİRHAN

ÖZET

Laktoz, süt ve süt ürünlerinde (peynir altı suyu vb.) bulunan bir karbonhidrattır. Laktoz kendi hidroliz ürünleri olan glikoz ve galaktoza kıyasla daha az tatlılığa ve çözünürlüğe sahiptir. Ayrıca, higroskopik bir şeker olması nedeniyle aroma ve kokuları adsorblamaya yatkındır. Bunlara ek olarak, birçok kişi, vücudundaki β -galaktozidaz enziminin eksikliği ya da inaktifliği nedeniyle laktozu sindirememektedir. Bu nedenle, tükettikleri besinler laktoz içeriyorsa gaz, ağrı, ishal gibi sağlık sorunları yaşamaktadırlar. Laktoz hidrolizi, dondurma ve diğer süt ürünlerinin üretim proseslerinin geliştirilmesi ile yeni gıda katkılarının elde edilmesini, enerji maliyetlerinin düşmesini ve laktozun kristalli yapısından kaynaklanan kumsu dokunun engellenmesini sağlaması açısından oldukça önemlidir. Laktozun hidrolizlenmesinde asidik ve enzimatik olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Enzimatik hidrolizde β -galaktozidaz enzimi kullanılır. Bu enzim doğada; mikroorganizmalarda, bitkisel ve hayvansal yapılarda bulunmaktadır.

Bu çalışmada, peynir altı suyundan elde edilen laktoz *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -galaktozidaz ile hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Laktoz hidrolizi deneyleri 250 ml 25 mM fosfat tampon çözeltisi içerisinde önce Gallenkamp marka modüler biyoreaktörde, daha sonra Bandelin Sonopuls marka sonikatörde gerçekleştirilmiştir. Biyoreaktörde; zamana karşılık laktoz konsantrasyonu (g/L), hidroliz derecesi (%) ve enzim aktivitesi (%) değerlerinin, biyoreaktörde; başlangıç laktoz konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, sıcaklık, pH, karıştırıcı hızı, viskozite, hidrolizat miktarı, glikoz konsantrasyonu, galaktoz konsantrasyonu ve çeşitli iyon (Mg^{2+} , Mn^{2+} ve Ca^{2+}) konsantrasyonları ile değişimleri, sonikatörde; ise akustik güç, % frekans aralığı ve reaksiyon hacmi ile değişimleri incelenmiştir. Ayrıca, laktoz konsantrasyonu ve % enzim aktivite değerlerine ait elde edilen deneysel veriler kullanılarak ilgili matematiksel modeller kurulmuştur. Yapılan deneyler sonucunda, hidroliz derecesinin ve enzim aktivitesinin, incelenen her bir parametre için farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Laktoz hidrolizi, β -Galaktozidaz, biyoreaktör, sonikatör, modelleme, proses değişkenleri

ABSTRACT

Lactose is the dominant carbohydrate in milk and dairy products (such as whey). 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. Moreover, due to a lack or inactivity of the intestinal β -galactosidase enzyme, 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. The hydrolysis of this sugar is very attractive towards the improvement of processes for the production of refrigerated dairy products (such as, ice cream). It would also be very interesting for the development of additives for animal and human alimentation, reducing costs in energy and avoidance of the sandy texture due to the crystals of lactose. Hydrolysis of lactose can be performed either by acids or by enzymatic treatment. The enzymatic hydrolysis of lactose is carried out by β -galactosidases, enzymes that are widely distributed in nature; appearing in micro-organisms, plants and animal tissues.

In the present study, lactose recovered from whey is hydrolyzed with β -galactosidase enzyme which is produced from *Kluyveromyces marxianus*. Both the Gallenkamp Modular Bioreactor System and Bandelin Sonopuls Sonicator were used for the lactose hydrolysis experiments. The hydrolysis reactions were carried out in 250 ml of 25 mM phosphate buffer solution. In the modular bioreactor system, the amount of lactose concentration (g/L), the degrees of lactose hydrolysis (%) and enzyme activity (%) against time were investigated versus initial lactose concentration, enzyme concentration, temperature, pH, impeller speed, viscosity, amount of hydrolysate added, glucose concentration, galactose concentration and different ion (Mg^{2+} , Mn^{2+} and Ca^{2+}) concentration; in the sonicator those values were investigated versus acoustic power, duty cycle and reaction volume. Beside of this; the mathematical models, which represent the residual lactose concentration and residual enzyme activity, depending on the operating conditions were also derived by using the experimental data. An evaluation of the experimental data showed that hydrolysis degree of lactose and residual β -galactosidase activity were different for each set of the conditions applied.

Keywords: Lactose hydrolysis, β -galactosidase, bioreactor, sonicator, modelling, process variables

1. GİRİŞ

Biyoteknoloji, canlı organizmaların yapısal özelliklerinin değiştirilmesini ve geliştirilmesini sağlayan tekniklerin tümü olarak tanımlanır. Biyoteknolojinin son yıllardaki gelişimi ile biyolojik organizmaların, sistemlerin ve proseslerin endüstride kullanımı hız kazanmıştır. Özellikle son çeyrek yüzyılda çevre ve insan sağlığının ön plana çıkmasıyla, enzimlerden teknolojide daha iyi yararlanılma yolları aranmış ve önemli başarılar elde edilmiştir. 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. Kimyasal katalizörlerden daha etkili olmaları, biyolojik olarak parçalanmaları ve düşük maliyetli prosesler gerektirmeleri, kullanıcı için büyük önem arz etmektedir.

Enzimlerin gıda endüstrisinde kullanımı oldukça eskidir. 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.

Gıda endüstrisinde önemli paya sahip olan süt ve süt ürünleri endüstrisinin en önemli atığı peynir altı suyudur. Peynir altı suyu; peynir üretimi sırasında, sütün peynir mayası yardımıyla kazeinin çöktürülmesi veya asitlendirme yoluyla pıhtılaştırılmasından sonra izlenen süzme işlemi sonucunda arta kalan bir yan üründür. Peynir altı suyunun atık olarak işlem görmesi, içinde bulundurduğu protein, yağ, mineraller ve özellikle laktozun değerlendirilmeden atılması önemli bir kayıp oluşturmaktadır.

Peynir altı suyunun içerisindeki laktoz ile laktozun hidroliz ürünleri olan glikoz ve galaktoz, birçok gıda prosesinde hammadde olarak kullanılmaktadır. Laktozun hidrolizi, genellikle mikroorganizmalardan üretilen enzimler yardımıyla yapılır. Endüstriyel üretimde enzimlerin; katalitik olarak daha etkili, ürün spesifikasyonunun yüksek, istenmeyen ürün oluşumununun büyük ölçüde az olması, enerji maliyeti düşük prosesler gerektirmesi ve çevre dostu olmaları nedeniyle kullanımları artmıştır.

Yapılan deneysel çalışmada hidrolizlenen peynir altı suyundan elde edilen laktozun; endüstride kullanılabilir bir madde olmasını sağlayan en önemli özelliği, süt ve süt ürünleri endüstrisinin yanı sıra gıda endüstrisinin birçok alanında hammadde olarak kullanılabilmesidir. Günümüzde laktozun hidrolizi, özellikle laktozsuz olarak üretilen süt ve süt ürünlerinin geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Laktozun hidroliz işlemi β -galaktozidaz enzimleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; Bölüm 2’de enzimler, Bölüm 3’te peynir altı suyunun yapısı ve özellikleri, Bölüm 4’te laktozun yapısı ve özellikleri, Bölüm 5’te sonikasyon, Bölüm 6’da β -galaktozidaz enzimi ve genel özellikleri hakkında bilgi verilmiştir. Bölüm 7’de literatürde yer alan β -galaktozidaz 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 istatistiksel ifadeler verilmiştir. Bölüm 10’da ise deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar özetlenmiştir.

2. ENZİMLER

2.1 Enzim Nedir?

Enzimler, doğal katalizör olarak işlev görerek hücre içinde meydana gelen tepkimelerin hızını ve özgülüğünü belirleyen, protein yapısında olan ve bütün canlı organizmalarda bulunan karmaşık yapıli makromoleküllerdir. Enzimler, diğler proteinler gibi birbirlerine peptit bağları ile bağlanmış uzun aminoasit 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 (Bailey ve Ollis,1986; [2]).

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 ettiğı maddenin sonuna “-az” eki getirilerek ya da katalizlediğı tepkimenin çeşidine göre adlandırılırlar. Örneğın, kitine etki eden kitinaz enzimi.
- Suda ya da sulandırılmış tuz çözeltilerinde çözülebilirler. Fakat mitokondrilerde bulunan enzimler suda çözünmezler.
- Enzimin etki ettiğı bileşiğe “substrat” denir. Enzimin saniyede etki ettiğı substrat molekül sayısına enzimin etkinlik değeri 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. Örneğın amilaz enzimi nişastayı iki zincirli

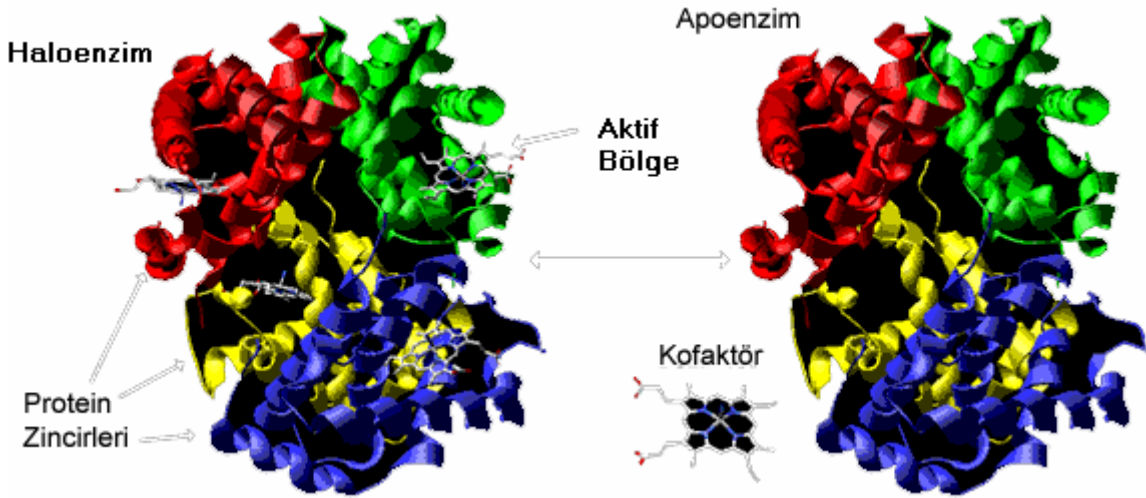
maltoza, maltaz enzimi ise maltozu tek zincirli glikoza çevirir.

- Kuramsal olarak enzimli tepkimeler dönüşlüdür. Enzim, tepkimenin yönünü değil dengenin oranını saptar. Tipik örnek, lipazın yağı parçalaması, fakat aynı zamanda gliserin ile yağ asitlerini birleştirmesidir. Denge noktası, yani tepkimenin hangi yöne gideceği termodinamik yasalarına göre belirlenir (Demirsoy, 1989).

2.3 Enzimlerin Yapısı

Enzimler, molekül ağırlıkları 6000 ile 600000 arasında değişen uzun aminoasit zincirleridir. Tüm enzim proteinleri genler tarafından şifrelendiğinden her enzimin aminoasit dizilimi kendine özgüdür. Bu nedenle her enzim farklı üç boyutlu yapıya sahiptir (Demirsoy, 1989).

Bazı enzimler sadece protein yapıdadırlar (pepsin ve üreaz gibi). Ancak genellikle enzimler, yapılarında bileşim ve işlev olarak birbirinden farklı, apoenzim ve koenzim diye adlandırılan iki kısım bulundururlar (Gates, 1992; [2]). Enzimin yapısı Şekil 2.1’de gösterilmiştir [3].



Şekil 2.1 Enzimin yapısı [3]

- **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 molekül, enzime katalitik aktivite özelliği veren kısımdır. Koenzim kısmı metal iyonu ise (Ca, K, Mg, Zn gibi) kofaktör olarak adlandırılır. Apoenzim ve koenzim kısımlarının ikisine birden haloenzim adı verilir (Demirsoy, 1989; [4]).

2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması

1961 yılında Uluslararası Biyokimya Birliği tarafından öngörülen ilk enzim komisyonu raporuna göre enzimler katalizledikleri tepkimelere 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, açil, 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, α -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 Enzim Kaynakları

Enzimlerin elde edilmesinde kullanılan üç ana kaynak vardır. Bunlar; hayvansal (karaciğer, kalp, böbrek gibi organlar ve kaslar), bitkisel ve mikrobiyal (mikroorganizmalar, bakteri, küf, mantar) kaynaklardır. Bu üç kaynak arasında en önemlisi, üretimi ve uygulanmasındaki kolaylık bakımından mikroorganizmalardır. Bu nedenle endüstriyel enzimlerin üretiminde mikroorganizmalardan yararlanılır. Enzimler hücrelerde buldukları yere göre ikiye ayrılır;

- **Hücre dışı enzimler:** Hücreler tarafından dışarı salgılanan enzimlerdir. Elde edilişleri kolay olduğundan endüstride kullanım alanları daha yaygındır.

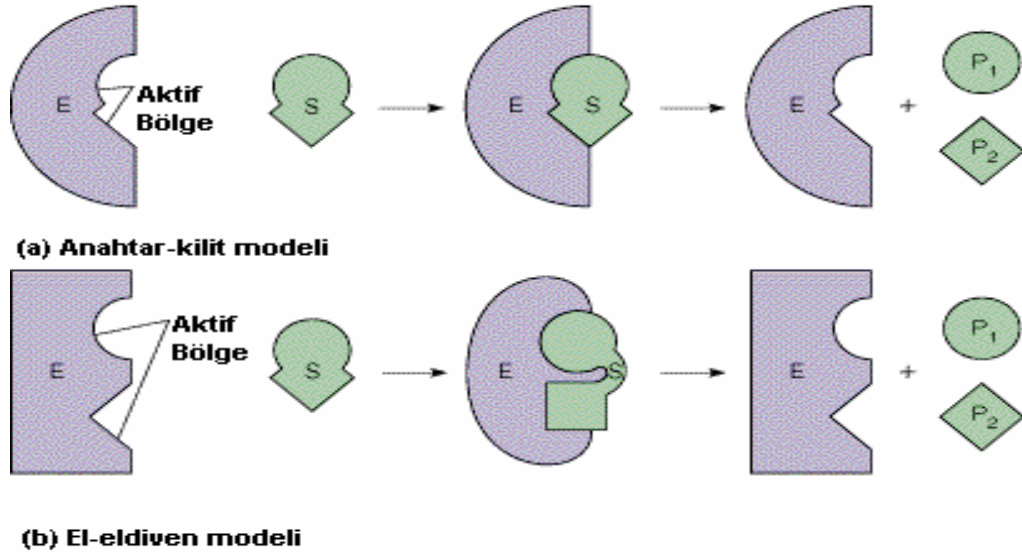
- **Hücre içi enzimler:** Hücre yapılarına sıkıca bağlı olan ve dışarıya salgılanmayan enzimlerdir. Elde edilebilmeleri ve saflaştırılmaları için öncelikle hücre zarının parçalanması gerekmektedir (Çetin, 1983; Tauber,1949).

2.6 Enzimlerin Etki Mekanizması

Her enzimin katalizleyici etkisi yalnızca bir tip tepkimeye ve yalnızca belirli türden maddelere özgüdür. 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 ya da 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]).

Enzim-substrat etkileşimini açıklayan ilk model, Alman kimyacı Emil FİŞHER (1890) tarafından savunulan anahtar-kilit modelidir. Bu modele göre, enzimde substratın bağlanacağı kısım ile substratın şekli birbirini tamamlar. Enzim seçicidir ve şekli farklı olan başka bir substratı katalizlemez. İkinci model ise Daniel KOSHLAND (1958) tarafından sunulan ve anahtar-kilit modeline göre, enzim seçiciliğinin daha az spesifik olduğu el-eldiven modelidir. Bu model enzimde substratın bağlanacağı kısmın, esnek bir yapıya sahip olduğunu ve bağlanan substrata göre şekillendiğini varsaymaktadır (Demirsoy, 1989; [5-6]). Enzimlerin etki mekanizması Şekil 2.2’de şematik olarak gösterilmiştir [7].



Şekil 2.2 Enzim-substrat etkileşim modelleri [7]

2.7 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler

Enzimin aktivitesine etki eden başlıca faktörler (Demirsoy, 1989):

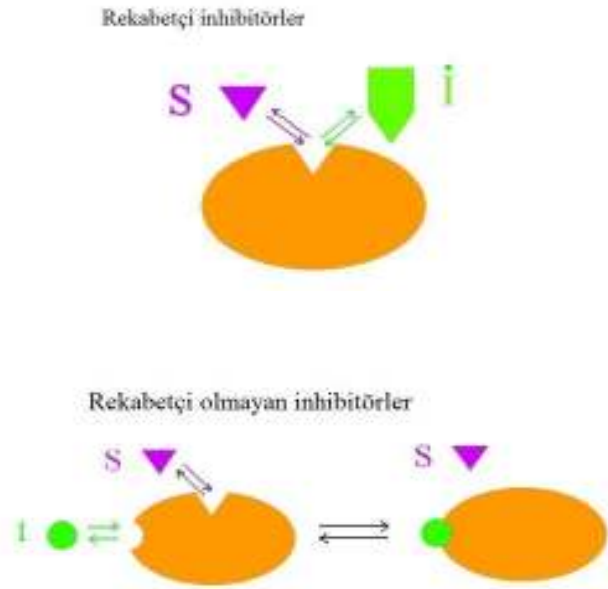
- Enzim/substrat derişimi: Substrat ya da enzimin fazla olması reaksiyon hızını değişik şekillerde etkileyebilir. Fazla substrat bulunan bir ortama eklenecek enzim, son ürün miktarını arttıracaktır.
- Sıcaklık: Reaksiyon hızını artırır, enzimin bozulmasına sebep olur.
- pH: Enzimler genellikle çok fazla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

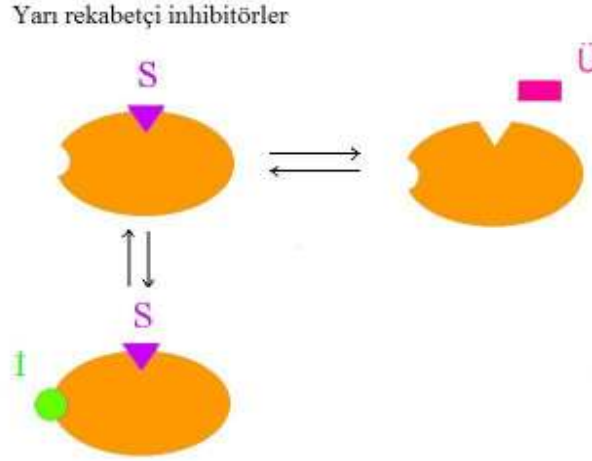
2.8 Enzim İnhibisyonu

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. Sülfamitler ve malonik asit örnek olarak verilebilir.
- **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. Örnek olarak, siyanür ve karbomonoksidin sitokrom oksidaz enzimini inhibe etmesi sonucu hücre solunumuna engel olurlar.
- **Yarı rekabetçi (uncompetitive) inhibitörler:** Daha önce substrat bağlanmış enzime (enzim substrat kompleksine) bağlanırlar.





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). Tersinmez inhibitörlerin etkisi tersinmezdir [8-10].



Şekil 2.4 Tersinmez inhibitörler [8]

2.9 Enzimlerin Uygulama Alanları

Kimyasal katalizörlere göre pek çok avantajı olan enzimlerin endüstride kullanımı teknolojinin gelişimi ile hızlı bir şekilde artmaktadır. Çizelge 2.1'de endüstride en çok kullanılan enzimler ve kullanım alanları özetlenmiştir (Çetin, 1983; Telefoncu, 1995).

Çizelge 2.1 Çeşitli enzimler ve endüstride kullanım alanları (Çetin, 1983; Telefoncu, 1995)

Enzim	Uygulama alanları
Laktaz	Laktozu, glikoz ve galaktoza hidroliz eder. Gıda sanayinde, laktozsuz süt üretiminde, peynir altı sularının hidrolizinde kullanılır.
Proteaz	Protein hidroliz eden hücre dışı enzim özütleridir. Gıda endüstrisinde; buğday proteinlerinin modifikasyonunda, etin gevrekleştirilmesinde, içecek sanayinde biralarnın berraklaştırılmasında, hayvan yemi sanayinde balık artıklarının değerlendirilmesinde, deterjan endüstrisinde, kağıt endüstrisinde, deri endüstrisinde kullanılır.
Selülaz	Selülozu glikoza hidroliz eden enzimlerdir. Tekstil endüstrisinde, deterjan endüstrisinde, hayvan yem sanayinde tarımsal atıklardan glikoz üretiminde, eczacılık alanında sindirimi kolaylaştıracak ilaçların üretiminde kullanılır.
α -amilaz	Niştayı belirli oranda hidroliz ederek çözünürleştirir. Tekstil endüstrisi, deterjan sanayi, gıda endüstrisi, atık su arıtımı kullanılır.
Lipaz	Yağları yağ asitlerine hidroliz eder. Gıda endüstrisinde, yağların hidrolizi ve süt ürünlerinin koku ve tadını geliştirmede, eczacılıkta sindirimi kolaylaştırıcı ilaçların yapımında, hayvan yemi sanayinde, deterjan sanayinde, kağıt endüstrisinde, deri sanayinde .
Glikoamilaz	Niştaya zincirlerini glikoza kadar hidroliz eder. Gıda sanayinde, niştadan glikoz üretiminde.
Glikoz-izomeraz	Glikozu fruktoza dönüştürür. Gıda sanayinde, şekerleme, çikolata, reçel ve marmelat üretiminde.
İnvertaz	Sakkarozu, glikoz ve fruktoza hidroliz eder. Gıda sanayinde reçel, marmelat, çikolata ve dondurma üretiminde kristallenmeyi önleyici olarak.
Keratinaz	Keratin katmanlarını hidroliz eder. Tekstil ve deri sanayinde kılların deriden ayrılmasında kullanılır.
Pektinaz	Pektin molekülünü hidroliz eden enzimdir. İçecek endüstrisinde, meyve suyu üretiminde verimi arttırmada, meyve suyunun berraklaştırılmasında.

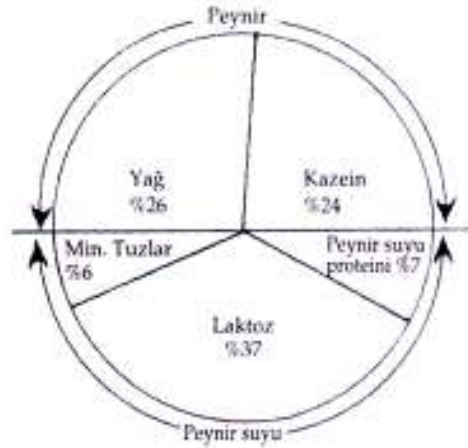
Çizelge 2.1 (Devam)

Tripsin ve papain	Peptid ve proteinleri hidroliz eder. Gıda sanayinde etlerin gevrekleştirilmesinde, içecek sanayinde biralarm berraklaştırılmasında.
Pepsin	Proteinlerin peptid bağlarını hidroliz eder. İçecek sanayinde biralarm berraklaştırılmasında, şarapçılıkta, eczacılık alanında.
Penisilinaz	Penisilini penisiloik aside hidroliz eder. Tıp alanında penisilin zehirlenmelerinde kullanılır.
Hemi-selülaz	Gıda endüstrisinde tatlandırıcı olarak kullanılır.
Pullulanaz	Gıda endüstrisinde mısır ve tahıldan yapılmış kahvaltılık gıdalarda tatlandırıcı olarak içecek sanayinde meşrubat üretiminde kullanılır.
Katalaz	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$ reaksiyonunu katalizler. Gıda endüstrisinde, konservelerde glikoz oksidaz enzimiyle birlikte oksijen çıkarıcı olarak ve sütün soğuk pastörizasyonunda kullanılır.

3. PEYNİR ALTI SUYU

3.1 Peynir Altı Suyunun Yapısı

Peynir altı suyu, peynir üretimi sırasında sütün enzim veya peynir mayasıyla kazeinlerinin çöktürülmesi veya asitlendirme yolu ile pıhtılaştırılmasından sonra arta kalan yeşilimsi-sarı renkli, bulanık bir sıvıdır. Bileşimi, peynir yapımında uygulanan yönteme ve özellikle de sütün pıhtılaştırılmasında kullanılan maddenin asit veya maya enzimi oluşuna göre değişir. Ancak genelde yağsız süt kuru maddesinin yaklaşık 2/3'sini ve bu bağlamda laktoz, serum proteinleri, suda çözünen vitaminler, mineraller gibi beslenme fizyolojisi bakımından değerli maddeler içerir. Şekil 3.1'de görüldüğü gibi peynir üretimi sırasında, yağ ve kazein peynirde kalmakta; laktoz, peynir suyu proteinleri ve mineral tuzlar peynir altı suyuna geçmektedir (Üçüncü, 2004; Ünalın, 1997; Uraz, 1997). Peynir altı suyu ayrıca yüksek oranda B ve C vitaminleri içermekte, bunun yanında B₂ ve laktoflavin peynir altı suyuna yeşilimsi-sarı renk vermektedir (Pasin ve Akar, 1989).



Şekil 3.1 Peynir üretiminde süt bileşenlerinin dağılımı (Üçüncü, 2004)

Sütün laktik asit bakteri kültürleri yardımıyla asitleştirilmesi veya süte organik asit katılması yöntemiyle peynir yapımında açığa çıkan peynir altı suyu, ekşi peynir altı suyu olarak bilinir ve pH'ı 5-7 civarındadır. Buna karşılık peynir üretiminde pıhtılaştırıcı ajan peynir mayası enzimi (rennet) kullanılması durumunda ortaya çıkan yan ürün ise, tatlı peynir altı suyu olarak tanımlanır ve pH'ı 4-5 civarındadır. Bunların gerek bileşimleri gerekse özellikleri oldukça farklıdır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Taze peynir altı suyunun bileşimi (Üçüncü, 2004)

Bileşenler	Tatlı peynir altı suyu	Ekşi peynir altı suyu
Su	% 93-94	%94-95
Kurumadde	%6-7	%5-6
Yağ	% 0.3-0.8	% 0.1
Laktoz	%4.5-4.7	%3.8-4.2
Kazein	%0.05-0.1	%0.05-0.1
Serum proteinleri	%0.8-1.0	%0.6
Mineral maddeler	%0.5-0.7	%0.7-0.8
Kalsiyum	0.06 g/100 g	0.1 g/100 g
Laktik asit	% 0.1-0.2	%0.5 (0.7)
Sitrik asit	%0.1	%0.1
pH değeri	6.4-6.0	4.8-4.4
B ₂ Vitamini	0.14mg/100g	0.14mg/100g

3.2 Peynir Altı Suyu ve Çevre Kirlenmesi

Peynir altı suyu; önemli miktarda protein, yağ ve laktoz gibi mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilen organik maddeler içerir. Bu maddeler büyük ölçüde kirlenme kaynağıdır. Çünkü parçalanabilmeleri için sudaki çözülmüş oksijeni kullanırlar; dolayısıyla suda yaşayan canlılar kendi yaşamları için gerekli oksijeni bulamazlar ve yaşamlarını yitirmeye başlarlar. Sudaki yaşam için en az 5 mg/L miktarında çözülmüş oksijen gereklidir. Bu miktarın altına inildiğinde, sudaki canlıların yaşamı tehlikeye girer (Üçüncü, 2004; Ünal, 1997).

Araştırmalar, süt sanayi atıklarının parçalanması için gerekli biyokimyasal oksijen gereksiniminin çok yüksek değerlere ulaştığını göstermiştir. Çizelge 3.2'den de görülebileceği gibi, peynir altı suyunun biyokimyasal oksijen gereksinimi (BOİ değeri) 35-50 g/L'dir. Yaşam standardının ve dolayısıyla su tüketiminin ve bu bağlamda çok fazla atığın olduğu ülkelerde, kişi başına günde ortalama 100 litre atık su ve yaklaşık 54 g biyokimyasal oksijen gereksinimi hesaplanmaktadır. Buna göre, 1 litre peynir altı suyunun doğrudan atık sulara karışmasıyla oluşan kirlilik miktarı, yaklaşık 1 kişinin bir günde ürettiği kirliliğe eşdeğerdir. Örneğin; günde 10 ton sütü peynire işleyen ve artı kalan yaklaşık 8 ton peynir altı suyunu değerlendirilmeden döken bir işletme, 8000 nüfuslu bir kentin yol açtığı düzeyde çevre

kirlenmesine neden olmaktadır. Peynir altı suyundaki azot suda çözüldüğünden yer altı sularına karışabilmekte, insan ve hayvan sağlığını tehdit edebilmektedir. Ayrıca peynir altı suyunun içerdiği organik maddelerin büyük bir kısmı besin maddesidir. Bu gibi nedenlerden dolayı peynir altı suyu ya arıtıldıktan sonra boşaltılmalı ya da iyi bir şekilde geri kazanılarak yararlı ürünler elde edilmesi araştırılmalıdır.

Çizelge 3.2 Peynir altı suyu ve permeatının kimyasal ve biyokimyasal oksijen gereksinimi (Üçüncü, 2004)

Artık maddeler	Kuru madde (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	BOI (g/L)	KOI (g/L)
Peynir altı suyu	5.6-6.6	0.8	4-5	35-50	50-80
Peynir altı suyu permeatı	4.8-5.8	~ 0	4-5	25-40	40-60
Laktoz üretimi sonrasında arta kalan çözelti	25-36	0-3	16	20-30	
Mikrobiyal protein üretimi sonrası arta kalan çözelti	-	-	-	2.2	
Maya kazein yıkama suyu	0.4-0.6	-	-	4.5-6	9-13
Asit kazein yıkama suyu	0.1-0.2	-	-	1.8	4.5

3.3 Peynir Altı Suyunun Endüstriyel Olarak Değerlendirilmesi

Peynir altı suyunun endüstriyel ölçekte değerlendirilmesi için uygulanan işlemler iki ana grup altında toplanabilir. Bunlar:

- Peynir altı suyunun tüm bileşenleriyle birlikte konsantre edilmesi ve kurutulması,
- İçerdiği her bir bileşenin ayrı ayrı kazanılmasıdır.

Bu amaçla kullanılacak olan peynir altı suyunun bileşiminin ve niteliğinin, değerlendirme sonucu kazanılacak ürünün kalite ve verimliliğine büyük etkisi vardır. Ancak asıl sorun, peynir altı suyunun çok yüksek oranda (>%93) su içermesi ve kısa sürede bozulmasıdır. Peynir altı suyu çabuk asitleşir. Bu esnada laktoz, mikroorganizmaların faaliyetine bağlı olarak büyük ölçüde laktik aside dönüşür. Bu nedenle, su oranının azaltılması, hem araç-gereç gereksinimi, hem de enerji tüketimiyle bağlantılı olarak üretim maliyetinin artmasına yol

açmaktadır. Aynı şekilde, kolay bozulabilir olması da ek önlemleri, dolayısıyla ek maliyeti gerektirmektedir. Peynir altı suyunun işlenmesinde kullanılan bazı prosesler şunlardır:

1. **Ultrafiltrasyon:** Bir çözeltideki molekülleri, büyüklüklerine göre ayıran membran prosesidir. Protein ve enzim çözeltilerinden; suyu, inorganik ve organik molekülleri uzaklaştırmak için kullanılır. En önemli uygulama alanlarından biri, peynir altı suyu proteinlerinin derişikleştirilmesi ve fraksiyonlarına ayrılmasıdır. Peynir altı suyu proteininin geri kazanımında uygulanan en çağdaş yöntem ultrafiltrasyondur. Bu proseste, membran çok küçük molekül ağırlığında, çözünen ve çözenlere geçirgen fakat daha yüksek molekül ağırlığındakilere geçirgen değildir. Bu membranların geçirgenliği ve seçicilik karakteristikleri üretimleri esnasında kontrol edilebilir. Bu metod peynir altı suyu tozu üretiminde kullanılır (Chandan, 1997; Üçüncü, 2004).
2. **Ters Osmoz:** Suyu geçiren; mikroorganizmaları, kolloidleri, çözünmüş tuzları ve organikleri geçirmeyen, yarı-geçirgen bir membran kullanılan, sıvı-sıvı ayırma prosesidir. Ters osmoz, genellikle protein çözeltilerinin derişiklendirilmesinde kullanılır. Çözünen madde miktarı, ağırlıkça %20'ye kadar olan çözeltilerin derişiklendirilmesinde, ters osmoz evaporasyondan daha ekonomiktir. Bu proses, ham peynir altı suyunun ön derişiklendirilmesinde kullanılır. Böylece, toplam katı içeriği %6 olan ham peynir altı suyunun katı içeriği %12'ye çıkarılmaktadır (Macrea vd., 1993).
3. **Elektrodiyaliz:** İyonik karakterli türleri, sulu bir çözeltiden ayırmak için elektriksel yüklenmiş membranların ve elektriksel potansiyel farkının kullanıldığı elektrokimyasal ayırma tekniğidir. Bu yöntem, peynir altı suyunda mineral kompozisyonunun deriştirilmesinde kullanılmaktadır (Macrea vd. 1993; Üçüncü, 2004).
4. **Fermantasyon:** Laktozun; çeşitli mikroorganizmaların, etkisiyle fermantasyona uğraması süt teknolojisinde çok önemlidir. Laktozun fermantasyonu ile laktoz içeren peynir altı suyunun sanayide derşerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Tek hücre proteini üretimi için peynir altı suyu, *Kluyveromyces fragilis* veya *Kluyveromyces bulgaricus* ile fermantasyona uğratılmaktadır. Deproteinize edilmiş peynir altı suyunun *Laktobacillus bulgaricus* ile fermantasyonu sonucunda laktik asit; pH'ı sabit tutularak da, amonyum laktat elde edilir. *Candida curvate* ve *Trichosporon cutaneum* mikroorganizmaları ile peynir altı suyunun fermantasyonu sonucunda yağ ve tek hücre proteini elde edilir. Peynir altı suyunun fermentasyonu ile yararlı ürünler elde edildiği

gibi peynir altı suyunun neden olduğu kirlilikte azaltılabilmektedir (Ünalın 1997;Üçüncü, 2004).

5. **Koagülasyon:** Süt ve süt endüstrisi atık sularının kimyasal işleme tabi tutulmasıyla, yağ ve protein geri kazanılmakta ve hayvan yemine katkı maddesi olarak kullanılabilmektedir. Gıda endüstrisi atık sularından proteinin geri kazanılması için, karboksimetilselüloz (CMC) ile H₂SO₄ beraber yaygın olarak kullanılır (Sienkiewicz ve Riedel, 1997).
6. **İyon Değişirme:** Bu yöntem, peynir altı suyunda mineral kompozisyonunun değiştirilmesinde kullanılmaktadır. İyon değişirme prosesinde peynir altı suyu, iyonları değişirme yeteneğine sahip olan özel sentetik reçinelerle doldurulmuş iki kolondan geçirilir. İlk kolonda, reçinelerdeki H⁺ iyonları ile peynir altı suyundaki kationlar, ikinci kolonda ise, tuzun (-) iyonları ile hidroksil iyonları yer değiştirir (Macrea vd., 1993; Chandan, 1997).
7. **Kurutma:** Tatlı peynir altı suları, valsli ya da püskürtmeli kurutucularda toz haline kurutulabilir. Ancak, valsli kurutucularda karşılaşılan sorunlar nedeni ile yaygın olan püskürtmeli kurutuculardır. Ekşi peynir altı suyunun kurutulması ise, uygun olmayan laktoz kristallerinin oluşumu, korozyon, yanık partiküllerin ve topaklaşmaların oluşumundan dolayı daha güçtür. Üründe karşılaşılan bu problemlerin önlenmesi için uygulanan teknolojiler ürünü daha da pahalı yapmaktadır (Üçüncü, 2004).
8. **Nanofiltrasyon:** Peynir altı suyunu demineralize etmek, kalsiyumu uzaklaştırmak ve konsantre etmek için nanofiltrasyon uygun bir yöntemdir (Kosikowski ve Mistry, 1997).

3.4 Peynir Altı Suyunun Kullanım Alanları

Peynir altı suyu, gelişmiş ülkelerde bile gerektiği gibi değerlendirilememiş, uzun zaman sadece domuz yemine katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Gelişen teknoloji ve yapılan bilimsel çalışmalar, peynir altı suyundan yeni kullanım alanlarının ve ürünlerin oluşturulmasını sağlamıştır (Bury ve Jelen, 2000; Ünalın, 1997). Peynir altı suyu, olduğu gibi veya proseslerde işlendikten sonra, hamur işinden et mamullerine kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir (Çizelge 3.3).

Peynir altı suyunun çeşitli amaçlar için kullanımı aşağıda sıralanmıştır:

1. **Hayvan Beslenmesi:** Peynir altı suyu, peynir, peynir altı suyu konsantresi ve yağsız süt, peynir altı suyu tozu, minerallerden arındırılmış peynir altı suyu tozu.
2. **Direkt Tüketim:** Peynir altı suyundan yapılan peynirler, yağı alınmış ve/veya proteince zenginleştirilmiş peynir altı suyu, peynir altı suyu karıştırılmış içecekler.
3. **Süt Ürünlerine Katma:** Peynir altı suyu işlenen süte veya taze peynirlere peynir altı suyu proteininin katılması, eritme peynirlere peynir altı suyu konsantresi eklenmesi.
4. **Çeşitli Gıdalara Katma:** Unlu mamullere peynir altı suyu konsantresi, tozu veya laktoz katılması; meyveli içeceklere peynir altı suyu konsantresi ve peynir altı suyu ilavesi.
5. **Diyetetik Amaçlarla:** İnek sütünün anne sütüne benzetilmesinde süt şekeri ve peynir altı suyu proteininin kullanılması, içme sütlerinin proteince zenginleştirilmesi için peynir altı suyu proteini katılması.
6. **Diğer Amaçlarla:** Tıbbi preparatlara ekleme (laktoz, galaktoz, peynir altı suyu proteini, vitamin preparatları, tuz preparatları gibi), mikroorganizmalar için besi ortamı olarak (peynir altı suyu, ultrafiltrat, laktoz, peynir altı suyu proteini hidrolizatı), penisilin üretimi.

3.5 Peynir Altı Suyundan Laktoz Üretimi

Sütte serbest halde ve az miktarda da daha büyük oligosakkaritlerin bileşeni olarak bulunan laktoz, glikoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarittir. α ve β olmak üzere iki izomeri vardır. Bu izomerlerin çözünürlükleri oldukça farklıdır. Laktoz, 93.5°C 'nin altında " *α -laktoz monohidrat*" ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$), bu sıcaklık derecesinin üzerinde ise susuz *β -laktoz (β -laktoz anhidrit)* olmak üzere sulu çözeltilerden kristalize olur. α -laktoz veya α -laktoz monohidrat denilen süt şekeri, az tatlı ve diğer şekerlere göre suda çözünürlüğü yetersiz olan bir üründür. Ticari laktoz, α -formudur. Buna karşın higroskopik olan β -laktoz, suda daha fazla çözünür ve daha yüksek bir tatlandırma gücüne sahiptir (Üçüncü, 2004).

Peynir altı suyundan laktoz üretimi genelde iki aşamalı incelenebilir. Bunlar:

- a) Ham laktozun elde edilmesi ve
- b) Saf laktozun kazanılması

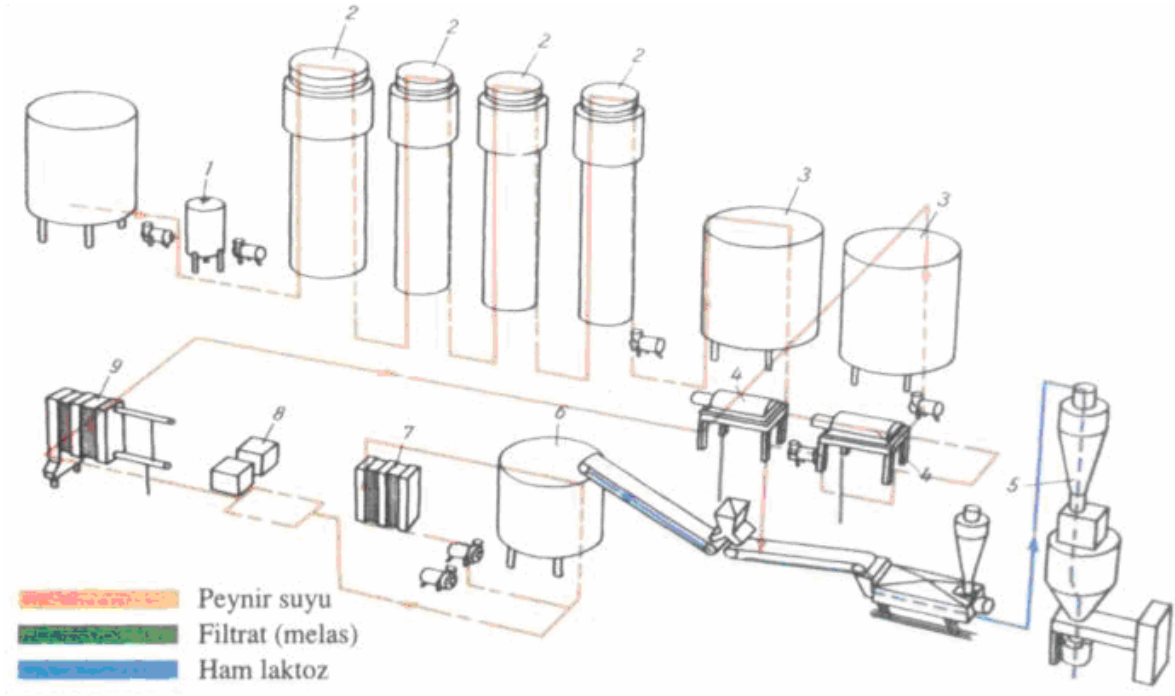
3.5.1 Ham laktozun üretimi

3.5.1.1 Ön işlemler

Laktoz üretiminde yağ ve proteinlerinden arındırılmış tatlı peynir altı suyu kullanılır. Bu amaçla peynir altı suyu önce yağ separatöründen geçirilerek kreması ayrılır (Şekil 3.2). Proteinlerin uzaklaştırılması ise, ya ısıtma işlemiyle ya da ultrafiltrasyon yöntemiyle gerçekleştirilir. Protein ve yağdan ayrılan peynir altı suyuna, buharlaştırıcılarda koyulaştırma işleminden önce, pH değeri 6.0-6.5'e ulaşıncaya kadar, kristal suyundan arındırılmış soda katılır. Sonra hemen hemen nötr noktanın altına dek kireç sütü eklenerek, mineral tuzlar, özellikle de fosfatlar uzaklaştırılır. Mineral maddeler iyon değiştirici sistemler yardımıyla da ayrılabilir.

3.5.1.2 Koyulaştırma

Koyulaştırma işlemine hazır hale getirilen peynir altı suyu, bir ön ısıtma uygulamasının hemen ardından evaporatörlerde %60-62 kuru madde oranına kadar koyulaştırılır. Koyulaştırma işleminde düşey borulu inen film evaporatörler, plakalı evaporatörler veya vakum - dolaşimli evaporatörler kullanılabilir.



Şekil 3.2 Ham laktoz üretiminde işlem basamakları ve rafinasyon (Üçüncü, 2004)

- | | |
|---|-----------------------------|
| (1)Şamandıralı tank | (6) Çözünme tankı |
| (2)Düşen film buharlaştırıcı (evaporatör) | (7) Plakalı ısı değıştirici |
| (3)Kristalizasyon tankı | (8) Filtre |
| (4)Dekanter ayırıcı | (9) Plakalı ısı değıştirici |
| (5)Kurutucu | |

3.5.1.3 Kristalizasyon

Koyulaştırılan peynir altı suyu, içinde yavaş dönen bir ızgara tip karıştırıcı bulunan çift cidarlı kristalizasyon tanklarına alınır. Laktoz, bu tanklarda kristalize edilir, yani çözülmüş durumdan özgün biçimi olan katı evreye geçer. Kristal oluşumunu çabuklaştırmak amacıyla tanklara, daha önceki üretimde elde edilen laktoz kristallerinden (tohum kristal) ilave edilir. Tanktaki peynir altı suyu konsantratu yavaş yavaş ve kademeli olarak soğutulur. Bu işlem süresince karıştırılır. Soğutmanın kusursuz uygulanması durumunda yaklaşık 24 saat sonra iri taneli laktoz kristalleri (kristal lapası) oluşur (Üçüncü, 2004).

3.5.1.4 Kristal lapasının santrifüjlenmesi

Kristalize olan laktoz, kesikli çalışan özel santrifüjlerde ya da sürekli çalışan dekanterlerde santrifüjlenir. Kristalleştirme işlemi sonrasında kazanılan kristal lapası, dekantere alınmadan önce, soğuk su ile karıştırılarak sıvılaştırılır. Santrifüj kuvveti etkisiyle silindirik gövdenin dış

cidarlarında toplanan katı parçacıklar, çıkış deliklerinden dışarı çıkarlar. Sıvı faz ise separatörün geniş olan tarafından alınır.

Kesikli çalışan separatörler ise elek tipi bir trommel içerirler. Santrifüjleme işlemi sırasında ham şeker filtre bezinde tutulur. Filtrat (melas) ise, merkezkaç kuvvetinin etkisiyle trommelin deliklerinden çıkarak alt bölümde birikir. Ancak, trommelde tutulan laktoz kristallerinin etrafını saran şurup kısmı tamamen uzaklaşmaz; kristaller üzerinde ince bir katman halinde şurup kalır. Santrifüjleme etkisiyle arındırılmayan bu ince şurup filmini giderebilmek amacıyla ham şeker soğuk su ile yıkanır. Bu amaçla santrifüj içindeki şekere homojen bir şekilde su püskürtülür. Böylece kristallerin üzerindeki şurup filmi uzaklaştırılır. Daha sonra santrifüj durdurulur ve süt şekeri alınır. Ancak bu durumdaki şeker %8-12 kadar su içerir (Üçüncü, 2004).

3.5.1.5 Kurutma

Nemli olan ham süt şekeri birkaç gün içinde küflenebilir. Bu nedenle hemen kurutulması gerekir. Bu amaçla özel kurutuculardan yararlanılır. Teknolojik alt yapısı yeterli olmayan işletmelerde kullanılan basit kurutucularda, ham süt şekeri düz tavalara ince bir tabaka oluşturacak şekilde serilir. Kurutucuda 70-80°C'lik sıcak hava dolaştırılır. Kurutma, 5-7 saatte tamamlanır.

Kurutma işlemi, bantlı ya da akışkan yatak kurutucular yardımıyla da yapılabilir. Bu tip kurutucularda kuruma 92°C'de 15-20 dakika içinde tamamlanır. Kurutma sıcaklığı kesinlikle 93°C'den yüksek olmamalı ve bu süreçte ürün sıcaklığı en çok 50-60°C olacak şekilde kurutma yapılmalıdır. Aksi halde, 93°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda β-laktoz oluşur. Ayrıca, kurutma süresine de özen gösterilmesi gerekir.

Kurutulan ham şeker, 30°C'deki kuru hava yardımıyla pnömatik yolla kurutucudan alınır. Bu şekilde ürünün soğuması da sağlanmış olur. Elde edilen ham süt şekeri ambalajlanır veya özel değirmenlerde öğütülerek teknik laktoza dönüştürülür.

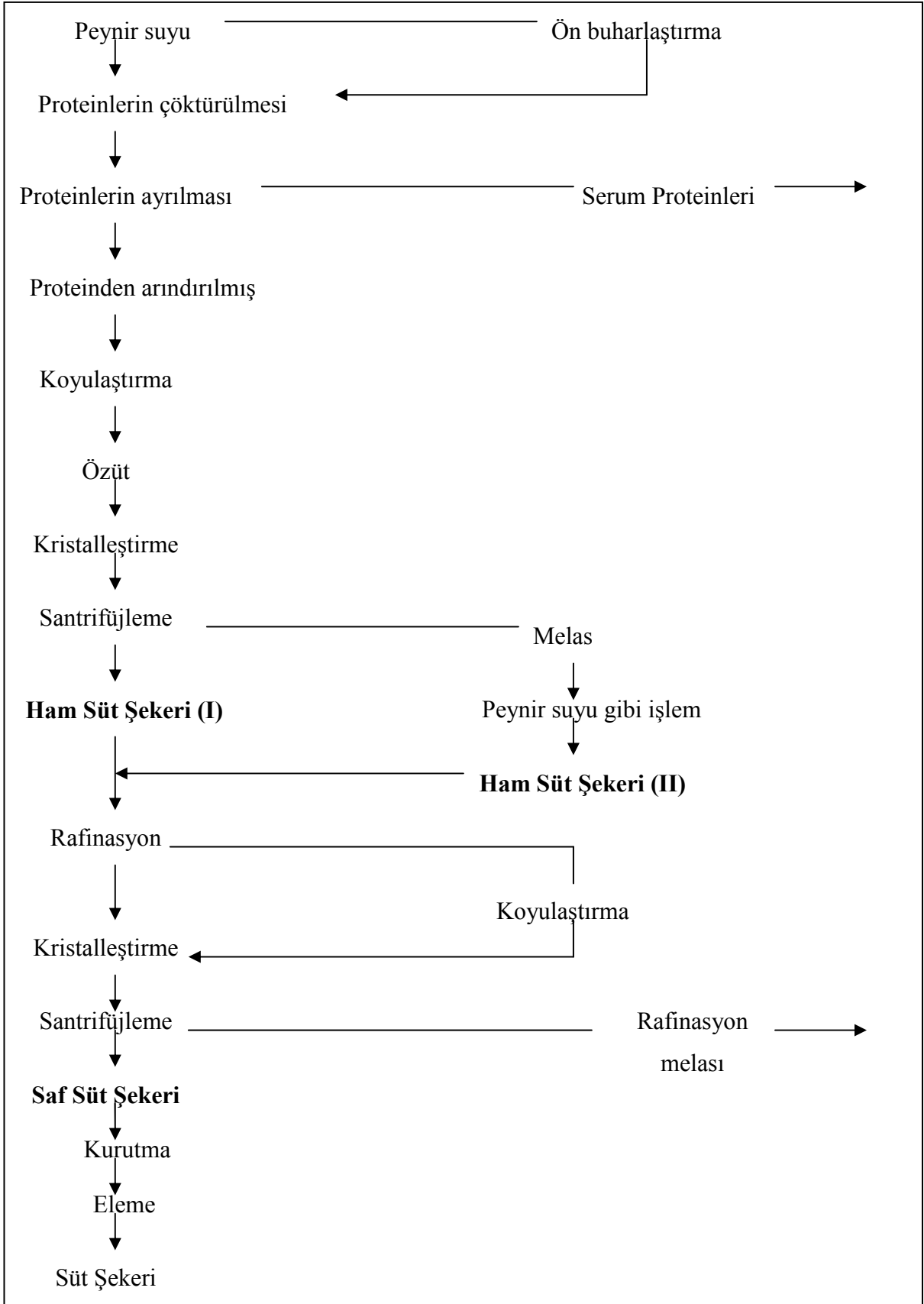
Bu yöntemle, peynir altı suyundaki laktozun yaklaşık %60'ı kazanılabilmektedir. Oysa, santrifüjleme işlemi sırasında ayrılan melasta daha %35 kadar ham şeker bulunmaktadır. Melastaki bu şekerin geri kazanılabilmesi için melas ısısal işleme tabi tutularak içerdiği protein (laktalbumin) çöktürülür. Ardından, yukarıda belirtilen şekilde kristalizasyon işlemi yapılır. Ancak kristalizasyon bu kez yaklaşık 60 saatte tamamlanır. Daha sonra elde edilen

ham süt Şekeri santrifüjlenir, kurutulur ve oğtlr. Bu aşamada arta kalan melas, hayvan yemi olarak kullanılabilir (nc, 2004).

3.5.2 Saf laktozun elde edilmesi

Ham süt Şekeri, başta gıda sanayi olmak üzere birçok alanda kullanılabilmesine karşın, tıpta ve ilaç endüstrisinde saf süt Őekerine gereksinim vardır. Dolayısıyla rafine edilerek saflaŐtırılması, diğer bir anlatımla; ham Şekerin içerdiği renk maddeleri, protein kalıntıları, mineraller ve koku maddeleri gibi Şeker dıŐındaki tüm oğelerin uzaklaştırılması ya da en alt düzeye indirilmesi gerekir.

Bu amaçla ham laktoz bir tankta, yaklaşık 50°C'lik saf su içinde çözündürülerek %25 kuru maddeli bir çözelti hazırlanır. Sonra laktoz dıŐındaki diğer oğelerin adsorpsiyonunu sağlamak için çözeltiye, Şeker miktarının yaklaşık %2'si kadar *aktif kömür* ve %0.1 *kieselgur* katılır. Bu maddeler, Şeker olmayan oğeleri mekanik bağlama ile adsorbe ederler. Ardından zelti indirekt buhar yardımıyla ısıtılarak aşırı olmamak koŐuluyla özenli bir Şekilde piŐirilir. Sıcak zelti, ısıtılmıŐ filtreli preslere gönderilir. Burada, kömür ve kieselgur tarafından adsorbe edilmiş Şeker dıŐındaki maddeler tutulur. Elde edilen temiz ve duru filtrat, evaporterde koyulaştırılır. Sonra kristalizasyon tanklarına gönderilerek, ham Şeker retiminde olduğu gibi kristalleŐtirilir ve ardından santrifüjlenir. İŐlemin son aŐamasında süt Şekeri vakumlu kurutucularda 55-60°C'de kurutulup oğtlr. Kusursuz bir üretim akıŐında 1000 litre peynir altı suyundan 25 kg rafine laktoz elde edilebilir. Hem ham süt Şekeri hem de rafine süt Şekeri üretimine elverişli bir sürekli üretim işlemi Şekil 3.3'de gösterilmiştir (nc, 2004).



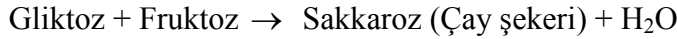
Şekil 3.3 Saf laktoz üretiminde işlem basamaklarının şematik gösterimi (Üçüncü, 2004)

4. LAKTOZ

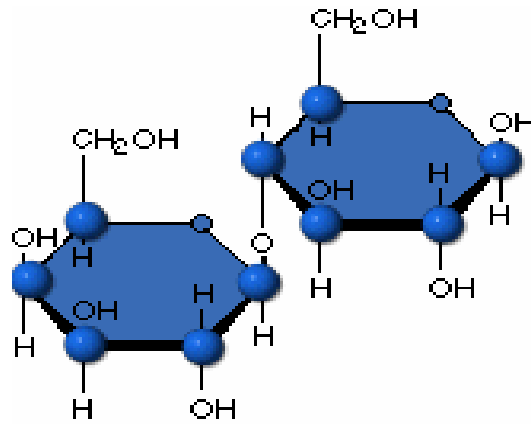
4.1 Karbonhidratlar ve Laktoz

Karbonhidratlar; karbon, hidrojen ve oksijen atomlarından oluşur. Birinci derecede enerji kaynağıdır. 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 [11].



Laktoz, 6 karbonlu moleküller olan glikoz ve galaktozun aralarında glikozit bağı ile bağlanmaları sonucunda oluşan 12 karbonlu bir disakkarittir. Ticari ismi süt şekeri'dir. Sadece memeli canlılar tarafından sentezlenir [12]. Laktoz molekülünün yapısı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Laktoz molekülü [13]

4.2 Laktozun Hidrolizi

Birçok insan, β -galaktozidaz eksikliği ya da yetersizliği nedeniyle laktozu tam olarak sindirememektedir. Bu nedenle de gaz, mide ağrısı ve diare gibi problemlerle karşılaşmaktadırlar. Bu kişilerin laktoz içermeyen diyetler yapmaları ya da laktozsuz gıdaları tüketmeleri gerekmektedir. Laktozun istenmediği durumlarda; laktozun hidrolizinin gerçekleştirilmesi, laktoz içermeyen yeni gıda ürünlerinin elde edilmesi ve peynir altı suyunun çeşitli besin maddelerinde yeniden kullanımının sağlanması gıda sektörü açısından büyük önem taşıyan bir prosestir.

Diğer şekerlere göre laktozun çözünürlüğü ve tatlılığı daha azdır. 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 hidroliz işlemi sonucunda altı karbonlu glikoz ve galaktoza parçalanır. Hidroliz işleminin amacı laktozun daha kolay sindirilebilir ürünlere dönüştürülmesidir. Ayrıca gıda sanayinde laktozsuz ürünlerin üretimine imkan vermektir (Numanoğlu ve Sungur, 2004).

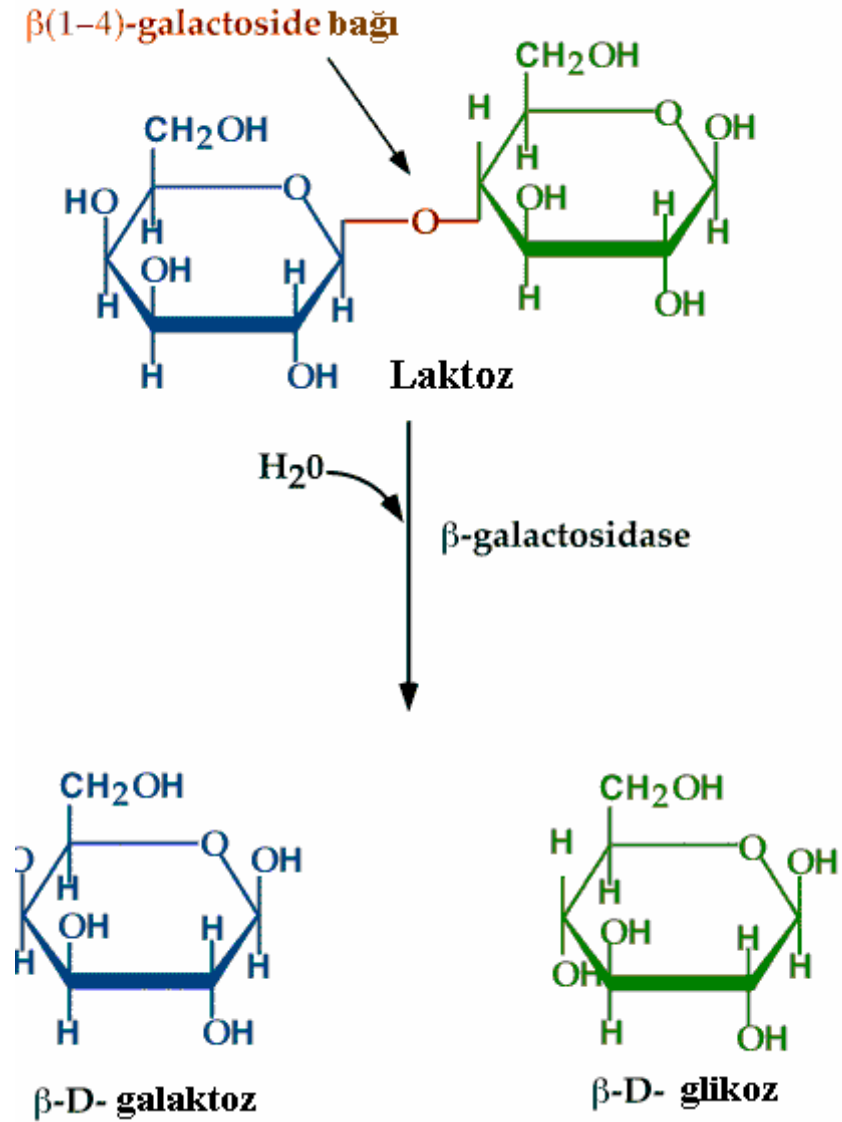
Peynir altı suyundaki ve sütteki laktozun hidrolizlenmesi iki yöntemle gerçekleştirilir:

1. Asidik hidroliz
2. Enzimatik hidroliz

Asidik hidrolizde; asit çözeltisi ya da asidik iyon değiştirici reçineler kullanılarak ortam pH'ı 1-2 arasında olacak şekilde 150°C 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, sütün ve peynir altı suyunun besin değerlerinin azalması gibi nedenler dolayısıyla gıda maddelerindeki laktozun, asidik yöntemle hidrolizlenmesi yetersiz olmaktadır.

Herhangi bir ön işleme gerek duyulmaksızın elde edilen son ürünlerin bozulmadan kalması ve besin içeriğinde herhangi bir kayıp olmaması nedeni ile enzimatik hidrolizlenme teknik açıdan daha uygundur. Ayrıca, sıcaklık ve pH gibi reaksiyon koşullarının daha elverişli olması, proste enerji ve madde maliyetlerini azaltmaktadır. Ancak bu yöntemde bazı dezavantajları vardır.

Laktozun enzimatik hidrolizi; hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalarda bulunan β -galaktozidaz enzimleri ile gerçekleştirilir. Endüstride, sadece mikroorganizmalardan elde edilen enzimler kullanılmaktadır. Enzim maliyetlerinin yüksek ve üretkenliğin az olması enzimatik hidrolizlenmede karşılaşılan problemlerdir. Bu problemlerde; daha kararlı enzimlerin kullanılması ile en az indirilebilmektedir (Ladero vd., 2001; Numanoglu ve Sungur, 2004; Tanrıseven ve Doğan, 2002). Laktozun enzimatik yolla hidrolizi şematik olarak Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Laktozun enzimatik hidrolizi [14]

4.3 Laktozun Kullanım Alanları

Laktoz, başta gıda sanayi olmak üzere tıpta ve ilaç sanayinde yaygın bir şekilde kullanılır. Gıda sanayinde özellikle fırıncılık ürünleri, şekerlemeler, toz çorbalar, instant içecekler, soslar, et mamulleri, bebek maması, bazı fermente süt mamulleri ve çeşitli diyet gıdaların üretiminde laktozdan yararlanılır.

Laktoz dondurma ve çeşitli şekerlemelerde şeker tadının dengelenmesinde kullanılır. Ayrıca, tat, koku ve renk maddelerini kolayca absorbe edebildiğinden gıda teknolojisinde taşıyıcı ajan olarak da değerlendirilir. Böylece tuzlu ve acı tat nüanslarını gizler ve ürünün tipik özelliklerinin belirginleşmesini sağlar. Bisküvi gibi bazı fırıncılık ürünlerinde kullanıldığında, bu ürünlerdeki proteinlerle tepkimeye girerek arzu edilen sarımsı-kahverengi rengi verir. Mayalar tarafından fermente edilemediği için bu fonksiyonel özelliğini pişirme işlemine kadar korur.

Bebek mamalarının ve bazı özel diyet gıdaların hazırlanmasında, inek sütünün anne sütüne benzetilmesinde de laktoza geniş ölçüde yer verilir. Çünkü laktoz, diyetetik etki bağlamında, yağ metabolizmasında rol oynayarak karaciğerde yağ birikimini önleyici etki yapmakta ve çok sayıda B vitaminin sentezlenmesini kolaylaştırmaktadır. Diğer yandan laktoz, ince bağırsaklarda bulunan laktaz (β -galaktozidaz) enzimi aracılığıyla glikoz ve galaktoza hidroliz olur. Oluşan glikoz ve galaktoz, ortak bir aktif taşıma mekanizmasıyla dolaşım sistemine emilir ve galaktoz karaciğerde kısa sürede glikoza çevrilir. Galaktozun başka bir metabolik fonksiyonu da, beyin gelişiminde rol oynamasıdır. Laktozla beslenen çocukların, diğer şekerlerle beslenenlerden daha iyi geliştikleri de kanıtlanmıştır. Ayrıca, laktozun beslenmede kalsiyum emilimini belirgin ölçüde iyileştirdiği, kemik ve diş oluşumunu kolaylaştırdığı da anlaşılmıştır. Bu nedenlerden dolayı, anne sütüyle beslenemeyen bebeklerde, inek sütüne sakkaroz yerine laktoz eklenmekte ve bebek mamalarının üretiminde, karbonhidrat oranının anne sütüne dengelenmesinde laktozdan yararlanılmaktadır.

Öte yandan laktoz, antibiyotik üretiminde kullanılan mikroorganizma kültürleri için karbon kaynağı olarak değerlendirilmekte ve ilaç sanayinde çeşitli farmakolojik preparatların hazırlanmasında dolgu maddesi olarak, ya da tablet halindeki bazı ilaçlar için kapsül yapımında kullanılmaktadır (Üçüncü, 2004).

4.4 Laktoz Alerjisi

Süt şekeri olarak tanımlanan laktoz, sütün tek karbonhidratıdır. Glikoz 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 glikoz 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 bağırsakta yüksek osmotik basınç oluşmaktadır. Bu basınç, bağırsak boşluklarına su akımına yol açmakta; kişide şişkinlik, bağırsakta gaz toplanması, kramplar ve ishal görülmektedir (Binkey, 1996; Ladero vd., 2001; Jelen ve Tossavainen, 2003). Çizelge 4.1'de laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı ile ilgili bilgi verilmiştir.

Çizelge 4.1 Laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı (%) (Korukluoğlu, 1999)

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

5. SONİKASYON

5.1 Sonikasyonun Tanımı

Sonikasyon, insan kulağının işitebileceği ses frekansının üzerindeki akustik dalgalara denir. Ultrasonik dalgaları insan kulağı duyamaz [15]. Diğer bir deyişle sonikasyon, akustik spektrumda 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 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”)	> 1 GHz

Çizelge 5.2 Güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulamaları [16]

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

Sonikasyon işlemi için genellikle 20 kHz - 40 kHz aralığındaki frekanslar kullanılır. Bu aralık laboratuarda kullanılan ultrasonik banyolarda geçerlidir. Ancak, akustik kaviteasyon bu frekansın üzerindeki frekanslarda da oluşabildiğinden son yıllardaki araştırmalarda 5 MHz'e kadar çıkılmaktadır. 5 MHz'in üzerindeki frekanslar ise kaviteasyon yaratmaz, tıpta görüntüleme tekniklerinde kullanılır (Koç (Öncül), 2001; Povey ve Mason,1998).

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 [17; 18].

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 milisaniye) 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 [19].

Çizelge 5.3 Frekans aralığı ve titreşim oranlarının karşılaştırılması [19]

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 [15]. Ultrasonik güç çeviriciler, mekanik ve elektrik enerjisini ses enerjisine çeviren cihazlardır (Povey ve Mason, 1998). Ultrasonik dalgalar; gazlar (hava gibi), sıvılar ve katılar içinde üretilebilir [15]. Ultrasonik dalgalarının elde edildiği başlıca 3 çeşit dönüştürücü mevcuttur;

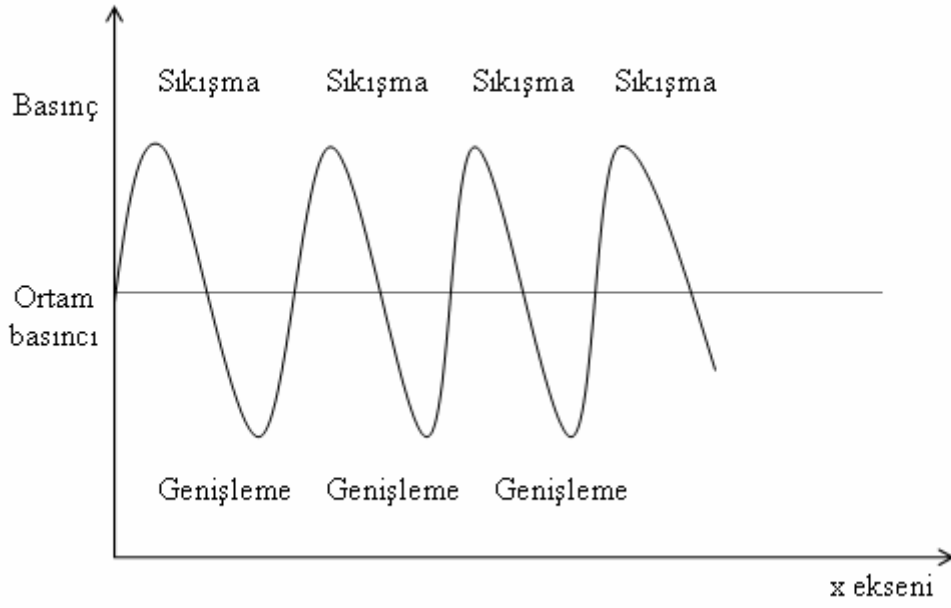
- **Sıvı sürücü dönüştürücüler:** Bir sıvının ince bir metal yüzeye hızla çarpmasıyla çalışır. Böylelikle, titreşimler meydana gelir. Bu titreşimsel hareketler ile basınç ve dolayısıyla da kavitasyon oluşur (Povey ve Mason, 1998).
- **Manyetik büzümlü dönüştürücüler:** Ters manyetostriktif etkisini kullanarak, 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 aralığının 100 kHz'den küçük olması; ikincisi ise kayıplar nedeniyle sadece %60'a yakın elektriksel verimlilik sağlanabilmesidir (Povey ve Mason, 1998; [15]).
- **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 asimetric 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 kullanılabilen ve %95 elektriksel verim sağlamaktadır (Povey ve Mason, 1998; [15]).

Ultrasonik güç kaynakları, voltaj hattındaki normal elektrik enerjisini yüksek frekanstaki elektrik enerjisine dönüştürmektedir. Yüksek frekanstaki elektrik enerjisi, mekanik enerjiye dönüştürülmek üzere proba iletilmektedir. Proba, boylamsal yönde titreşir ve bu hareket çözeltiye daldırılmış titanyum uca iletilir. Probdaki titreşimler, titanyum uç tarafından şiddetlendirilmektedir. Çözeltiye yayılan güçlü şok dalgaların etkisiyle oluşan mikroskopik kabarcıkların anlık olarak oluşup sönmesiyle kavitasyon oluşur (Cropek ve Dankowski, 2000; [20]).

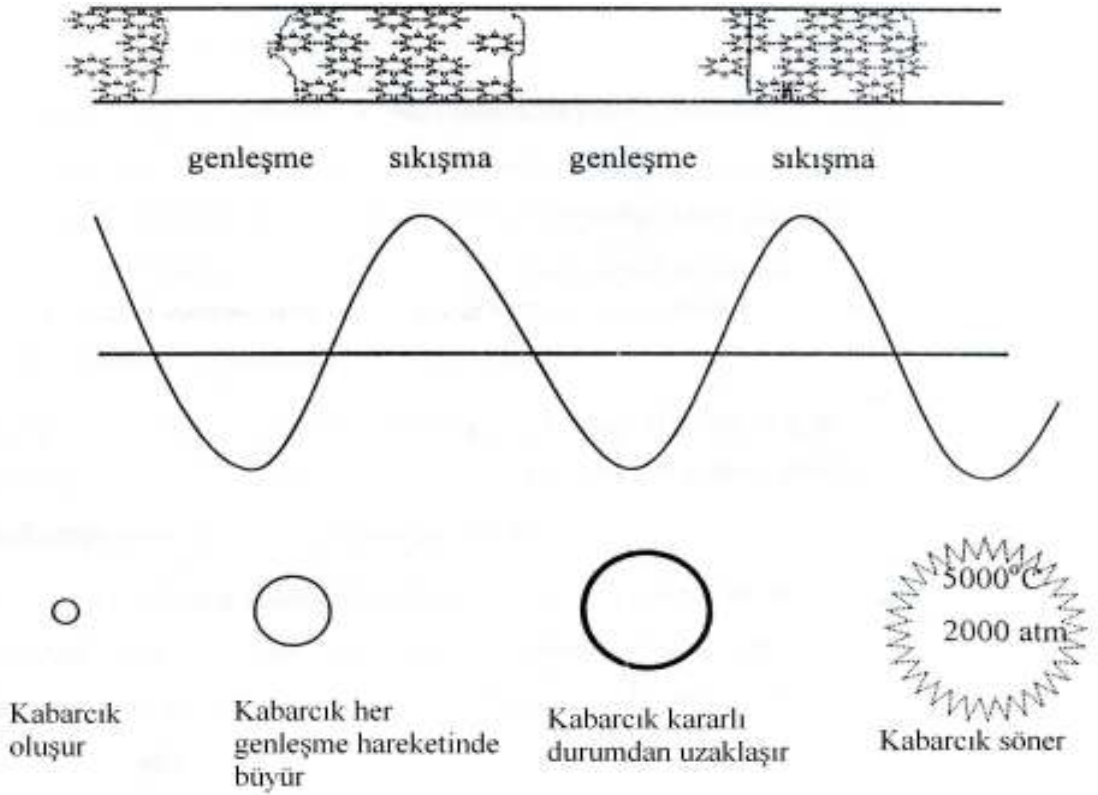
5.4 Kavitasyon

Ses enerjisinin prosesler üzerindeki etkisi kavitasyon olayı ile açıklanabilir (Chisti, 2003). Kavitasyon; sonikasyon uygulanan bir çözeltide, ultrasonik dalgaların genleşme evresinde sıvının içinde mikro kabarcıkların ve çukurların oluşması, dalgaların sıkıştırma evresinde bu kabarcıkların sönmesi şeklinde gerçekleşen bir akustik prostestir (Schlager, 1998). Sönen kabarcıklar ile ortamda şiddetli dalgalar oluşmaktadır. Kabarcığın oluşması ve sönmesi çok hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Kavitasyon, sadece ultrasonik güç uygulandığında oluşmaktadır. Kavitasyon ile dayanıklı küçük moleküller ve biyoaktif makromoleküller parçalara ayrılabilir (Chisti, 2003).

Ses, Şekil 5.1’de gösterildiği gibi art arda gelen sıkışma ve genleşmelerden 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 genleşme dalgası sıvı molekülleri arasındaki bağların kopmasına sebep olabilir. Bu durumda oluşan boşluk, sıvı içinde bulunan gaz ya da buhar tarafından doldurulur ve kavitasyon baloncuğu oluşur. Oluşan bu baloncuk art arda birkaç genişleme dalgası boyunca ortamdan gaz ya da buhar olarak büyümeye devam eder ve kararlı durumunu kaybeder. Böylece bir sıkışma dalgası kavitasyon baloncuğunun patlamasına neden olur (Andaç, 2002; Casadonte, 2000). Şekil 5.2’de bir kavitasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönmesi gösterilmiştir.



Şekil 5.1 Ultrasonik dalgaların ilerleyişi (Andaç, 2002)



Şekil 5.2 Kaviteyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönmesi (Casadonte, 2000; Giz, 2000)

5.5 Kavitasyonu Etkileyen Faktörler

- **Uygulanan frekansın etkisi:** Ultrasonik dalgaların frekansı arttıkça, sıvılardaki kavitasyonun şiddeti ve üretimi azalır. Bunun sebebi, çok yüksek frekanslarda genleşme ve sıkışma evrelerinin çok kısa olmasıdır. Genleşme evresinin sınırlı zamanı, kabarcığın yeterli derecede büyümesine izin vermez. Genleşme sırasında kabarcık üretilse bile, sönmesi için belirli bir süre gereklidir. Bu nedenle, yüksek frekanslarda meydana gelen kavitasyon etkiler daha az olur.
- **Çözücünün etkisi:** Bir sıvıda boşlukların ve mikrokabarcıkların oluşması için, sıvının kohesif kuvvetlerinin üstesinden gelebilecek genleşme 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 kavitasyon kabarcığını üretebilirse, kabarcıkların çökmesinden ortaya çıkan sıcaklık ve basınç etkileri oldukça büyük olur. Çünkü çökme başlangıcında basınç çok fazladır. Kavitasyona 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, [21]).

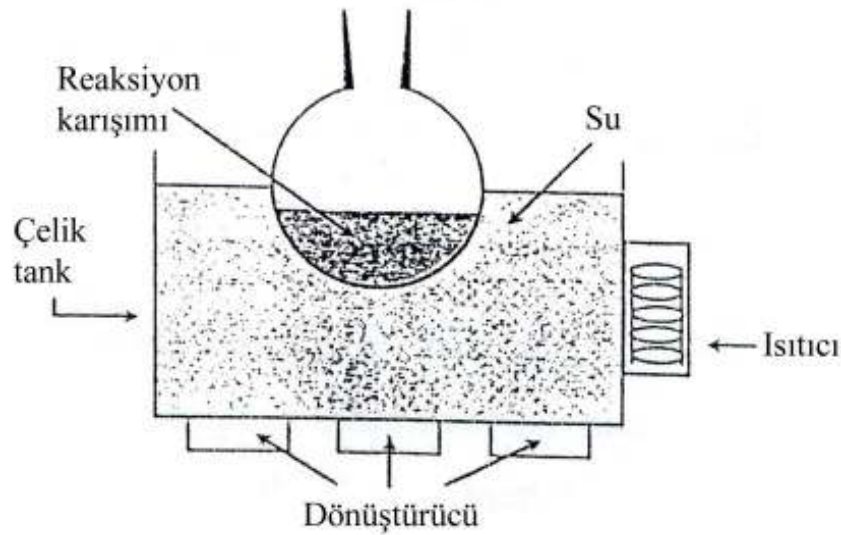
5.6 Sonikasyon İşleminde Kullanılan Cihazlar

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 banyo 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.

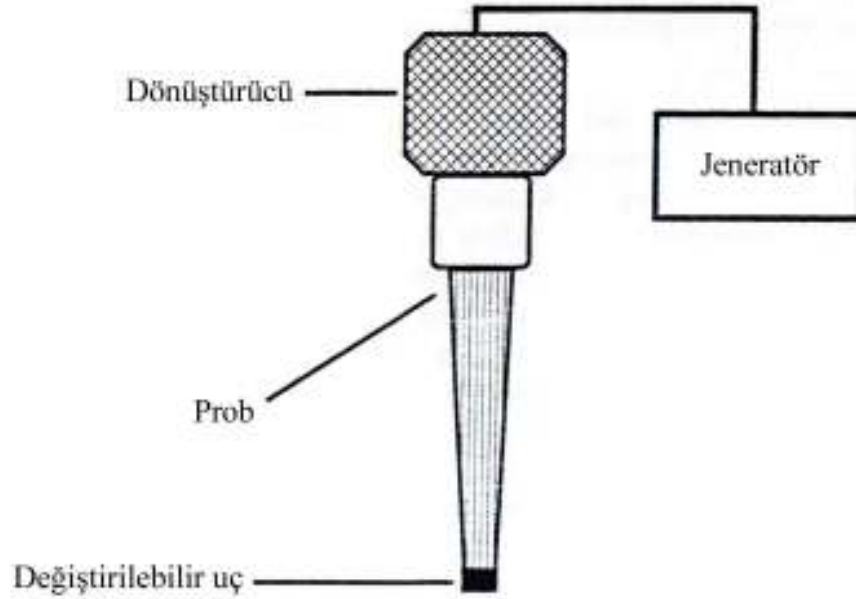
Reaksiyon kabı için özel bir adaptör gerekli değildir. Kap içerisinde inert bir atmosfer veya basınç sağlanabilir. Cihazın duvarlarından reaksiyon ortamına ulaşan enerji miktarı düşüktür, normal olarak $1-5 \text{ W/cm}^2$ arasındadır. Ticari ultrasonik banyolarda termostatik kontrol genellikle zayıftır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



Şekil 5.3 Ultrasonik banyo (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). Bu tip sistemlerin gücü kontrol edilebilir ve banyo sistemine göre daha yüksek güç yoğunluğu sağlanabilir. Ancak, prob sistemi banyodan daha pahalıdır (Koç (Öncül), 2001; Povey ve Mason, 1998).



Şekil 5.4 Ultrasonik prob sistemi (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 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
- Kavitasyon

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 özetlenebilir; 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; [15, 21])

Alan	Uygulama
Biyoloji, Biyokimya	<ul style="list-style-type: none"> • Homojenleştirme • Hücre parçalanması <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"> • Reaksiyon süresini azaltma • Reaksiyon verimini artırma • Reaksiyon mekanizması değiştirme • Katalizör aktivitesini artırma • Radikal oluşturma • İndüksiyon süresini azaltma • Homojenizasyon ve karıştırma • Hidroliz
Coğrafya, Jeoloji	<ul style="list-style-type: none"> • Vuruş/yankı teknikleri • Petrol yataklarının yerinin saptanması • Deniz ve okyanuslarda derinlik ölçümü • Sonar (ultrasonik radar)
Endüstri	<ul style="list-style-type: none"> • Boyalar ve katıların; boya, mürekkep ve reçineler içinde kolayca dağılmasını sağlar. • Ultrasonik banyolara daldırılarak yağlamayı azaltma ve temizleme işlemleri yapılır. • Akustik filtrasyon ve ultrasonikasyon ile kurutma uygulamaları ise pek yaygın değildir.

Çizelge 5.4 (Devam)

Gıda	<ul style="list-style-type: none"> • Köpük giderme • Karıştırma ve oksidasyon
Diş hekimliği	<ul style="list-style-type: none"> • Dişlerin temizlenmesi ve delinmesinde kullanılır.
Okyanus bilimi	<ul style="list-style-type: none"> • Su altının izlenmesi • Deniz tabakasının hatlarının çizilmesi • Batık gemilerin bulunması • Balık sürülerinin aranması
Plastikler ve Polimerler	<ul style="list-style-type: none"> • Termoplastiklerle kaynak yapımında, • Polimerizasyon reaksiyonlarını başlatmada, • Polimer zincirlerinin kırılmasında.
İlaç	<ul style="list-style-type: none"> • Enzim aktiveleştirme • Emülsiyon haline getirme • Kemoterapi uygulamaları
Elektronik	<ul style="list-style-type: none"> • Elektronik komponentlerin muayenesi, temizliği ve montajı • Yüzey akustik dalga filtreleri ultrasonik frekanslarla çalışır. Bunlar cep telefonu ve TV alıcıları için önemlidir.
Tarım	<ul style="list-style-type: none"> • Hayvanlardaki yağ tabakasının kalınlığını ölçmek • Homojenleştirilmiş sütün kalitesini artırma • Haşerelemlerle mücadele
Tıp	<ul style="list-style-type: none"> • Cerrahi aletlerin sterilizasyonu • Görüntüleme teknikleri: İnsan kalbindeki kanın akışı, kalp kapakçıklarının durumu (doppler); böbrek, safra taşı ve tümörlerin tetkikinde kullanılmaktadır. 2-10 MHz frekans aralığı sonikasyon ile görüntüleme, özellikle doğumlarda, fetusu (cenini) gözlemlemek için ve ameliyatlarda kesim aletlerine rehberlik etmek için kullanılır. • Fizyoterapi: Düşük frekanslarda (20-50 kHz) kas incinmelerin tedavisinde kullanılır.

Çizelge 5.4 (Devam)

Metalurji ve Malzeme	<ul style="list-style-type: none">• Metal oksit katalizör hazırlama• Kolloid ve dispersiyon hazırlama• Elektroliz• Metal ve plastik birleştirme-kesme• Yüzey temizleme: Elektronik aksamlar, otomotiv, uçaklarda kullanılan metal, seramik veya kristal yüzeylerden gres (katı yağ), pas ve boyaların çıkarılması gibi• Lehimleme ve kaynak• Malzemelerin işlenmesi: Karmaşık şekillerin, çok sert ve aşındırıcı malzemelerin işlenmesinde kullanılabilir. Yumuşak çelik, seramik, cam, tungsten gibi malzemeler bu teknikle işlenebilir.• 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.• Akustik mikroskop: 1 μ seviyesine kadar detaylar görülebilir.• Malzeme özelliklerinin belirlenmesi (parçacık büyüklüğü, gözeneklilik, kırılma mukavemeti gibi özellikler)
----------------------	--

6. β -GALAKTOZİDİZ ENZİMİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ

β -Galaktozidaz enzimi, süt endüstrisinde, süt ve süt ürünlerinden laktozun hidrolizinde kullanılan çok saflaştırılmış laktazdır. Kaynakları farklı mikroorganizmalar olan birçok β -galaktozidaz enzimi bulunmaktadır.

β -Galaktozidaz enzimi, süt şekeri laktozu, glikoz ve galaktoz olarak monosakkaritlere hidrolize eder. β -Galaktozidaz 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 glikoz 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).

β -Galaktozidaz enzimi, rengi sarıdan açık kahverengiye doğru bir tonda olan viskoz bir sıvıdır. β -Galaktozidaz enzimi, yapısında birçok element bulundurmaktadır. Bunların başlıcaları kurşun, arsenik, civa ve kadmiyumdur. Enzimin yapısında bulunan bu elementlerin miktarları ve bazı kimyasal özellikleri izelge 6.1'de belirtilmiştir. Çizelge 6.2'de ise enzimin mikrobiyolojik özellikleri gösterilmiştir. Gıda endüstrisinde enzimleri hazırlamada kullanılan genel spesifikasyonlar, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food tarafından belirlenmiştir. β -Galaktozidaz enzimi orijinal kapaklı ambalajında serin ve kuru ortamda 4-8°C'de saklanmaktadır. Bu şartlar altında saklandığında, tavsiye edilen raf ömrü 12 aydır ve bu süre içerisinde aktivite kaybı %1'den düşüktür (DSM Food, 2004).

Çizelge 6.1 β -Galaktozidaz enziminin kimyasal özellikleri (DSM Food, 2004)

Kimyasal Özellikler	Değerler
Aktivite	≥ 5000 NLU/g
Ağır Metal	≤ 30 ppm
Kurşun	≤ 5 ppm
Arsenik	≤ 3 ppm
Civa	≤ 0.5 ppm
Kadmiyum	≤ 0.5 ppm
pH	7.0-7.5
Gliserol	$\geq \% 47$ (w/w)

Çizelge 6.2 β -Galaktozidaz enziminin mikrobiyolojik özellikleri (DSM Food, 2004)

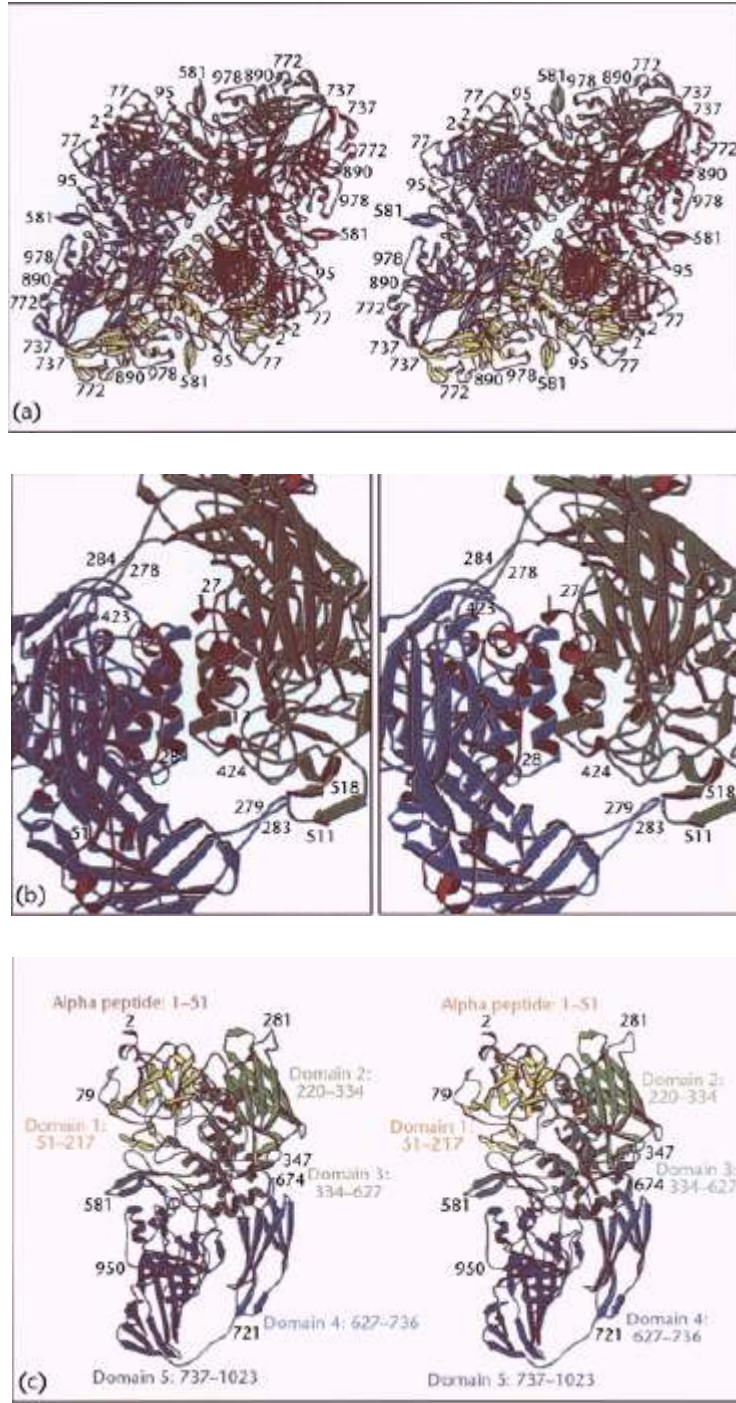
Mikrobiyolojik Özellikler	Değerler
Toplam Sayım	$\leq 1000 / 1$ ml
Koliformlar	$\leq 30 / 1$ ml
Salmonella	25 ml'de yok
Escherichia coli	25 ml'de yok
Staphylococcus Aureus	1 ml'de yok
Listeria Moncoytogenes	25 ml'de yok
Mayalar	$\leq 10 / 1$ ml
Küfler	$\leq 10 / 1$ ml
Antibiotik Aktivite	test sonucuna göre yok
Mikotoksin	test sonucuna göre yok

6.1 β -Galaktozidaz Enziminin Yapısı

Moleküler ağırlığı yaklaşık 540.000 olan β -galaktozidaz dört eşdeğer alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Her bir alt birim yaklaşık 120-135 kDa molekül ağırlığındadır. β -Galaktozidaz açıklanan en uzun protein zincire sahip enzimdir. Her bir alt birimi yaklaşık 1021-1170 aminoasit içermektedir (Nichtl vd., 1998; Ullman, 2001; [22]).

2.5 Å çözünürlükte kristal yapıdaki çift sarmal β -galaktozidaz'ın boyutları kabaca 175x135x90 Å' dır. Molekül çapı yaklaşık 5.39 nm' dir (Nichtl vd., 1998).

Şekil 6.1'de β -galaktozidaz'ın 3 boyutlu yapısı görülmektedir. Şekil 6.1(a)'da β -galaktozidaz tetramer molekülünün en geniş yüzünü gösteren kurdele şekli bulunmaktadır. Kırmızı/yeşil ve mavi/sarı dimerlerin etkileşimi uzun ara yüzeyler oluşturmaktadır.



Şekil 6.1 β -Galaktozidaz enziminin kimyasal görünümü [23]

Şekil 6.1(b)'de molekülün çift sarmal yapıdaki kurdele diyagramındaki mavi/yeşil dimer aktifleşmiş ara yüzeyin kompozisyonunu göstermektedir. Her zincirdeki α -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 β -galaktozidaz monomerinin kurdele diyagramı bulunmaktadır. Birbirini izleyen bölümlerdeki aminoasitler, renk skalasında birbirini izleyen renklerle gösterilmiştir (Ullman, 2001).

6.2 β -Galaktozidaz Enziminin Endüstriyel Uygulamaları

Sütte ve peynir altı suyunda bulunan laktozun hidrolizinde kullanılan β -galaktozidaz enzimi birçok gıda prosesinde kullanılmaktadır. Bunlardan başlıcaları;

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

7. β -GALAKTOZİDAZ 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 β -galaktozidaz ile ilgili bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Panesar vd. (2007), tarafından yapılan çalışmada, enzim ekstraksiyonu ve membran hücresinin laktoza olan zayıf geçirgenlik probleminin üstesinden gelebilmek için, hidrolize süt laktozunun üretimi için geçirgen *Kluyveromyces marxianus* hücreleri kullanılarak deneyler yapılmıştır. Biyokütle yüklemeleri, sıcaklık, karıştırma ve reaksiyon süresi gibi farklı proses parametreleri yağsız sütteki maksimum laktoz hidrolizi için bu hücrelerin kullanımı ile optimize edilmiştir. Optimize koşullar altında etanol-geçirgen bira maya hücreleri %89 oranında süt laktozunun hidrolizini sağlamıştır.

Jurado vd. (2006), tarafından yapılan çalışmada, geri sirkülasyonlu fiber yapıda bir biyoreaktörde, β -galaktozidaz stabilitesi farklı sıcaklıklarda adsorpsiyon kinetik modeli uygulanarak incelenmiş ve modele ait kinetik sabitler uygulanan her bir sıcaklık için hesaplanmıştır. Ayrıca, laktoz ve enzim konsantrasyonunun laktoz hidrolizi üzerindeki etkisi farklı fiber modüllerde incelenmiştir. Kullanılan membran yüzey alanı 1-1.95 m² arasında değişmiştir. Deneysel sonuçlar galaktoz ile enzimin rekabetçi inhibisyonu ve membranın yüzeyinin enzimatik adsorpsiyonunu içeren model ile uyum göstermektedir. Modüllerde kullanılan modelin uygunluğunun belirlenmesi için adsorpsiyon sabitleri hesaplanmıştır. Çalışılan koşullarda, Polisülfondan yapılan fiber modülün daha az enzim adsorbe ettiği; reaksiyon ve enzim için daha uygun olduğu saptanmıştır.

Ladero vd. (2006), tarafından yapılan çalışmada, *Thermus sp.* Strain T2'den üretilen immobilize edilmiş ve edilmemiş β -galaktozidazın termal ve pH inaktivasyonu incelenmiştir. Termal inaktivasyon deneyleri 50 g/L laktoz içeren laktoz tampon çözeltisinde, pH inaktivasyonu deneyleri ise genelde kullanılan 50 mM (pH 7.2) fosfat tamponda gerçekleştirilmiştir. Termal inaktivasyon deneyleri için sıcaklıklar 60-90°C arasında; pH inaktivasyonu ise asidik pH 3-5 ve bazik pH 10-13 arasında incelenmiştir. 60-90°C arasında serbest enzim iki kademeli birinci derece reaksiyon göstermiş; bunun yanında immobilize enzim 80-90°C arasında aynı eğilimi göstermiştir. Daha düşük sıcaklıklarda sadece tek kademeli reaksiyon gerçekleşmiştir. Her iki durumda da, enzim stabilitesini korumasına rağmen, immobilize enzim 60°C'den 70°C'ye aktivitesini daha az yitirmiştir. Asidik pH için, tek kademeli birinci dereceden reaksiyon eğilimi göstermiş, her 2 durumda inaktivasyon

sağlanmıştır. Basit durumda, 2 kademli birinci dereceden basit bir model seçilmiştir. Asidik koşullarda, endüstriyel uygulamaları için önemli olan peynir altı suyu, immobilizasyon ile sağlanan stabilizasyon kinetik parametrelerini etkilemiştir. pH inkativasyonu için kinetik parametrelerin değişimi incelenmiştir. Çok değişkenli lineer olmayan regrasyon teknikleri kullanılarak en iyi kinetik denklem seçilmiştir.

Şener vd., (2006) tarafından yapılan çalışmada; alternatif bir metod olarak ultrasonikasyonun sütteki laktozun hidroliz kinetiğine etkisi incelenmiştir. Sonikatörün frekans aralığı ve akustik gücü ile enzim stabilitesine etkisi çalışılmıştır. Hidroliz reaksiyonları *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı ticari β -galaktozidaz enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimum çalışma şartları olan, 20 W akustik güç, %10 frekans aralığı ve 1 ml/L enzim konsantrasyonunda, ultrasonik uygulama %90 hidroliz derecesi ile sonuçlanmıştır. Enzim ise %25 oranında aktivite kaybetmiştir. Bu sonuçlar, sonikasyon uygulamasının sütteki laktozun hidrolizi için yararlı olduğunu göstermektedir. Kalan laktoz konsantrasyonu ve kalan enzim aktivitesi değerleri proses değişkenlerine bağlı olarak modellenmiştir. Uygulanan modellerin deneysel sonuçlar ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

Novalin vd., (2005) tarafından yapılan çalışmada; sütteki laktozun enzimatik hidrolizi derin fiber reaktörde incelenmiştir. Mezofilik β -galaktozidaz enzimi süt akışı boyunca sistemde sirküle olmaktadır. Enzim aktivitesi ve süt akış hızı gibi proses parametrelerinin hidroliz olan etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, kesikli reaktörden elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, enzim aktivitesinin uzun süre korunduğu bulunmuştur. 4.9 m² membran yüzeyine sahip derin fiber reaktörde 23±2°C, 120 U/ml enzim aktivitesi ve 9.9 L/h süt akış hızında %78.11 oranında dönüşüm gerçekleşmiştir.

Kim vd., (2004) tarafından yapılan çalışmada; *Kluyveromyces lactis* kaynaklı β -galaktozidaz enzimi kullanılarak yapılan laktoz hidrolizinin, Michaelis-Menten kinetiğine uymadığı görülmüştür. Yeni bir kinetik modeli oluşturmak amacıyla, galaktoz ve glikozun β -galaktozidaz 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 β -galaktozidaz'ın aktivitesini inhibe etmiştir. 50 mM'dan düşük glikoz konsantrasyonlarda reaksiyon hızının artışı gözlenmiştir ve optimum hidroliz değeri yaklaşık %87 olarak belirlenmiştir. Hidroliz reaksiyonlarında *Kluyveromyces lactis* kaynaklı β -galaktozidaz enzimi için glikoz ve laktozun konsantrasyonuna bağlı bir model oluşturulmuştur. *Kluyveromyces lactis* kaynaklı β -galaktozidaz enzimi kullanılarak yapılan hidroliz işleminde zamana bağlı

reaksiyonlardan elde edilen laktoz konsantrasyon değerlerinin, oluşturulan yeni bir 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 β -galaktozidaz enzimi kullanılmıştır. β -Galaktozidaz enzimi hücre içi bir enzim olduğundan; geçirgen hale getirilmiş ölü hücreler, gluteraldehit 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 LactozymTM olan *Kluyveromyces fragilis* kaynaklı β -galaktozidaz selüloz 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 saatte gerçekleşmektedir. Immobilize enzimin, akışkan yataklı reaktörde performansında herhangi bir azalma olmadan 3 kere kullanılabilirdiği belirtilmiştir. Immobilizasyon 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 β -galaktozidaz enzimi; galaktoz (3.1 mM) ile rekabetçi olacak ve glikoz (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, β -galaktozidaz enzimi immobilizasyonunun, süt içerisindeki laktoz hidrolizinde veya 70°C'deki peynir altı suyundaki laktozun hidrolizinde kullanılabilirdiği gösterilmiştir. Çözünebilir enzimlerle yapılan bu çalışmada, galaktoz ve glikozun güçlü inhibisyonu nedeni ile laktoz %85 oranında hidrolizlenmiştir. Immobilize edilmiş β -galaktozidaz enziminin yüksek stabilitesi nedeniyle, reaksiyonun 70°C'de yapılması önerilmiştir.

Burin vd., (2004) tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus oryzae* kaynaklı β -galaktozidaz enziminin peynir altı suyundaki aktivitesi renk koyulaşması ve matrisindeki fiziksel

değişimlere bakılarak analiz edilmiştir. Amorf sistemler, β -galaktozidaz ve peynir altı suyu içeren ama maltodekstrin içermeyen çözeltilerin soğutulurak kurutululması yöntemiyle elde edilmiştir. Amorf sistemler, β -galaktozidaz ve peynir altı suyu içeren ama maltodekstrin içermeyen çözeltilerin soğutulurak 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 kahverenginin 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 *Kluyveromices marxianus* kaynaklı β -galaktozidaz enziminin kinetik davranışı incelenmiştir. Immobilize 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 β -galaktozidaz enzimi kullanılarak pH=7 için laktoz hidrolizi; farklı besleme hızları, ürün konsantrasyonları ve sıcaklıklar gibi farklı operasyon koşulları için gerçekleştirilmiştir. En yüksek laktoz dönüşüm oranı Milipore Silica 150A üzerine immobilize edilmiş 4 g β -galaktozidaz enzimi kullanılarak 37°C sıcaklık ve 4 cm³/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 β -galaktozidaz enzimi, glutraldehit 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 β -galaktozidaz enzimlerinin daha kararlı oldukları gözlenmiştir. Çözünabilir ve immobilize edilmiş β -galaktozidaz'ın 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; β -galaktozidaz kaynağı olarak

kullanılan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842'nin üreme ortamında pH'ı ayarlamak için NaOH, KOH ve NH₄OH gibi üç farklı nötralleştirici kullanılmıştır. Süt için laktoz hidroliz kinetikleri ile enzimin aktivite değerleri incelenmiştir. NH₄OH 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 aktivitenin 20-37°C arasındaki sıcaklıklar için daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Ladero vd., (2001) tarafından yapılan çalışmada; hem çözelti içinde hem de silika alüminyum üzerinde immobilize edilmiş *Escherichia coli* kaynaklı β - galaktozidaz enzimi kullanılarak laktoz ve ONPG'nin (ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) hidrolizi incelenmiştir. Bu çalışmada kullanılan enzim genetik mühendisleri tarafından modifiye edilmiş ve kromatografik yolla homojenize edilmiştir. Laktozun hidrolizinde, glikozdan 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. İmmobilize 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 glikoz 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.

Szczodrak, (2000) tarafından yapılan çalışmada; *Kluyveromyces fragilis* kaynaklı, %90'dan yüksek aktivitede tutuklanmış ve hidrojen bağları modifiye edilmiş, doğal β -galaktozidaz 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 döngülü dolgulu yatak biyoreaktörde; peynir altı suyunun içindeki yüksek verimlilikteki laktozun hidrolizi gerçekleştirilmiştir.

Santos vd., (1998) tarafından yapılan çalışmada; *Kluyveromices fragilis* kaynaklı ticari β -galaktozidaz enzimi kullanılarak enzim, substrat ve ürün konsantrasyonları ve sıcaklık gibi reaksiyon şartlarının hidroliz kinetiği üzerindeki etkileri incelenmiştir. Fiziksel, besinsel, teknolojik ve çevresel nedenlerden dolayı ilgi çeken bir konu olan laktoz hidrolizi, tuz kompozisyonu süte benzeyen bir tampon çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir. Enzimin aktivitesine ve stabilitesine, pH ve sıcaklığın etkisi incelenmiş ve optimum pH 6.5 olarak bulunmuştur. 45°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda birkaç saat içinde önemli ölçüde deaktivasyona sebep olduğundan, kinetic modelin türetilmesi için deneyler pH 6.5'te 5-40°C sıcaklık aralığında yapılmıştır. Substrat ve ürün inhibisyonu göz önüne alınmıştır. Farklı kinetik modelleri ayırt edebilmek için deneyler farklı monosakkarit başlangıç koşullarında yapılmıştır. Modelleme çalışmaları sonucunda, hidroliz reaksiyon kinetiğinin galaktozun neden olduğu rekabetçi inhibisyonu da göz önüne alan Michaelis-Menten modeline uygunluk gösterdiği belirlenmiştir.

8. MATERYAL VE YÖNTEM

8.1 Kullanılan Materyaller

- β -Galaktozidaz enzimi
- Peynir Altı Suyundan Elde Edilen Laktoz
- Glikoz Deney Kiti
- ONPG çözeltisi
- Glikoz Standart Çözeltisi
- 25 mM fosfat tampon çözeltisi
- 100 mM fosfat tampon çözeltisi
- Kimyasal maddeler (5 M HCL, 1 M Na₂CO₃)

Peynir altı suyundan elde edilen laktozun hidroliz işleminde kullanılan, ticari adı Maxilact LX 5000 olan, *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -galaktozidaz enzimi (ürün kodu: EC 3.2.1.23) oldukça saflaştırılmış sıvı laktaz preparatı olup likit kıvamda DSM Food Speacalties 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 ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG) substratından 1.3 μ mol orto-nitrophenol 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 7.4'teki 100 mM'lık fosfat tampon çözeltisi içerisinde 300 mg ONPG çözülerek hazırlanmıştır.

Hidroliz işlemi için kullanılan laktoz Maybi A.Ş.'den, glikoz deney kiti (ürün kodu: 02-0541) Elitech firmasından sağlanmış olup çalışmalar süresince 4°C'de buzdolabında, hidroliz reaksiyonu ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için kullanılan glikoz (ürün no:1.08337), galaktoz (ürün no: 1.04061) ve gliserin (ürün no: 1.04093) Merck firmasından sağlanmış olup laboratuar şartlarında saklanmıştır.

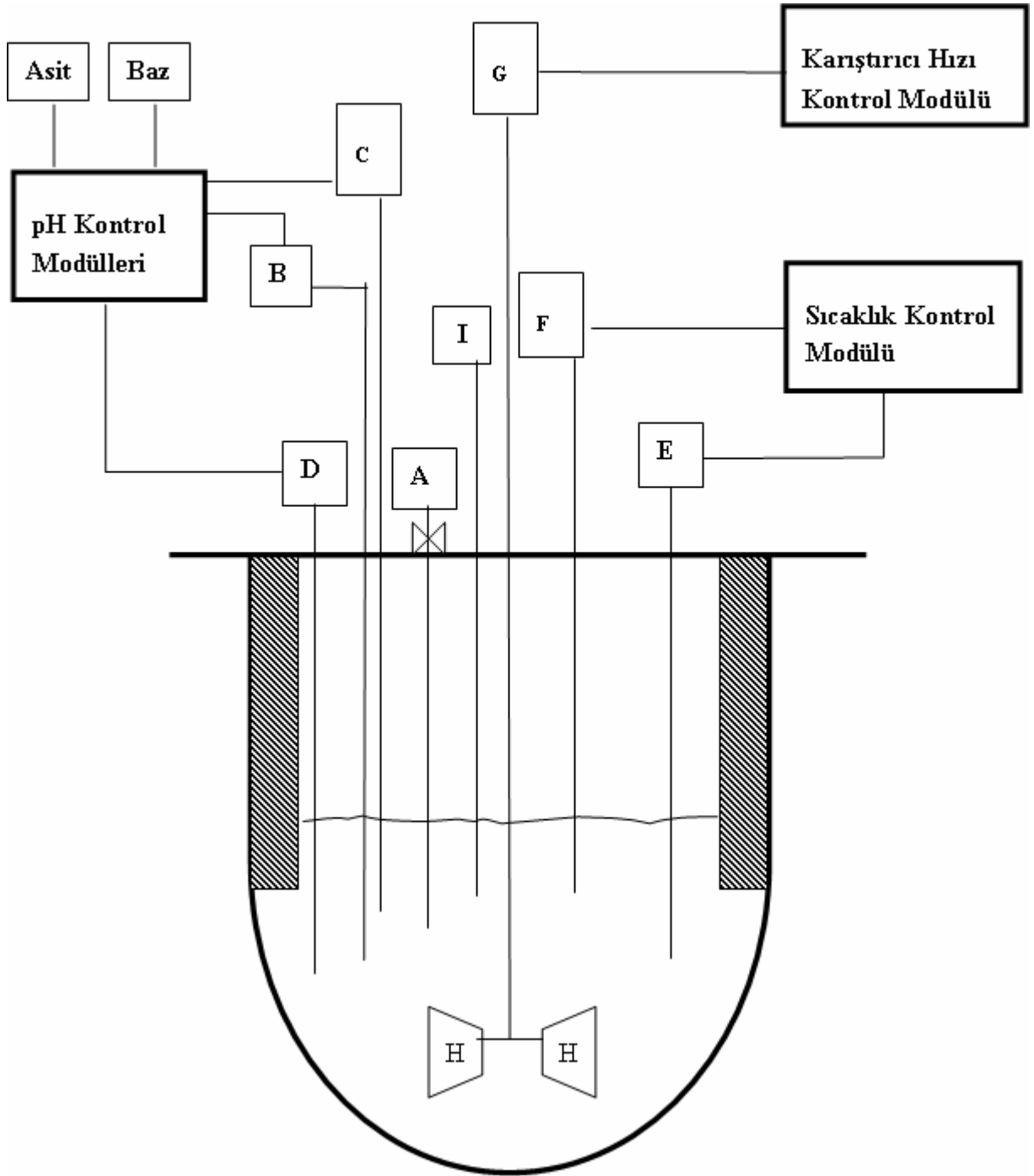
8.2 Kullanılan Cihazlar

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 absorbans değerlerini okumak için de Shimadzu marka UV-150-02 çift ışınlı spektrofotometre kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan biyoreaktör sisteminin genel görünümü Şekil 8.1'de, şeması Şekil 8.2'de verilmiştir.



Şekil 8.1 Biyoreaktör sisteminin genel görünümü



Şekil 8.2 Biyoreaktör ve kontrol modüllerinin şeması

- | | | |
|--------------------|--------------------------|-----------------------|
| A: Örnek alma kabı | E : Termistör | I :Termometre |
| B: Asit girişi | F : Isıtıcı | ▨ : Engeller |
| C : Baz girişi | G : Motor | ⊗ : Örnek alma vanası |
| D : pH elektrodu | H : Karıştırıcı kanatlar | |

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

Komponentler	Değerler
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 devir/dak

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.

- **pH kontrol modülü:**

pH: 0-14 pH

Doğruluk: \pm 0.1 pH

Elektrolit: AgCL ile doyurulmuş 4M KCL

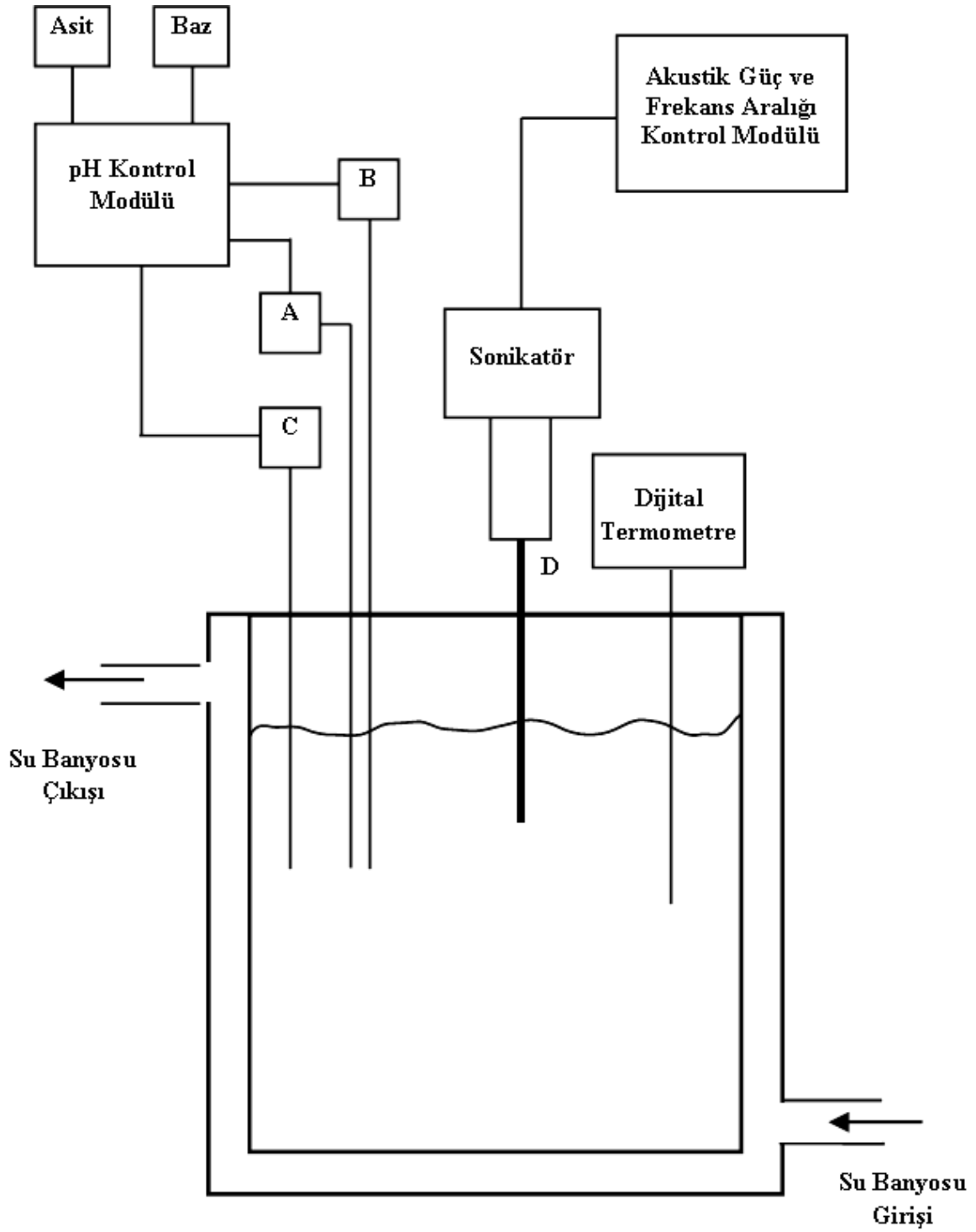
pH modülünün kalibrasyonu; pH=4, pH=7 ve pH=10 tampon çözeltileri kullanılarak yapılmıştır.

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. Hidroliz çözeltisinin 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 ışınli Spektrofotometre kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan deney düzeneğinin genel görünümü Şekil 8.3’te, şeması ise Şekil 8.4’te verilmiştir.



Şekil 8.3 Sonikatör sisteminin genel görünümü



A: Asit girişi

B: Baz girişi

C: pH elektrodu

D: Ultrasonik prob

Şekil 8.4 Sonikatör ve kontrol modüllerinin şeması

Deneyselerde 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, pH kontrol modülünün 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

- **pH kontrol modülü:**

pH : 0-14 pH

Doğruluk : ± 0.1 pH

Elektrolit : AgCl ile doyurulmuş 4 M KCl

pH modülünün kalibrasyonu, pH 4, pH 7 ve pH 10 tampon çözeltileri kullanılarak sağlanmıştır.

- **Su banyosu:**

Çift cidarlı cam reaktörün su banyosuna bağlanmasıyla sıcaklık kontrolü sağlanmıştır.

Sıcaklık aralığı : (-20) - 150°C

Doğruluk : ± 0.05 °C

Pompalama hızı : 7 veya 15 (L/dak)

Kapasite : 6 L

8.3 DeneYlerin Yapılışı

Biyoreaktörde gerçekleştirilen deneylerde 250 ml 25 mM fosfat tampon çözeltisine, istenilen karıştırıcı hızına ve sıcaklığa getirildikten sonra, 1 ml/L enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonlar 30 dakika sürmüştür. Reaksiyon süresince belirli zaman aralıklarında deney çözeltisinden örnekler alınarak, ortamda kalan laktoz miktarı ve % enzim aktivitesi tayini için hazırlanmıştır. Örneklerin analizleri 5'er kez tekrar edilmiş ve elde edilen değerlerin ortalamaları alınmıştır.

Sonikatörde gerçekleştirilen deneylerde 250 ml 25 mM fosfat tampon çözeltisine, istenilen akustik güce, % frekans aralığına ve sıcaklığa getirildikten sonra, 1 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 reaksiyon çözeltisinden 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.

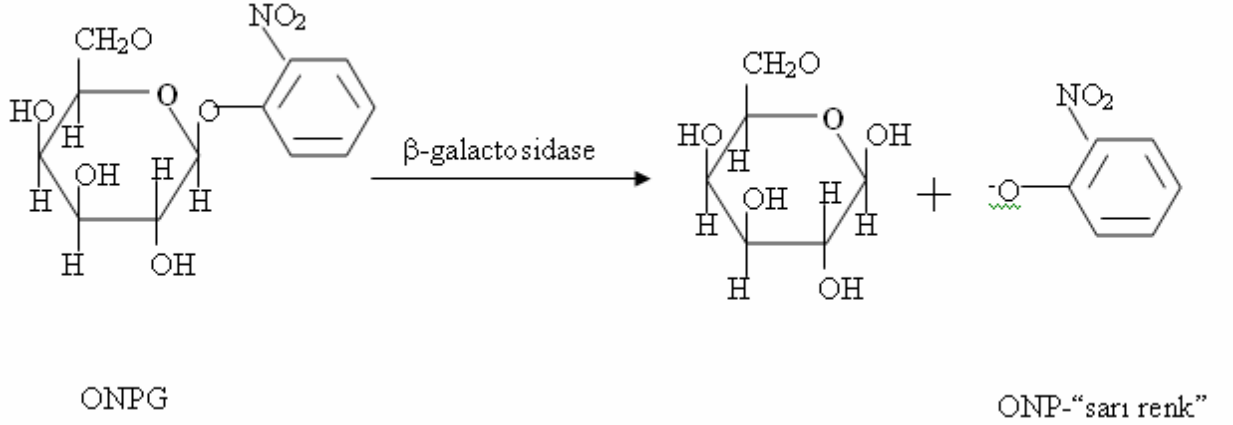
8.4 Analiz Yöntemleri

8.4.1.1 Laktoz konsantrasyonu tayini

Ortamda kalan laktoz miktarının tayini için, 30 dakikalık işlem süresi boyunca 5 dakika aralıklarla biyoreaktördeki ve sonikatördeki reaksiyon çözeltisinden 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 özeltisi 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 bekletilmıştir. Daha sonra, 500 nm dalga boyunda Shimadzu marka UV-150-02 ift işınlı spektrofotometrede, referans çözeltisine karşılık olarak, standart ve örnek çözeltilerinin absorbans değerleri okunmuştur. Okunan absorbans değerleri ortamdaki glikoza aittir. Glikoz miktarından yararlanılarak ortamda kalan laktoz miktarı hesaplanmıştır (Trinder, 1969).

8.4.1.2 % Enzim aktivite tayini

Ortamdaki % enzim aktivitesinin tayini için, 30 dakikalık işlem süresi boyunca belirli zaman aralıklarında biyoreaktördeki ve sonikatördeki reaksiyon çözeltisinden 0.1 ml numune alınmış ve üzerine 2 ml ONPG çözeltisi ilave edilerek β -galaktozidaz ile ONPG'nin hidrolizi sağlanmış ve 28°C'de 5 dakika bekletilmiştir. 5 dakika sonunda karışım üzerine 1 ml 1M Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Referans çözeltisi de, 0.1 ml enzim içermeyen reaksiyon çözeltisi numunesi üzerine 2 ml ONPG ve 1 ml 1M Na₂CO₃ 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 absorbans değerleri okunmuştur (Craven vd., 1965; [23]). Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak % enzim aktivite değerleri hesaplanmıştır. % Enzim aktivite değerleri biyoreaktör ve sonikatörde gerçekleştirilen deneylerde hem laktozlu hem de laktozsuz ortamlar için tayin edilmiştir. ONPG hidrolizasyonu şematik olarak Şekil 8.5'te verilmiştir.



Şekil 8.5 ONPG hidrolizi [24]

8.5 Hesaplamalar

8.5.1 Laktoz konsantrasyonunun hesaplanması

Laktoz konsantrasyonu tayinlerinde aşağıdaki bağıntılar kullanılmıştır;

$$[C_L] = [C_{L0}] - ([M_{LAKTOZ}] / [M_{GLIKOZ}]) * (C_G / C_{St}) \quad (8.1)$$

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

Burada;

$[C_{L0}]$: t=0 anındaki laktoz konsantrasyonu, g/L

$[C_L]$: İşlem sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu, g/L

$[M_{LAKTOZ}]$: Laktozun molekül ağırlığı, 342.32 g/mol

$[M_{GLIKOZ}]$: Glikozun molekül ağırlığı, 180.17 g/mol

C_G : İşlem sonunda oluşan glikozun absorbans değeri

C_{St} : 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

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

Burada;

$[A_0]$: t=0 anındaki ONP'nin absorbans değeri

$[A_1]$: İşlem sonundaki ONP'nin absorbans değeri

[A] : % Enzim aktivitesi

olarak tanımlanmıştır.

8.6 İstatistiksel Hesaplamalar

İstatistiksel verilerin hesaplanması için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır. Bu program yardımı ile deneysel ve teorik değerler arasındaki sapma, en küçük kareler metodu kullanılarak hesaplanmıştır. İstatistiksel değerler Denklem 8.4-8.5'te sunulmuştur.

$$SSR = \sum_{m=1}^{N_d} (C_m^{obs} - C_m^{cal})^2 \quad (8.4)$$

$$\delta^2 \approx s^2 = \frac{(SSR)_{min}}{(m-p)} \quad (8.5)$$

Denklem 8.4 ve 8.5'te;

m: gözlem sayısı

N_d : toplam deney sayısı

p: parametre sayısı ve

δ : Standart sapma

olarak tanımlanmıştır.

9. ARAŞTIRMA BULGULARI

9.1 Biyoreaktörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

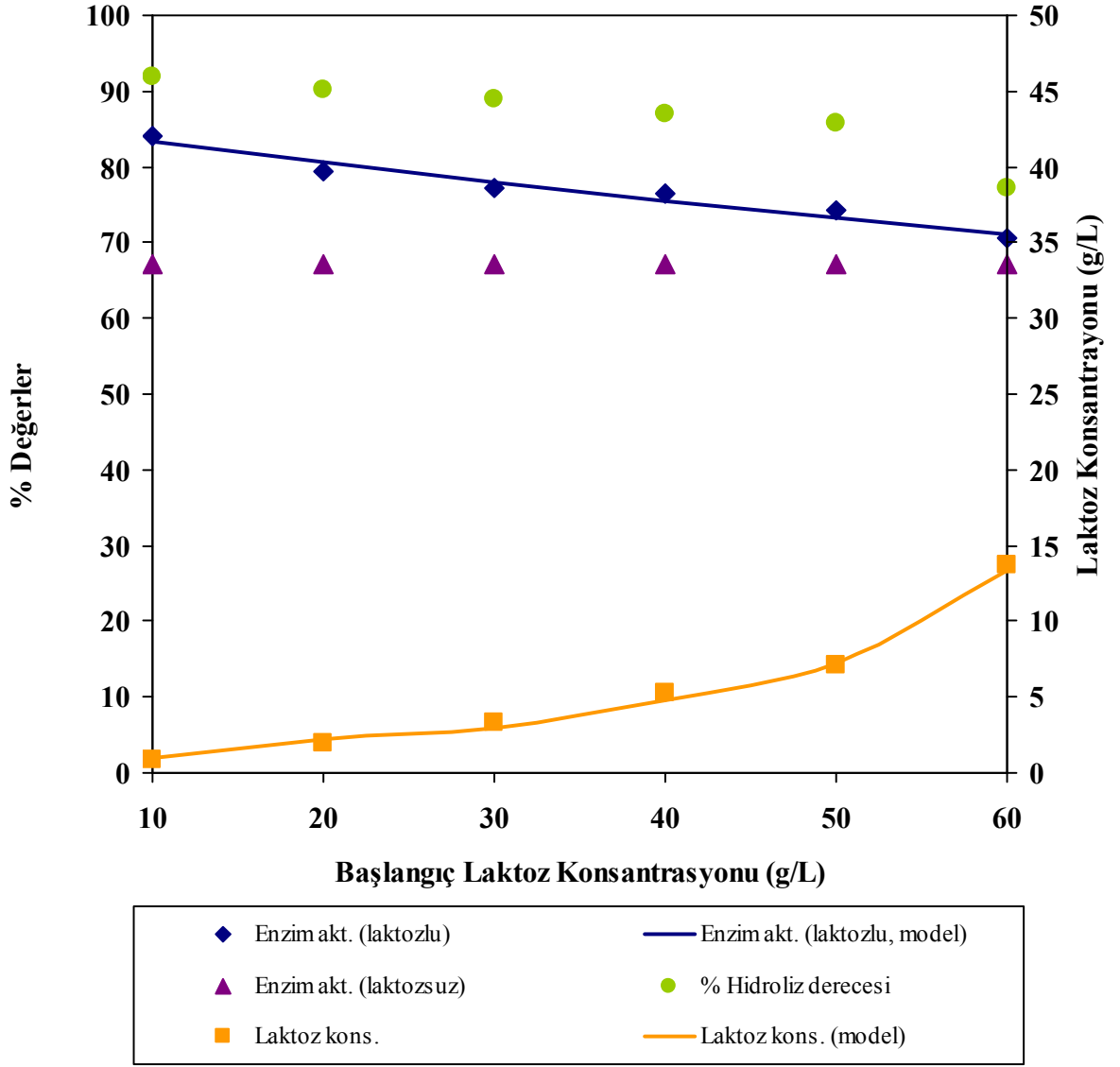
9.1.1 Başlangıç laktoz konsantrasyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Başlangıç laktoz konsantrasyonunun hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisi incelenmiştir. 250 ml 25 mM fosfat tampon çözeltisinde, 37°C sıcaklıkta, pH 6.5 ve 300 devir/dak karıştırıcı hızında, 3 ml/L enzim ilavesi ile 10-60 g/L arasındaki başlangıç laktoz konsantrasyonları 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki 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 Başlangıç laktoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak, Enzim kons.=3 ml/L)

Başlangıç Laktoz Kons. (g/L)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
10	92.00	84.06	67.12	0.80
20	90.20	79.51	67.12	1.96
30	89.03	77.16	67.12	3.29
40	86.95	76.57	67.12	5.22
50	85.78	74.43	67.12	7.11
60	77.13	70.51	67.12	13.72

Çizelge 9.1 ve Şekil 9.1’de görüldüğü gibi başlangıç laktoz konsantrasyonu arttıkça % enzim aktivitesi ve hidroliz derecesinin azaldığı gözlenmektedir. 10 g/L konsantrasyondaki hidroliz derecesi yaklaşık %92 iken 60 g/L konsantrasyonda hidroliz derecesi yaklaşık %77’e düşmektedir. Aynı zamanda, belirtilen konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %84’ten %70’e (yaklaşık %17) azalmıştır. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş enzimin yapısal bozunmaya uğradığına bağlanmaktadır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum başlangıç laktoz konsantrasyonu 50 g/L olarak belirlenmiştir.



Şekil 9.1 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun başlangıç laktoz konsantrasyonu ile değişimi (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L)

β -Galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, deneyler aynı koşullarda laktozsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesi yaklaşık olarak %67 bulunmuştur.

Başlangıç laktoz konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.2'de verilmiştir.

Çizelge 9.2 Başlangıç laktoz konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (T=37°C, pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 3 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standard sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [C_{L0}] + c [C_{L0}]^2 + d [C_{L0}]^3$	a = -3.06 b = 0.5164 c = -0.0166 d = 0.0002	0.7023	0.9958
$[A] = a_A + b_A [C_{L0}] + c_A [C_{L0}]^2$ (laktozlu)	a _A = 79.563 b _A = 0.0131 c _A = -0.0034	1.1059	0.9807

*Katsayılarla ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b, a_A: birimsiz; c, b_A: (g laktoz.L⁻¹)⁻¹; d, c_A: (g laktoz.L⁻¹)⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı başlangıç konsantrasyonunda zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 1, Çizelge E1.1’de verilmiş ve Şekil 9.2’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm başlangıç laktoz konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1).

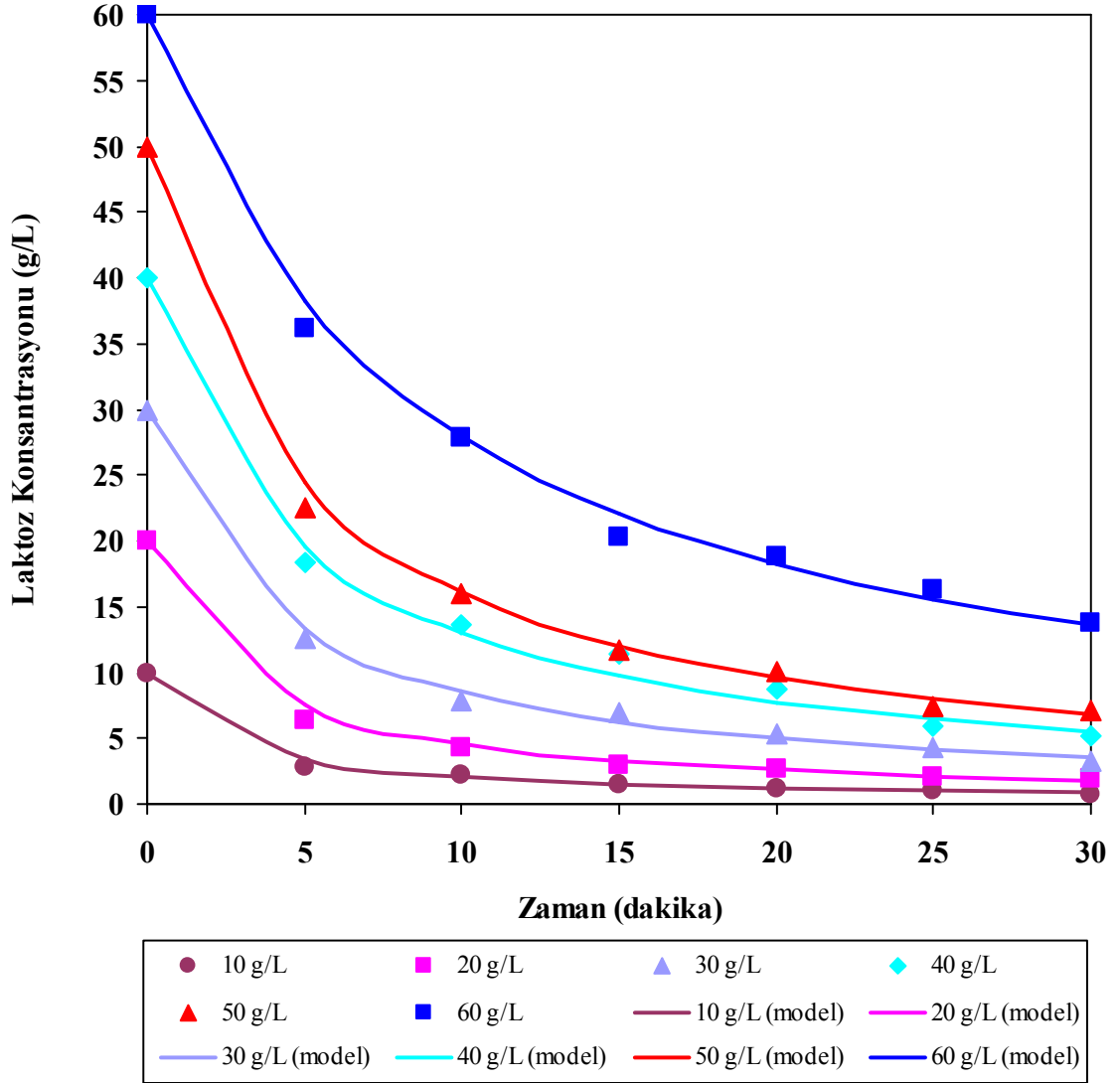
$$\frac{1}{C_L} = \frac{1}{C_{L0}} + k.t \quad (9.1)$$

Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.3’te verilmiştir.

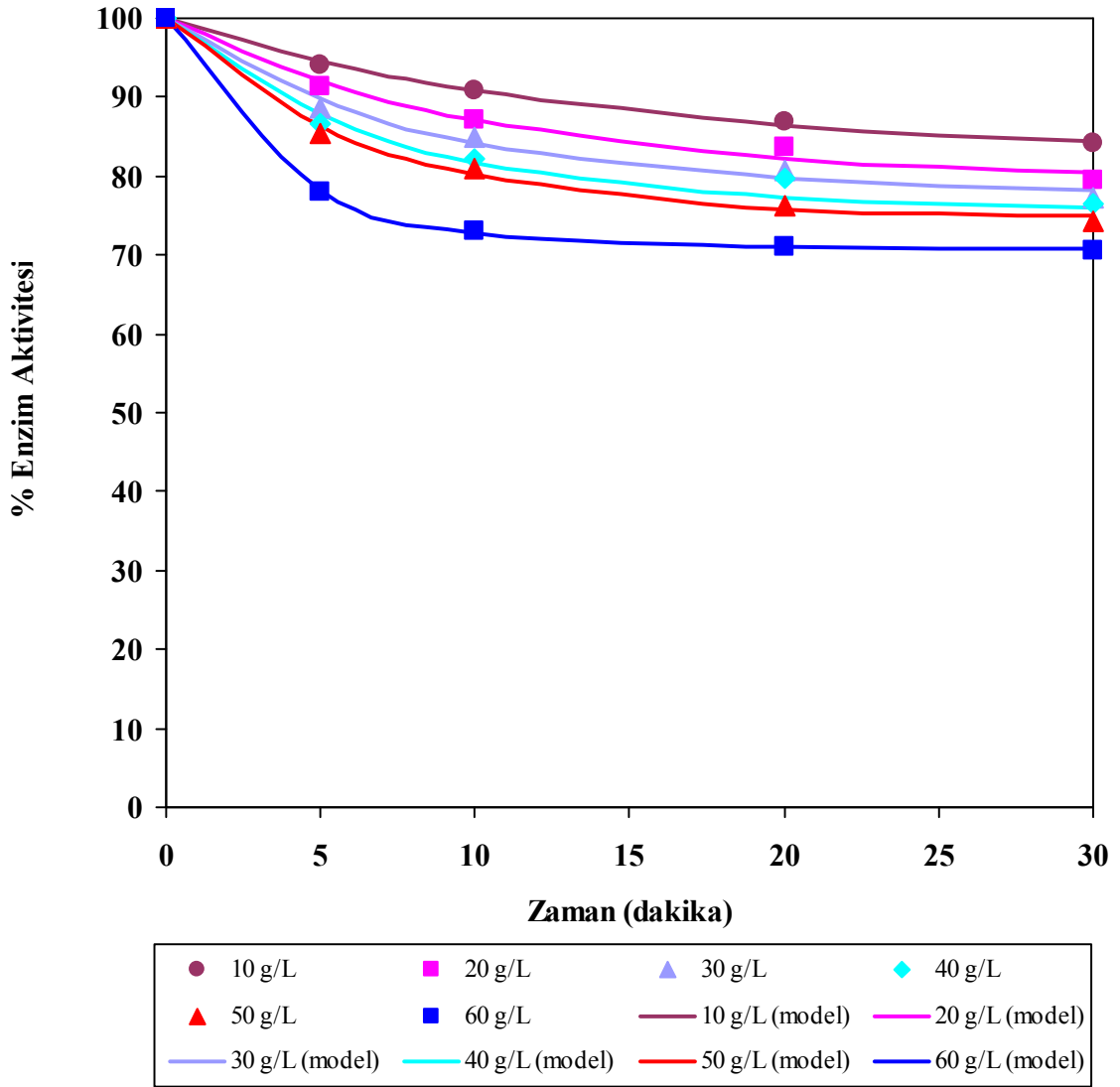
Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı başlangıç laktoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 1, Çizelge E1.2’de verilmiş ve Şekil 9.3’te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm başlangıç laktoz konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür. (Denklem 9.2).

$$A = (100 - \alpha_1) \exp(-k_D t) + \alpha_1 \quad (9.2)$$

Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.3'te verilmiştir.

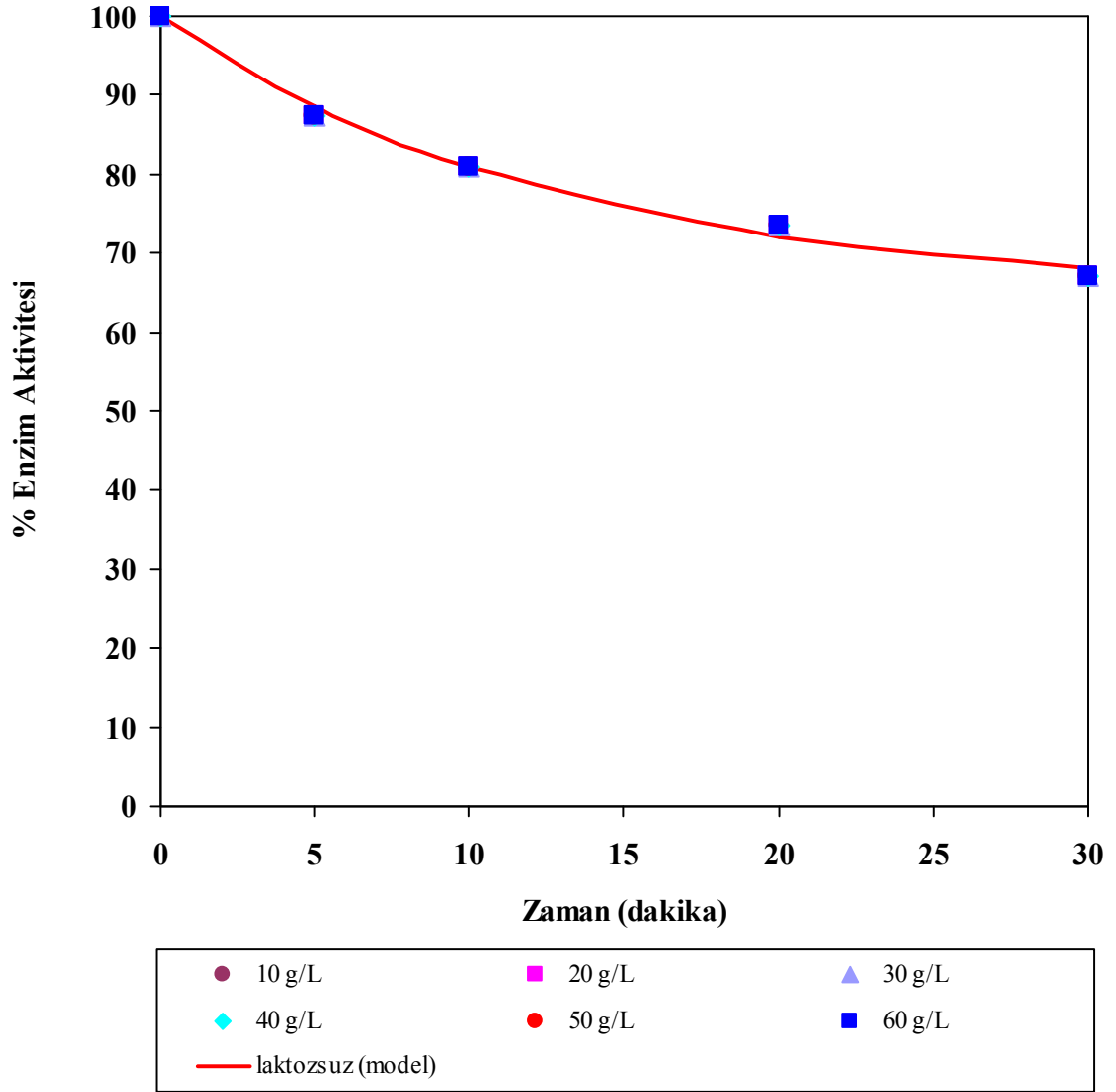


Şekil 9.2 Farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L)



Şekil 9.3 Laktozlu ortamda farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 1, Çizelge E1.3'de verilmiş ve Şekil 9.4'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür. (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.3'te verilmiştir.



Şekil 9.4 Laktozsuz ortamda farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=3 ml/L)

Çizelge 9.3 Farklı başlangıç laktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (T=37°C, pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 3 ml/L)

[C _{L0}]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α ₁	k _{D1}	δ	R ²	α ₁	k _{D2}	δ	R ²
10	0.0375	0.0401	0.9948	82.51	0.0746	0.4487	0.9980	66.17	0.0839	1.0319	0.9974
20	0.0167	0.0289	0.9854	79.21	0.0957	1.0236	0.9936	66.17	0.0839	1.0319	0.9974
30	0.0084	0.0149	0.9862	77.63	0.1218	1.2361	0.9925	66.17	0.0839	1.0319	0.9974
40	0.0052	0.0112	0.9826	75.59	0.1379	0.7239	0.9972	66.17	0.0839	1.0319	0.9974
50	0.0042	0.0059	0.9914	74.64	0.1535	0.8797	0.9972	66.17	0.0839	1.0319	0.9974
60	0.0019	0.0031	0.9867	70.83	0.2771	0.2708	0.9998	66.17	0.0839	1.0319	0.9974

*Katsayılar ait birimler; *k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α₁: birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

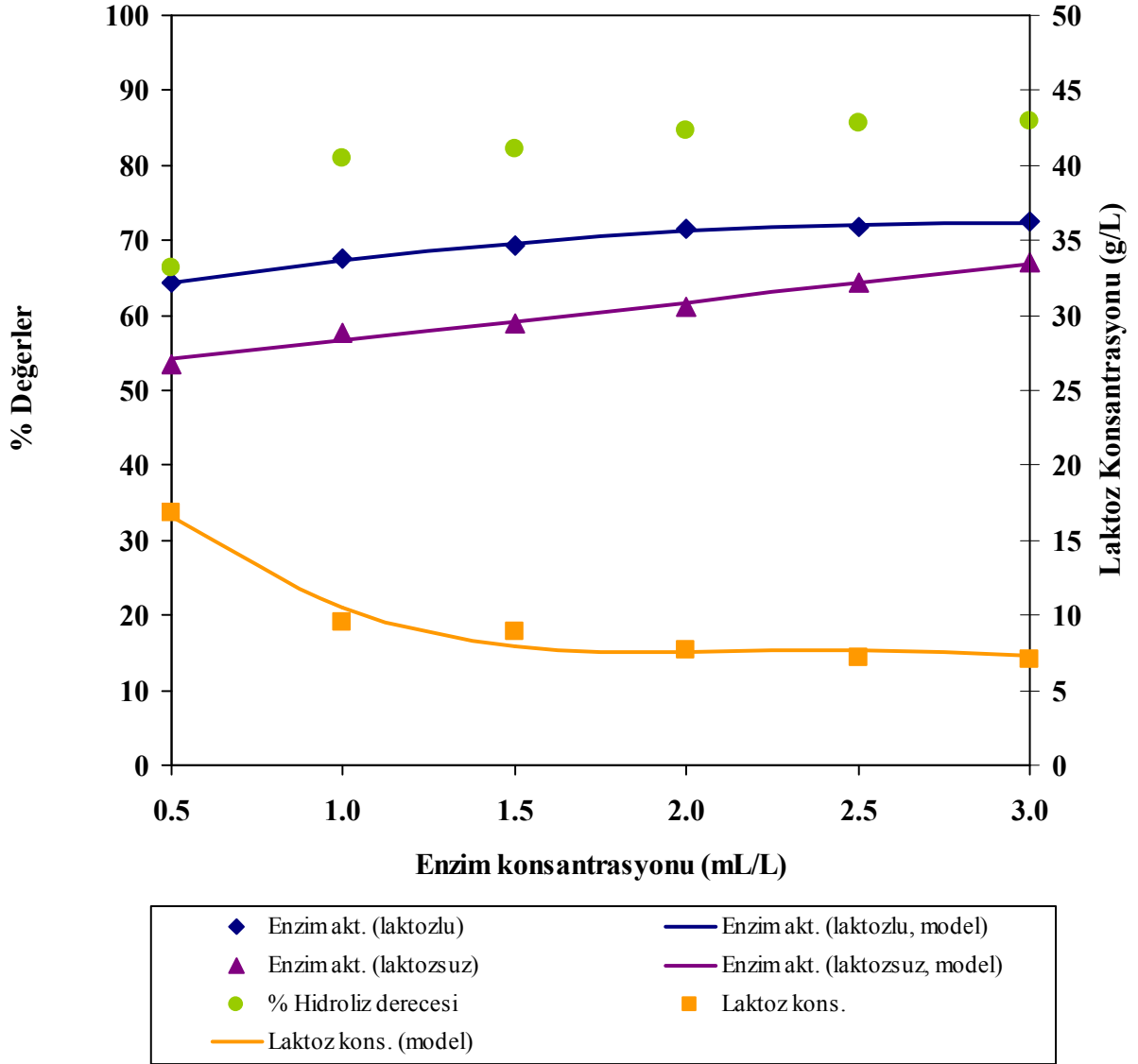
9.1.2 Enzim konsantrasyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Enzim konsantrasyonunun hidroliz işlemine ve reaksiyon sonunda enzim aktivitesine etkisini incelemek için % 5 laktoz (ağırlık/hacim) içeren 250 ml reaksiyon çözeltisine (25 mM fosfat tampon çözeltisi), pH 6.5 ve 37°C sıcaklıkta, 300 devir/dak karıştırıcı hızı ile 0.5-3 ml/L konsantrasyonları arasında enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki 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 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T= 37°C, N=300 devir/dak)

Enzim Kons. (ml/L)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0.5	66.31	64.29	53.55	16.85
1.0	80.96	67.56	57.67	9.52
1.5	82.25	69.19	59.01	8.88
2.0	84.74	71.38	61.03	7.63
2.5	85.72	72.78	64.27	7.14
3.0	85.78	74.30	67.12	7.11

Çizelge 9.4 ve Şekil 9.5'te görüldüğü gibi enzim konsantrasyonu artışıyla hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %66 iken, 1 ml/L enzim konsantrasyonunda yaklaşık %81 olmuş ve 3 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %86 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyonu aralığı boyunca enzim aktivitesi %64'ten %74'e (yaklaşık %16) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1 ml/L olarak belirlenmiştir.



Şekil 9.5 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak)

β -Galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, enzim konsantrasyon deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi enzim konsantrasyonu ile arttığı Şekil 9.5'te görülmektedir. Laktozlu ortamdaki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, laktoz partiküllerinin enzimi aktive etmesinden kaynaklanmaktadır.

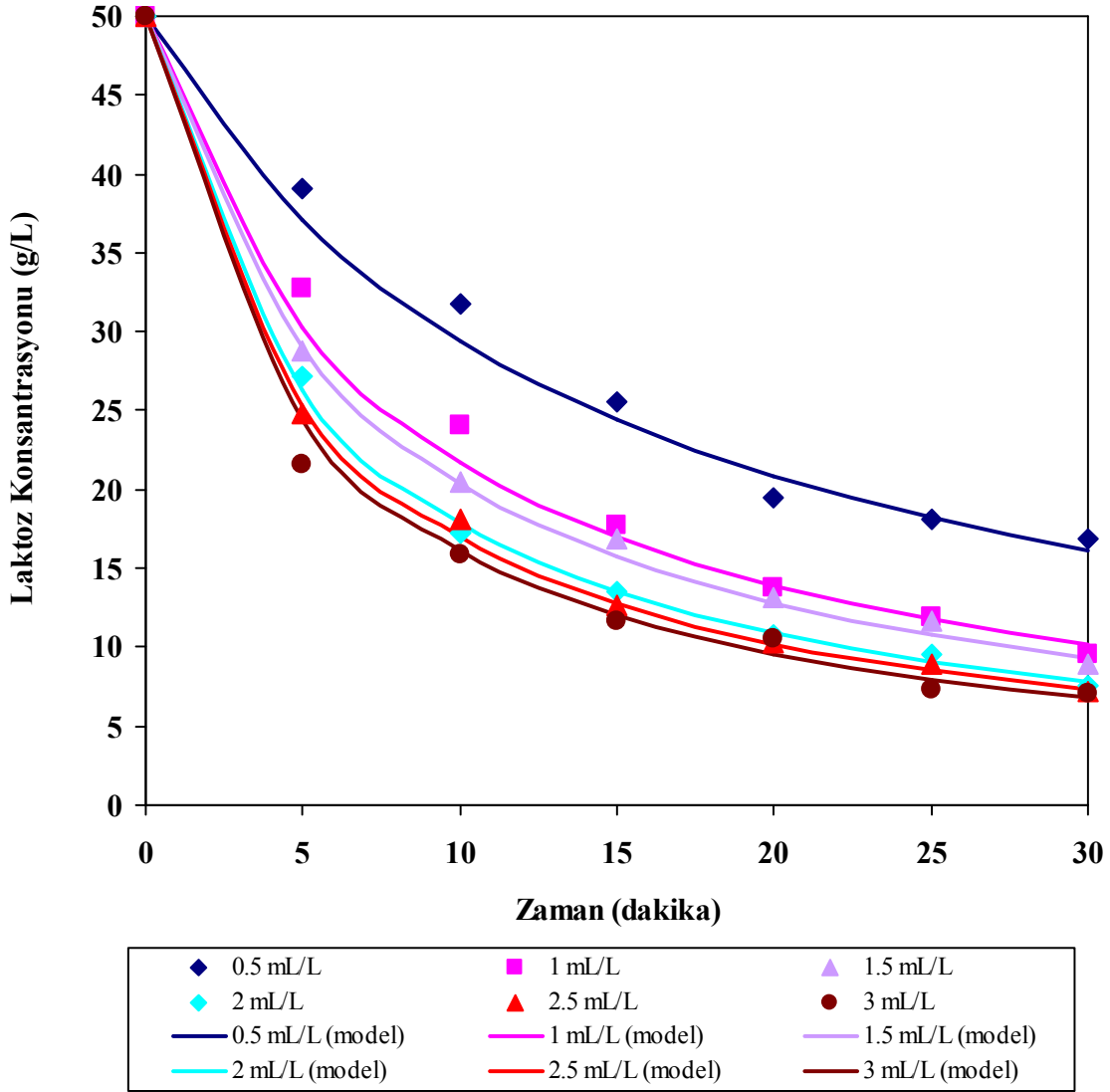
Enzim konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.5'te verilmiştir.

Çizelge 9.5 Enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [E] + c [E]^2 + d [E]^3$	a = 27.7233 b = -28.4108 c = 13.1656 d = -2.0029	1.0427	0.9842
$[A] = a_A + b_A [E] + c_A [E]^2$ (laktozlu)	a _A = 60.76 b _A = 7.8907 c _A = -1.3443	0.4046	0.9949
$[A] = a_A + b_A [E] + c_A [E]^2$ (laktozsuz)	a _A = 51.683 b _A = 4.8115 c _A = 0.0893	0.8049	0.9916

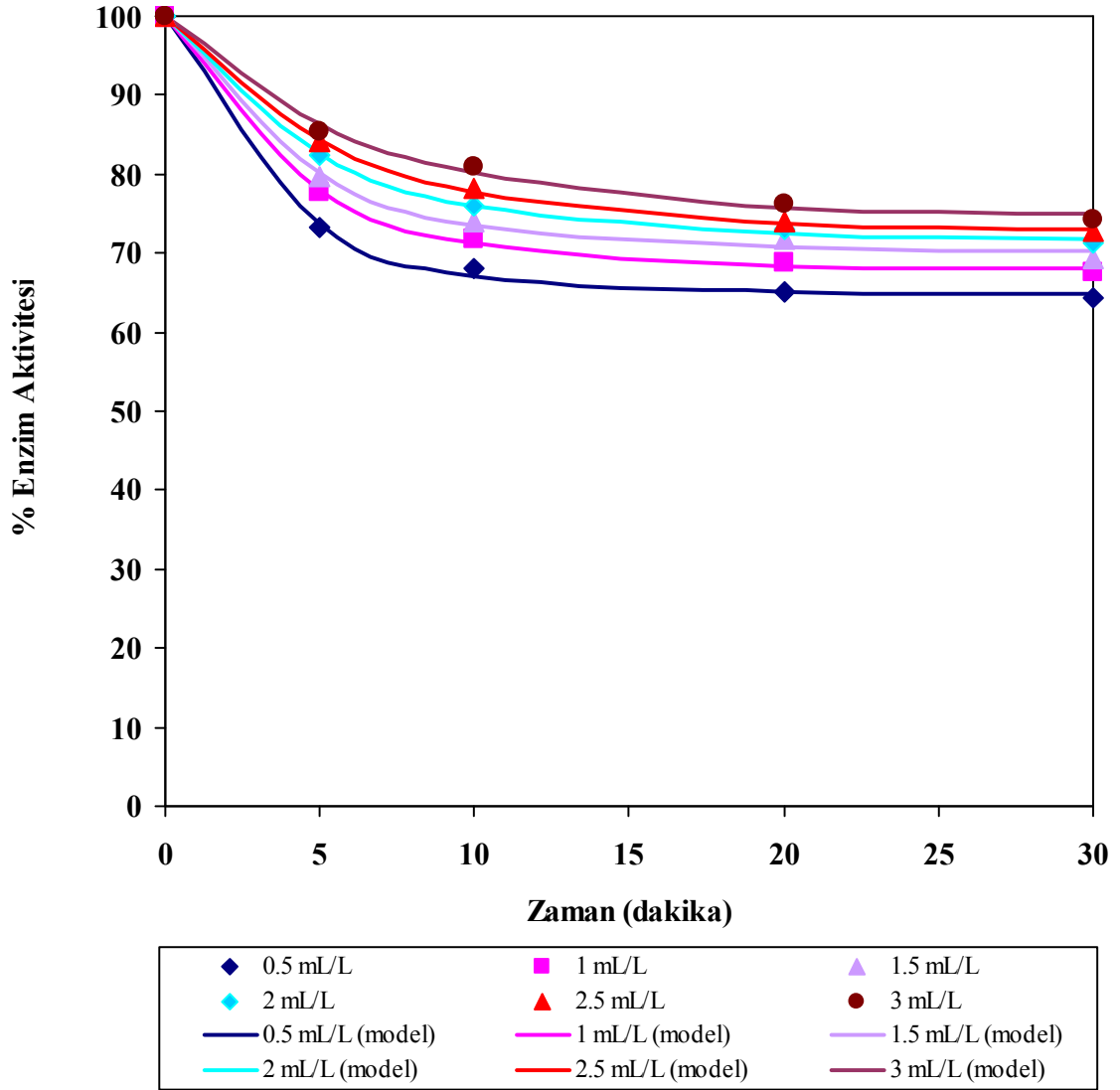
*Katsayılara ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.ml⁻¹; c: g laktoz.L.ml⁻²; d: g laktoz.L².ml⁻³; a_A: birimsiz; b_A: (ml enzim.L⁻¹)⁻¹, c_A, (ml enzim.L⁻¹)⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek2, Çizelge E2.1’de verilmiş ve Şekil 9.6’da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm enzim konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.6’da verilmiştir.



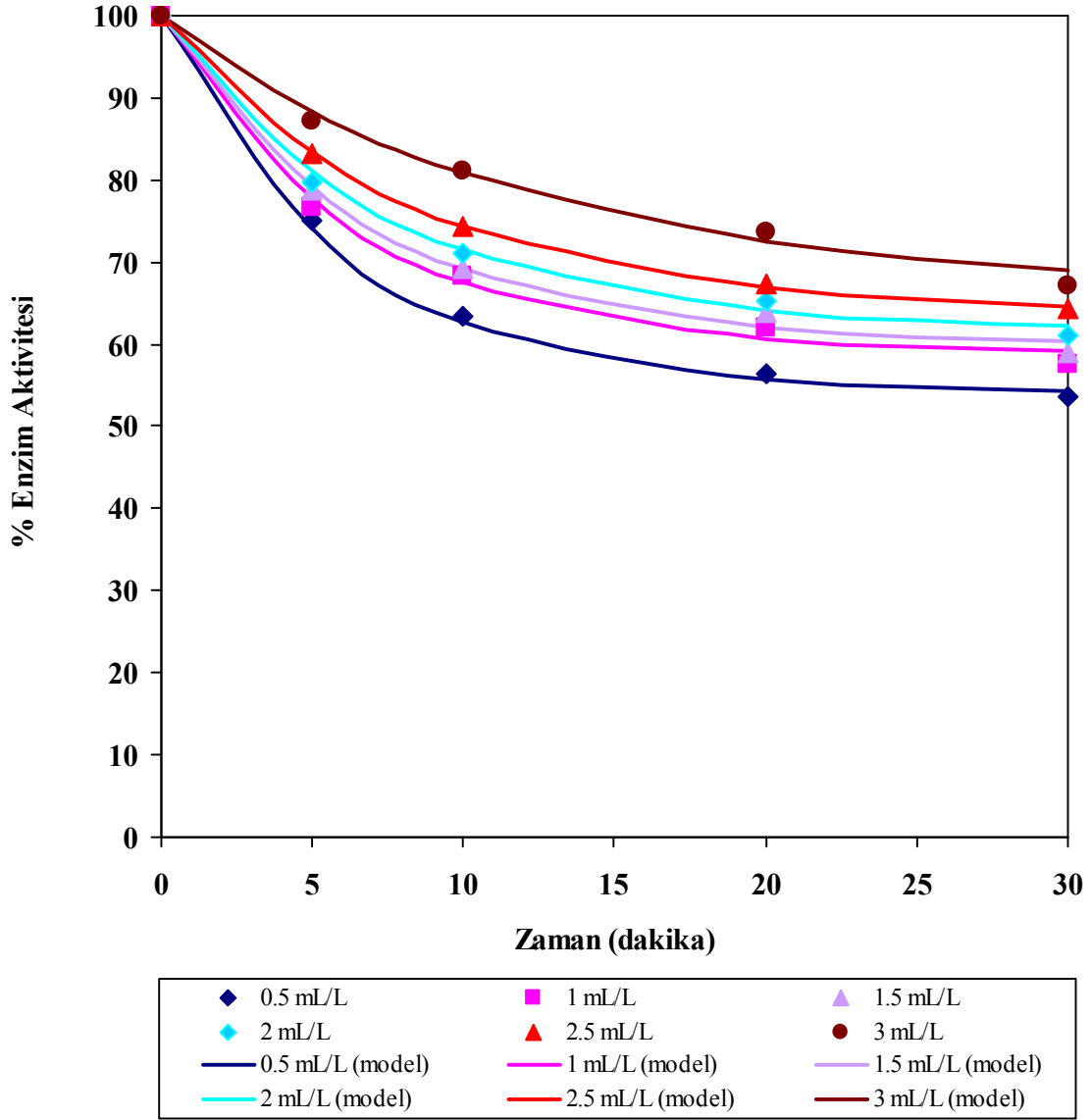
Şekil 9.6 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 2, Çizelge E2.2’de verilmiş ve Şekil 9.7’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm enzim konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür. (Denklem 9.2). Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.6’da verilmiştir.



Şekil 9.7 Laktozlu ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH=6.5, T=37°C, N=300 devir/dak)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 2, Çizelge E2.3'te verilmiş ve Şekil 9.8'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm enzim konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür. (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.6'da verilmiştir.



Şekil 9.8 Laktozsuz ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)

Çizelge 9.6 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)

[E]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
0.5	0.0014	0.0021	0.9902	64.89	0.2761	0.6883	0.9992	57.06	0.1666	0.7957	0.9992
1.0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
1.5	0.0029	0.0040	0.9921	70.33	0.2198	0.9916	0.9976	59.87	0.1454	1.3281	0.9975
2.0	0.0036	0.0026	0.9977	71.80	0.1925	0.4609	0.9994	61.37	0.1364	0.9994	0.9984
2.5	0.0039	0.0028	0.9978	72.92	0.1714	0.3526	0.9996	63.67	0.1214	0.3661	0.9998
3.0	0.0042	0.0059	0.9914	74.64	0.1535	0.8798	0.9972	66.17	0.0839	1.0319	0.9974

*Katsayılar ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

9.1.3 Sıcaklığın hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

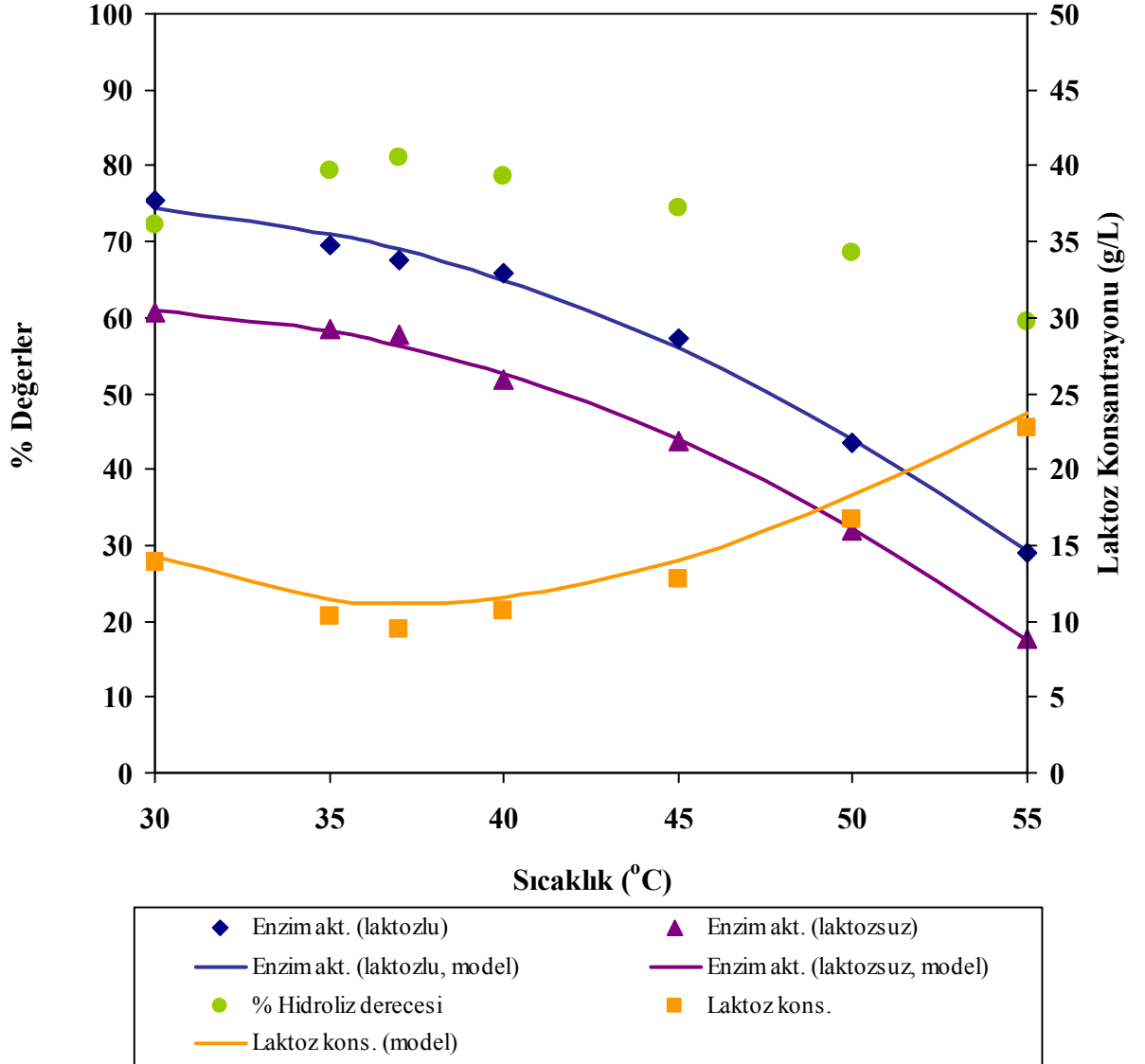
Enzimatik reaksiyonlarda sıcaklık artışının reaksiyon hızını arttırdığı ancak enzimlerde yapısal bozunmalara neden olduğu bilinmektedir. Laktozlu ve laktozsuz ortamda sıcaklık artışının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren 250 ml reaksiyon çözeltisi, pH 6.5 ve 300 devir/dak karıştırıcı hızında, 1 ml/L enzim ilavesi ile 30-55°C arasındaki sıcaklıklar için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki 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 Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Sıcaklık (°C)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
30	72.32	75.41	62.61	13.84
35	79.40	69.44	58.49	10.30
37	80.96	67.56	57.67	9.52
40	78.68	65.96	51.72	10.66
45	74.52	63.37	47.14	12.74
50	66.52	43.37	31.95	16.74
55	54.44	9.11	7.80	22.78

Çizelge 9.7 ve Şekil 9.9’da görüldüğü gibi 37°C’ye kadar sıcaklık artışıyla hidroliz derecesi artarken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 30°C’deki hidroliz derecesi yaklaşık %72 iken sıcaklık ile artarak 37°C’de yaklaşık %81 olmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 55°C’de hidroliz derecesi yaklaşık %54’e kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen sıcaklık aralığı boyunca enzim aktivitesi %75’ten %9’e (yaklaşık %88) azalmıştır. Kullanılan enzim 30°C için yaklaşık %25, 37°C için %32 ve 55°C için %91 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.

β -Galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, sıcaklık deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi sıcaklık ile azaldığı Şekil 9.9'da görülmektedir. Laktozlu ortamdaki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, laktoz partiküllerinin enzimi aktive etmesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 9.9 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun sıcaklık ile değişimi (pH=6.5, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=1ml/L)

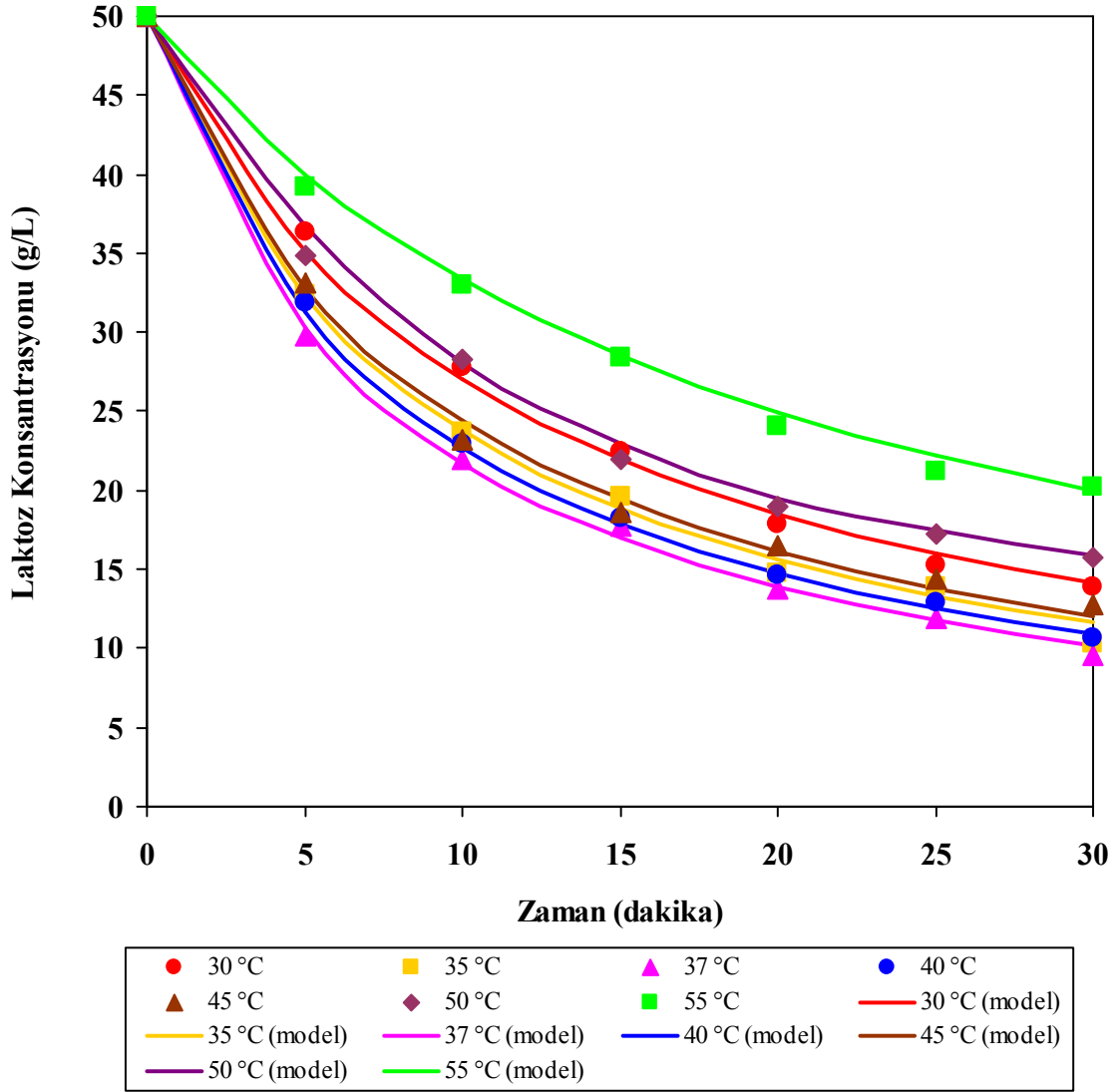
Sıcaklığın ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.8'de verilmiştir.

Çizelge 9.8 Sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [T] + c [T]^2 + d [T]^3$	a = 126.5679 b = -7.3107 c = 0.1429 d = -0.0008	0.7721	0.9889
$[A] = a_A + b_A [T] + c_A [T]^2$ (laktozlu)	a _A = 34.2965 b _A = 3.0451 c _A = -0.0570	1.5147	0.9972
$[A] = a_A + b_A [T] + c_A [T]^2$ (laktozsuz)	a _A = 14.3874 b _A = 3.3513 c _A = -0.0599	0.8334	0.9991

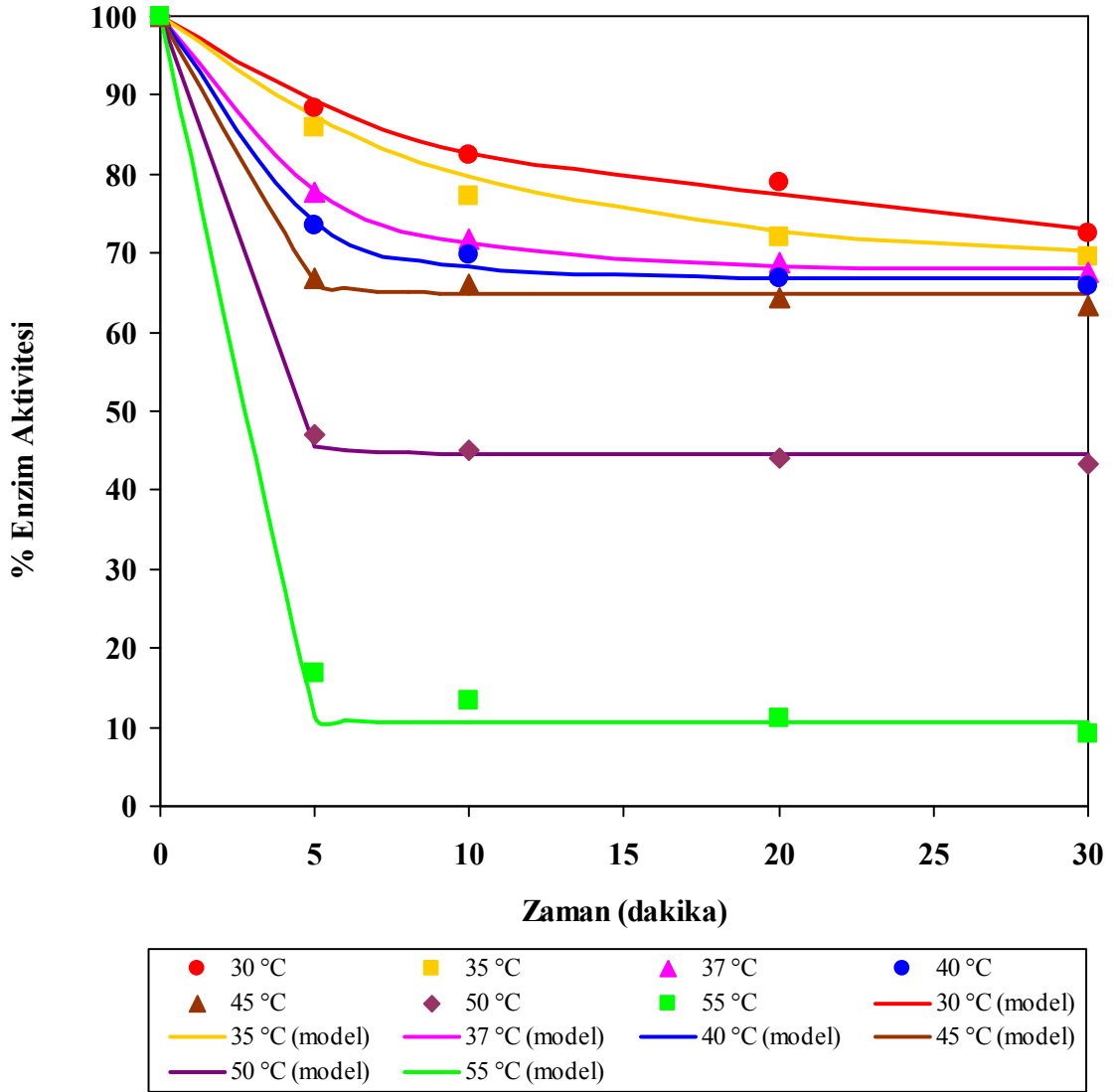
*Katsayılar a ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.°C⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹.°C⁻²; d: g laktoz.L⁻¹.°C⁻³; a_A: birimsiz; b_A: °C⁻¹; c_A: °C⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı sıcaklıklarda zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.1’de verilmiş ve Şekil 9.10’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm sıcaklık değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.9’te verilmiştir.



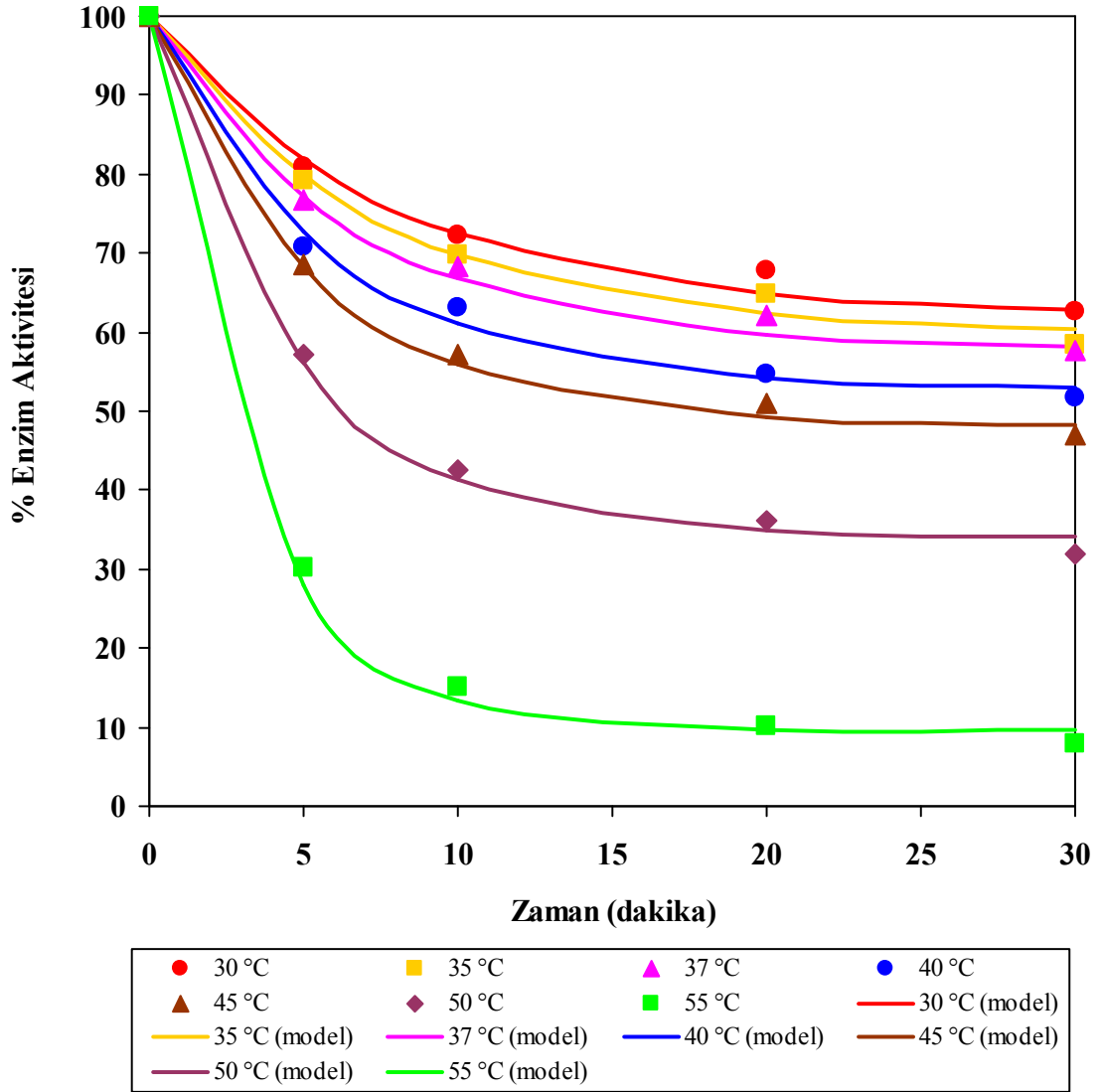
Şekil 9.10 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı sıcaklıklarda zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.2’de verilmiş ve Şekil 9.11’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm sıcaklık değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.9’da verilmiştir.



Şekil 9.11 Laktozlu ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı sıcaklıklarda zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.3'te verilmiş ve Şekil 9.12'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm sıcaklık değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.9'da verilmiştir.



Şekil 9.12 Laktozsuz ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.9 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

T	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
30	0.0017	0.0029	0.9895	72.63	0.0597	1.8025	0.9888	62.01	0.1291	2.2189	0.9919
35	0.0022	0.0051	0.9835	68.95	0.1050	0.5189	0.9993	59.82	0.1387	1.9313	0.9946
37	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
40	0.0024	0.0017	0.9978	66.78	0.3041	0.9537	0.9983	52.69	0.1723	1.7935	0.9968
45	0.0021	0.0049	0.9675	64.74	0.6201	0.9940	0.9979	48.16	0.1899	2.3119	0.9955
50	0.0017	0.0033	0.9790	44.62	0.7983	1.0070	0.9992	34.06	0.2188	3.2324	0.9944
55	0.0010	0.0020	0.9803	10.65	0.9825	1.1651	0.9996	9.53	0.3172	1.8256	0.9991

*Katsayılar ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

9.1.4 pH'nin hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Literatürde, pH değişiminin protein yapısını modifiye ettiği, enzimatik reaksiyonlarda enzim-substrat bağlanmasını, dolayısıyla reaksiyonun katalizlenmesini, aynı zamanda enzim stabilitesini etkilediği belirtilmiştir (Chitnis ve Sadana, 1998).

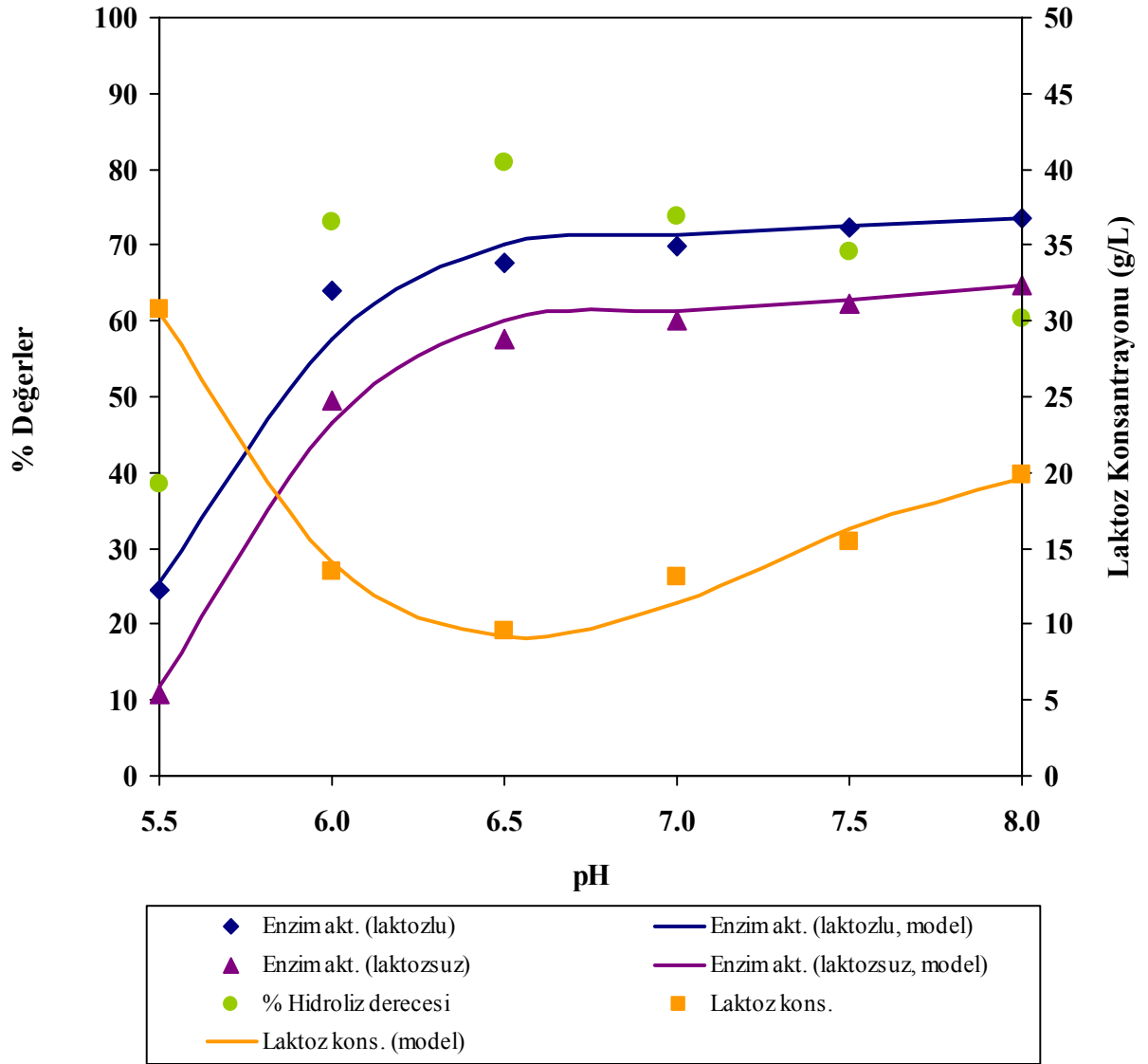
Asidik ve bazik ortamın hidroliz reaksiyonuna etkisini incelemek için, %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren 250 ml reaksiyon çözeltisi; 37°C sıcaklık ve 300 devir/dak karıştırıcı hızında, 1 ml enzim ilavesiyle pH 5.5-8.0 arasında 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ile reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.10'da verilmiş ve Şekil 9.13'te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.10 pH değerlerine karşılık elde edilen deneysel veriler (T= 37°C, N=300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

pH	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
5.5	38.48	24.54	10.87	30.76
6.0	73.14	63.87	49.54	13.43
6.5	80.96	67.56	57.67	9.52
7.0	73.76	69.78	59.93	13.12
7.5	69.24	72.31	62.26	15.38
8.0	60.24	73.51	64.73	19.88

Çizelge 9.10 ve Şekil 9.13'te görüldüğü gibi pH 6.5'e kadar pH artışıyla hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. pH 5.5'te hidroliz derecesi yaklaşık %38 iken pH ile artarak pH 6.5'te yaklaşık %81 olmuştur. Artan pH değerlerinde ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve pH 8.0'da hidroliz derecesi yaklaşık %60'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen pH aralığı boyunca enzim aktivitesi %25'den %74'e (yaklaşık 1.7 kat) artmıştır. Ancak, pH 6.5 değerinden sonra aktivitedeki artış daha azdır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum pH 6.5 olarak belirlenmiştir.

β -Galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, pH deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi pH ile azaldığı Şekil 9.13'te görülmektedir. Laktozlu ortamdaki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, laktoz partiküllerinin enzimi aktive etmesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 9.13 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun pH ile değişimi (T= 37°C, N=300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

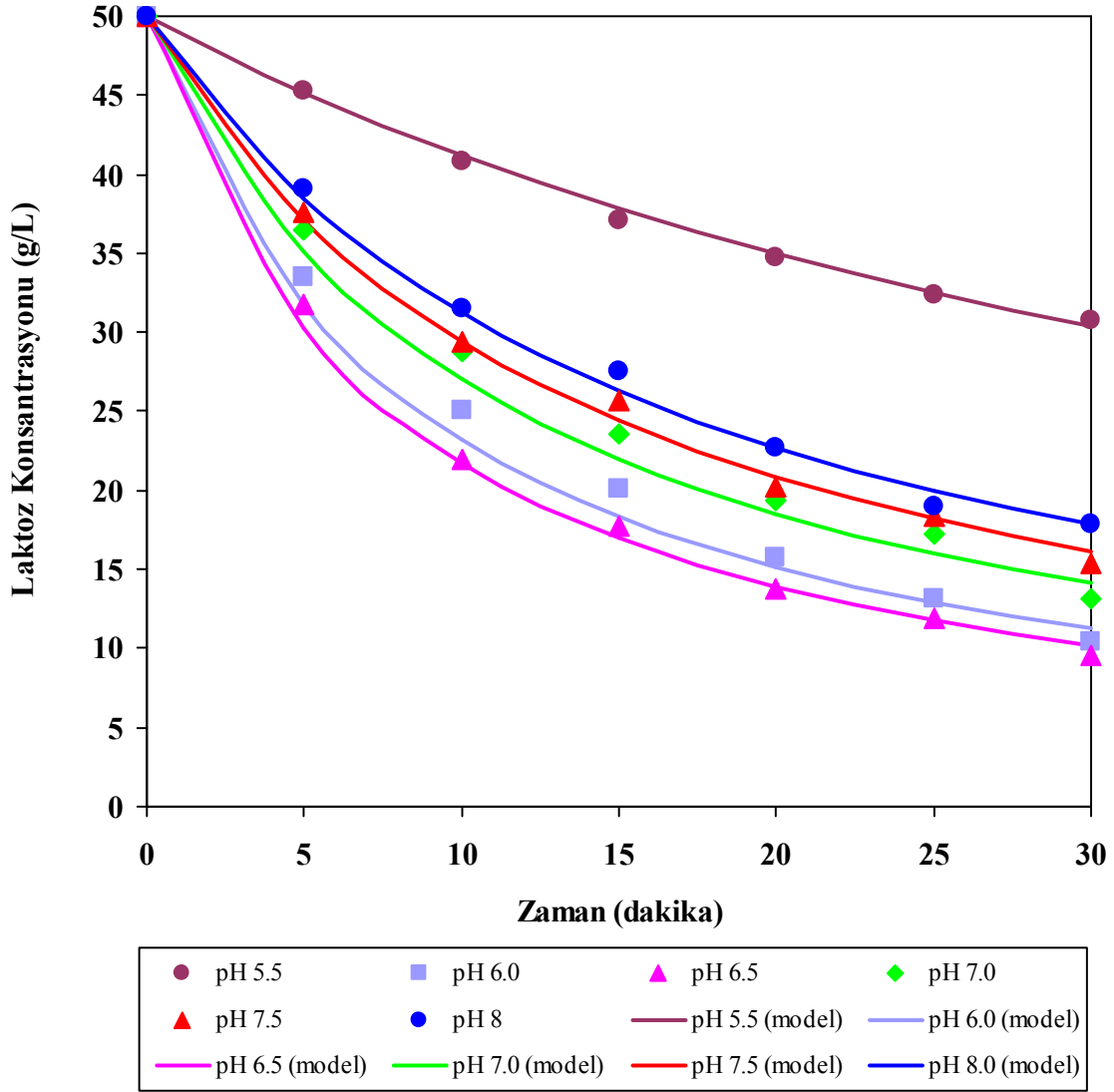
pH'ın ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.11'de verilmiştir.

Çizelge 9.11 pH değerlerine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (T=37°C, N=300 devir/dak, Enzim Kons.=1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [pH] + c [pH]^2 + d [pH]^3$	a = 2213.6236 b = -922.5029 c = 127.52 d = -5.8111	1.0291	0.9964
$[A] = a_A + b_A [pH] + c_A [pH]^2 + d_A [pH]^3$ (laktozlu)	a _A = -4013.3229 b _A = 1716.9245 c _A = -240.01 d _A = 11.1563	3.7754	0.9916
$[A] = a_A + b_A [pH] + c_A [pH]^2 + d_A [pH]^3$ (laktozsuz)	a _A = -4418.58 b _A = 1886.574 c _A = -264.2729 d _A = 12.3126	3.4615	0.9941

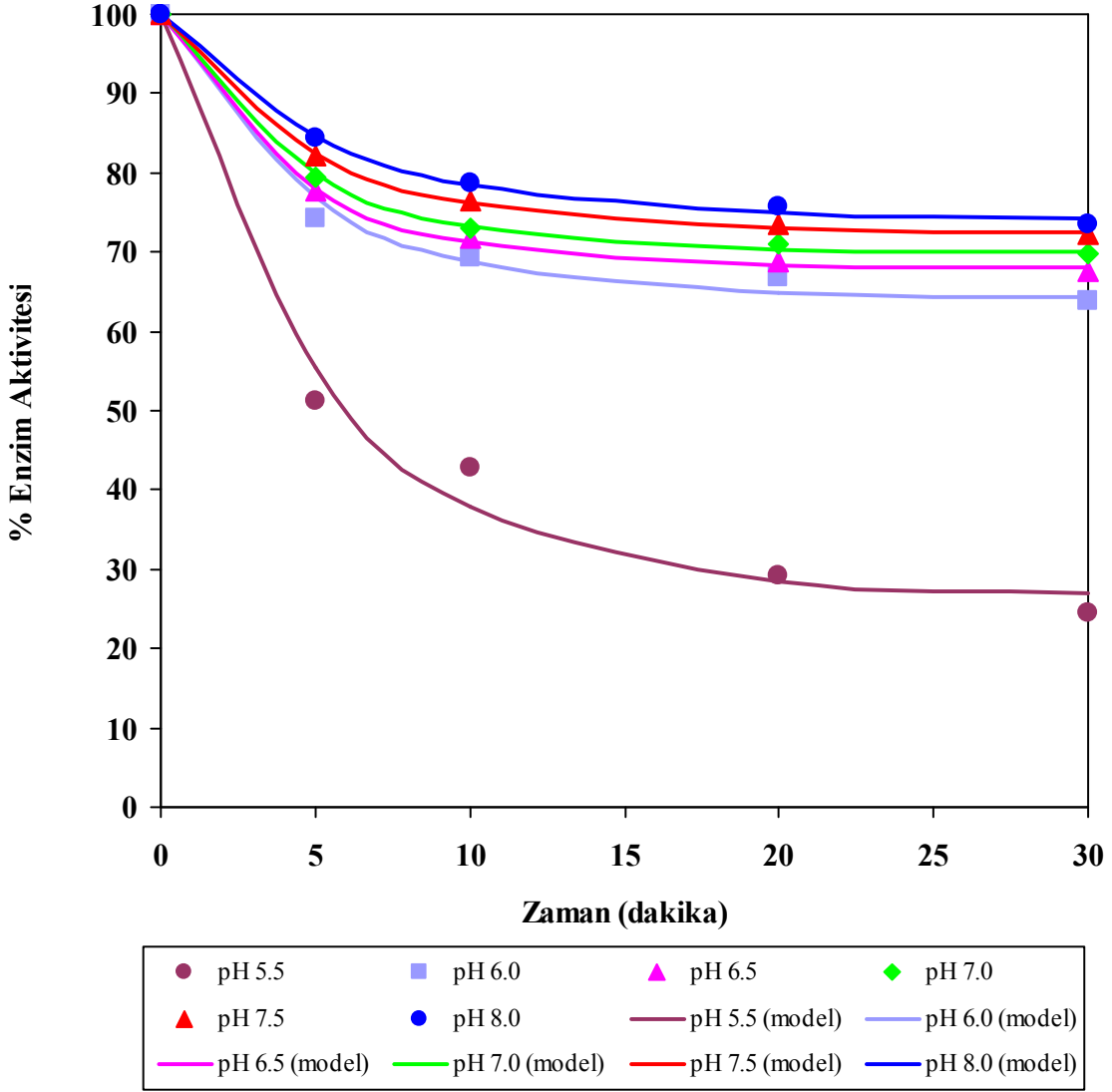
* Katsayılarla ait birimler; a, b, c, d: g laktoz.L⁻¹; a_A, b_A, c_A, d_A: birimsiz

Laktoz konsantrasyonunun farklı pH değerlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.1'de verilmiş ve Şekil 9.14'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm pH değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.12'de verilmiştir.



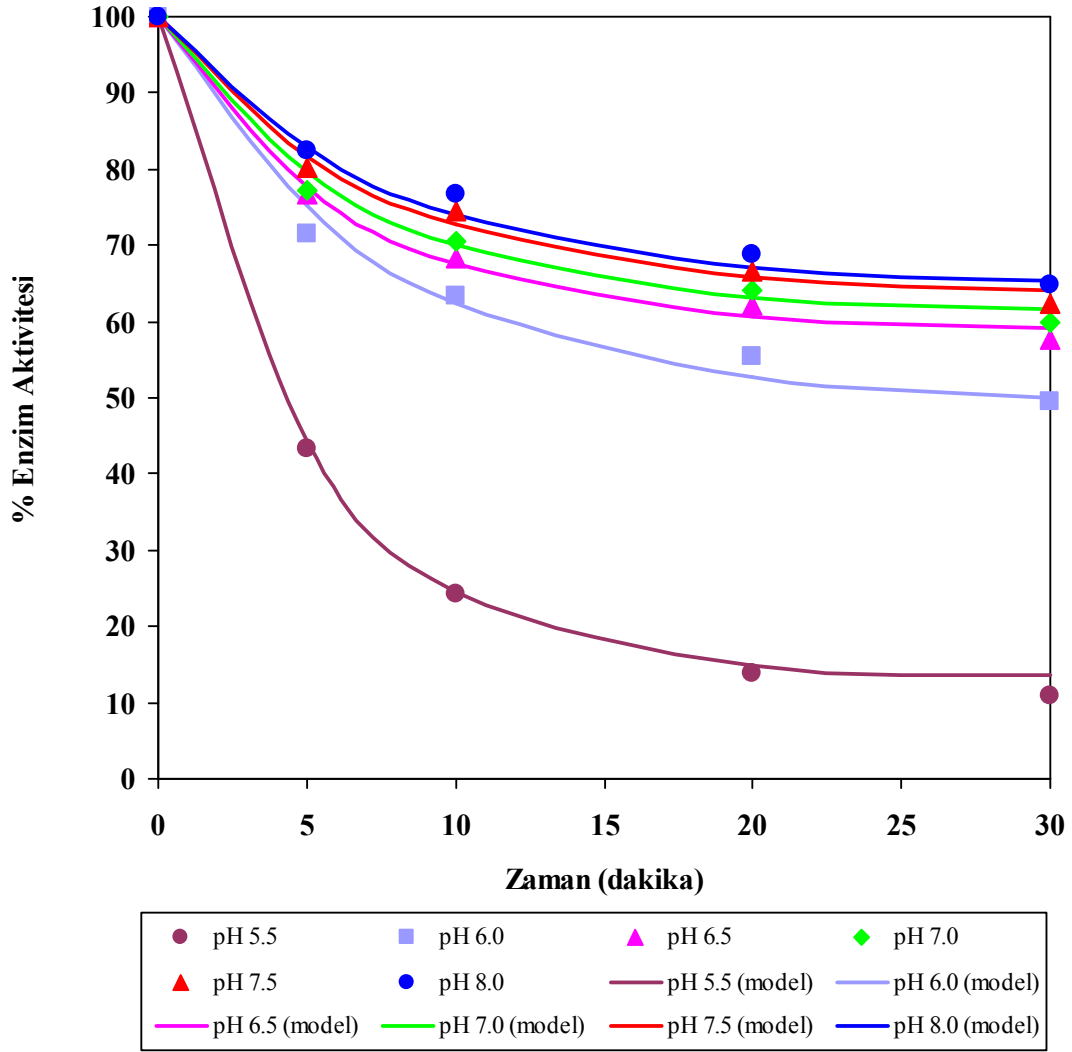
Şekil 9.14 Farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T= 37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı pH değerlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.2’de verilmiş ve Şekil 9.15’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm pH değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.12’de verilmiştir.



Şekil 9.15 Laktozlu ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T= 37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı pH değerlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.3'te verilmiş ve Şekil 9.16'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm pH değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.12'de verilmiştir.



Şekil 9.16 Laktozsuz ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T= 37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.12 Farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

pH	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
5.5	0.0004	0.0003	0.9982	26.62	0.1867	3.4281	0.9935	16.54	0.1167	5.1243	0.9918
6.0	0.0023	0.0053	0.9816	64.40	0.2078	1.6762	0.9933	51.21	0.1344	2.3189	0.9948
6.5	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
7.0	0.0017	0.0034	0.9846	70.01	0.2216	0.4911	0.9992	61.08	0.1471	1.6295	0.9960
7.5	0.0014	0.0017	0.9945	72.49	0.2013	0.3757	0.9994	63.62	0.1389	2.3799	0.9899
8.0	0.0012	0.0019	0.9903	74.21	0.1786	0.7303	0.9982	65.64	0.1329	2.9542	0.9823

*Katsayılara ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

9.1.5 Karıştırıcı hızının hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek amacıyla %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren reaksiyon çözeltisi, pH 6.5 ve 37°C sıcaklıkta, 1 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 ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.13'te verilmiş ve Şekil 9.17'te grafiksel olarak sunulmuştur.

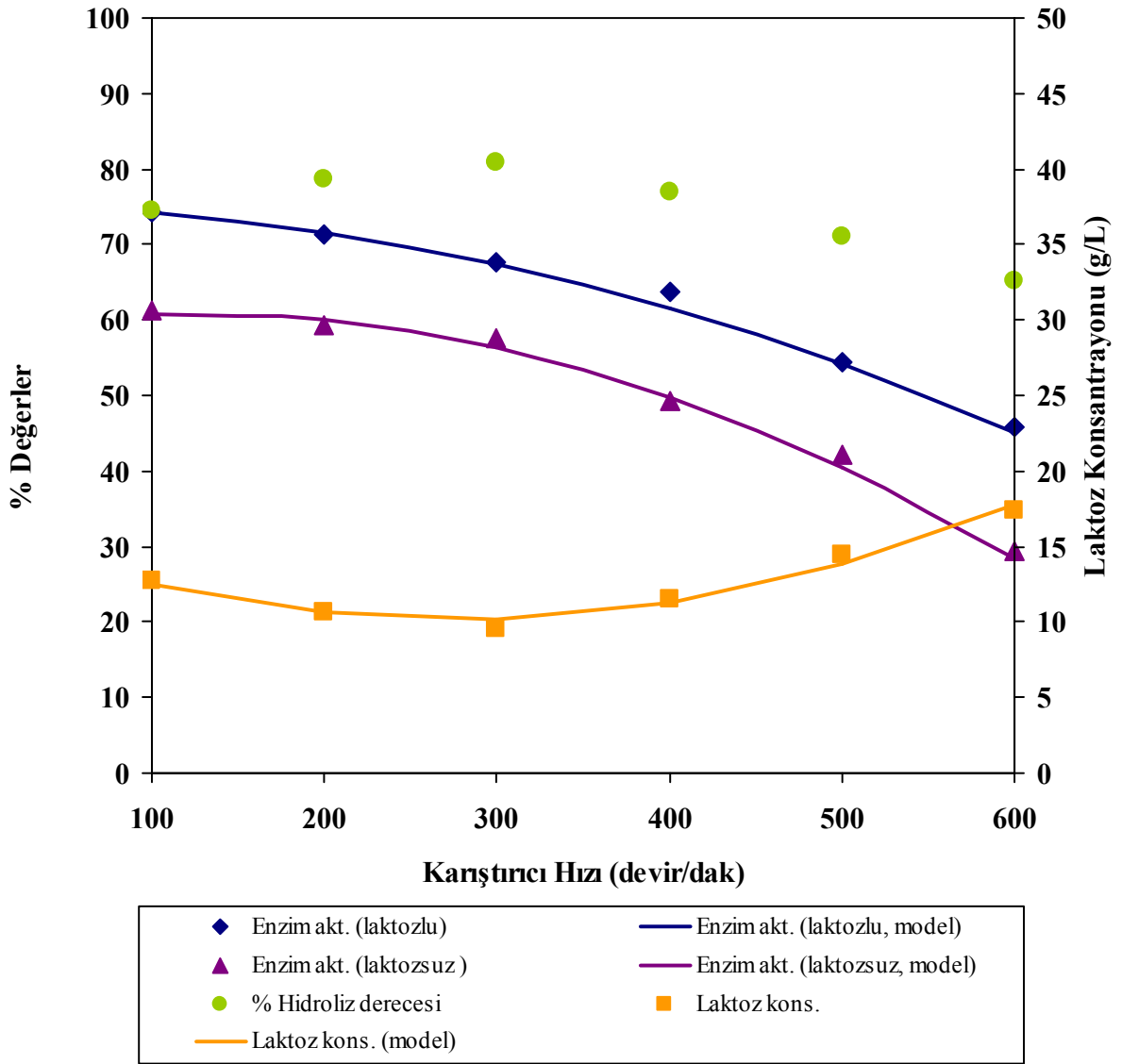
Çizelge 9.13 Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Karıştırıcı Hızı (devir/dak)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
100	74.62	74.32	61.18	12.69
200	78.69	71.23	59.40	10.66
300	80.96	67.56	57.67	9.52
400	76.88	63.76	49.24	11.56
500	71.18	54.34	42.18	14.41
600	65.12	45.84	29.37	17.44

Çizelge 9.13 ve Şekil 9.17'te görüldüğü gibi 300 devir/dak'a kadar karıştırıcı hızı artışıyla hidroliz derecesinde artış olurken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 100 devir/dak'daki hidroliz derecesi yaklaşık %75 iken karıştırıcı hızı ile artarak 300 devir/dak'da yaklaşık %81 olmuştur. Daha yüksek karıştırıcı hızlarında ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 600 devir/dak'da hidroliz derecesi yaklaşık %65'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen karıştırıcı hızı aralığı boyunca enzim aktivitesi %74'den %46'ya (yaklaşık %38) azalmıştır. Kullanılan enzim 100 devir/dak için yaklaşık %26, 300 devir/dak için yaklaşık %32 ve 600 devir/dak için yaklaşık %54 inaktive olmuştur. Düşük karıştırıcı hızlarında yeterli miktarda kütle transfer hızı sağlanamadığı 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.

β -Galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, karıştırıcı hızı deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi karıştırıcı hızı ile azaldığı Şekil 9.17'de görülmektedir. Laktozlu ortamdaki enzim aktivitesinin daha yüksek olmasının nedeni, laktoz partiküllerinin enzimi aktive etmesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 9.17 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun karıştırıcı hızı ile değişimi (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

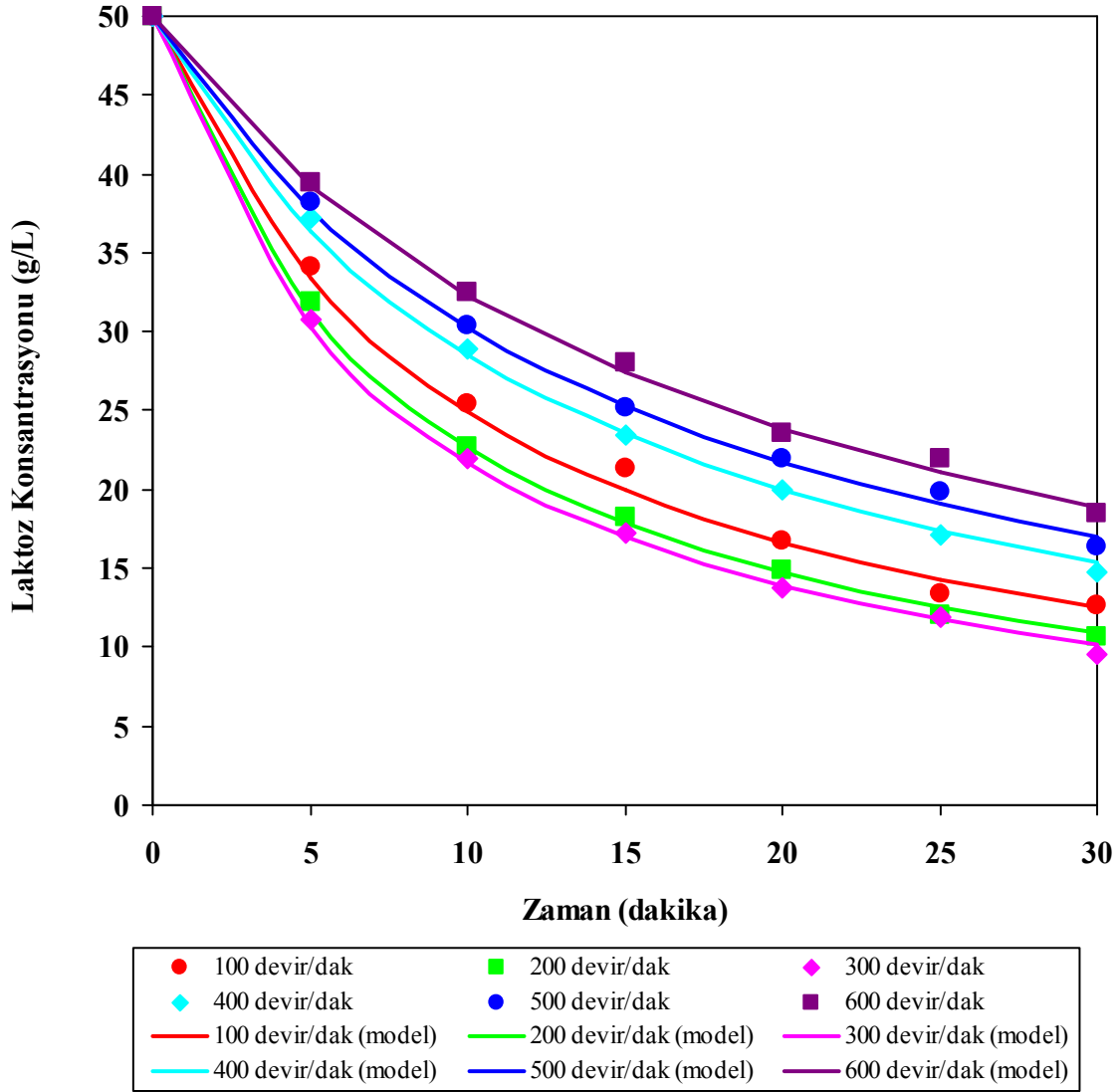
Karıştırıcı hızının ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.14'te verilmiştir.

Çizelge 9.14 Karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [N] + c [N]^2$	a = 15.886 b = -0.0410 c = 0.00007	0.6051	0.9865
$[A] = a_A + b_A [N] + c_A [N]^2$ (laktozlu)	a _A = 75.4140 b _A = -0.0032 c _A = 0.00008	1.3303	0.9957
$[A] = a_A + b_A [N] + c_A [N]^2$ (laktozsuz)	a _A = 59.0090 b _A = 0.0329 c _A = -0.00014	1.1115	0.9976

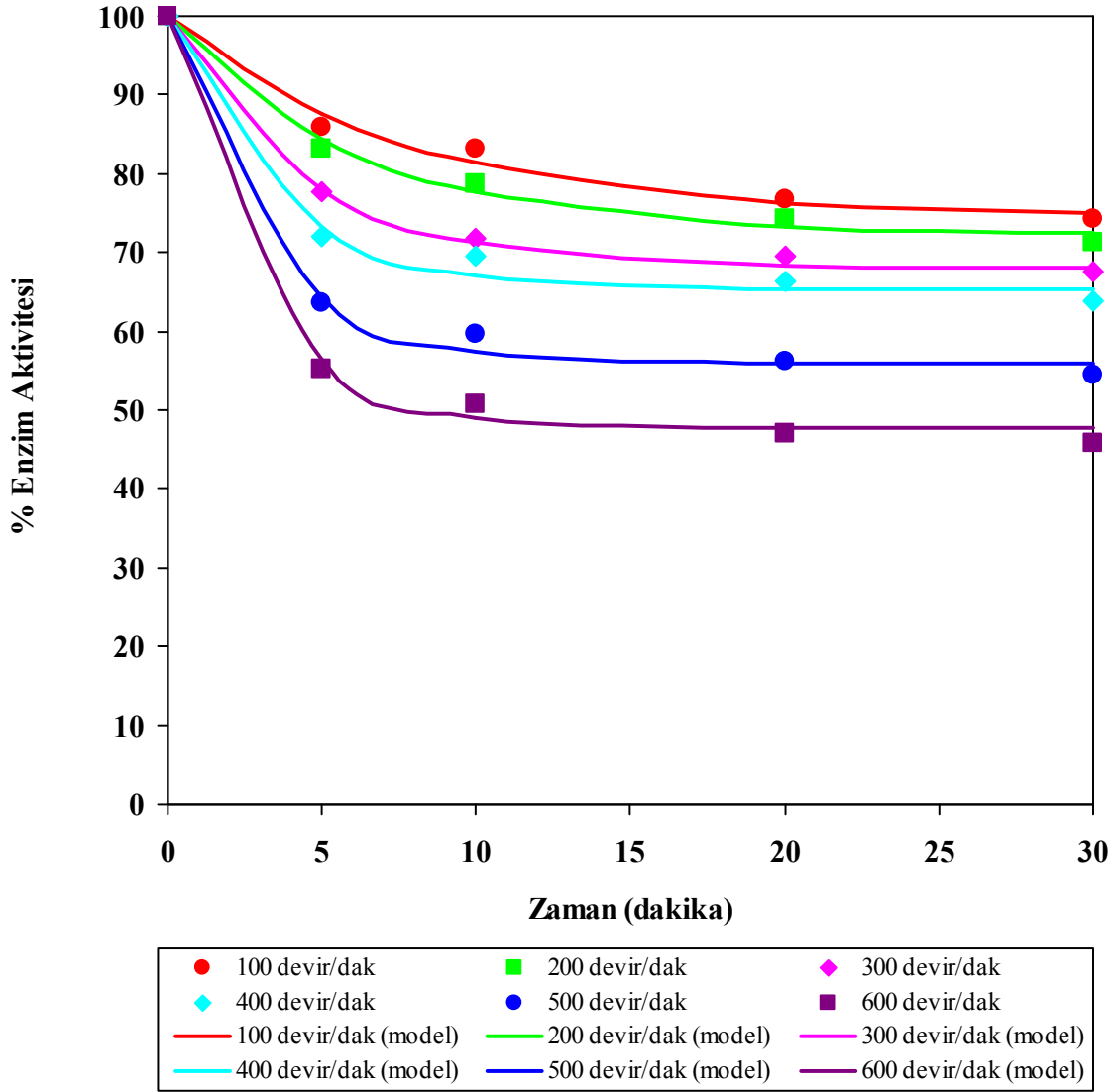
* Katsayılara ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹. (devir/dakika)⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹. (devir/dakika)⁻²; a_A: birimsiz; b_A: (devir/dakika)⁻¹, c_A: (devir/dakika)⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.1'de verilmiş ve Şekil 9.18'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm karıştırıcı hızı değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.15'te verilmiştir.



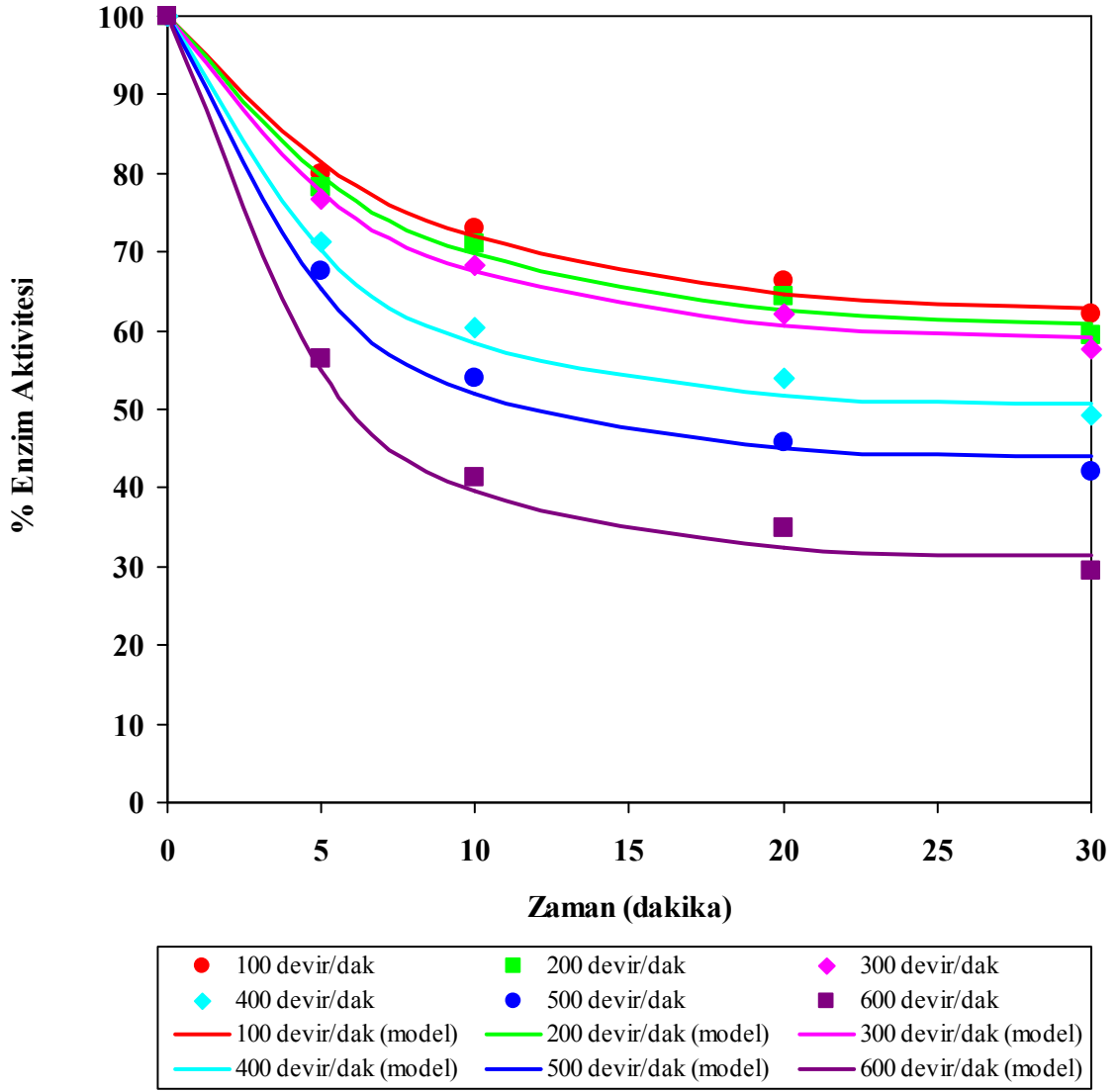
Şekil 9.18 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.2’de verilmiş ve Şekil 9.19’da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm karıştırıcı hızı değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.15’te verilmiştir.



Şekil 9.19 Laktozlu ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamda % enzim aktivitesinin farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 5, Çizelge E5.3'te verilmiş ve Şekil 9.20'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm karıştırıcı hızı değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.15'da verilmiştir.



Şekil 9.20 Laktozsuz ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.15 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[N]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
100	0.0020	0.0024	0.9943	74.55	0.1322	1.5887	0.9907	62.11	0.1338	1.7886	0.9947
200	0.0024	0.0046	0.9922	72.26	0.1643	1.3425	0.9947	60.43	0.1432	1.7244	0.9956
300	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
400	0.0015	0.0020	0.9933	65.27	0.2919	2.2555	0.9913	50.45	0.1832	1.3646	0.9983
500	0.0013	0.0016	0.9937	55.93	0.3329	1.5822	0.9968	43.78	0.1927	3.7285	0.9903
600	0.0011	0.0016	0.9910	47.67	0.3590	2.4103	0.9957	31.43	0.2134	2.9319	0.9960

*Katsayılar ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

9.1.6 Viskozitenin hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

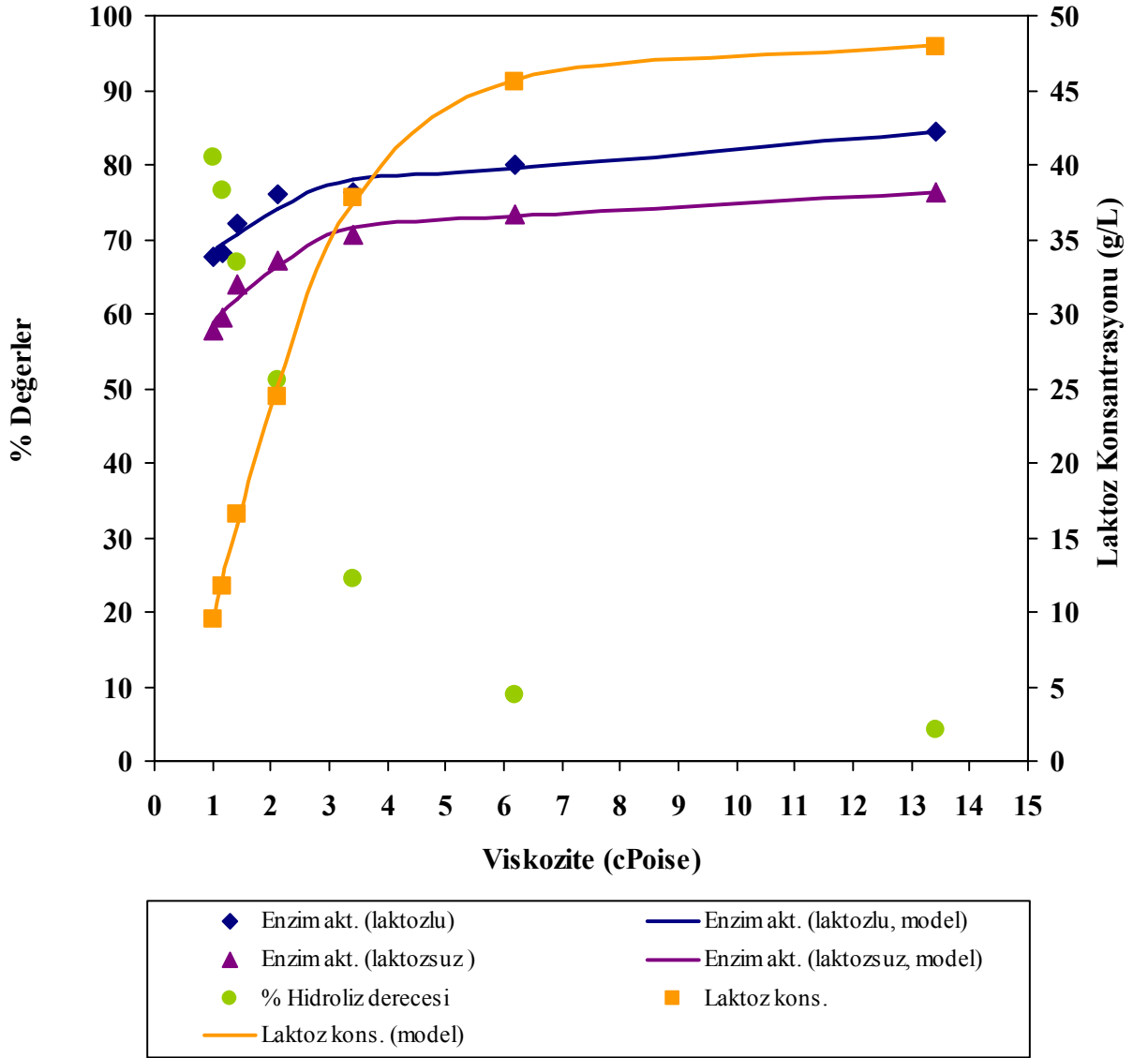
Reaksiyon çözeltisinin viskozitesinin enzim aktivitesi ve hidrolizlenmeye etkisini incelemek için viskozite arttırıcı olarak gliserin kullanılmıştır. %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren 250 ml'lik reaksiyon çözeltisi içerisine %5, %10, %20, %30, %40, %50 (hacim/hacim) oranlarında gliserin ilave edilmiştir. Çözeltiye %0 ile %50 oranları arasında gliserin ilavesi ile viskozite değerleri, 1.005 cP'den 13.43 cP'ye arttırılmıştır (Sheely, 1932). Reaksiyonlar 37°C sıcaklık, pH 6.5 ve 300 devir/dakika karıştırıcı hızında 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca sürdürülmüştür. Ayrıca, enzim stabilitesinin reaksiyon şartlarında viskozite ile değişimini inceleyebilmek amacıyla deneyler laktozsuz ortamda da tekrarlanmıştır. Gliserin ilavesi ile viskozitenin arttırılması sonucu elde edilen deneysel veriler Çizelge 9.16'da verilmiş; Şekil 9.21 ve Şekil 9.22'de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.16 Viskozite değerlerine karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Gliserin Miktarı (%)	Viskozite Değerleri (cPoise)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	1.005	80.96	67.56	57.67	9.52
5	1.184	76.64	68.10	59.57	11.68
10	1.415	67.01	71.98	63.88	16.50
20	2.109	51.12	76.12	67.07	24.44
30	3.412	24.40	78.33	70.64	37.80
40	6.188	8.92	79.99	73.26	45.54
50	13.43	4.20	84.45	76.31	47.90

Gliserinin enzim stabilitesini arttırdığı ve sıvı enzim preparatlarının hazırlanmasında koruyucu olarak kullanıldığı bilinmektedir. Somers vd. (1991) tarafından yapılan çalışmada, enzim inaktivasyonunu ve substratın enzim tarafından bozunmasını (enzim-substrat etkileşimini) engellemek amacıyla gliserin kullanmışlar, gliserinin enzim stabilitesini arttırdığını savunmuşlardır. Komolprasert ve Ofoli (1991) ise çalışmalarında, viskoz etkiler yüzünden kütle transfer hızının azalması sonucu reaksiyon hızının düştüğünü belirlemişlerdir.

Bununla birlikte, gliserinin yüzey gerilimini düşürdüğü ve ısı iletkenliğinin suya göre daha düşük olduğu bilinmektedir.

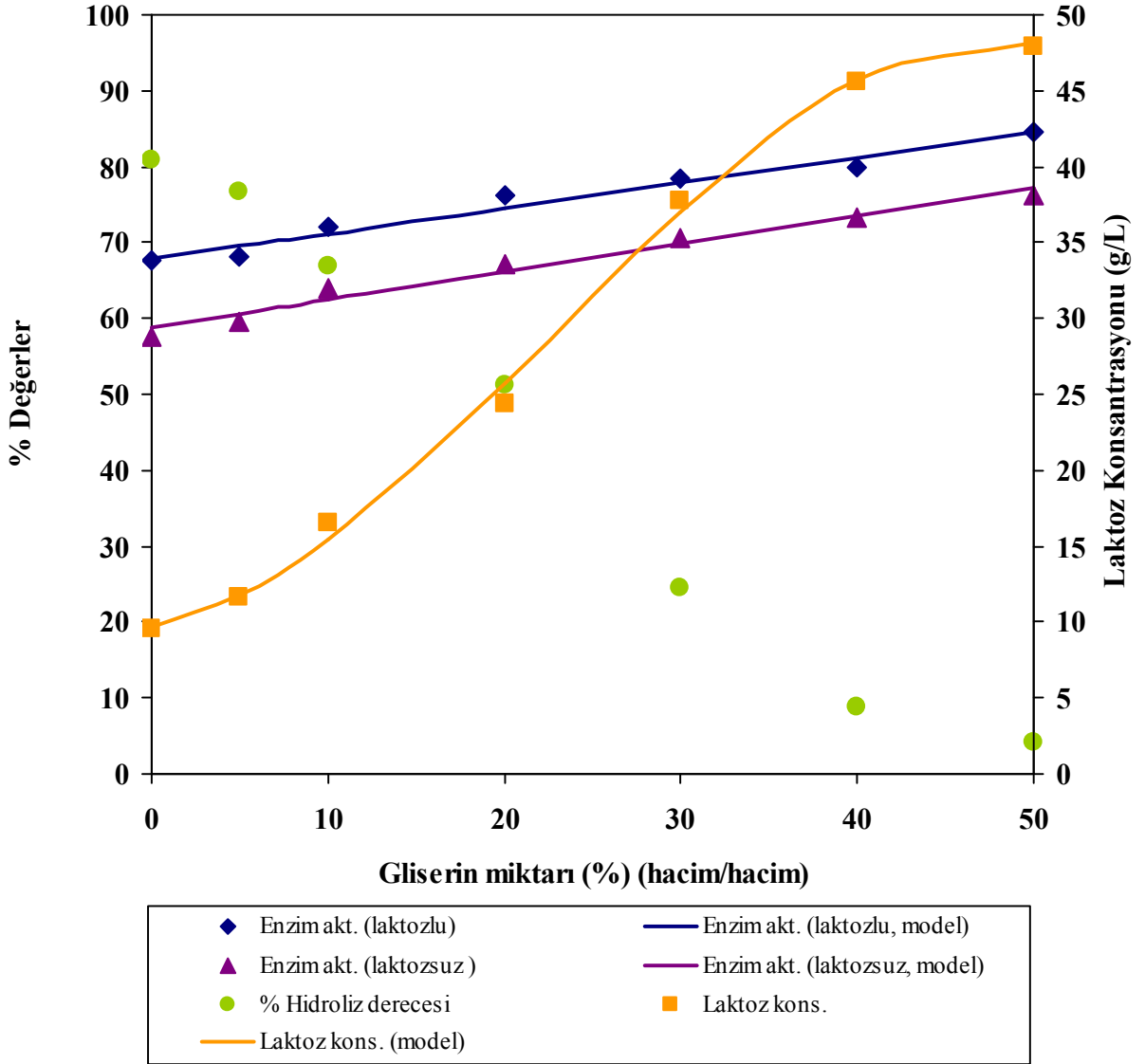


Şekil 9.21 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun viskozite ile değişimi (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)

Çizelge 9.16, Şekil 9.21 ve 9.22'den de görüldüğü gibi, çözeltinin viskozitesinin artmasıyla enzim aktiviteleri artarken, ortama %30 (hacim/hacim) gliserin ilavesi ile çözeltinin viskozitesinin yaklaşık 3 kat artırılması sonucunda hidrolizlenme de yaklaşık olarak 3 kat oranında azalmıştır. Sonuç olarak ortama gliserin ilavesi ile hidrolizlenmenin azalması,

- Viskoz etkiler sebebiyle kütle transferinin yeteri kadar olmamasından dolayı enzim-substrat etkileşiminin kısıtlanması,

- Gliserinin laktoz için inhibitör olma olasılığında, enzim-substrat etkileşimini engellemesi,
- Gliserin ilavesi ile yüzey geriliminin düşmesi ve böylece enzim-substrat bağlanmasının engellenmesi ile açıklanabilir.



Şekil 9.22 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun gliserin miktarı ile değişimi (pH= 6.5, T= 37°C, N= 300 devir/dak)

β -Galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, viskozite deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi viskozite ile arttığı Şekil 9.21’de görülmektedir. Laktozlu ve laktozsuz ortamda enzim stabilitesinin artması ise, gliserinin enzimi çevreleyerek enzim etrafında bir

tabaka oluşturmasına (Rariy vd., 1998), bu nedenle çok düşük de olsa proses Őartlarındaki değişimlerden (sıcaklık, pH değişimi) enzimin daha az etkilenmesine, laktoz partikülleri ve/veya ortamda bulunabilecek inhibitörlerle etkileşiminden dolayı oluşabilecek enzim inaktivasyonunun engellenmiş olmasına bağlanabilir.

Hidroliz zeltisinin viskozitesinin ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler izelge 9.17’de verilmiştir.

Aynı Şekilde, gliserin konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler izelge 9.18’de verilmiştir.

Çizelge 9.17 Viskozite değerlerine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [\mu] + c [\mu]^2 + d [\mu]^3$	a = -10.6834 b = 22.6010 c = -2.8858 d = 0.1138	0.7332	0.9995
$[A] = a_A + b_A [\mu] + c_A [\mu]^2 + d_A [\mu]^3$ (laktozlu)	a _A = 60.4936 b _A = 8.9229 c _A = -1.2942 d _A = 0.0756	1.9261	0.9754
$[A] = a_A + b_A [\mu] + c_A [\mu]^2 + d_A [\mu]^3$ (laktozsuz)	a _A = 48.4934 b _A = 11.8601 c _A = -2.8858 d _A = 0.1138	1.4781	0.9887

*Katsayılarla ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.cp⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹.cp⁻²; d: g laktoz.L⁻¹.cp⁻³; a_A: birimsiz; b_A: cp⁻¹; c_A: cp⁻²; d_A: cp⁻³

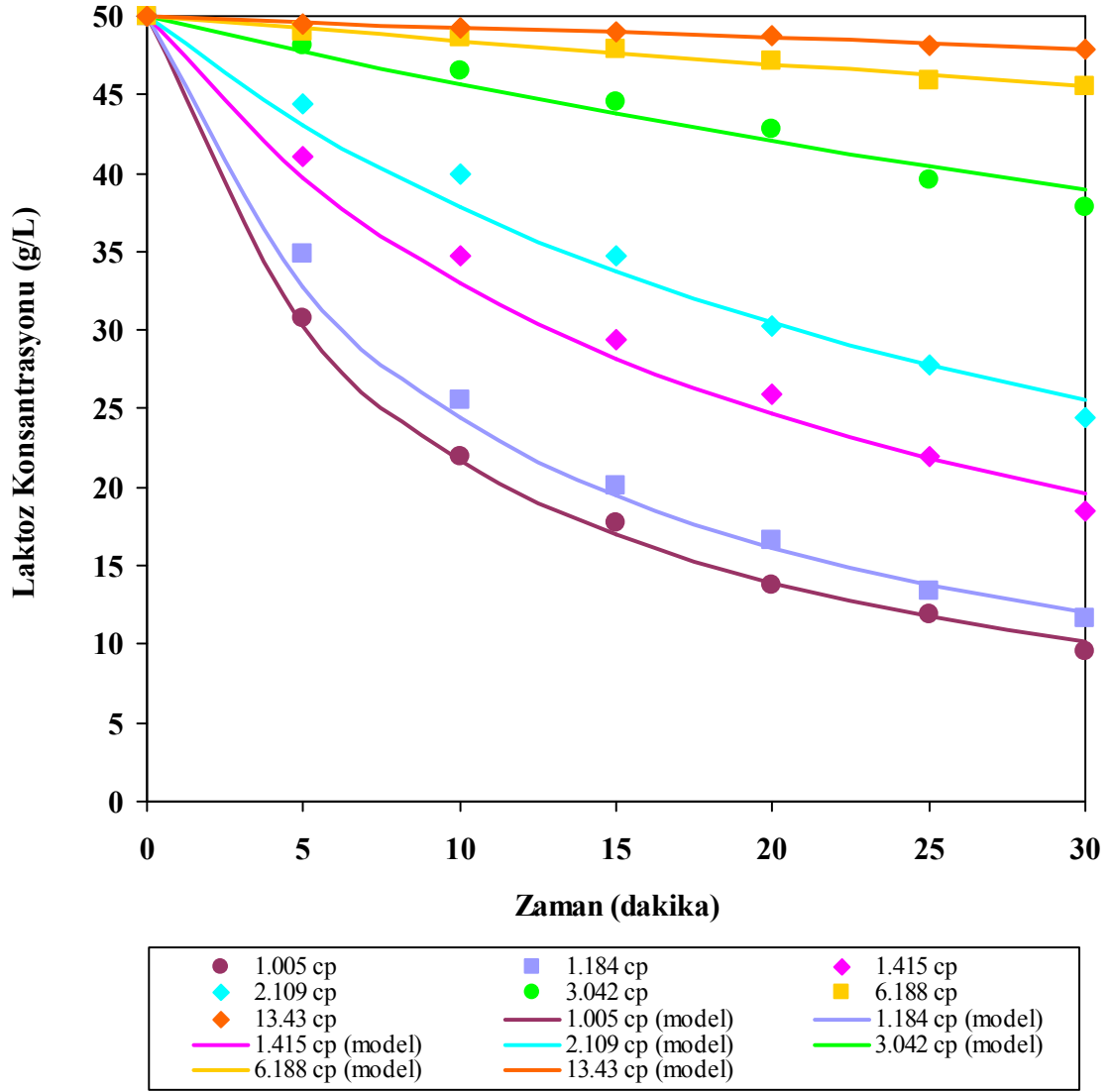
Laktoz konsantrasyonunun farklı viskozite değerlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.1’de verilmiş ve Şekil 9.23’te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm viskozite değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.19’da verilmiştir.

Çizelge 9.18 Gliserin konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

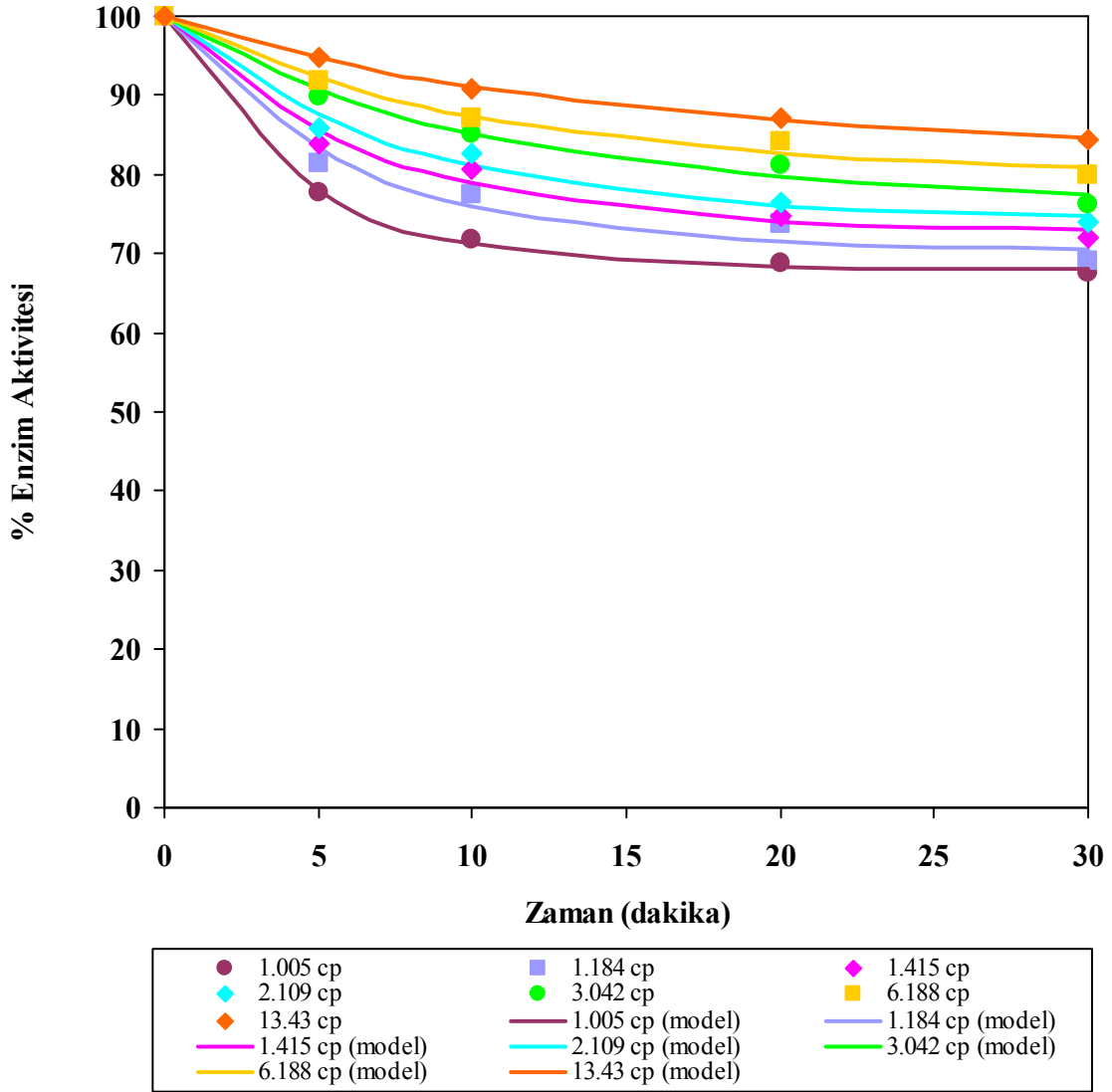
Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [GI] + c [GI]^2 + d [GI]^3$	a = 9.7246 b = 0.2244 c = 0.0409 d = -0.0006	1.0804	0.9989
$[A] = a_A + b_A [GI]$ (laktozlu)	a _A = 67.8566 b _A = 0.3325	1.1792	0.9853
$[A] = a_A + b_A [GI]$ (laktozsuz)	a _A = 58.7523 b _A = 0.3686	1.1576	0.9884

*Katsayılar ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.(v/v)⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹.(v/v)⁻²; d: g laktoz.L⁻¹.(v/v)⁻³; a_A: birimsiz; b_A: (v/v)⁻¹

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı viskozite değerlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.2’de verilmiş ve Şekil 9.24’te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm viskozite değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.19’da verilmiştir.

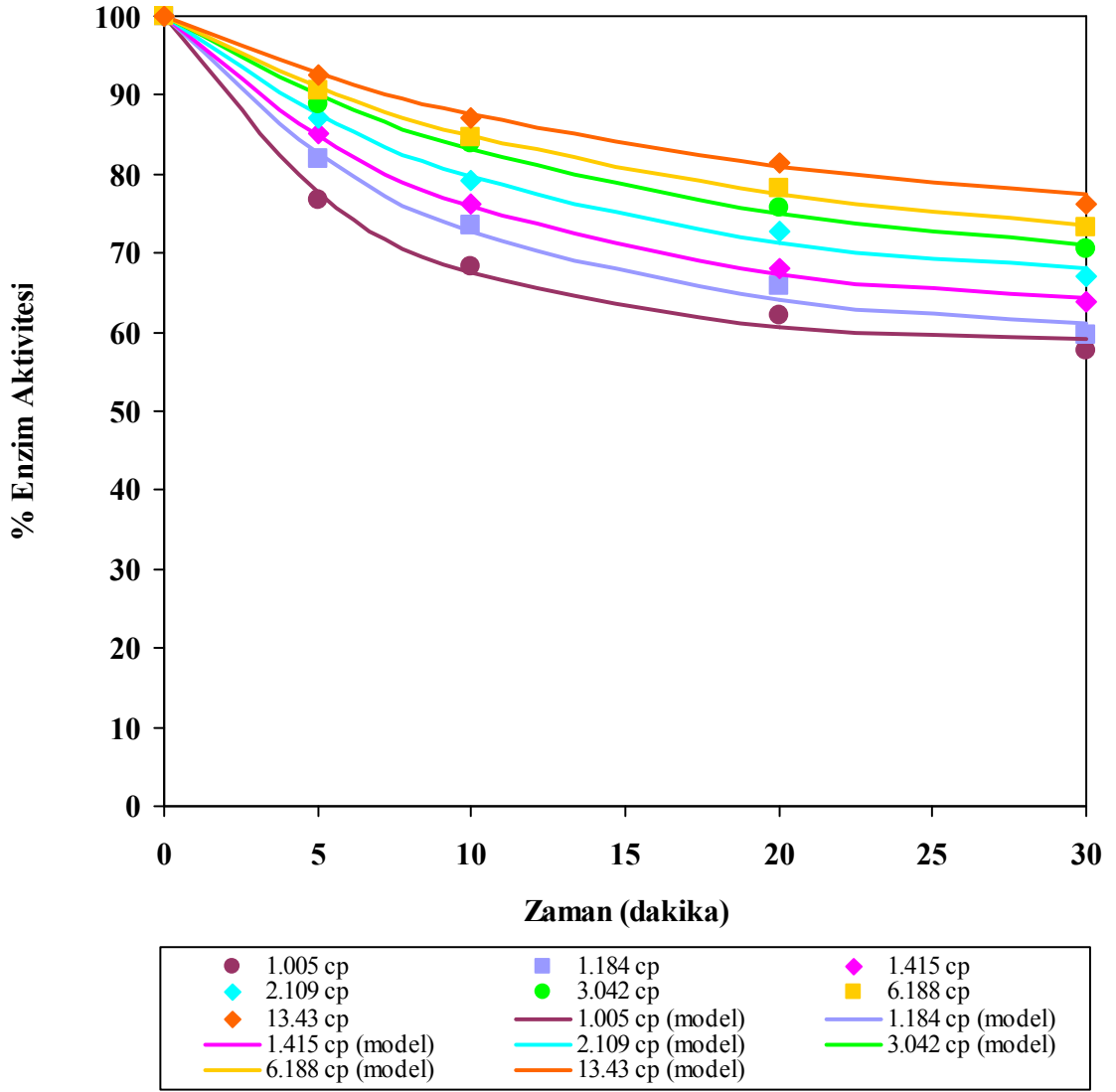


Şekil 9.23 Farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)



Şekil 9.24 Laktozlu ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı viskozite değerlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 6, Çizelge E6.3'te verilmiş ve Şekil 9.25'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm viskozite değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.19'da verilmiştir.



Şekil 9.25 Laktozsuz ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.19 Farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[μ]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
1.005	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
1.184	0.0021	0.0038	0.9881	70.33	0.1649	2.3715	0.9856	59.89	0.1135	2.2588	0.9921
1.415	0.0010	0.0018	0.9887	68.14	0.1477	1.6634	0.9913	62.56	0.1027	0.6284	0.9993
2.109	0.0006	0.0014	0.9839	66.78	0.1330	1.3313	0.9936	65.69	0.0902	1.0942	0.9973
3.412	0.0002	0.0005	0.9802	64.74	0.0975	1.3233	0.9919	67.29	0.0717	0.9031	0.9977
6.188	0.00007	0.0001	0.9920	44.62	0.0852	1.0133	0.9935	70.87	0.0695	0.2184	0.9998
13.43	0.00003	0.00004	0.9929	10.65	0.0722	0.3269	0.9989	73.86	0.0649	1.8408	0.9841

*Katsayılara ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

9.1.7 Hidrolizat miktarının hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

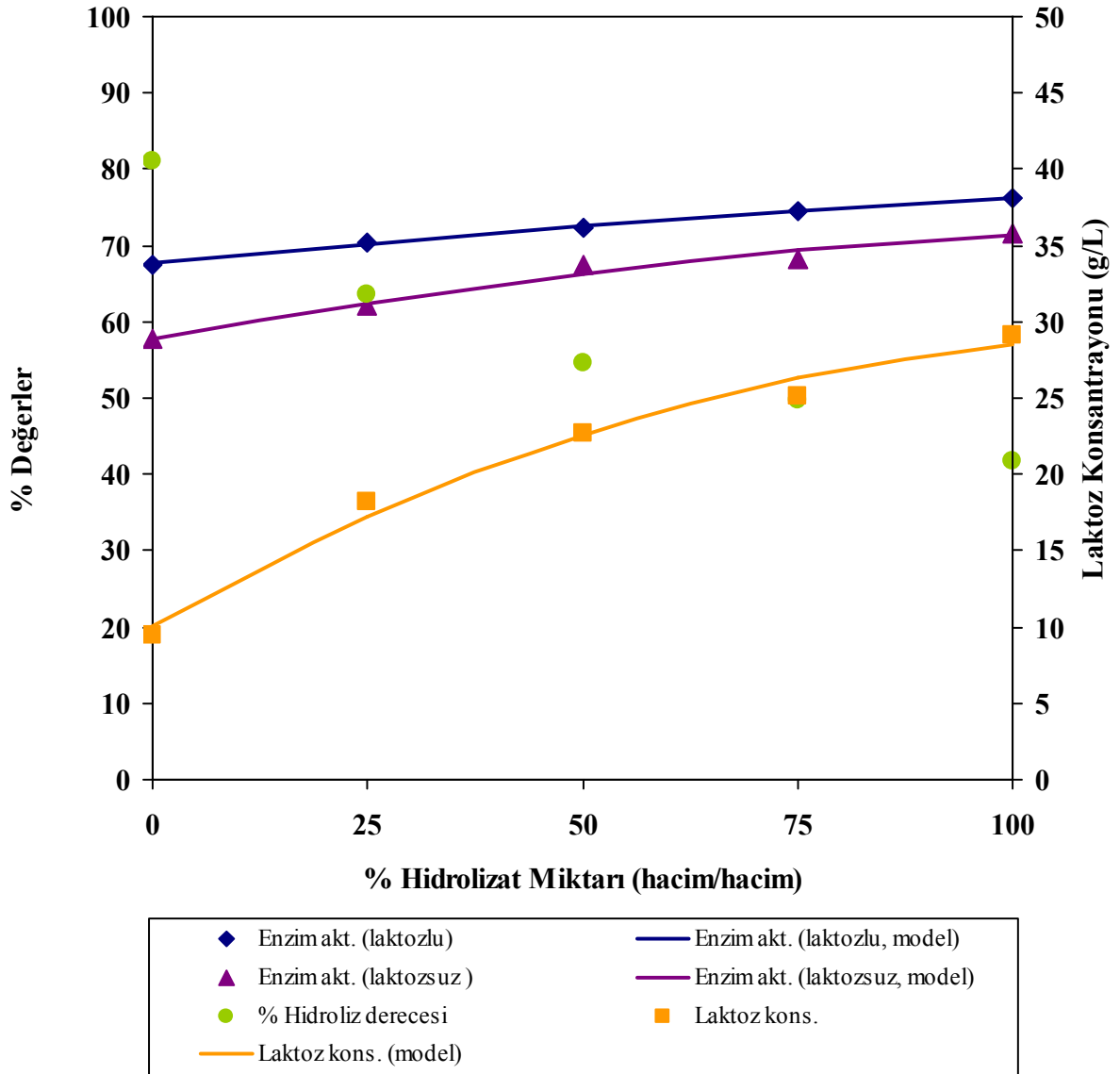
Hidroliz işlemi sonunda meydana gelen ürünlerin (hidrolizatların), enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek amacıyla, öncelikle deneylerde kullanılacak hidrolizatın eldesi için, maksimum hidrolizlenmenin gerçekleştiği proses şartlarında (37°C sıcaklıkta, pH 6.5’de, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında), aşırı enzim ilavesi ile reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda elde edilen hidrolizat çözeltisi, deneylerde kullanılacağı miktarlarda kaplara konularak buzlukta saklanmıştır. Hidrolizat çözeltisinin toplam hacme %25, %50, %75 ve %100 (hacim/hacim) oranlarında ilave edilmesi ile hazırlanan %5 (ağırlık/hacim) oranında laktoz içeren reaksiyon çözeltisi, 37°C sıcaklıkta, pH 6.5’te, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında, 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.20’de verilmiş ve Şekil 9.26’da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.20 Farklı hidrolizat miktarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH=6.5, T=37°C, Enzim kons.=1 ml/L)

% Hidrolizat (hacim/hacim)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	80.96	67.56	57.67	9.52
25	63.48	70.41	62.13	18.26
50	54.52	72.35	67.40	22.74
75	49.76	74.58	68.24	25.12
100	41.82	76.11	71.72	29.09

Çizelge 9.20 ve Şekil 9.26’da görüldüğü gibi, hidrolizat çözeltisinin %0’dan %100’e artırılması durumunda, hidroliz derecesi %80.96 değerinden %41.82 değerine yaklaşık %48 oranında azalmıştır. Bu durum, enzimin ürün tarafından inhibe edildiğini yani enzim substrat etkileşiminin oluşan ürünler tarafından kısıtlandığını göstermektedir. Buna karşılık, hidrolizat çözeltisinin %0’dan %100’e artırılması durumunda, enzim aktivitesi %67.56’dan %76.11’e (yaklaşık %13) artmıştır.

Ayrıca hidroliz reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin enzim stabilitesine etkisini incelemek amacıyla hidrolizat deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortamda da tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi hidrolizat miktarı ile arttığı Şekil 9.26'da görülmektedir. Laktozlu ve laktozsuz ortamdaki deney sonundaki enzim aktivitesine bakıldığında enzim stabilitesinde bir azalma olmaması ürün inhibisyonunun tersinir olduğunu göstermektedir.



Şekil 9.26 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun hidrolizat miktarı ile değişimi (T=37°C, pH= 6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Hidrolizat çözeltisi ilavesi ile laktozlu ve laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler için işlem sonu enzim aktiviteleri karşılaştırılığında, her iki durum içinde enzim stabilitesinde bir artışın söz konusu olduğu görülmektedir. Laktozlu ve laktozsuz ortamda enzim aktivitesinin hidrolizat miktarı ile artması, ürünlerin enzim stabilitesini arttırdığını göstermektedir.

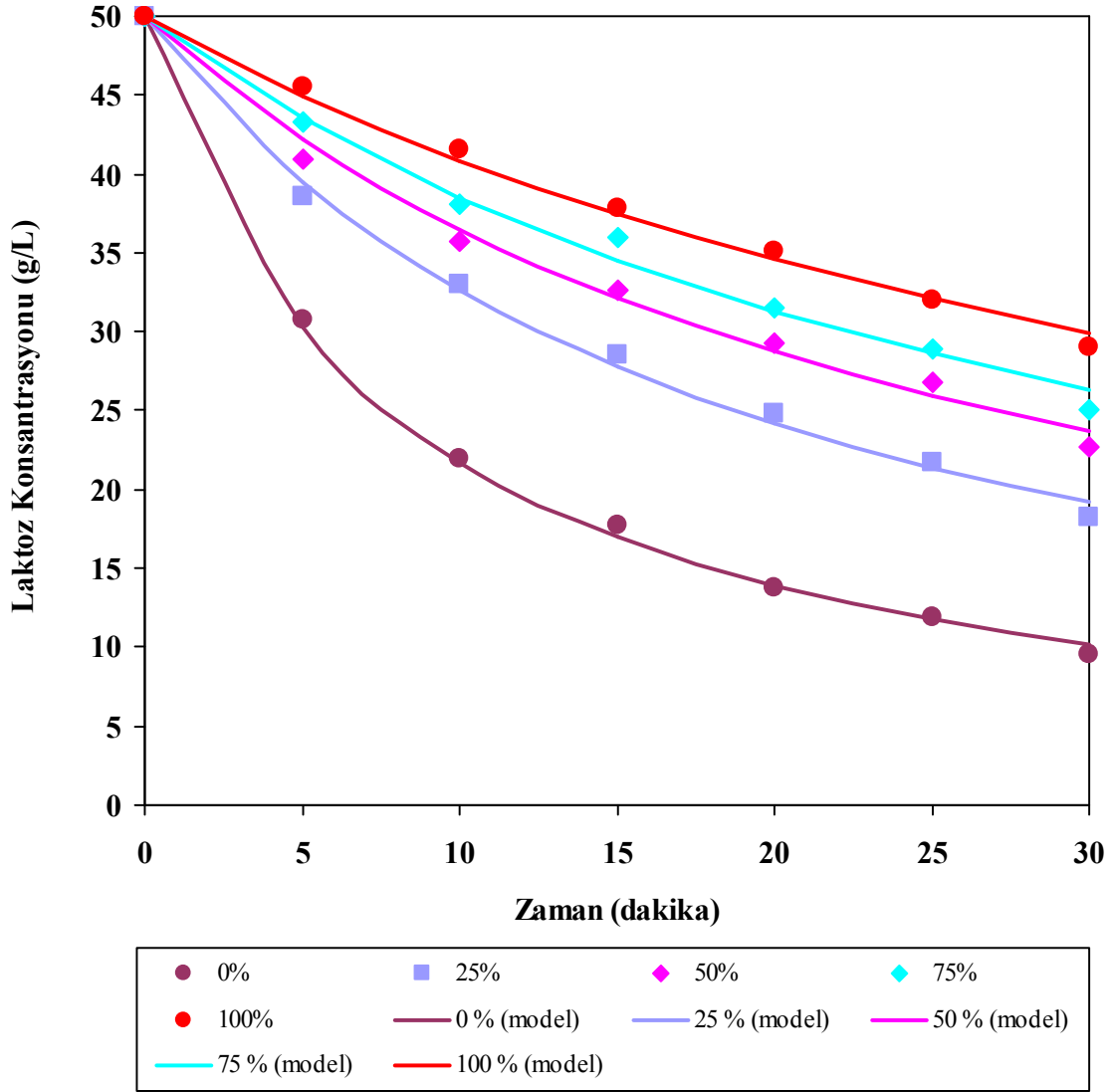
Hidrolizat miktarının ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.21’de verilmiştir.

Çizelge 9.21 Hidrolizat miktarına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [H]$	a = 11.7460 b = 0.1840	2.0923	0.9803
$[A] = a_A + b_A [H]$ (laktozlu)	a _A = 67.948 b _A = 0.0851	0.3947	0.9949
$[A] = a_A + b_A [H]$ (laktozsuz)	a _A = 58.59 b _A = 0.1368	1.3437	0.9776

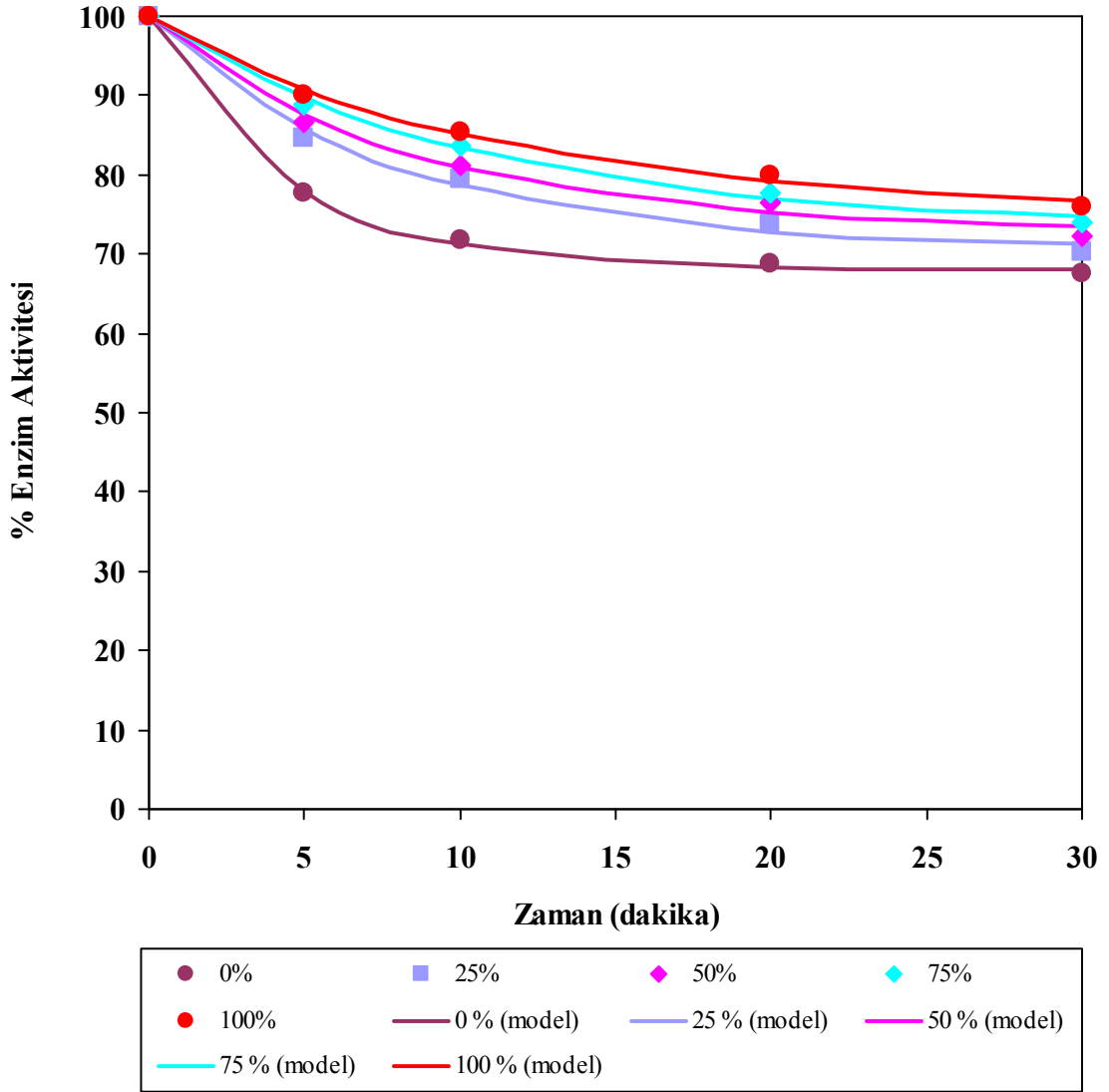
*Katsayılara ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.(v/v)⁻¹; a_A: birimsiz; b_A: (v/v)⁻¹

Laktoz konsantrasyonunun farklı hidrolizat miktarlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 7, Çizelge E7.1’de verilmiş ve Şekil 9.27’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm hidrolizat miktarları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.22’de verilmiştir.



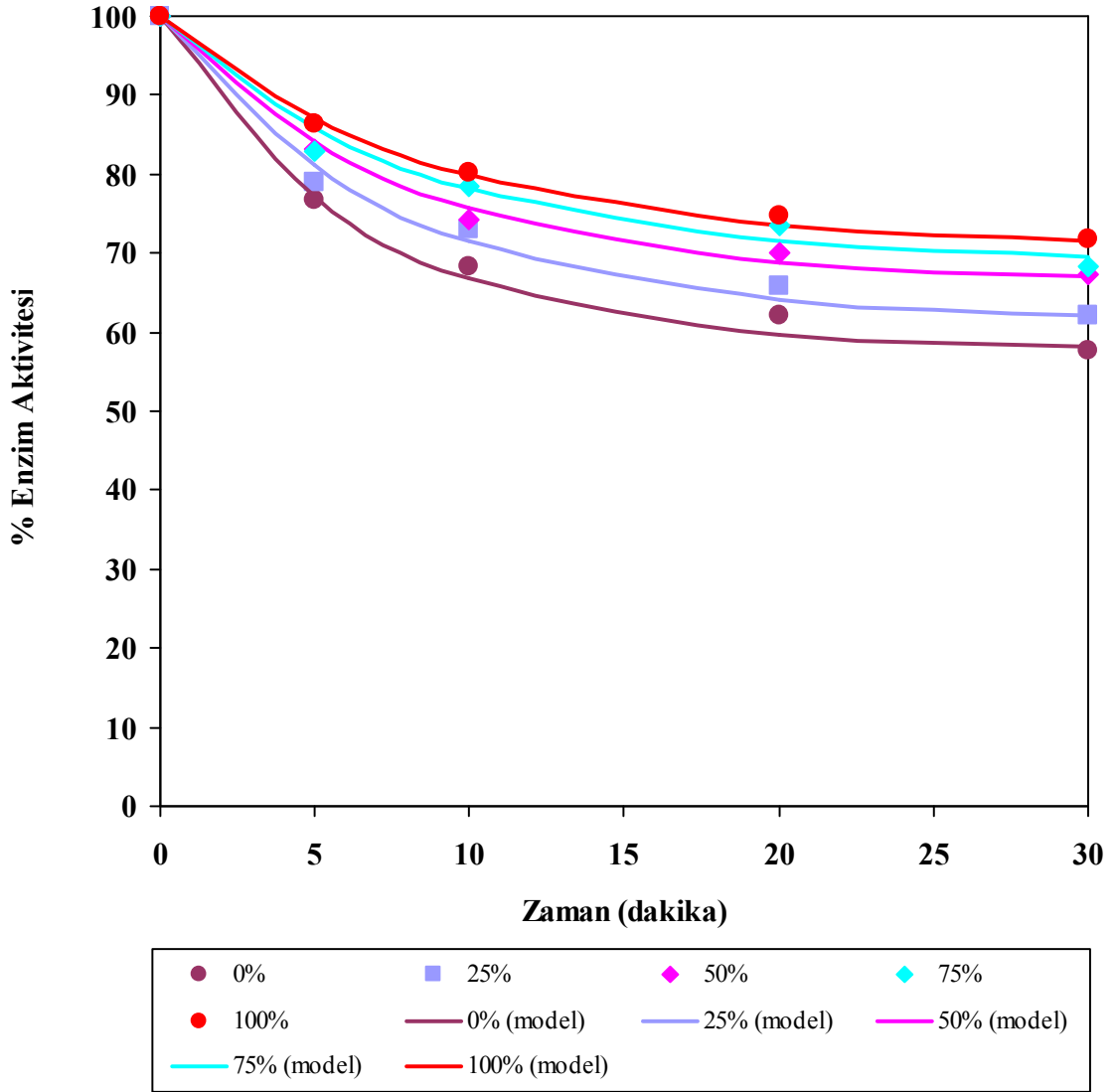
Şekil 9.27 Farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı hidrolizat miktarlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 7, Çizelge E7.2’de verilmiş ve Şekil 9.28’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm hidrolizat miktarları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.22’de verilmiştir.



Şekil 9.28 Laktozlu ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı hidrolizat miktarlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 7, Çizelge E7.3'te verilmiş ve Şekil 9.29'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm hidrolizat miktarları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.22'de verilmiştir.



Şekil 9.29 Laktozsuz ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.22 Farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[H]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
25	0.0011	0.0016	0.9918	70.71	0.1309	1.1318	0.9964	61.37	0.1346	2.2363	0.9920
50	0.0007	0.0011	0.9906	72.73	0.1211	1.1819	0.9954	66.33	0.1284	1.0108	0.9971
75	0.0006	0.0012	0.9857	73.16	0.0964	0.6819	0.9983	68.82	0.1202	1.5035	0.9943
100	0.0004	0.0008	0.9893	75.07	0.0911	0.7804	0.9974	70.57	0.1144	0.8727	0.9978

*Katsayılar ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

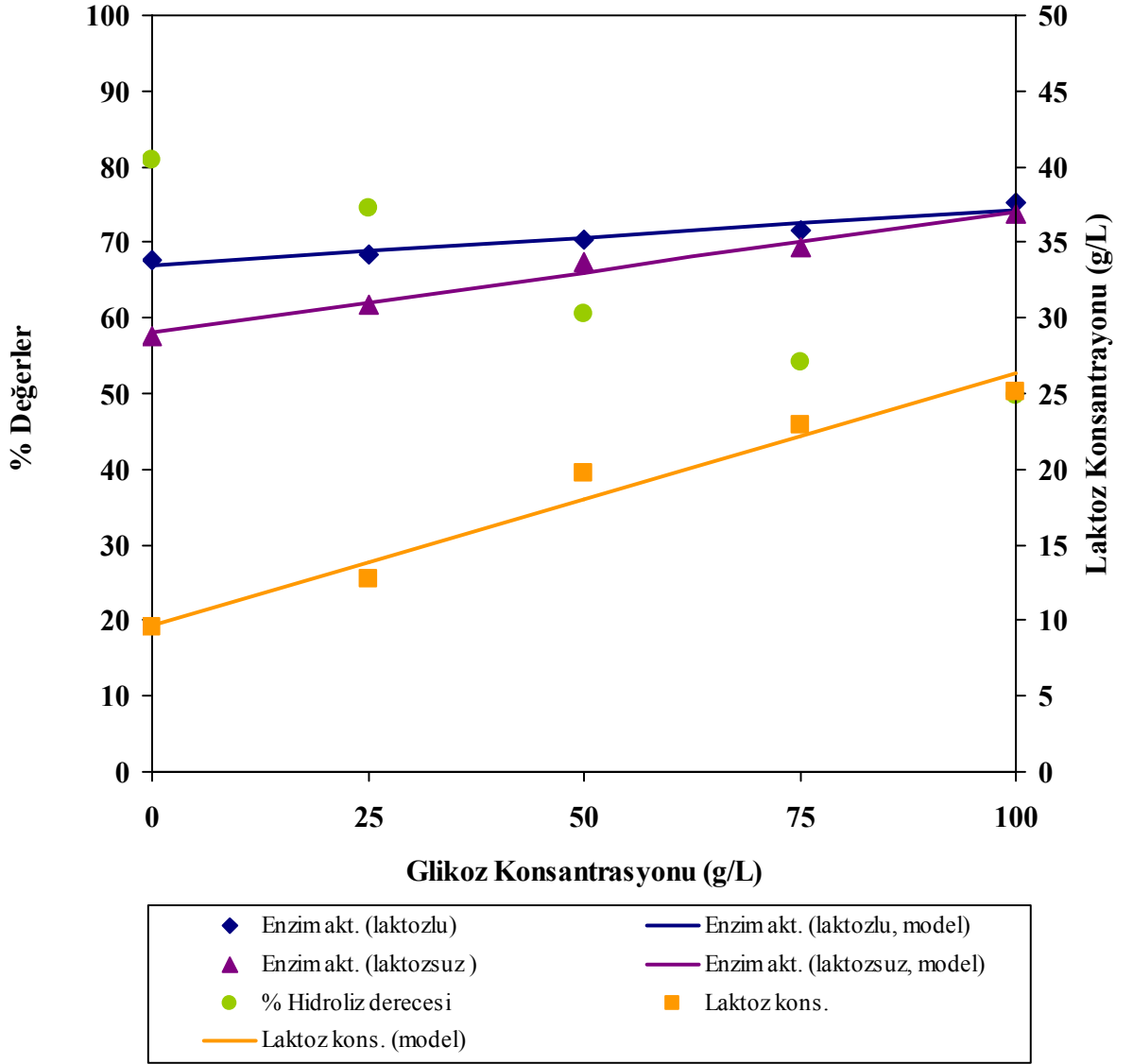
9.1.8 Glikozun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Hidroliz ürünlerinin enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi Bölüm 9.1.7’de incelenmiştir. Bu çalışmada ise, ürün olarak sadece glikozun enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. Deneyleerde, glikoz konsantrasyonu 25, 50, 75 ve 100 g/L olacak şekilde, %5 (ağırlık/hacim) oranında laktoz içeren reaksiyon çözeltisine ilave edilmiştir. Glikozun ilavesi ile reaksiyon çözeltisi 37°C sıcaklık, pH 6.5, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.23’te verilmiş ve Şekil 9.30’da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.23 Farklı glikoz konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Glikoz Miktarı (g/L)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	80.96	67.56	57.67	9.52
25	74.44	68.42	61.81	12.78
50	60.52	70.26	67.41	19.74
75	54.28	71.62	69.35	22.86
100	49.64	75.33	73.87	25.18

Çizelge 9.23 ve Şekil 9.29’da görüldüğü gibi, glikoz ilave edildiğinde hidroliz derecesesi azalmaktadır. Ladero vd. (2001) ve Wadiak ve Carbonell (1975) glikozun rekabetçi inhibitör, Chen vd. (1980) ise rekabetçi olmayan inhibitör olduğunu savunmuşlardır. Hidroliz derecesindeki düşüş göz önünde bulundurulduğunda glikozun reaksiyonu inhibe ettiği açıktır. Ancak, inhibisyonun yüksek glikoz konsantrasyonlarında belirgin olması hidroliz derecesindeki düşüş için ikinci bir neden olan kütle transfer hızının konsantrasyonla azalması olarak açıklanabilir (Hill vd. 1997). Ortama laktoz miktarı kadar glikoz ilave edildiğinde hidroliz derecesindeki azalmanın yaklaşık %25; laktozun iki katı kadar glikoz ilave edildiğinde ise yaklaşık %39 oranında olduğu görülmektedir.



Şekil 9.30 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun glikoz konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Elde edilen hidroliz derecesi değerlerinin literatürde elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Ladero vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada, 50 g/L laktoz süt tamponu içerisinde *Escherichia coli* kaynaklı β -Galaktozidaz enzimi kullanılarak, 40°C sıcaklık, pH 7 ve 7 mg/L enzim konsantrasyonunda; 15 g/L glikoz konsantrasyonu için 60 dakika sonunda hidroliz derecesi %15 olarak bulunmuştur. Di Serio vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada ise fosfat tampon çözeltisinde *Kluyveromyces marxianus lactis* kaynaklı β -Galaktozidaz enzimi kullanılarak, 37°C sıcaklık ve pH 7; 10 g/L glikoz konsantrasyonu için 60 dakika sonunda hidroliz derecesi %34 olarak bulunmuştur.

Glikoz deneyleri, reaksiyon şartlarında enzim stabilitesinin glikoz ile değişimini inceleyebilmek amacıyla, aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi glikoz konsantrasyonu ile arttığı Şekil 9.30'da görülmektedir.

Laktozlu ve laktozsuz ortamdaki deneylerde işlem sonunda enzim aktivitelere bakıldığında enzim stabilitesinde bir azalma olmaması glikoz inhibisyonunun tersinir olduğunu göstermektedir. Ortamda glikoz olması durumunda her iki durum içinde enzim stabiliteledeki artış glikozun enzimi stabilize ettiğini göstermektedir.

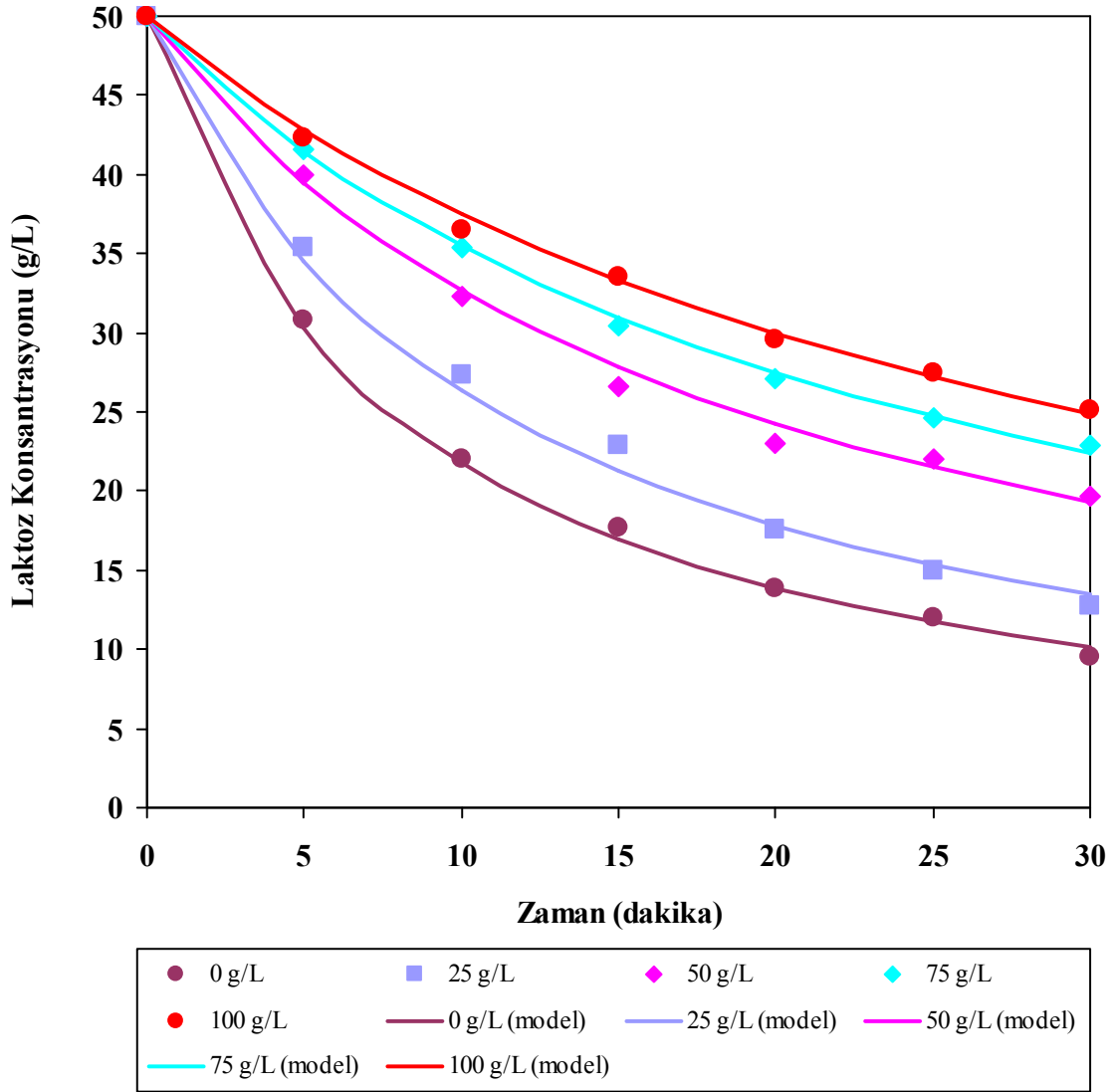
Glikoz konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.24'te verilmiştir.

Çizelge 9.24 Glikoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [G]$	a = 9.536 b = 0.1656	1.0509	0.9905
$[A] = a_A + b_A [G]$ (laktozlu)	a _A = 66.89 b _A = 0.0789	0.6615	0.9836
$[A] = a_A + b_A [G]$ (laktozsuz)	a _A = 58.034 b _A = 0.1598	0.9255	0.9920

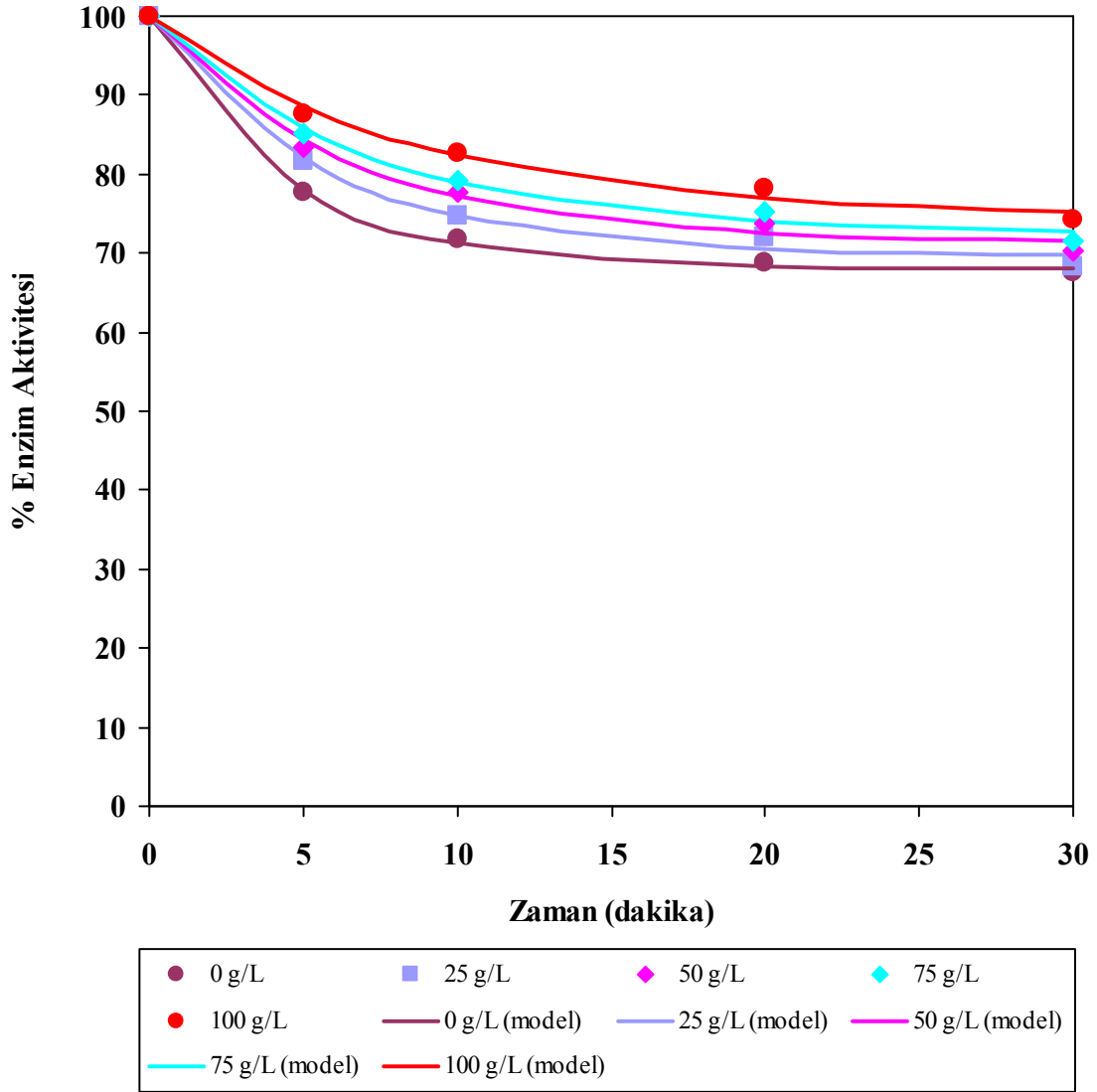
*Katsayılarla ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.(g glikoz.L⁻¹)⁻¹; a_A: birimsiz; b_A: (g glikoz.L⁻¹)⁻¹

Laktoz konsantrasyonunun farklı glikoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 8, Çizelge E8.1'de verilmiş ve Şekil 9.31'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm glikoz konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.25'te verilmiştir.



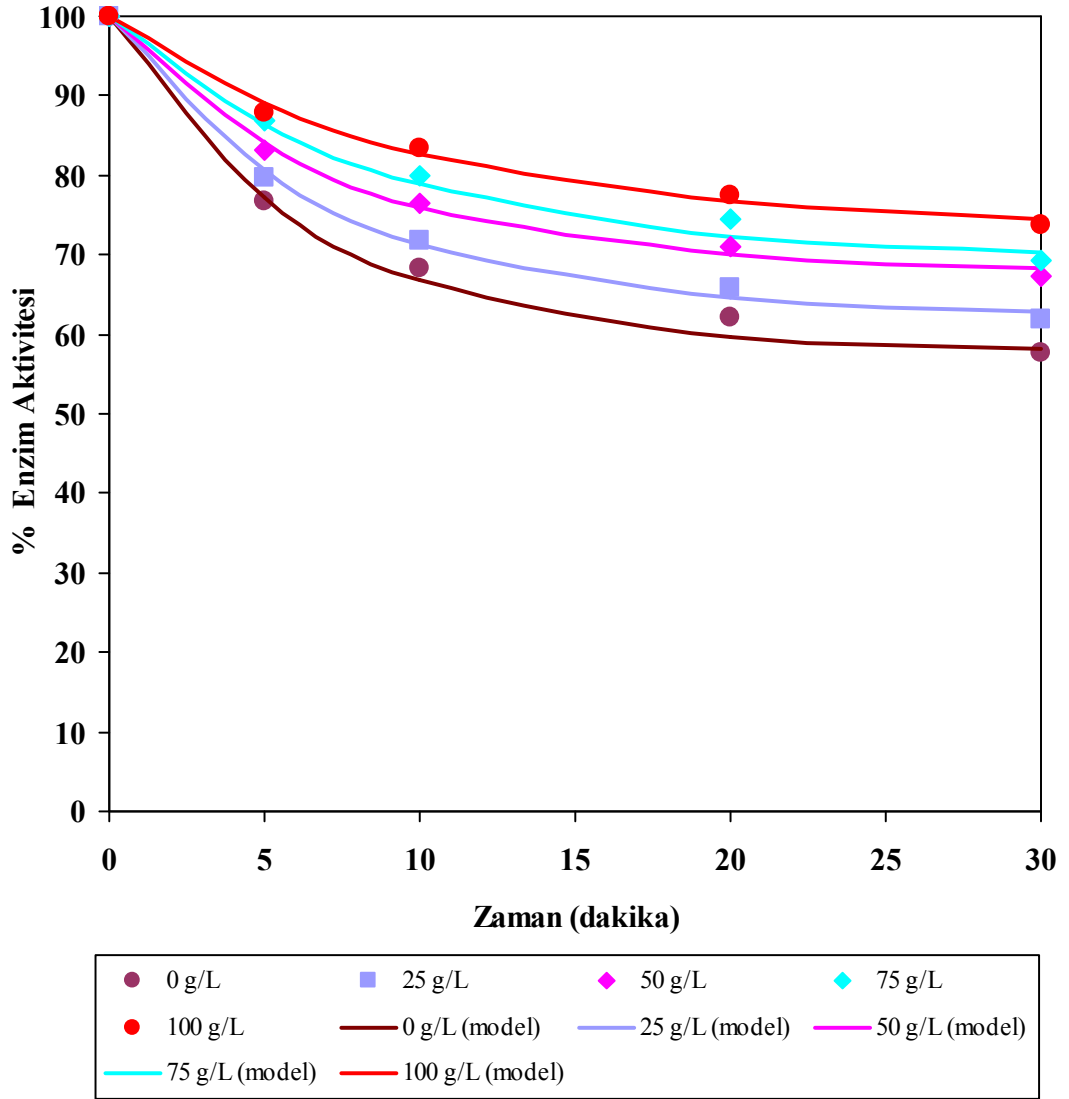
Şekil 9.31 Farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktöz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı glikoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 8, Çizelge E8.2'de verilmiş ve Şekil 9.32'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm glikoz konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.25'te verilmiştir.



Şekil 9.32 Laktozlu ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı glikoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 8, Çizelge E8.3'te verilmiş ve Şekil 9.33'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm glikoz konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.25'te verilmiştir.



Şekil 9.33 Laktozsuz ortamda farklı glikoz konsantasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.25 Farklı glikoz miktarları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[G]	Kalan laktöz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
25	0.0018	0.0034	0.9877	69.60	0.1784	1.1886	0.9966	62.44	0.1448	1.1159	0.9979
50	0.0011	0.0014	0.9928	71.26	0.1564	1.2227	0.9959	67.82	0.1358	1.0054	0.9977
75	0.0008	0.0005	0.9986	72.30	0.1421	1.0523	0.9966	69.27	0.1166	0.9019	0.9979
100	0.0007	0.0004	0.9983	74.61	0.1188	1.0837	0.9955	73.43	0.1048	1.0512	0.9960

*Katsayılara ait birimler; k: L.g laktöz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

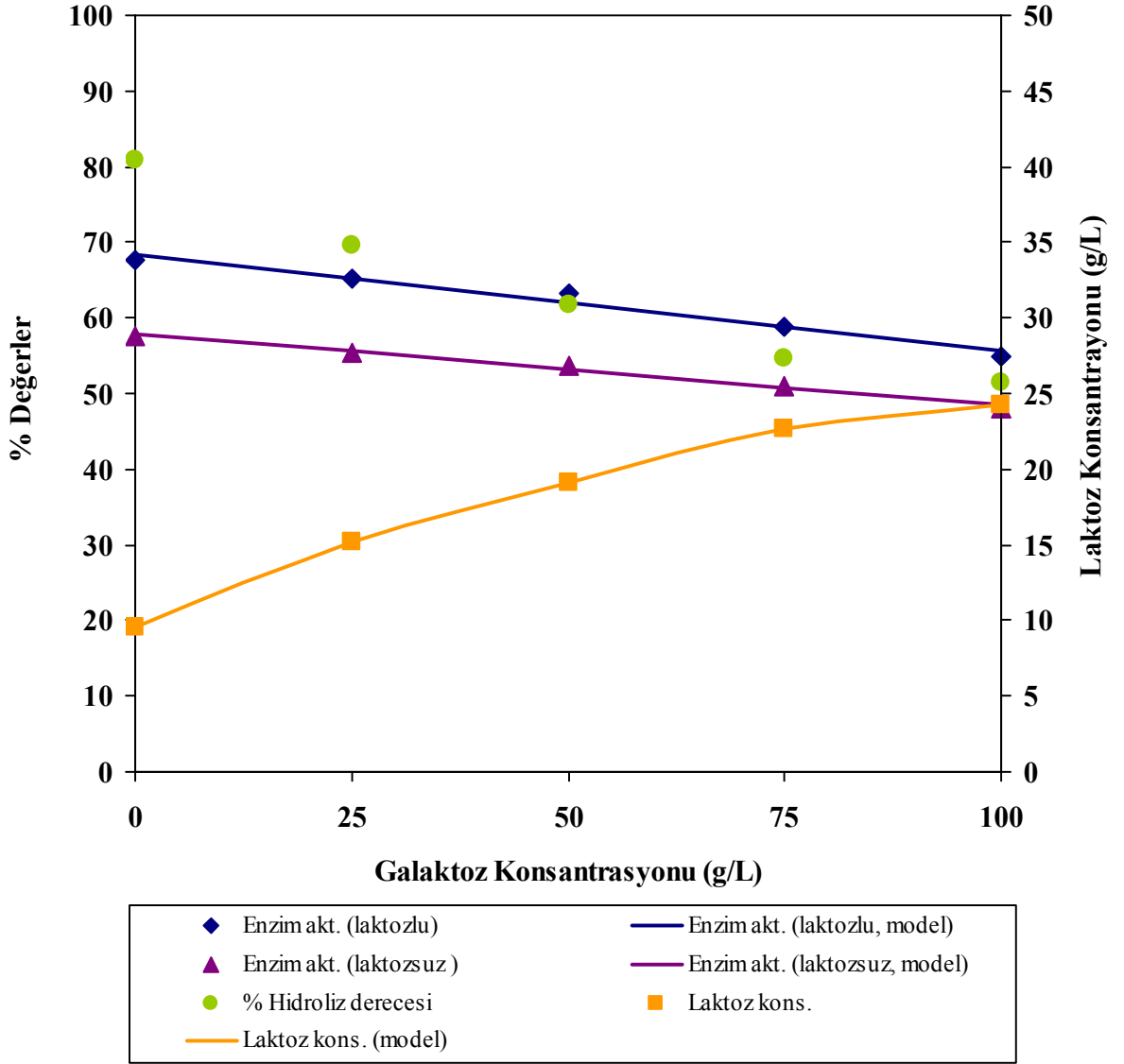
9.1.9 Galaktozun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Bu çalışmada, ürün olarak sadece galaktozun enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. Deneylerde, galaktoz konsantrasyonu 25, 50, 75 ve 100 g/L olacak şekilde, %5 (ağırlık/hacim) oranında laktoz içeren reaksiyon çözeltisine ilave edilmiştir. Galaktozun ilavesi ile reaksiyon çözeltisi 37°C sıcaklık, pH 6.5, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.26'da verilmiş ve Şekil 9.34'te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.26 Farklı galaktoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Galaktoz Miktarı (g/L)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	80.96	67.56	57.67	9.52
25	69.72	65.28	55.45	15.14
50	61.72	63.32	53.67	19.14
75	54.72	58.79	51.03	22.64
100	51.40	55.01	42.01	24.30

Çizelge 9.26 ve Şekil 9.34'te görüldüğü gibi galaktoz ilave edildiğinde hidroliz derecesi düşmektedir. Hidroliz derecesindeki düşüş galaktozun reaksiyonu inhibe ettiğini göstermektedir. Fakat inhibisyonun yüksek galaktoz konsantrasyonlarında artması, hidroliz derecesindeki düşüş için kütle transfer hızının artan konsantrasyonla azalmasında bir etken olduğunu göstermektedir (Hill vd. 1997). Yang ve Okos (1989), Carrara ve Rubiolo (1996) ve Hatzinikolaou vd. (2005) galaktozun rekabetçi inhibitör olduğunu savunmuşlardır.



Şekil 9.34 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun galaktoz konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Ayrıca, elde edilen hidroliz derecesi değerlerinin literatürde elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Ladero vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada, 50 g/L laktoz süt tamponu içerisinde *Escherichia coli* kaynaklı β -Galaktozidaz enzimi kullanılarak, 40°C sıcaklık, pH 7 ve 3.5 mg/L enzim konsantrasyonunda; 15 g/L galaktoz konsantrasyonu için 60 dakika sonunda hidroliz derecesi %4 olarak bulunmuştur. Di Serio vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada ise fosfat tampon çözeltisinde *Kluyveromyces marxianus lactis* kaynaklı β -Galaktozidaz enzimi kullanılarak, 37°C sıcaklık ve pH 7; 10 g/L galaktoz konsantrasyonu için 60 dakika sonunda hidroliz derecesi %32 olarak bulunmuştur.

Galaktoz deneyleri, reaksiyon şartlarında enzim stabilitesinin galaktoz ile değişimini inceleyebilmek amacıyla, aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi galaktoz konsantrasyonu ile azaldığı Şekil 9.34'te görülmektedir.

Laktozlu ve laktozsuz ortamdaki işlem sonunda enzim aktivitelerine bakıldığında, enzim stabilitesinden otamda galaktoz olması durumunda her iki durum içinde enzim stabilitesindeki azalma galaktozun enzimi inaktive ettiğini göstermektedir.

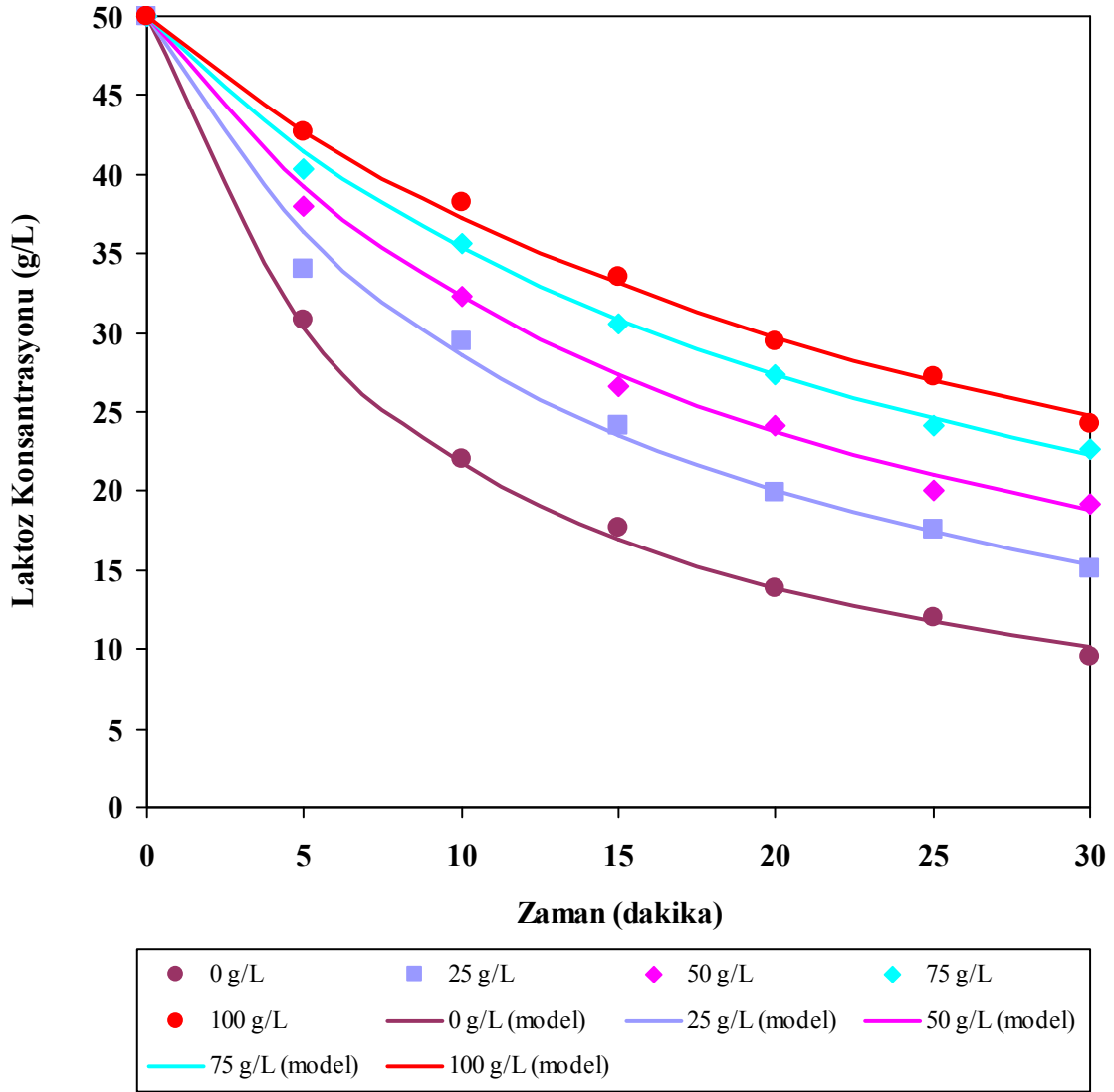
Galaktoz konsantrasyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.27'de verilmiştir.

Çizelge 9.27 Galaktoz konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [Ga]$	a = 10.536 b = 0.1562	1.0058	0.9902
$[A] = a_A + b_A [Ga]$ (laktozlu)	a _A = 68.31 b _A = -0.1264	0.9636	0.9863
$[A] = a_A + b_A [Ga]$ (laktozsuz)	a _A = 57.914 b _A = -0.0949	0.4261	0.9952

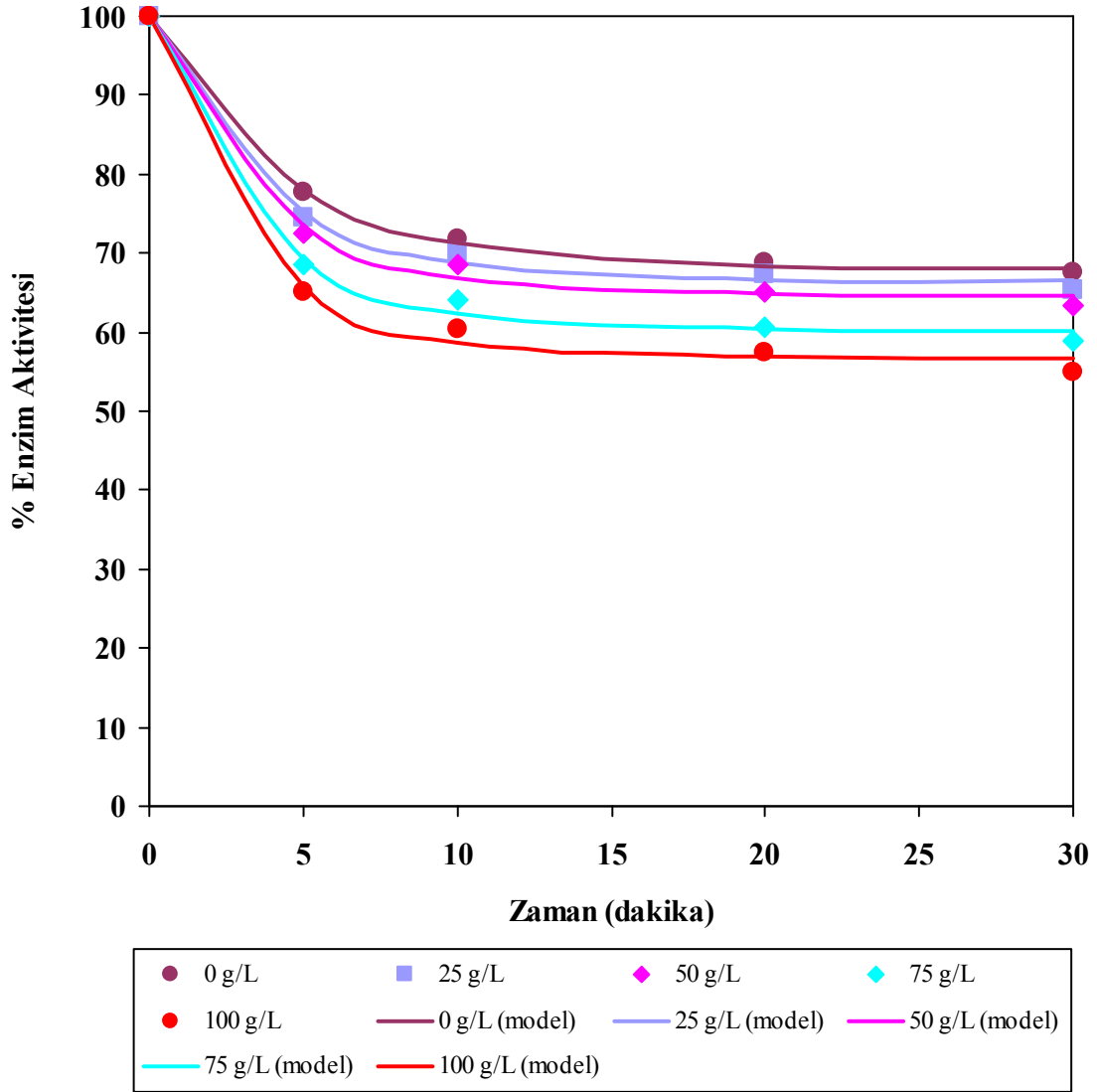
*Katsayılarla ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.(g galaktoz.L⁻¹)⁻¹; a_A: birimsiz; b_A: (g galaktoz.L⁻¹)⁻¹

Laktoz konsantrasyonunun farklı galaktoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 9, Çizelge E9.1'de verilmiş ve Şekil 9.35'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm galaktoz konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.28'de verilmiştir.



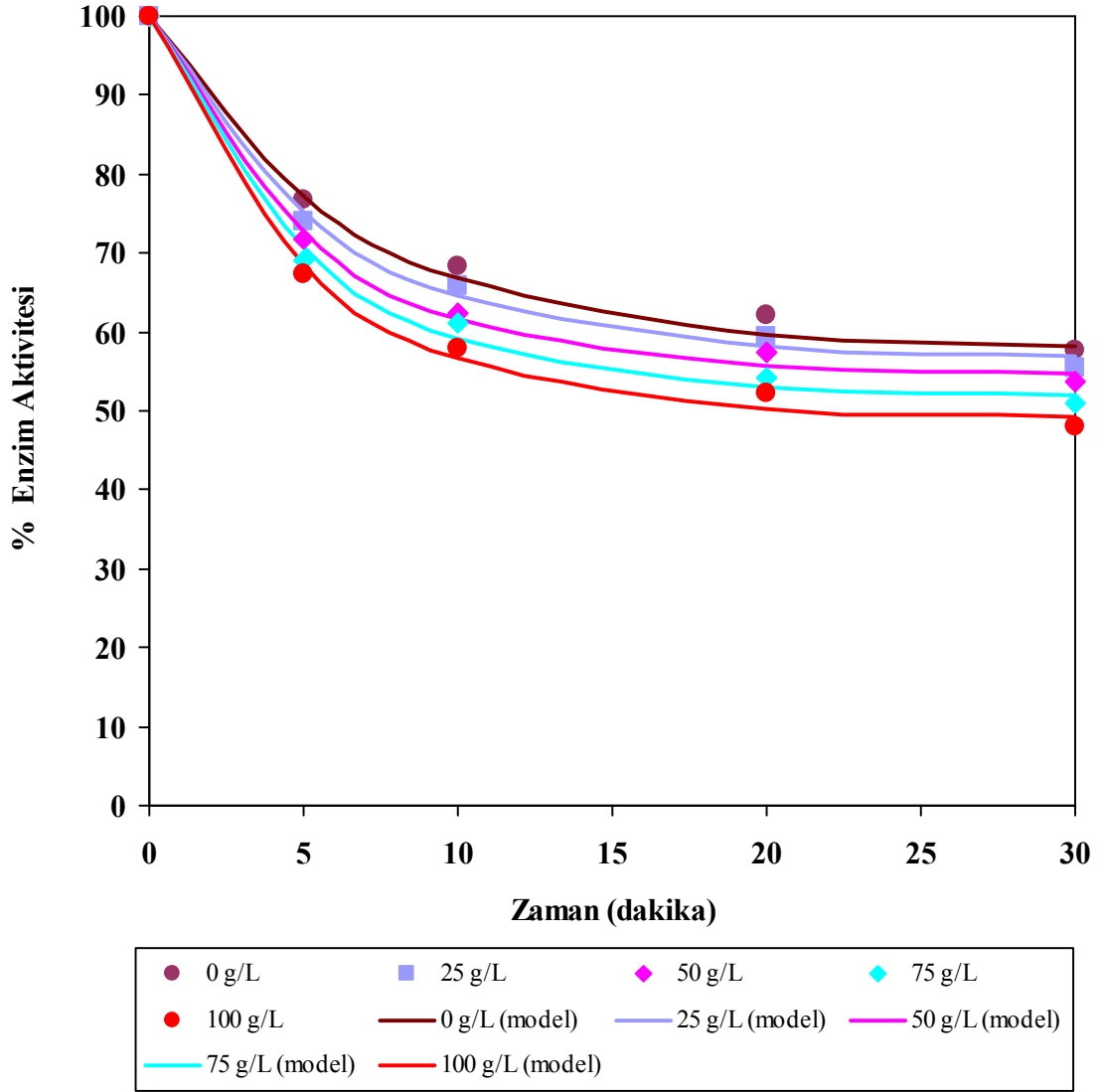
Şekil 9.35 Farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı galaktoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 9, Çizelge E9.2'de verilmiş ve Şekil 9.36'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm galaktoz konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.28'de verilmiştir.



Şekil 9.36 Laktozlu ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı galaktoz konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 9, Çizelge E9.3'te verilmiş ve Şekil 9.37'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm galaktoz konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.28'de verilmiştir.



Şekil 9.37 Laktozsuz ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.28 Farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[Ga]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
25	0.0015	0.0011	0.9976	66.54	0.2704	1.1501	0.9975	56.61	0.1687	1.5319	0.9972
50	0.0011	0.0011	0.9960	64.65	0.2790	1.4233	0.9966	54.39	0.1827	1.7150	0.9969
75	0.0008	0.0005	0.9985	60.16	0.2925	1.4139	0.9974	51.74	0.1861	1.9954	0.9962
100	0.0007	0.0005	0.9981	56.74	0.3136	1.5304	0.9974	49.16	0.1920	2.0899	0.9963

*Katsayılar a ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1},k_{D2}: dakika⁻¹

9.1.10 Çeşitli iyonların hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

9.1.10.1 Mg²⁺ iyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

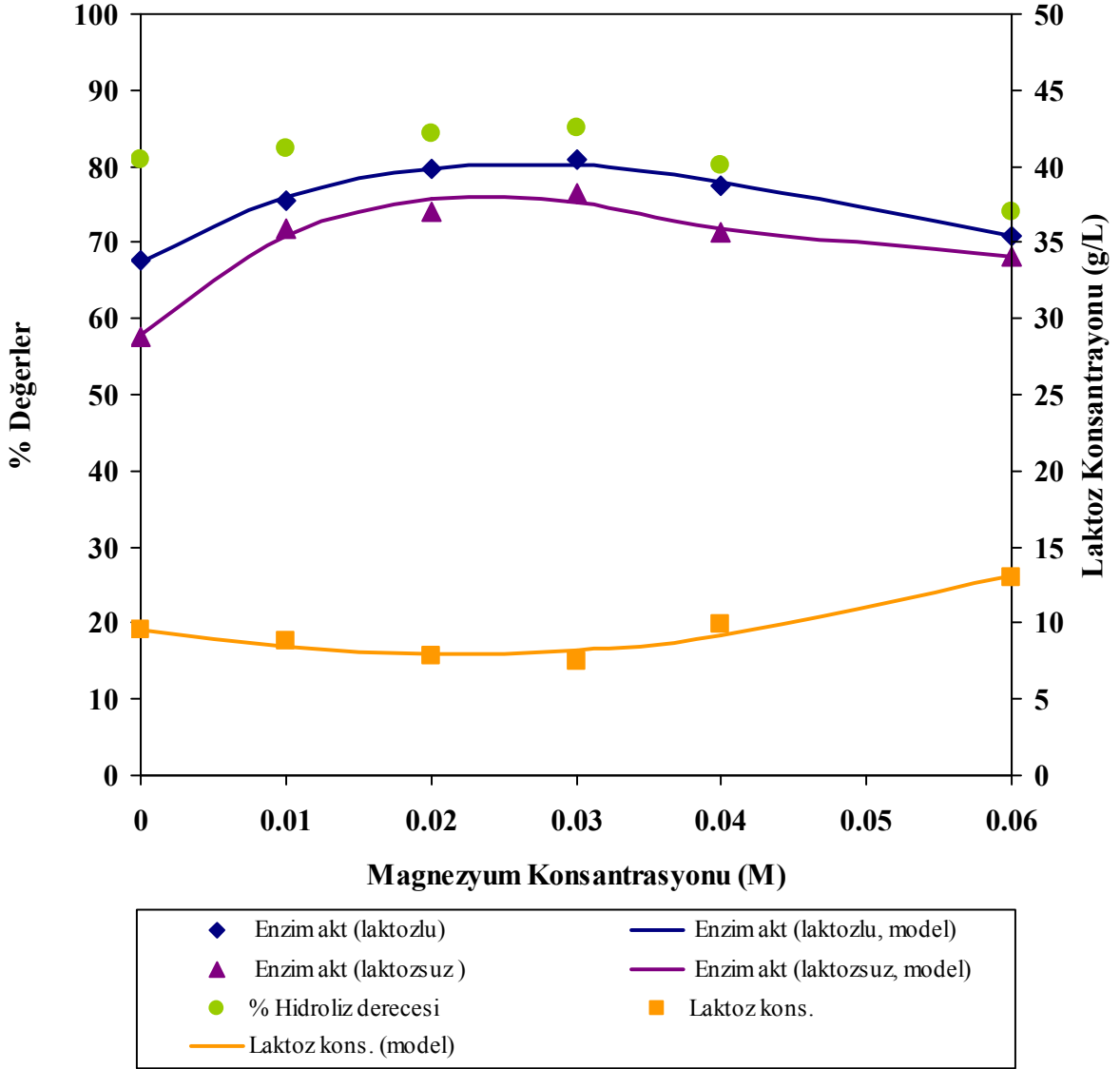
Mg²⁺ iyonunun hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için yapılan deneysel çalışmada Mg²⁺ iyonu, %5 (ağırlık/hacim) oranında laktoz içeren reaksiyon çözeltisinin içerisine, konsantrasyonu 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 ve 0.06 M olacak şekilde ilave edilmiştir. Mg²⁺ ilavesi ile reaksiyon çözeltisi, 37°C sıcaklık, pH 6.5, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.29'da verilmiş ve Şekil 9.38'de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.29 Farklı Mg²⁺ konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Mg ²⁺ Kons. (M)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	80.96	67.56	57.67	9.52
0.01	82.46	75.54	71.76	8.77
0.02	84.24	79.55	74.13	7.88
0.03	85.02	80.97	76.40	7.49
0.04	80.20	77.36	71.44	9.90
0.06	74.04	70.84	68.25	12.98

Çizelge 9.29 ve Şekil 9.38'de görüldüğü gibi 0.03 M Mg²⁺ konsantrasyonuna kadar Mg²⁺ iyonunun artışıyla hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin arttığı görülmektedir. 0.01 M'daki hidroliz derecesi yaklaşık %82 iken Mg²⁺ iyonu ile artarak 0.03 M'da yaklaşık %85 olmuştur. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 0.06 M'da hidroliz derecesi yaklaşık %74'e kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %67'den %71'e (yaklaşık %6) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum magnezyum konsantrasyonu 0.03 M olarak belirlenmiştir. Voget vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada da Mg²⁺ iyonlarının enzim

stabilitesine etkisi incelenmiş ve Mg^{2+} iyonunun ilavesi ile (0.0025-0.005 M) enzimin termal deaktivasyona karşı dayanıklılığının arttığı görülmüştür. Ayrıca, yüksek Mg^{2+} konsantrasyonunun destabilizasyona neden olduğu belirtilmiştir.



Şekil 9.38 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun Mg^{2+} konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Mg^{2+} ilavesi ile β -galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, deneyler aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi Mg^{2+} konsantrasyonu ile arttığı Şekil 9.38'de görülmektedir.

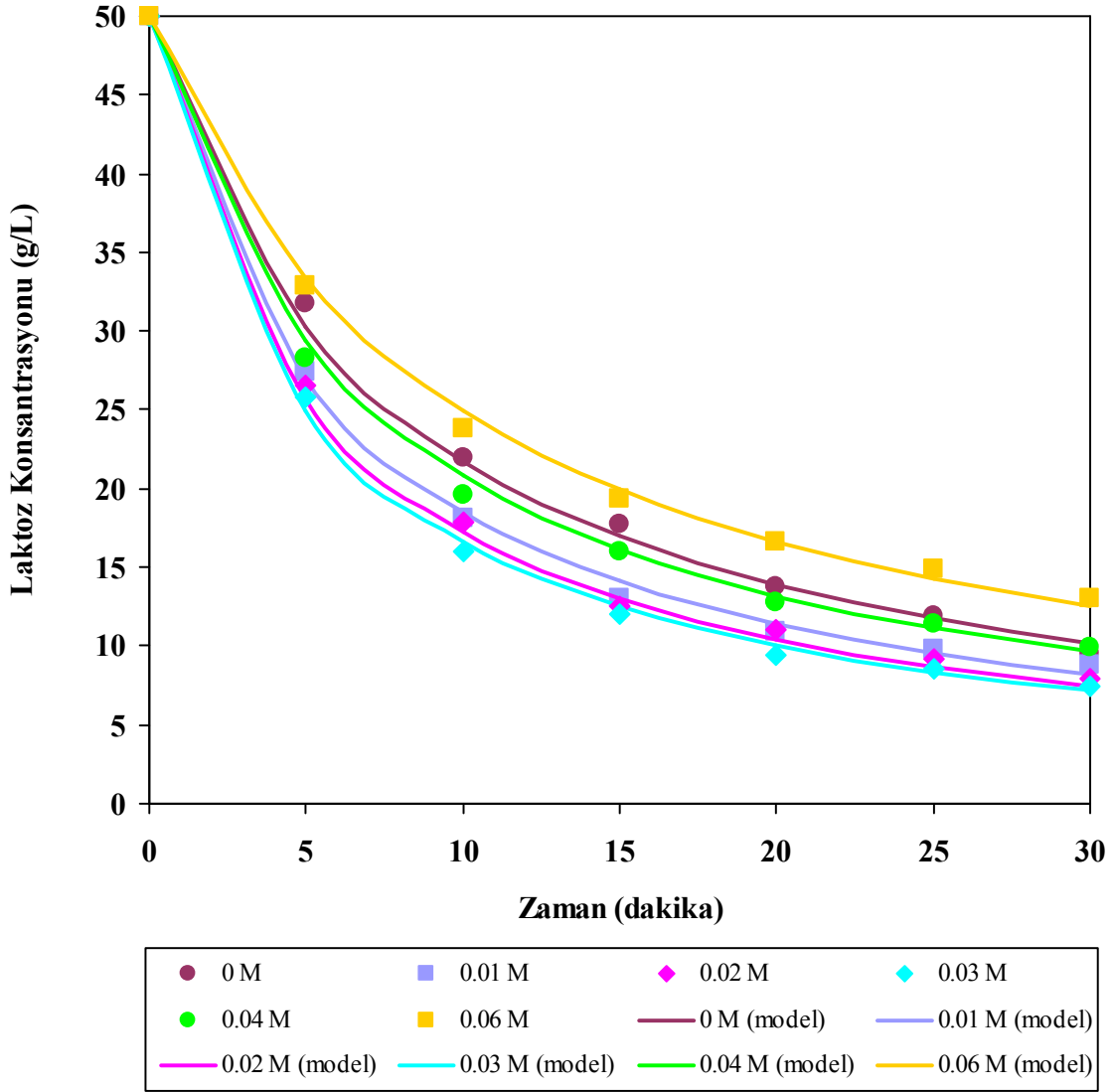
Mg^{2+} iyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.30'da verilmiştir.

Çizelge 9.30 Mg^{2+} konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [Mg] + c [Mg]^2$	a = 9.59 b = -149.83 c = 3476.19	0.6405	0.9678
$[A] = a_A + b_A [Mg] + c_A [Mg]^2$ (laktozlu)	a _A = 68.38 b _A = 763.69 c _A = -12215.48	1.5013	0.9745
$[A] = a_A + b_A [Mg] + c_A [Mg]^2$ (laktozsuz)	a _A = 59.50 b _A = 1076.36 c _A = -16622.62	2.2687	0.9701

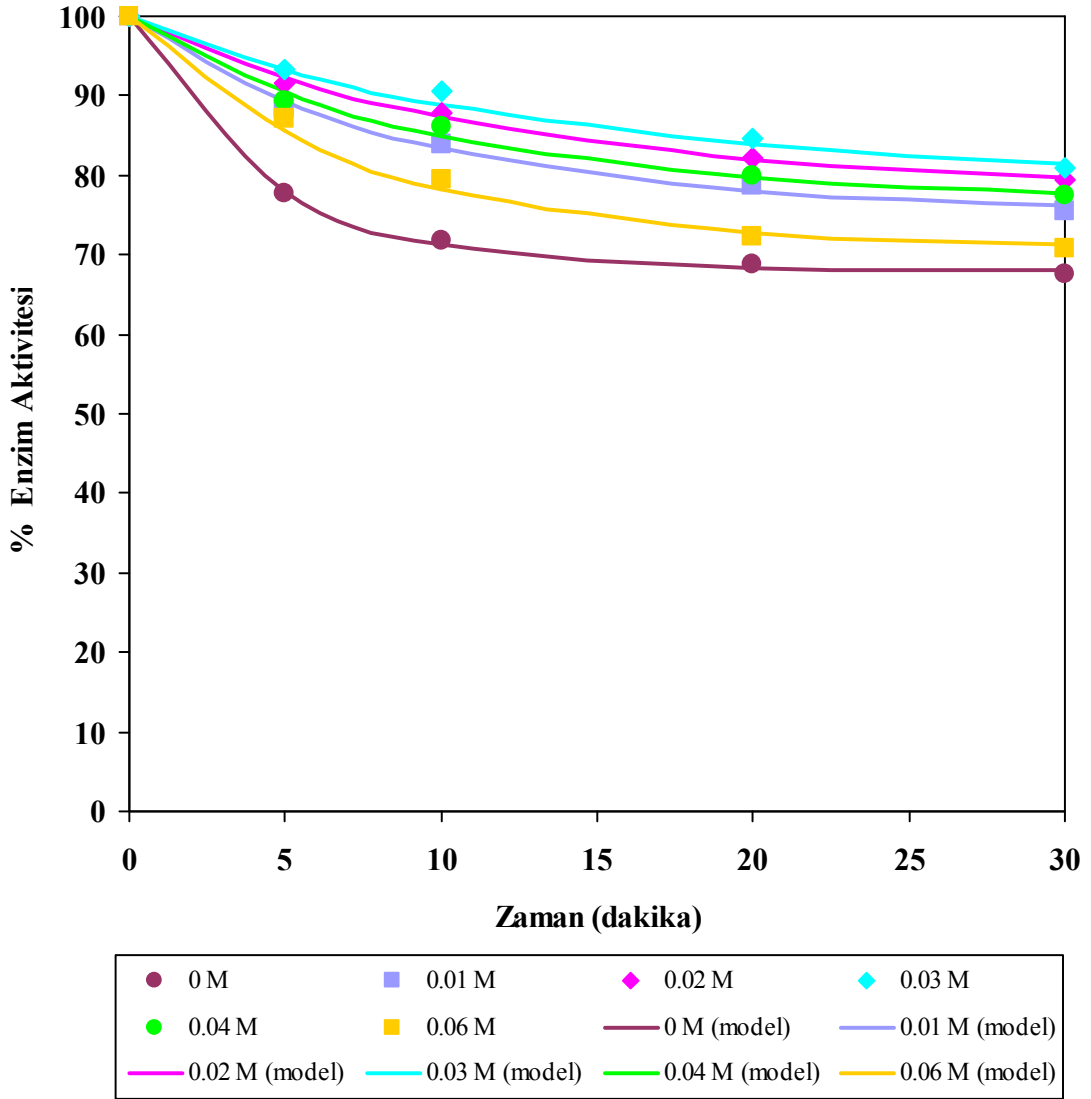
*Katsayılar a ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.(M)⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹.(M)⁻²; a_A: birimsiz; b_A: (M)⁻¹; c_A: (M)⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı Mg^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.1'de verilmiş ve Şekil 9.39'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm Mg^{2+} konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.31'de verilmiştir.



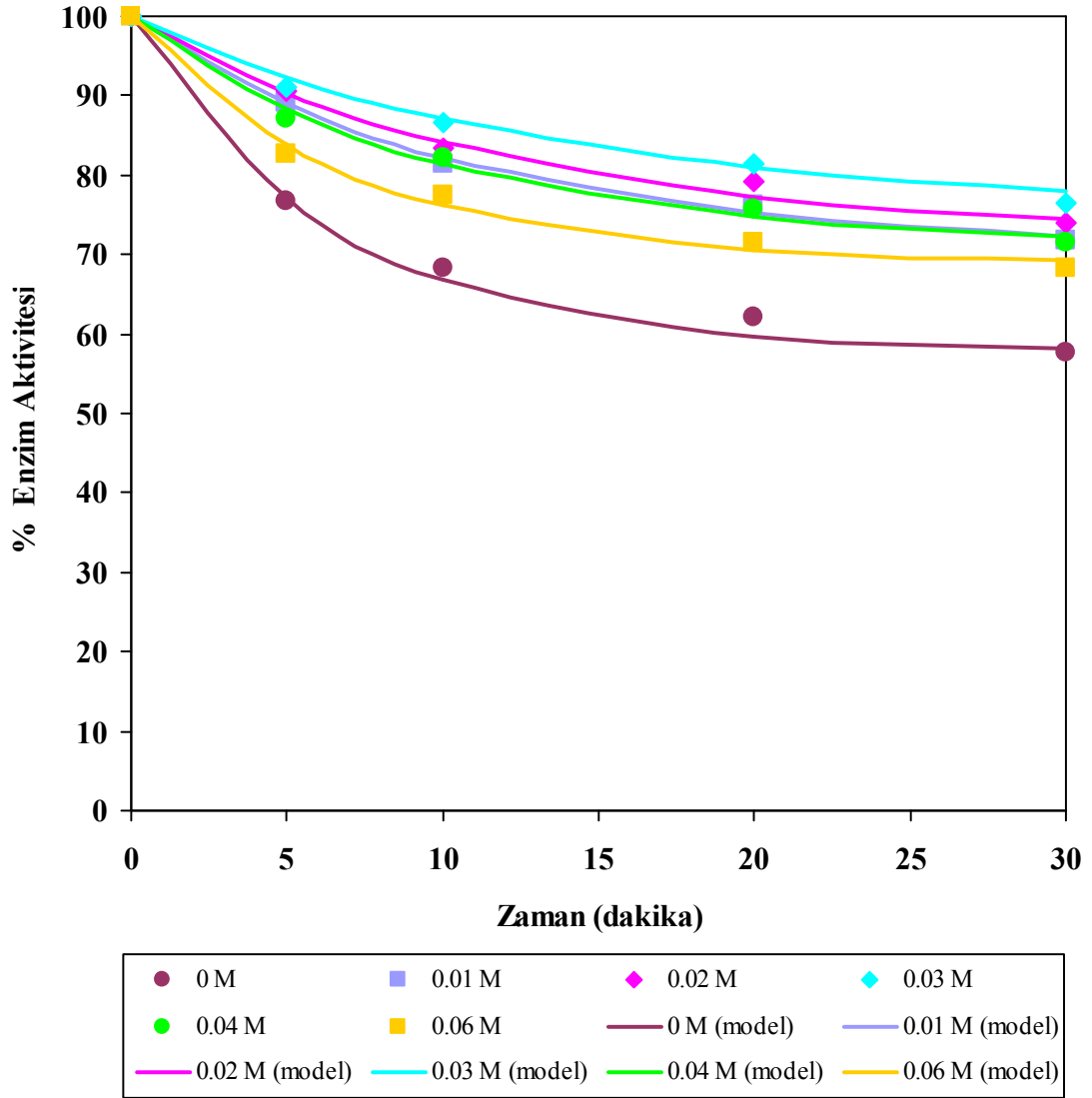
Şekil 9.39 Farklı Mg^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktöz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı Mg^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.2’de verilmiş ve Şekil 9.40’da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm Mg^{2+} konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.31’de verilmiştir.



Şekil 9.40 Laktozlu ortamda farklı Mg^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı Mg^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.3'te verilmiş ve Şekil 9.41'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm Mg^{2+} konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.31'de verilmiştir.



Şekil 9.41 Laktosuz ortamda farklı Mg^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.31 Farklı Mg^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[Mg]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R^2	α_1	k_{D1}	δ	R^2	α_1	k_{D2}	δ	R^2
0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
0.01	0.0034	0.0056	0.9867	75.46	0.1138	0.9517	0.9963	70.52	0.0928	0.8202	0.9979
0.02	0.0038	0.0056	0.9902	78.09	0.0859	0.5294	0.9984	72.29	0.0857	0.4966	0.9991
0.03	0.0040	0.0061	0.9894	79.29	0.0763	0.5905	0.9977	75.17	0.0736	1.9102	0.9821
0.04	0.0028	0.0036	0.9923	76.66	0.1027	1.0178	0.9951	70.61	0.1019	1.7710	0.9958
0.06	0.0020	0.0041	0.9792	70.86	0.1368	0.5063	0.9993	68.85	0.1439	1.3057	0.9959

*Katsayılara ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1}, k_{D2} : dakika⁻¹

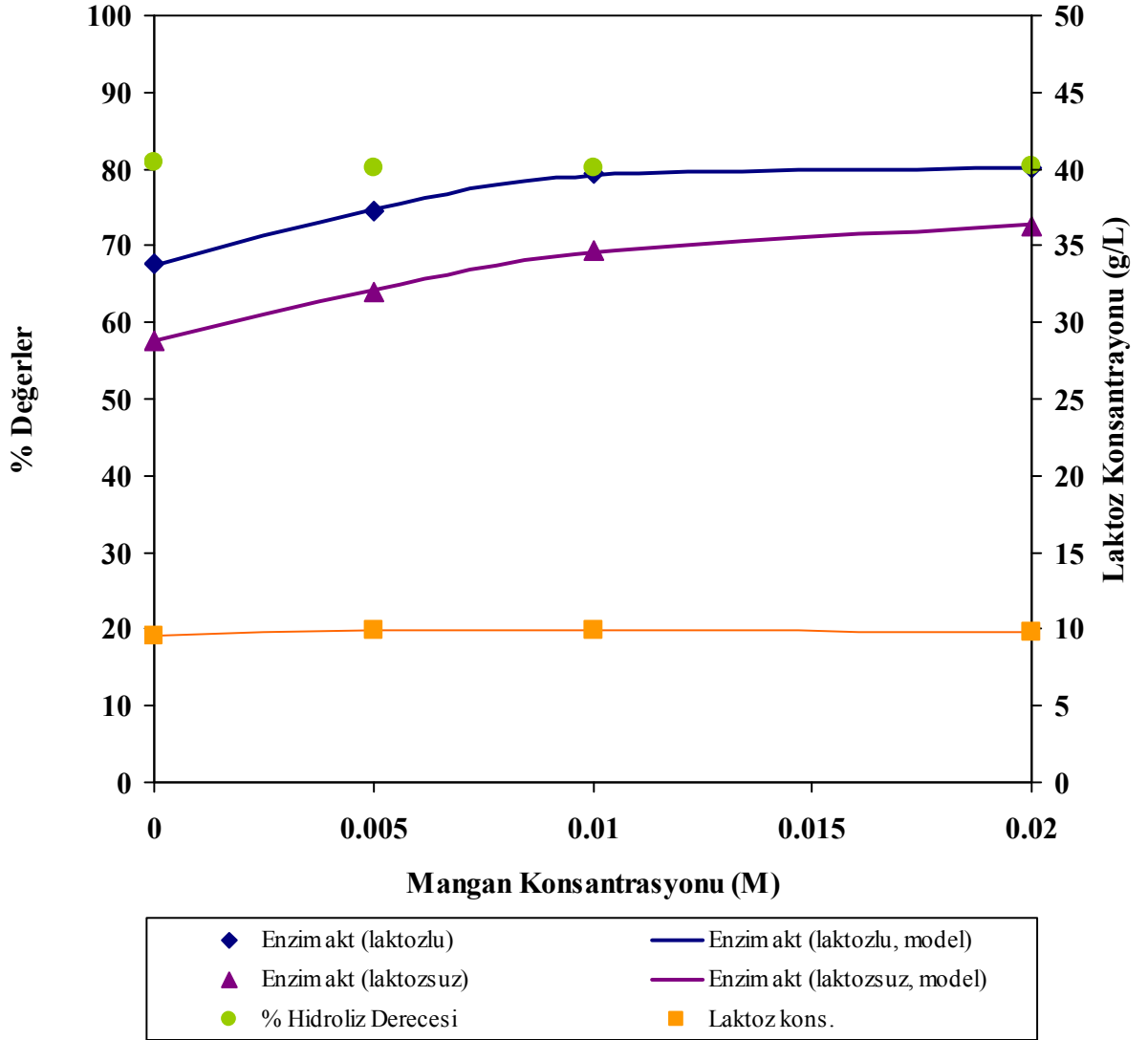
9.1.10.2 Mn²⁺ iyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Mn²⁺ iyonunun hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için yapılan deneysel çalışmada Mn²⁺ iyonu, %5 (ağırlık/hacim) oranında laktoz içeren reaksiyon çözeltisinin içerisine, konsantrasyonu 0.005, 0.01 ve 0.02 M olacak şekilde ilave edilmiştir. Mn²⁺ ilavesi ile reaksiyon çözeltisi, 37°C sıcaklık, pH 6.5, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.32’de verilmiş ve Şekil 9.42’de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.32 Farklı Mn²⁺ konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Mn ²⁺ Kons. (M)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	80.96	67.56	57.67	9.52
0.005	80.06	74.52	69.94	9.97
0.010	80.24	79.36	69.33	9.88
0.020	80.28	80.15	72.66	9.86

Çizelge 9.32 ve Şekil 9.41’de görüldüğü gibi Mn²⁺ konsantrasyonunun artışından hidroliz derecesinin etkilenmediği, enzim aktivitesinin ise arttığı görülmektedir. 0.01 M’daki hidroliz derecesi yaklaşık %81 iken 0.02 M’da aynı kalmıştır. Buna karşılık, belirtilen konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %67’den %80’e (yaklaşık %19) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre mangan iyonlarının enzimi aktive ettiği görülmektedir. Voget vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada da Mn²⁺ iyonlarının enzim stabilitesine etkisi incelenmiş ve Mn²⁺ iyonunun ilavesi ile (0.0001-0.0002 M) enzimin termal deaktivasyona karşı dayanıklılığının arttığı görülmüştür. Buna karşılık, iki değerlikli iyonların katalitik proseste direkt olarak etkili olmaktan çok yapısal bir rol oynadığı belirtilmiştir.



Şekil 9.42 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun Mn^{2+} konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Mn^{2+} ilavesi ile β -galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, deneyler aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi Mn^{2+} konsantrasyonu ile arttığı Şekil 9.42'de görülmektedir.

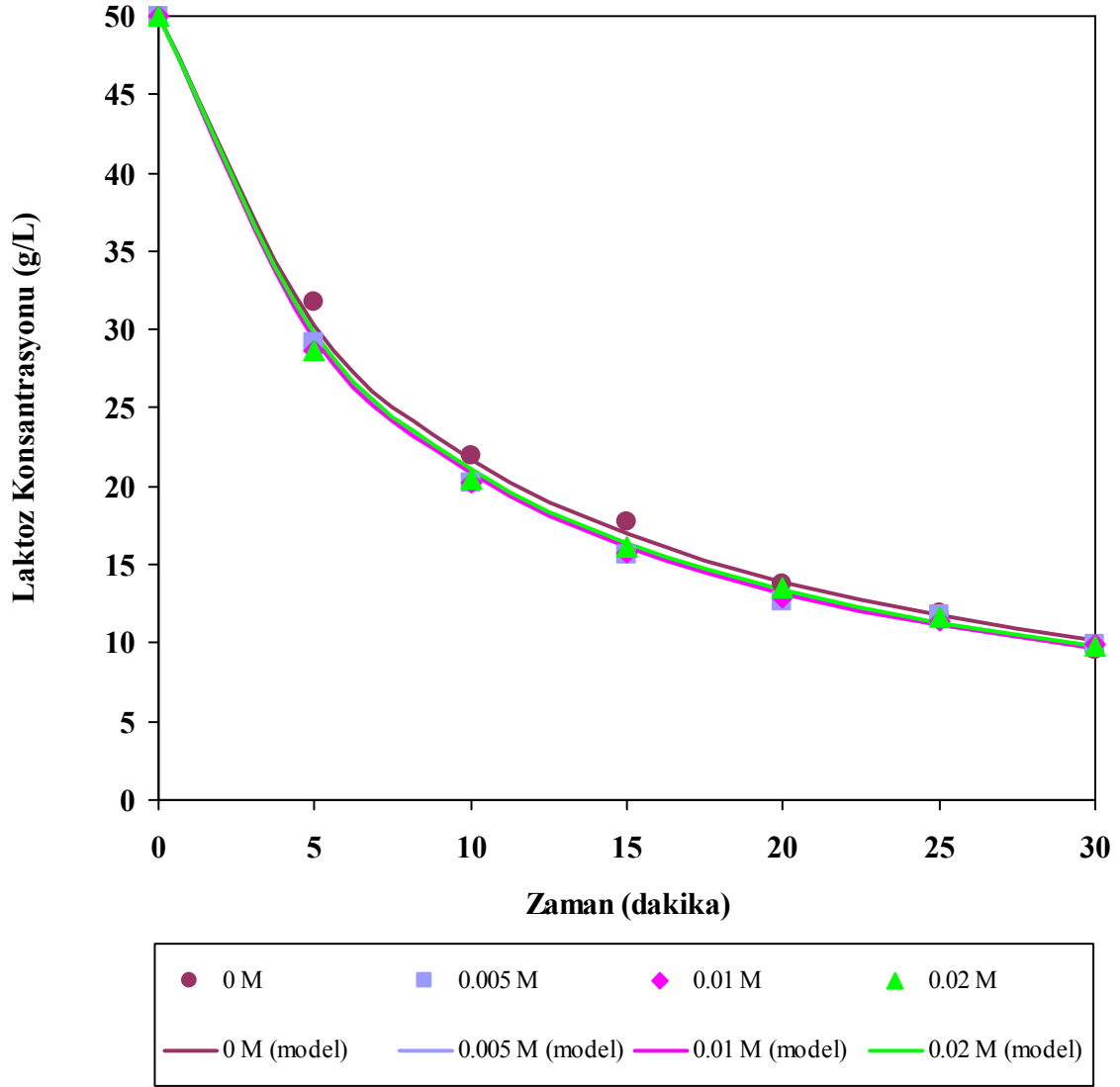
Mn^{2+} iyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.33'te verilmiştir.

Çizelge 9.33 Mn^{2+} konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R^2
$[A] = a_A + b_A [Mn] + c_A [Mn]^2$ (laktozlu)	$a_A = 67.491$ $b_A = 1712.1$ $c_A = -53900$	0.2412	0.9997
$[A] = a_A + b_A [Mn] + c_A [Mn]^2$ (laktozsuz)	$a_A = 57.5388$ $b_A = 1547.5182$ $c_A = -39463.636$	0.4586	0.9992

*Katsayılarla ait birimler; a_A : birimsiz; b_A : (M)⁻¹; c_A : (M)⁻²; d_A : (M)⁻³

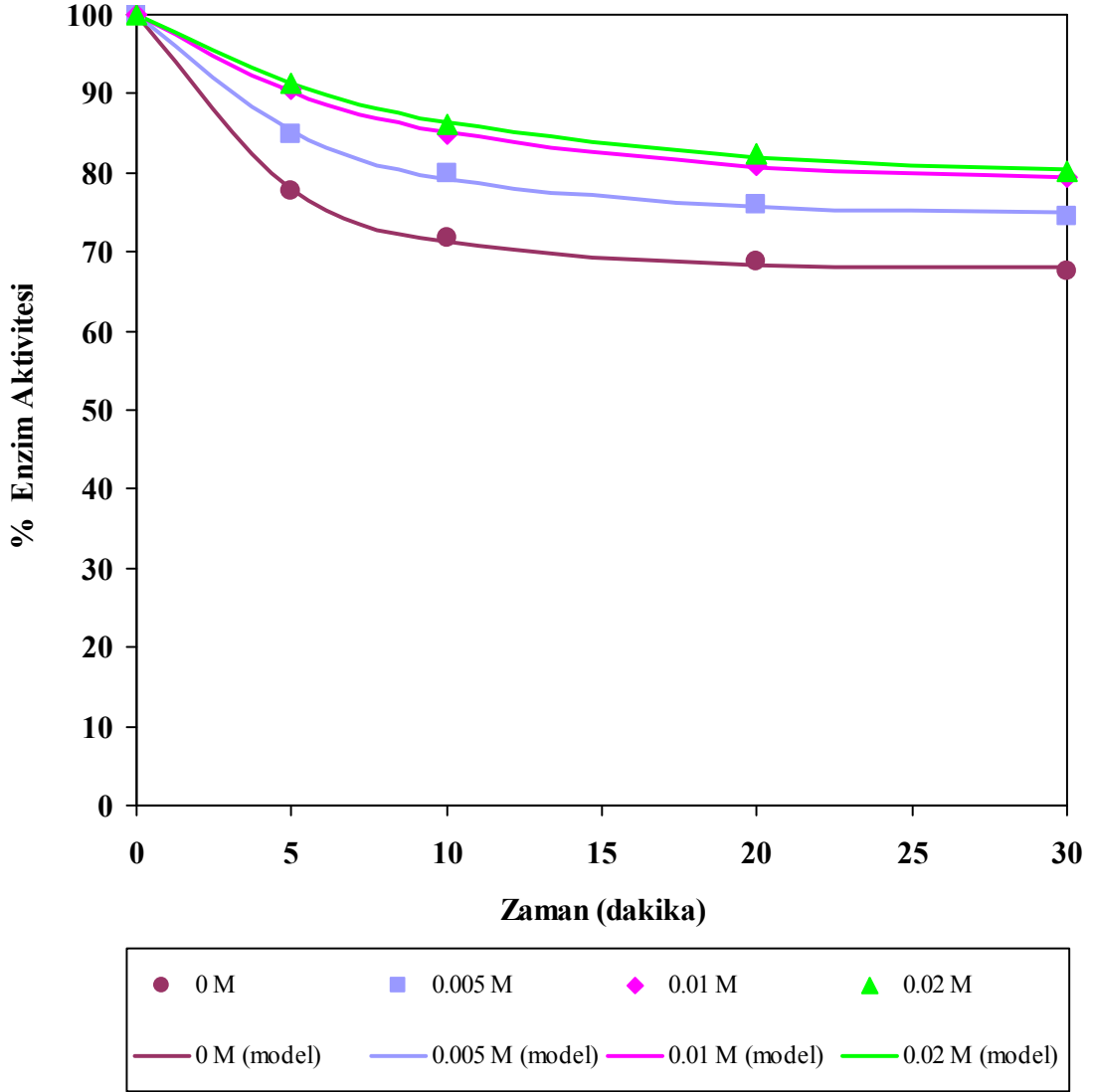
Laktoz konsantrasyonunun farklı Mn^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.4'te verilmiş ve Şekil 9.43'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm mangan konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.34'te verilmiştir.



Şekil 9.43 Farklı Mn^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı Mn^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.5'te verilmiş ve Şekil 9.44'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm mangan konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2).

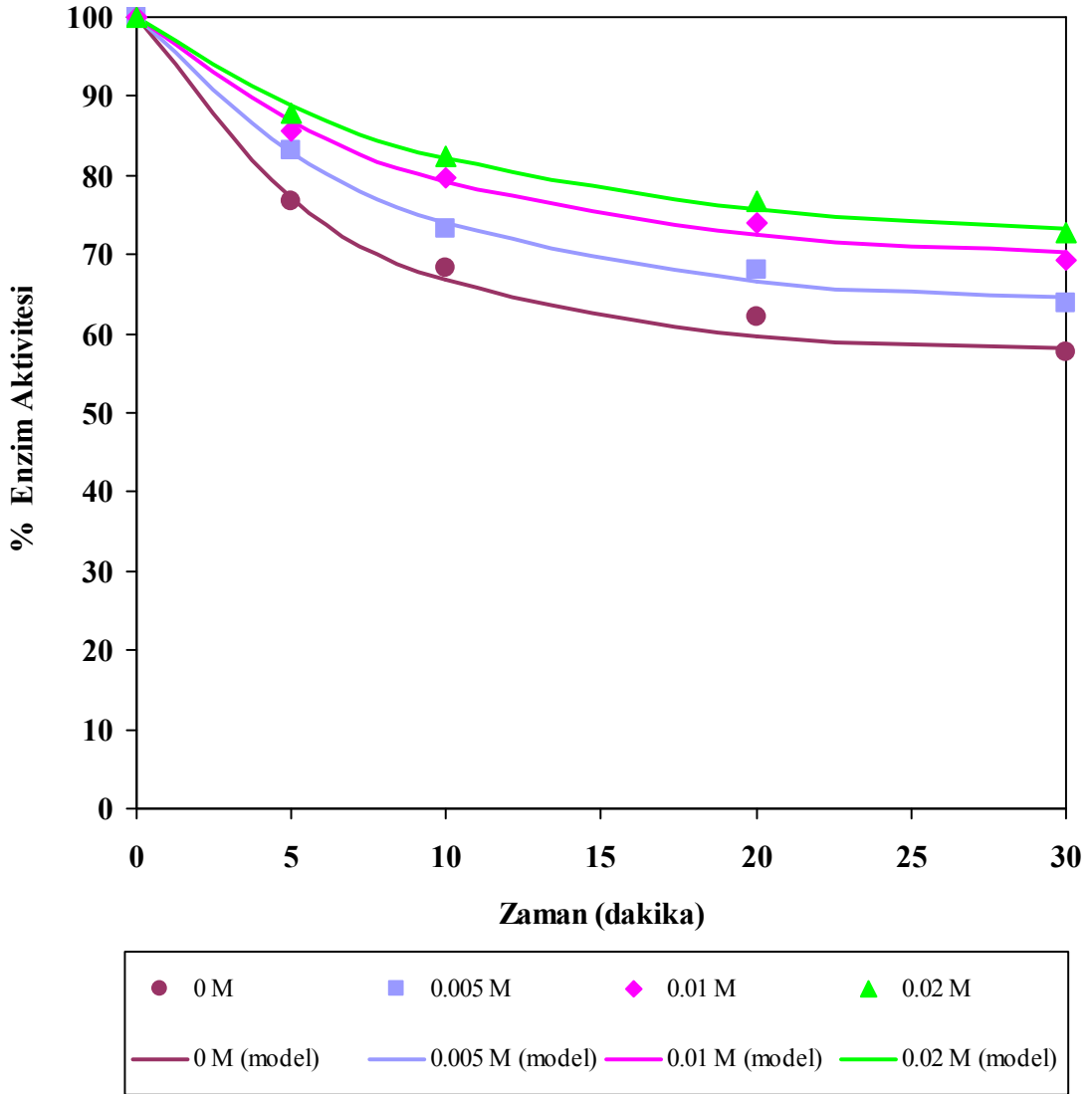
Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.34'te verilmiştir.



Şekil 9.44 Laktozlu ortamda farklı Mn^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı Mn^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.6'da verilmiş ve Şekil 9.45'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm mangan konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman

arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görölmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.34'te verilmiştir.



Şekil 9.45 Laktozsuz ortamda farklı Mn^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.34 Farklı Mn^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[Mn]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R^2	α_1	k_{D1}	δ	R^2	α_1	k_{D2}	δ	R^2
0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
0.005	0.0028	0.0040	0.9904	74.91	0.1738	0.5857	0.9988	63.94	0.1286	0.9683	0.9983
0.01	0.0028	0.0030	0.9947	78.88	0.1205	0.1997	0.9998	69.36	0.1126	1.2233	0.9960
0.02	0.0027	0.0026	0.9959	79.74	0.1126	0.3267	0.9994	72.10	0.1027	0.8602	0.9976

*Katsayılar ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1}, k_{D2} : dakika⁻¹

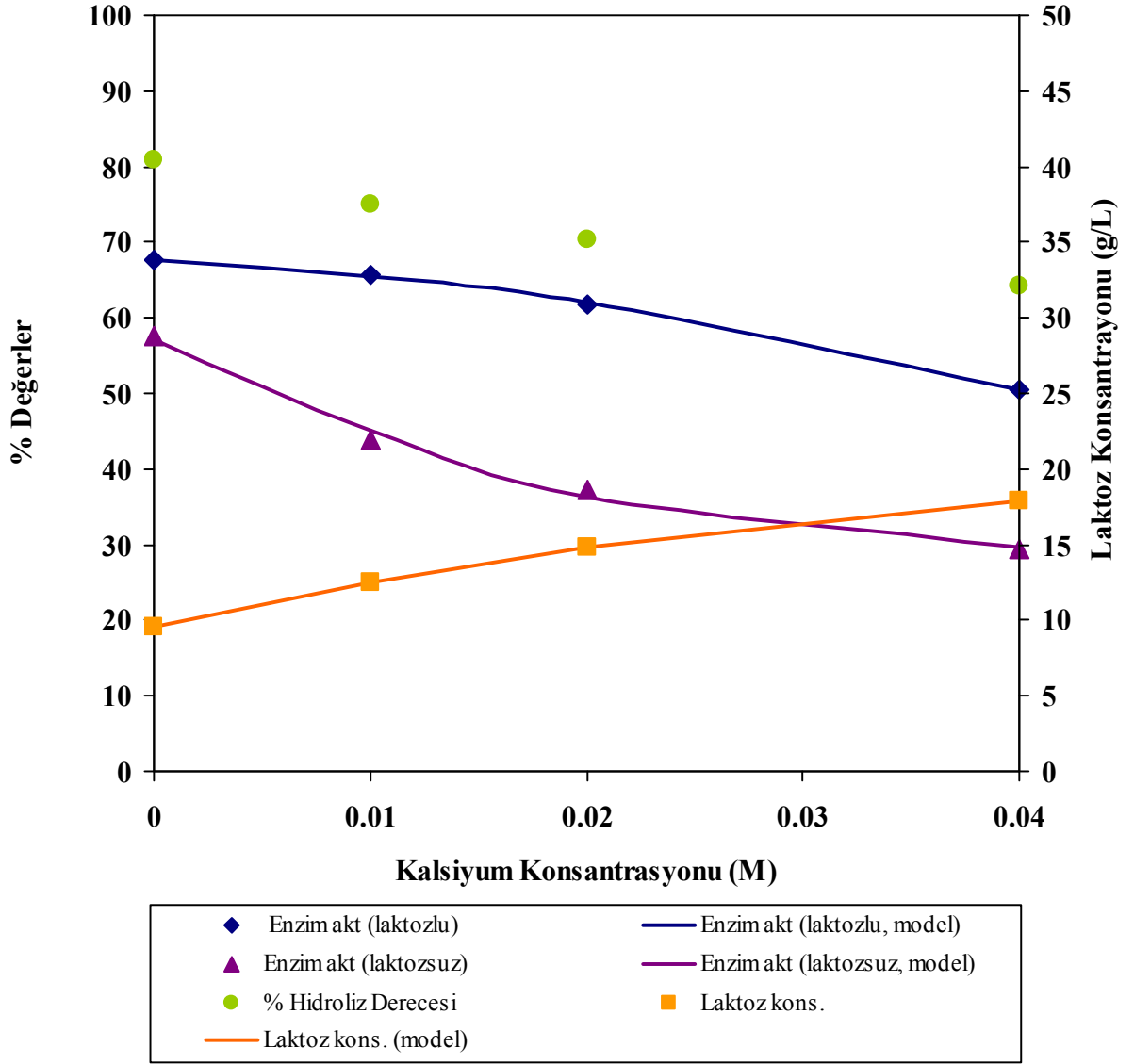
9.1.10.3 Ca²⁺ iyonunun hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Ca²⁺ iyonunun hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için yapılan deneysel çalışmada Ca²⁺ iyonu, %5 (ağırlık/hacim) oranında laktoz içeren reaksiyon çözeltisinin içerisine, konsantrasyonu 0.01, 0.02 ve 0.04 M olacak şekilde ilave edilmiştir. Ca²⁺ ilavesi ile reaksiyon çözeltisi, 37°C sıcaklık, pH 6.5, 300 devir/dakika karıştırıcı hızında 1 ml/L enzim ilavesi ile 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.35'te verilmiş ve Şekil 9.46'da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.35 Farklı Ca²⁺ konsantrasyonlarına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Ca ²⁺ Kons. (M)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0	80.96	67.56	57.67	9.52
0.01	75.10	65.69	43.82	12.45
0.02	70.28	61.76	37.25	14.86
0.04	64.32	50.44	29.43	17.84

Çizelge 9.35 ve Şekil 9.46'da görüldüğü gibi Ca²⁺ konsantrasyonunun artışı ile hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin azaldığı görülmektedir. 0.01 M'daki hidroliz derecesi yaklaşık %75 iken 0.04 M'da yaklaşık %64 olmuştur. Aynı zamanda, belirtilen konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %67'den %50'ye (yaklaşık %25) azalmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre kalsiyum iyonlarının enzimi inaktive ettiği görülmektedir.



Şekil 9.46 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun Ca^{2+} konsantrasyonu ile değişimi (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Ca^{2+} ilavesi ile β -galaktozidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, deneyler aynı koşullarda laktozsuz ortam için tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi Ca^{2+} ile azaldığı Şekil 9.46'da görülmektedir. Laktozsuz ortamda, kalsiyum iyonunun *Kluyveromyces lactis* kaynaklı β -galaktozidaz enziminin aktivitesine etkisi Voget vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada da incelenmiş ve 37°C'de pH'ı 6.6 olan fosfat tampon çözeltisi içinde 30 dakika sonunda, kalsiyum konsantrasyonunun 0 M'dan 0.03 M'a yükseltilmesi ile enzimin yaklaşık olarak %33 oranında inaktive olduğu görülmüştür.

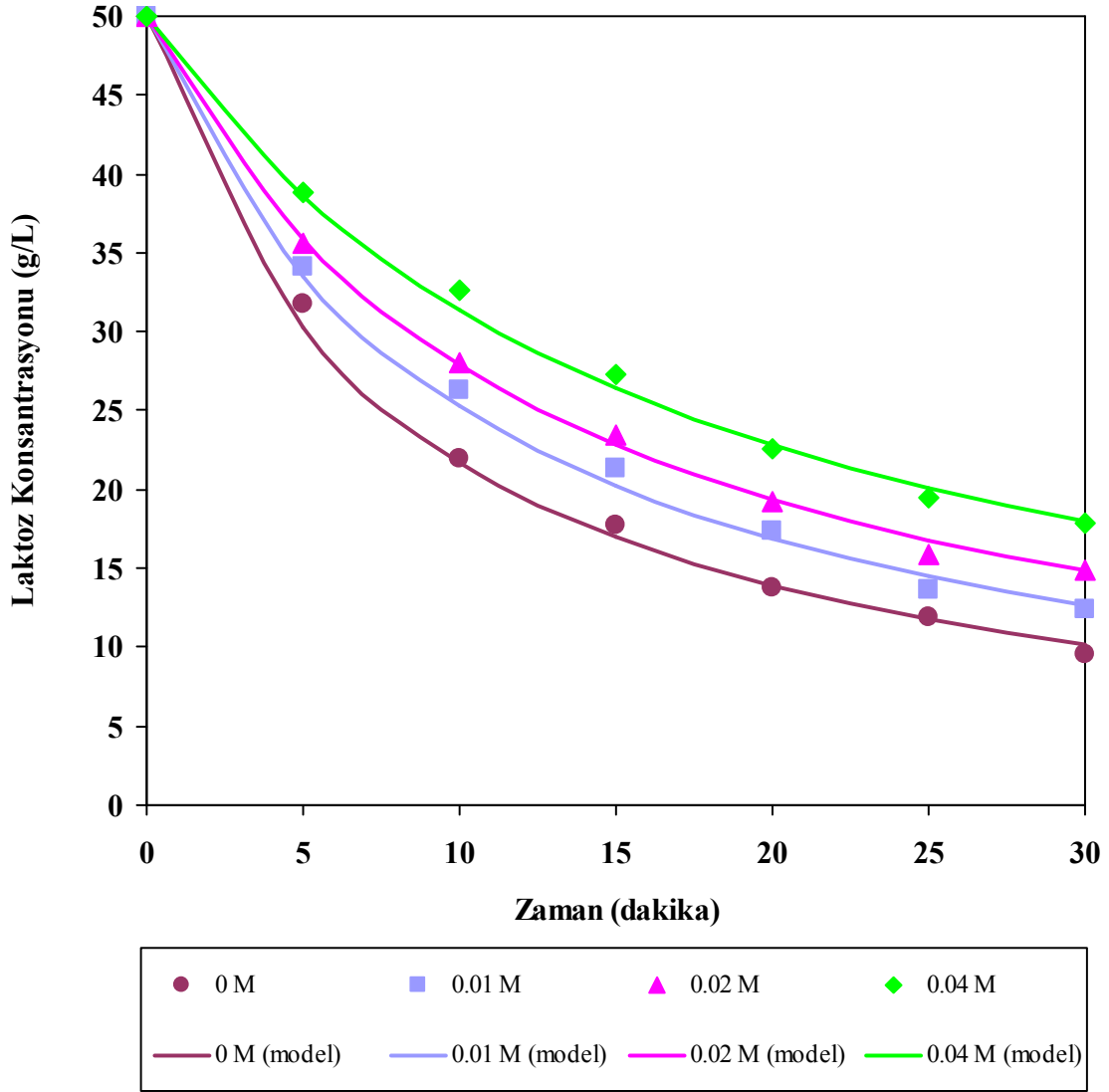
Ca^{2+} iyonunun ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.36'da verilmiştir.

Çizelge 9.36 Ca^{2+} konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[\text{C}_L] = a + b [\text{Ca}] + c [\text{Ca}]^2$	a = 9.5124 b = 324.9818 c = -2918.1818	0.0267	0.9999
$[\text{A}] = a_A + b_A [\text{Ca}] + c_A [\text{Ca}]^2$ (laktozlu)	$a_A = 67.6342$ $b_A = -142.1091$ $c_A = -7209.0909$	0.2593	0.9998
$[\text{A}] = a_A + b_A [\text{Ca}] + c_A [\text{Ca}]^2$ (laktozsuz)	$a_A = 57.2195$ $b_A = -1396.0727$ $c_A = 17627.273$	1.5751	0.9977

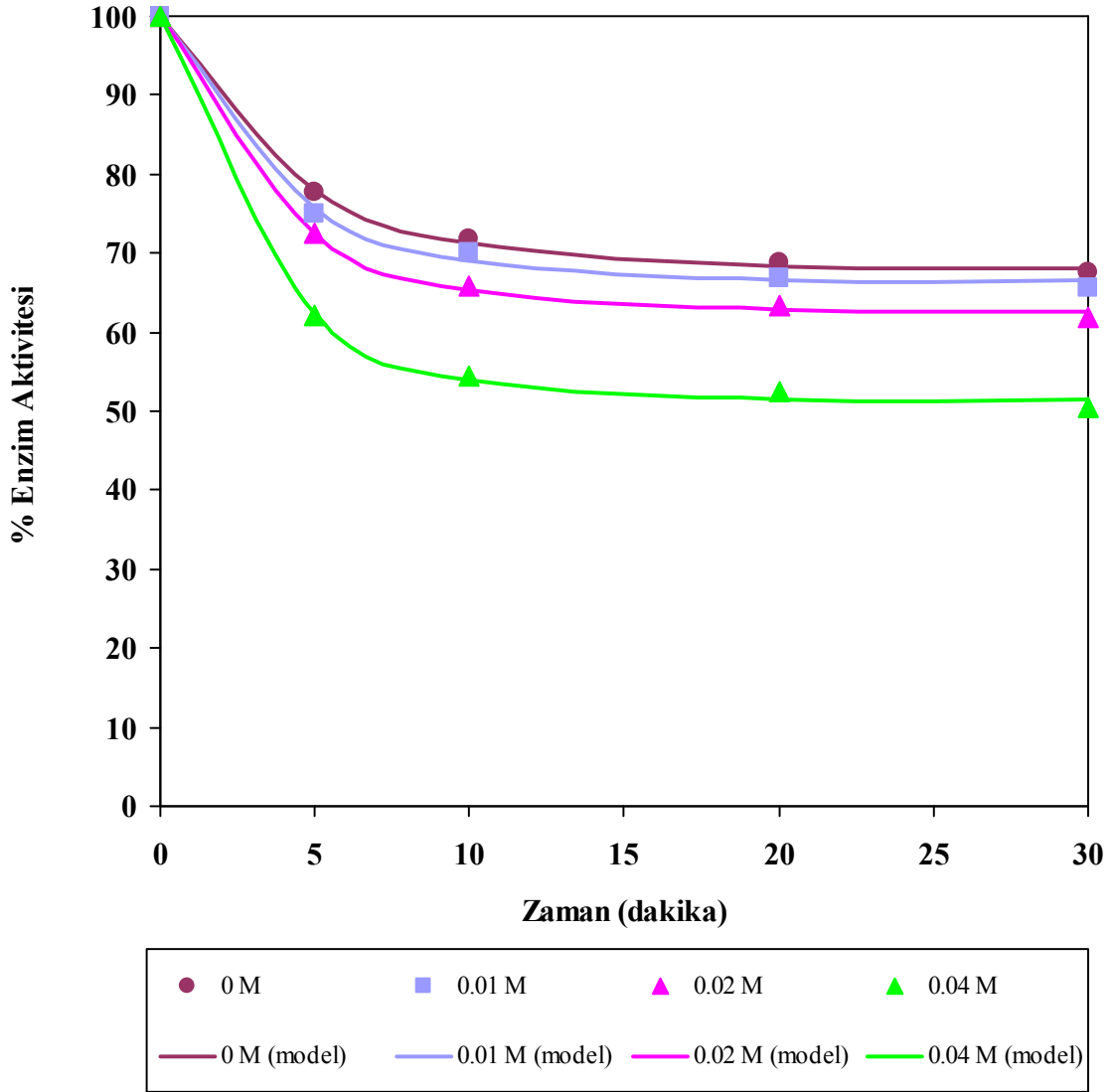
*Katsayılara ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.(M)⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹.(M)⁻²; d: g laktoz.L⁻¹.(M)⁻³ a_A: birimsiz; b_A: (M)⁻¹; c_A: (M)⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı Ca^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.7'de verilmiş ve Şekil 9.47'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm kalsiyum konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin ikinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.37'de verilmiştir.



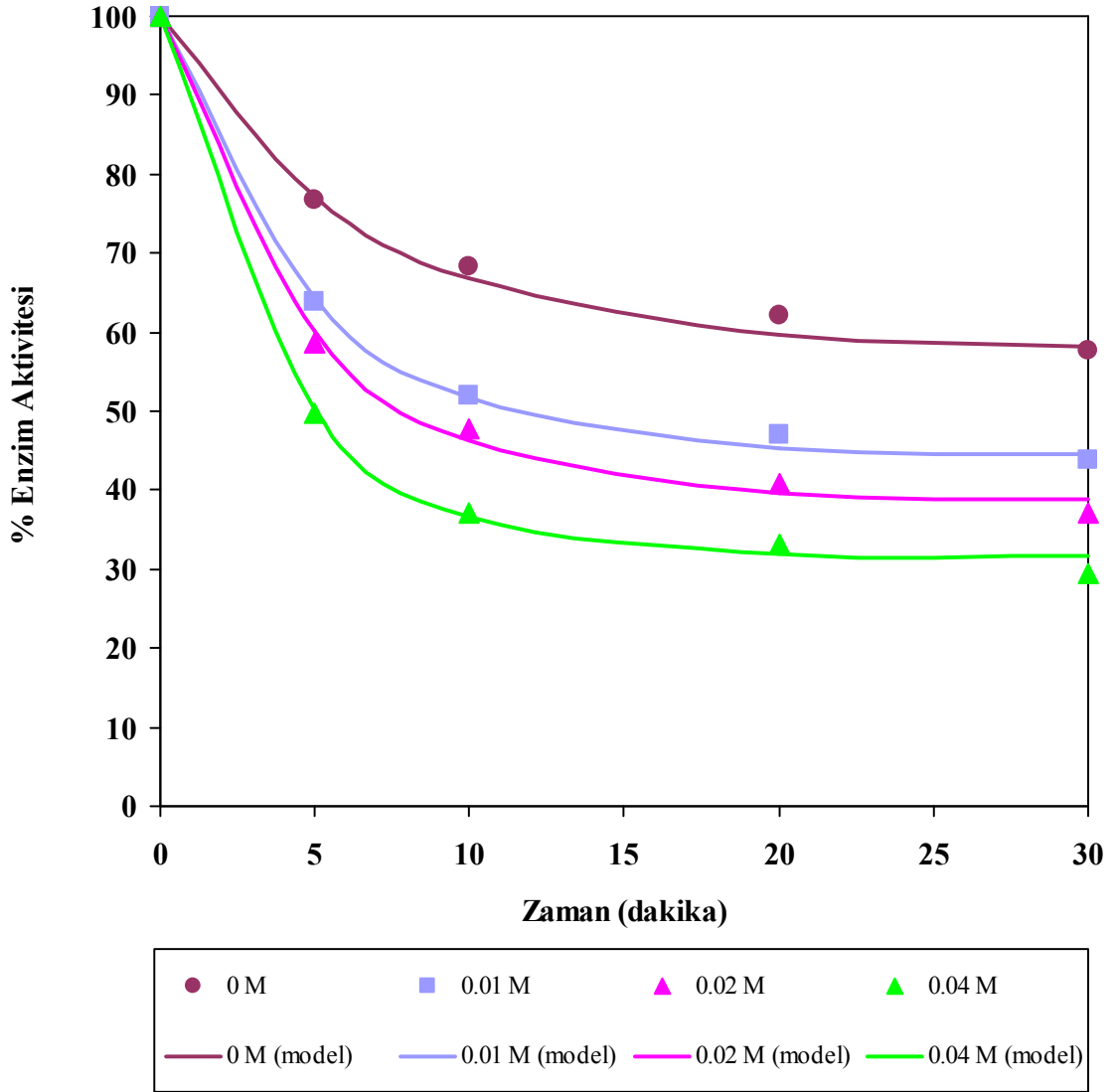
Şekil 9.47 Farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı Ca^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.8’de verilmiş ve Şekil 9.48’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm kalsiyum konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.37’de verilmiştir.



Şekil 9.48 Laktozlu ortamda farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı Ca^{2+} konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 10, Çizelge E10.9'da verilmiş ve Şekil 9.49'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm kalsiyum konsantrasyonları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik Çizelge 9.37'de verilmiştir.



Şekil 9.49 Laktozsuz ortamda farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T=37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.37 Farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

[Ca]	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R^2	α_1	k_{D1}	δ	R^2	α_1	k_{D2}	δ	R^2
0	0.0029	0.0054	0.9851	68.14	0.2348	0.5628	0.9993	58.69	0.1545	1.4207	0.9973
0.005	0.0019	0.0033	0.9898	66.47	0.2594	0.8234	0.9987	44.42	0.2040	1.4688	0.9985
0.01	0.0016	0.0027	0.9892	62.63	0.2635	0.5605	0.9994	38.82	0.2107	2.3429	0.9968
0.02	0.0012	0.0012	0.9961	51.46	0.2968	0.7999	0.9994	31.63	0.2613	1.7961	0.9986

*Katsayılar ait birimler; k: L.g laktoz⁻¹.dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_{D1}, k_{D2} : dakika⁻¹

9.2 Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

9.2.1 Akustik gücün hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

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

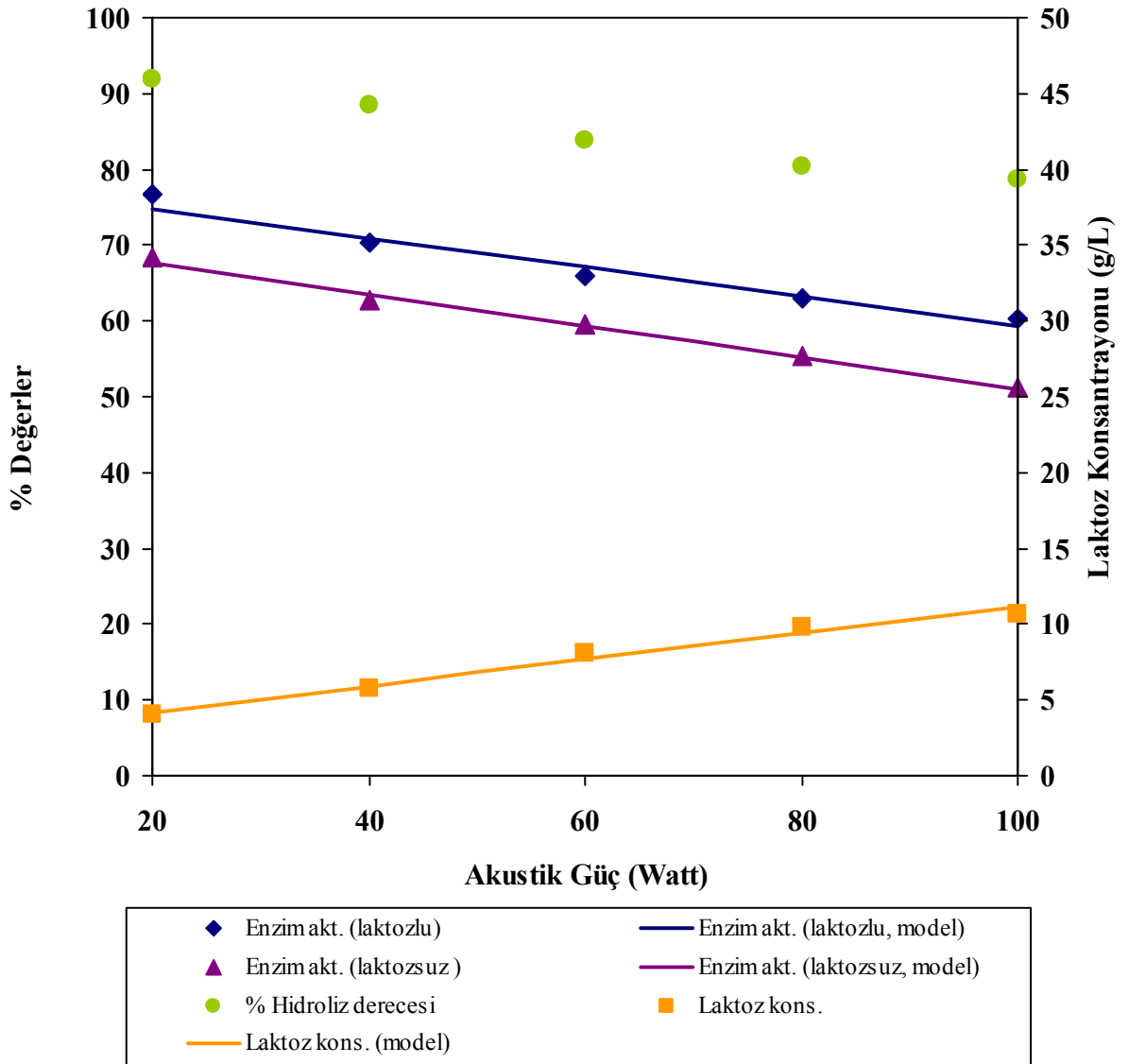
Akustik gücün hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için 250 ml %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren reaksiyon çözeltisi, pH 6.5 ve %10 frekans aralığında, 1 ml/L enzim ilavesi ile 20-100 Watt arasındaki akustik güçler için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.38’de verilmiş ve Şekil 9.50’de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.38 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Akustik Güç (Watt)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
20	91.94	75.74	68.37	4.03
40	88.60	70.38	62.72	5.70
60	83.82	66.05	59.47	8.09
80	80.28	62.89	55.30	9.86
100	78.72	60.26	51.25	10.64

Çizelge 9.38 ve Şekil 9.49’da görüldüğü gibi %10 frekans aralığında akustik güç artışıyla hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. 20 Watt’taki hidroliz derecesi yaklaşık %92 iken akustik güç ile azalarak 100 Watt’ta yaklaşık %79 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %76’dan %60’a (yaklaşık %22) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 Watt akustik güç için yaklaşık %24 ve 100 Watt akustik güç için yaklaşık %40 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.



Şekil 9.50 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktöz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

β -galaktosidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, akustik güç deneyleri aynı koşullarda laktözsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktözsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktözlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi akustik güç ile azaldığı Şekil 9.50'de görülmektedir.

%10 frekans aralığında akustik gücün ortamda kalan laktoz miktarı laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.39’da verilmiştir.

Çizelge 9.39 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

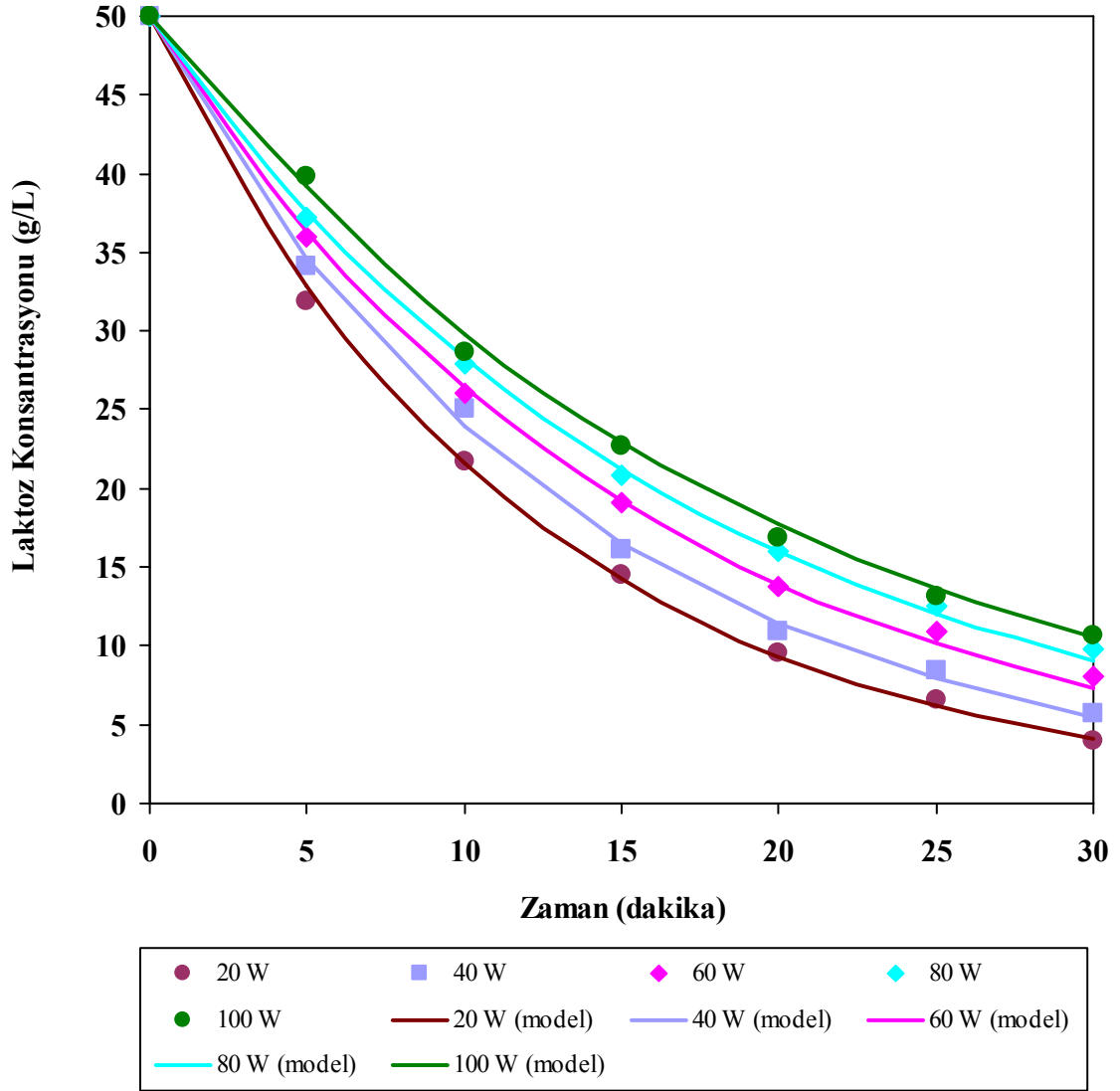
Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b.P$	a = 2.45 b = 0.0869	0.4889	0.9883
$[A] = a_A - b_A.P$ (laktozlu)	a _A = 78.60 b _A = 0.1923	1.0285	0.9894
$[A] = a_A - b_A.P$ (laktozsuz)	a _A = 71.91 b _A = 0.2082	0.6319	0.9966

*Katsayılara ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.W⁻¹; a_A: birimsiz; b_A: W⁻¹

Laktoz konsantrasyonunun %10 frekans aralığında farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 11, Çizelge E11.1’de verilmiş ve Şekil 9.51’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güç değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.3).

$$[C_L] = [C_{L0}] \exp(-kt) \quad (9.3)$$

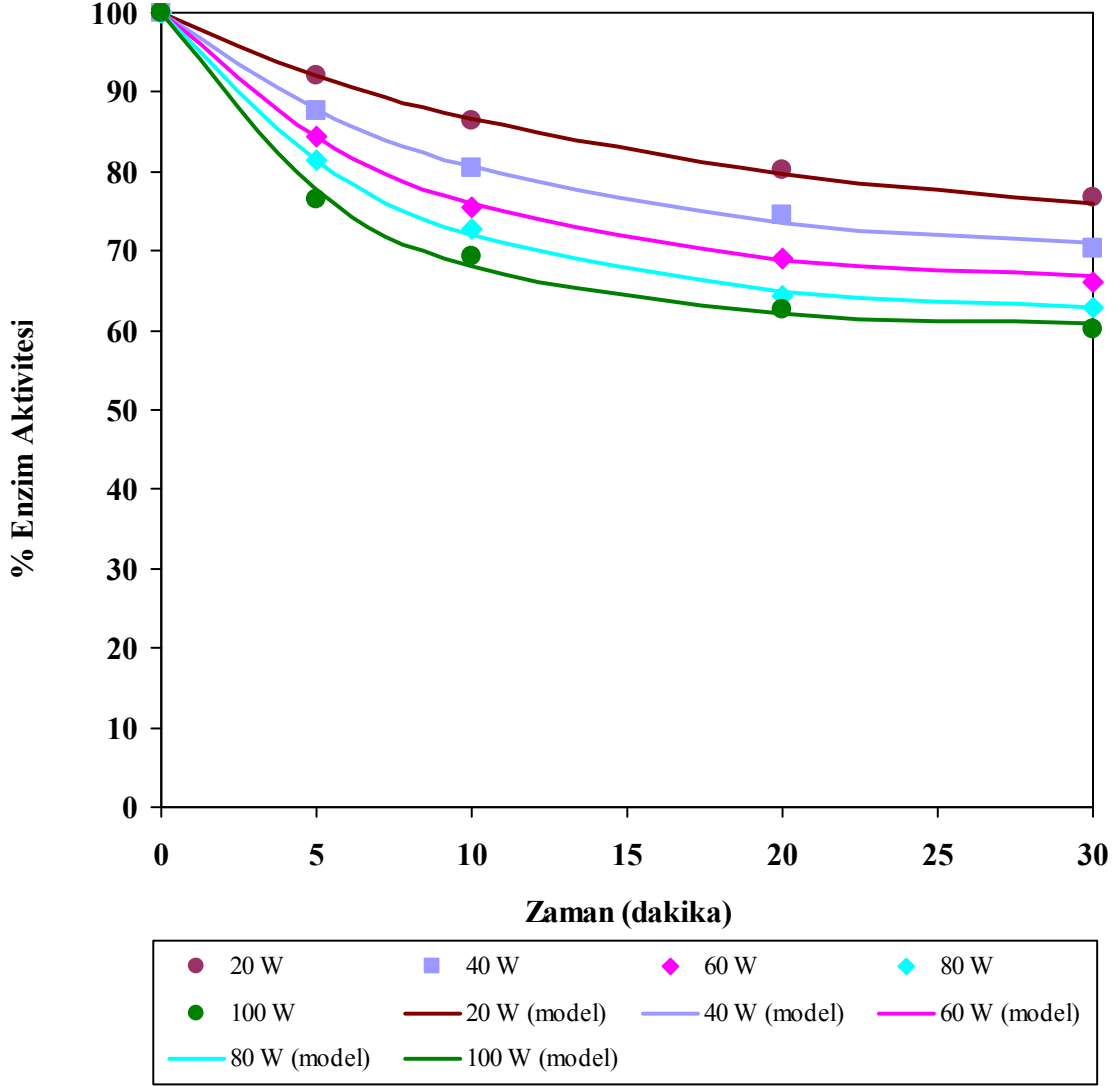
Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve istatistik veriler Çizelge 9.40’da verilmiştir.



Şekil 9.51 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı akustik güçler için zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 11, Çizelge E11.2’de verilmiş ve Şekil 9.52’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güç değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2).

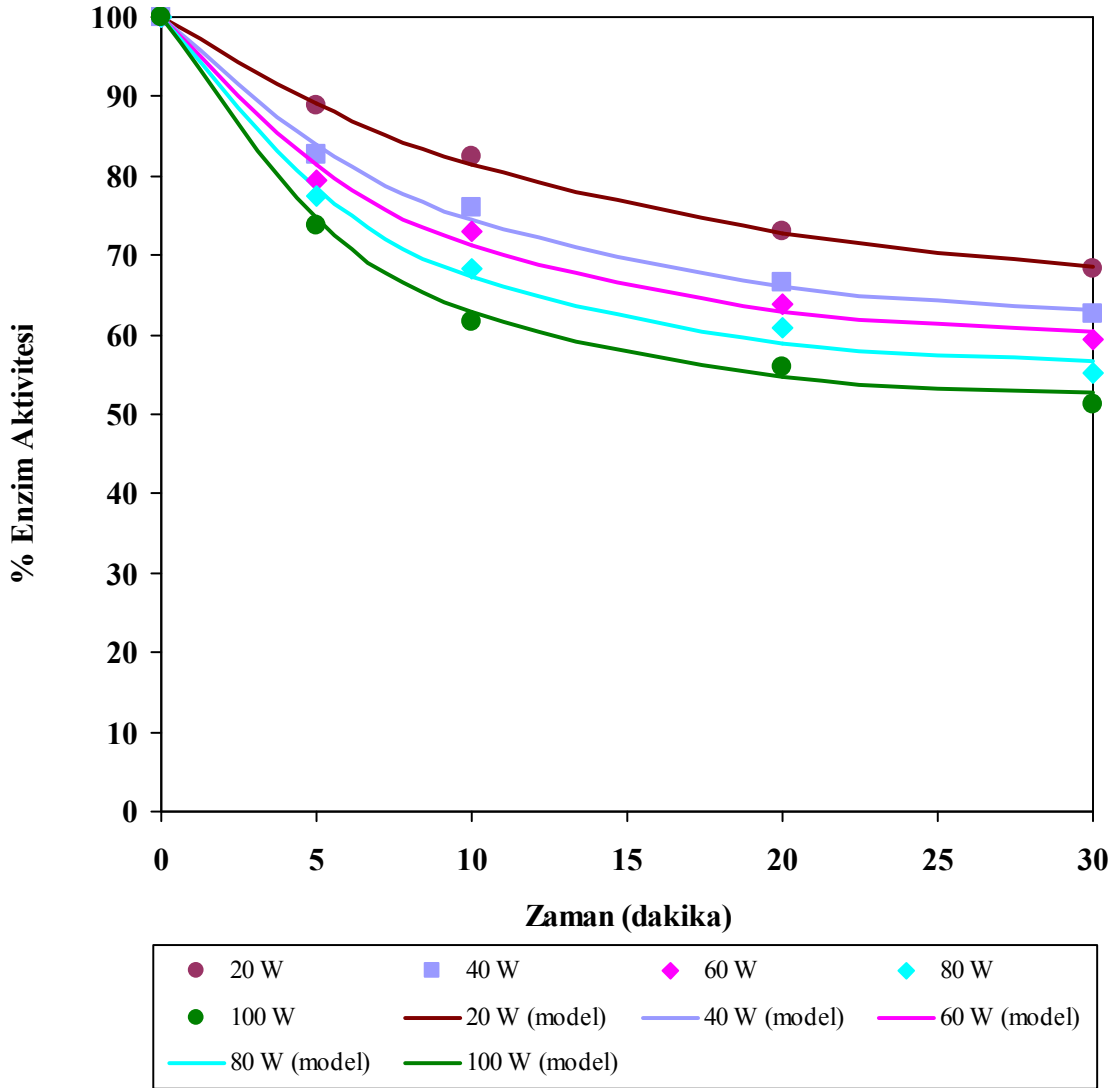
Laktozlu ortmada % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.40'da verilmiştir.



Şekil 9.52 Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamda % enzim aktivitesinin farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 11, Çizelge E11.3'te verilmiş ve Şekil 9.53'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güç değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki

değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.40'da verilmiştir.



Şekil 9.53 Laktozsuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.40 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

P	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
20	0.0838	0.4554	0.9996	72.29	0.0663	0.4554	0.9991	64.90	0.0748	0.9511	0.9978
40	0.0737	0.9981	0.9929	69.51	0.1013	0.6638	0.9988	61.69	0.1088	1.1217	0.9978
60	0.0639	0.7594	0.9987	65.90	0.1226	0.8068	0.9987	59.46	0.1231	1.6467	0.9960
80	0.0571	0.7461	0.9987	62.25	0.1345	1.0783	0.9981	55.96	0.1324	1.5395	0.9971
100	0.0518	0.8995	0.9981	60.65	0.1657	1.6755	0.9959	52.32	0.1502	1.9439	0.9962

*Katsayılar ait birimler; k, k_{D1}, k_{D2}: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz

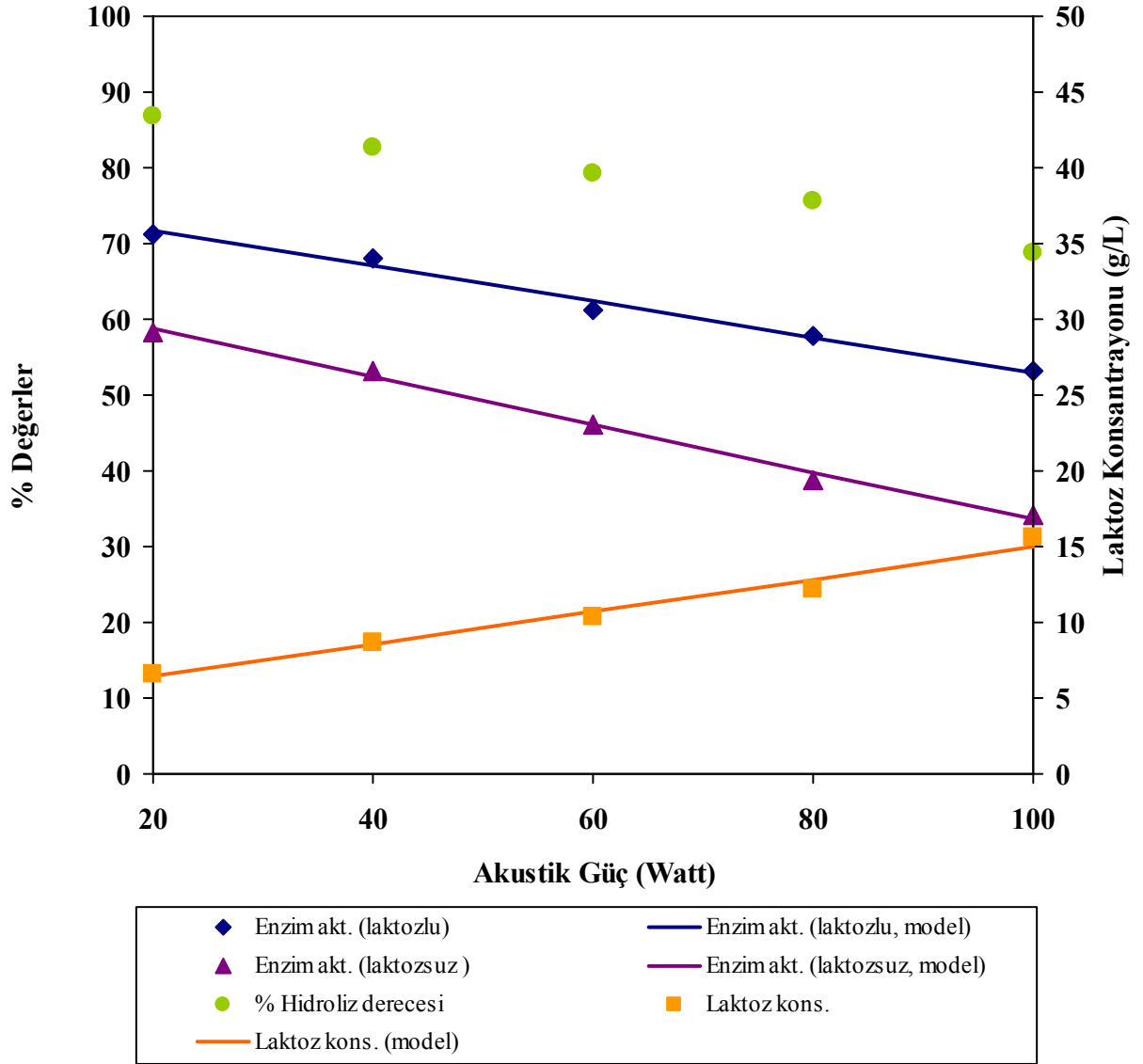
9.2.1.2 %50 Frekans aralığı için akustik gücün hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Akustik gücün hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için 250 ml %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren reaksiyon çözeltisi, pH 6.5 ve %50 frekans aralığında, 1 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 laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.41’de verilmiş ve Şekil 9.54’te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.41 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1ml/L)

Akustik Güç (Watt)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
20	86.76	71.29	58.38	6.62
40	82.60	68.10	53.23	8.70
60	79.20	61.33	46.14	10.40
80	75.52	57.86	38.85	12.24
100	68.86	53.06	34.17	15.57

Çizelge 9.41 ve Şekil 9.53’de görüldüğü gibi %50 frekans aralığında akustik güç artışıyla hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. 20 Watt’taki hidroliz derecesi yaklaşık %87 iken akustik güç ile azalarak 100 Watt’ta yaklaşık %69 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %71’den %53’e (yaklaşık %25) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 Watt akustik güç için yaklaşık %29 ve 100 Watt akustik güç için yaklaşık %47 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.



Şekil 9.54 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

β -galaktosidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, akustik güç deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi akustik güç ile azaldığı Şekil 9.54'te görülmektedir.

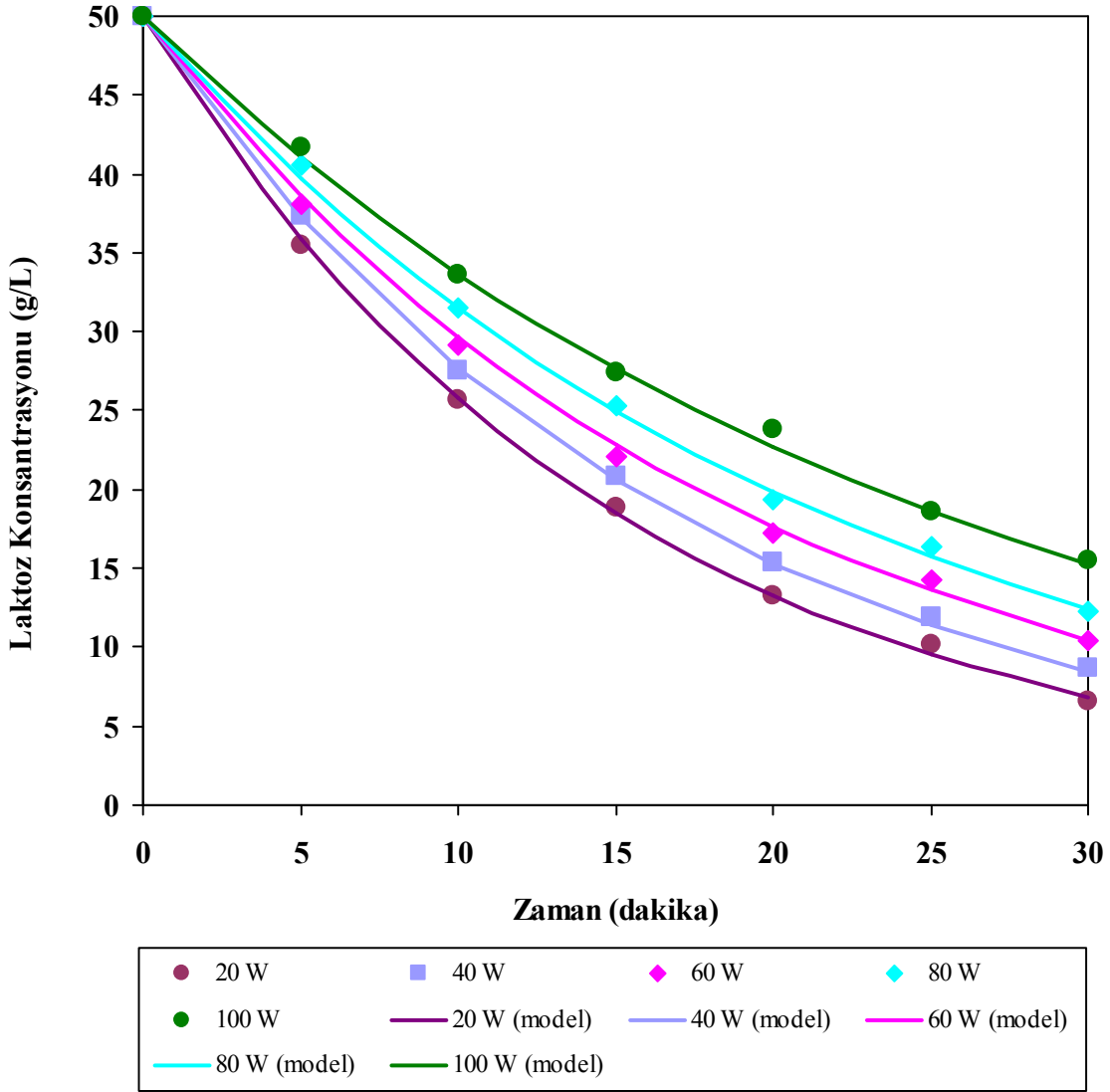
%50 frekans aralığında akustik gücün ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.42'de verilmiştir.

Çizelge 9.42 Akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b.P$	a = 4.274 b = 0.1072	0.5346	0.9908
$[A] = a_A - b_A.P$ (laktozlu)	a _A = 76.338 b _A = 0.2335	0.8943	0.9945
$[A] = a_A - b_A.P$ (laktozsuz)	a _A = 64.994 b _A = 0.314	0.8419	0.9973

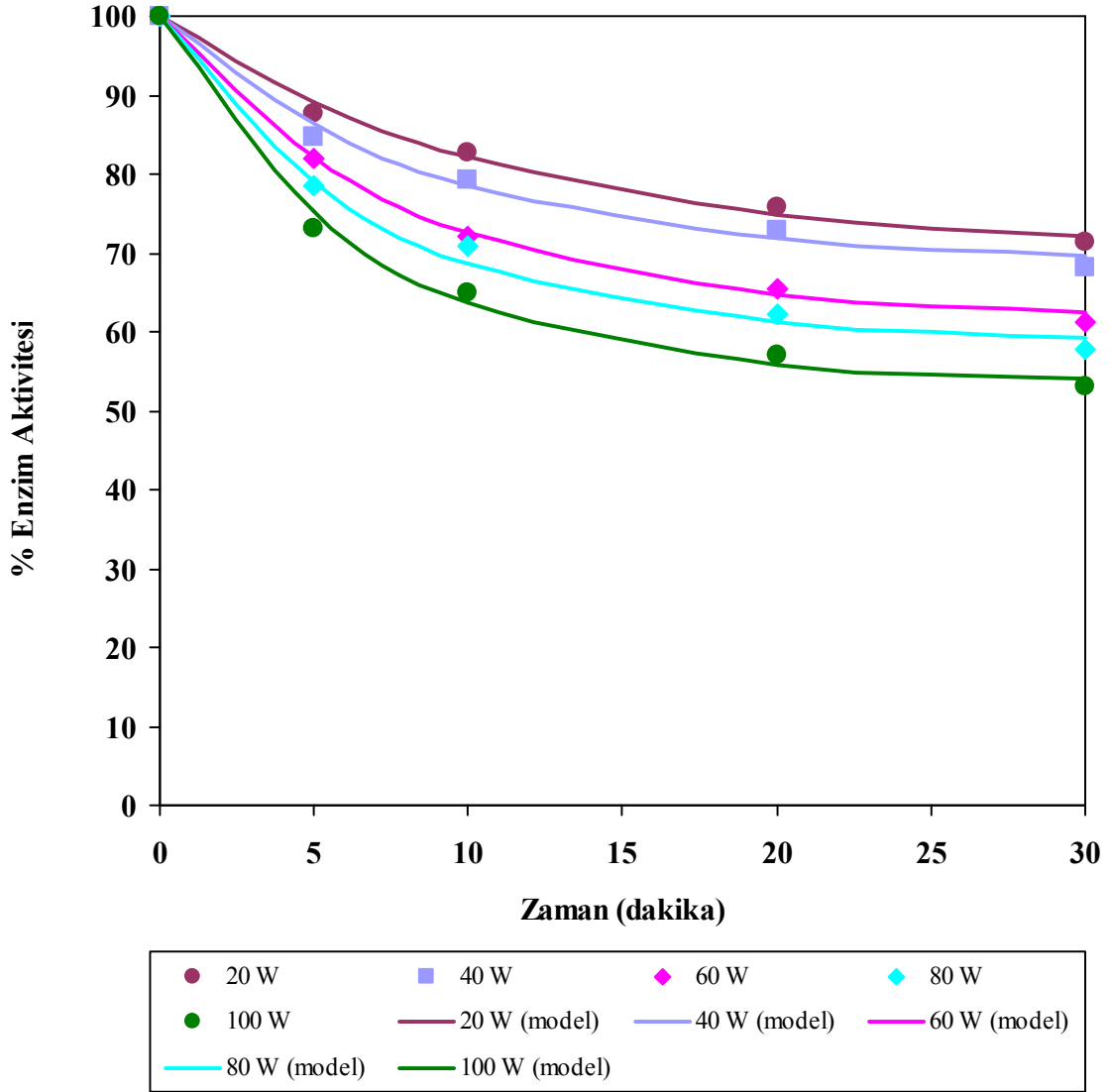
*Katsayılarla ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.W⁻¹; a_A: birimsiz; b_A: W⁻¹.

Laktoz konsantrasyonunun %50 frekans aralığında farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 11, Çizelge E11.4'te verilmiş ve Şekil 9.55'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güç değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.3). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.43'te verilmiştir.



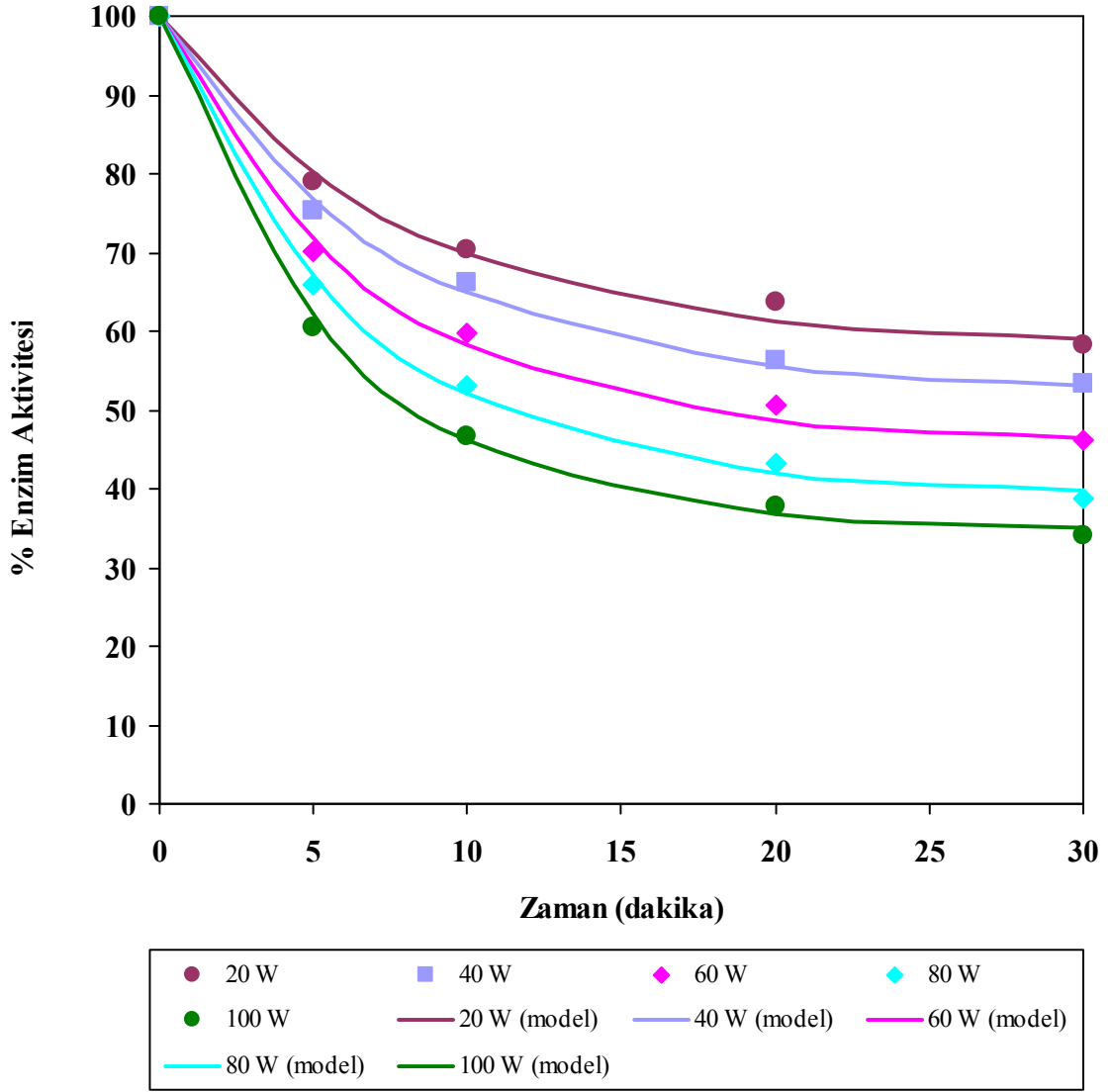
Şekil 9.55 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 11, Çizelge E11.5'te verilmiş ve Şekil 9.56'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güçler için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.43'te verilmiştir.



Şekil 9.56 Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamda % enzim aktivitesinin farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 11, Çizelge E11.6'da verilmiş ve Şekil 9.57'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güç değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.43'te verilmiştir.



Şekil 9.57 Laktosuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.43 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

P	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
20	0.0662	1.1159	0.9973	70.03	0.0907	1.0819	0.9965	59.07	0.1277	2.2364	0.9928
40	0.0496	0.8054	0.9985	68.66	0.1145	1.7669	0.9921	54.34	0.1337	2.3379	0.9938
60	0.0452	1.0787	0.9969	61.58	0.1246	1.2329	0.9975	47.28	0.1469	2.3333	0.9954
80	0.0385	0.7513	0.9984	58.72	0.1419	2.1366	0.9937	39.29	0.1513	2.1833	0.9970
100	0.0353	0.7092	0.9987	53.64	0.1528	2.9808	0.9905	36.67	0.1734	3.1361	0.9945

*Katsayılara ait birimler; k, k_{D1}, k_{D2}: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz

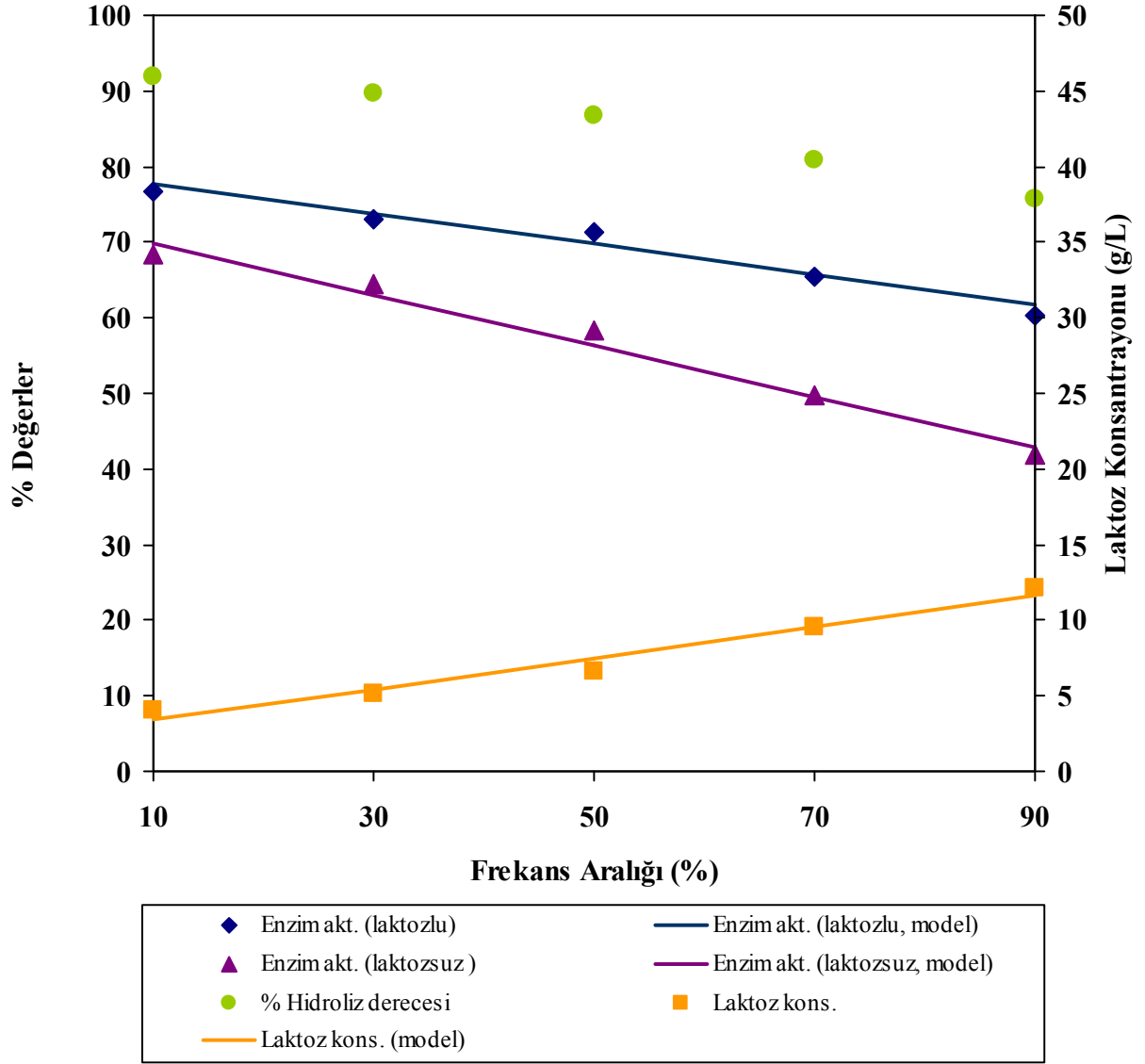
9.2.2 % Frekans aralığının hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

% Frekans aralığının hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için 250 ml %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren reaksiyon çözeltisi, pH 6.5 ve 20 Watt akustik güçte, 1 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 laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.44'te verilmiş ve Şekil 9.58'de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.44 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Frekans Aralığı (%)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
10	91.94	75.74	68.37	4.03
30	89.72	72.93	64.37	5.14
50	86.76	71.29	58.38	6.62
70	80.92	65.34	49.77	9.54
90	75.80	60.34	41.81	12.10

Çizelge 9.44 ve Şekil 9.58'de görüldüğü gibi 20 Watt akustik güçte % frekans aralığı artışıyla hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %92 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %76 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %75'ten %60'a (yaklaşık %20) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %25 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %40 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.



Şekil 9.58 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

β -galaktosidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, % frekans aralığı deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi % frekans aralığı ile azaldığı Şekil 9.58'de görülmektedir.

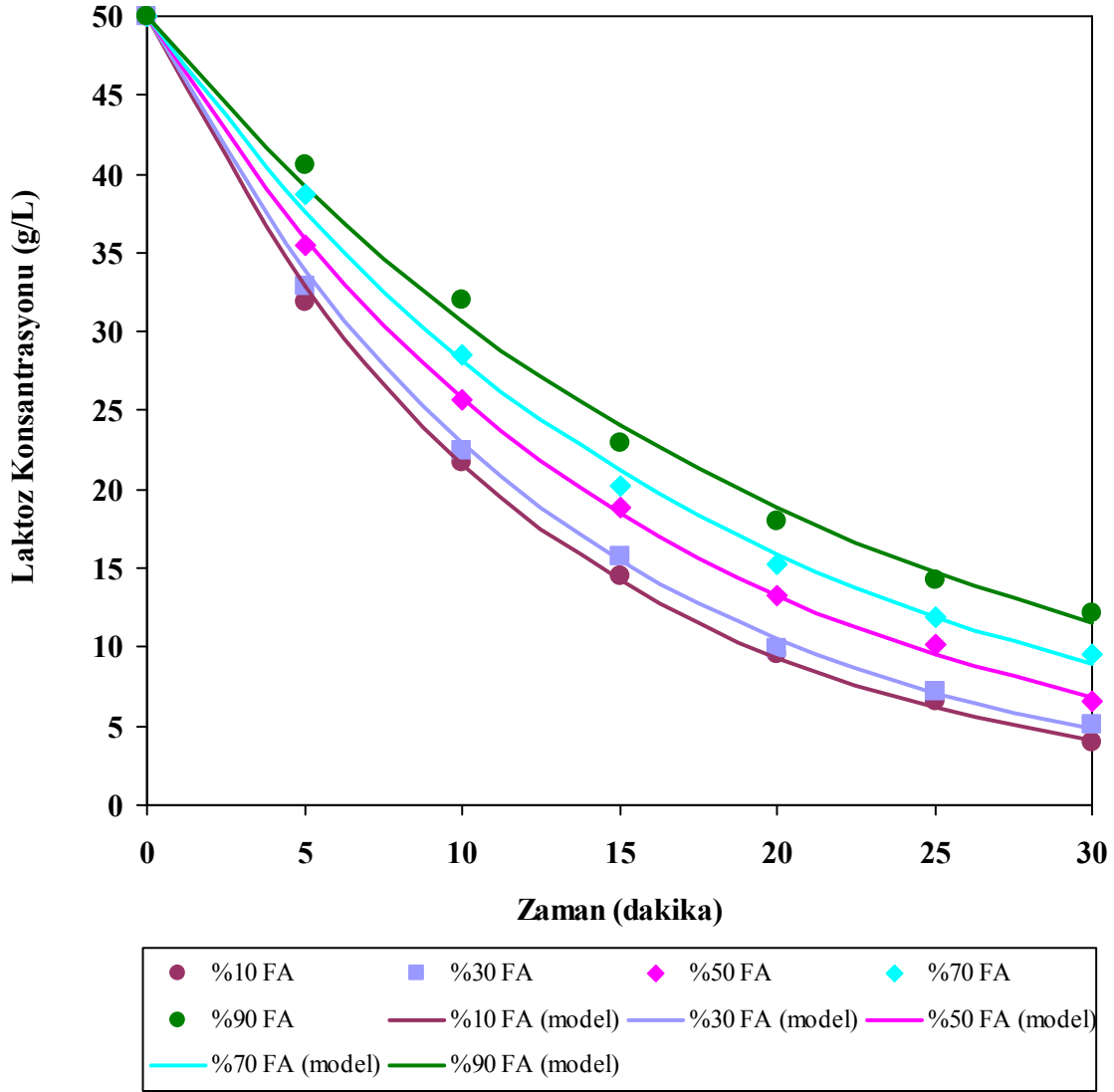
20 Watt akustik güçte % frekans aralığının ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.45'te verilmiştir.

Çizelge 9.45 % Frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b.(FA)$	a = 2.351 b = 0.1027	0.7109	0.9825
$[A] = a_A - b_A.(FA)$ (laktozlu)	a _A = 79.5755 b _A = 0.1969	1.1137	0.9882
$[A] = a_A - b_A.(FA)$ (laktozsuz)	a _A = 73.47 b _A = 0.3386	1.7175	0.9905

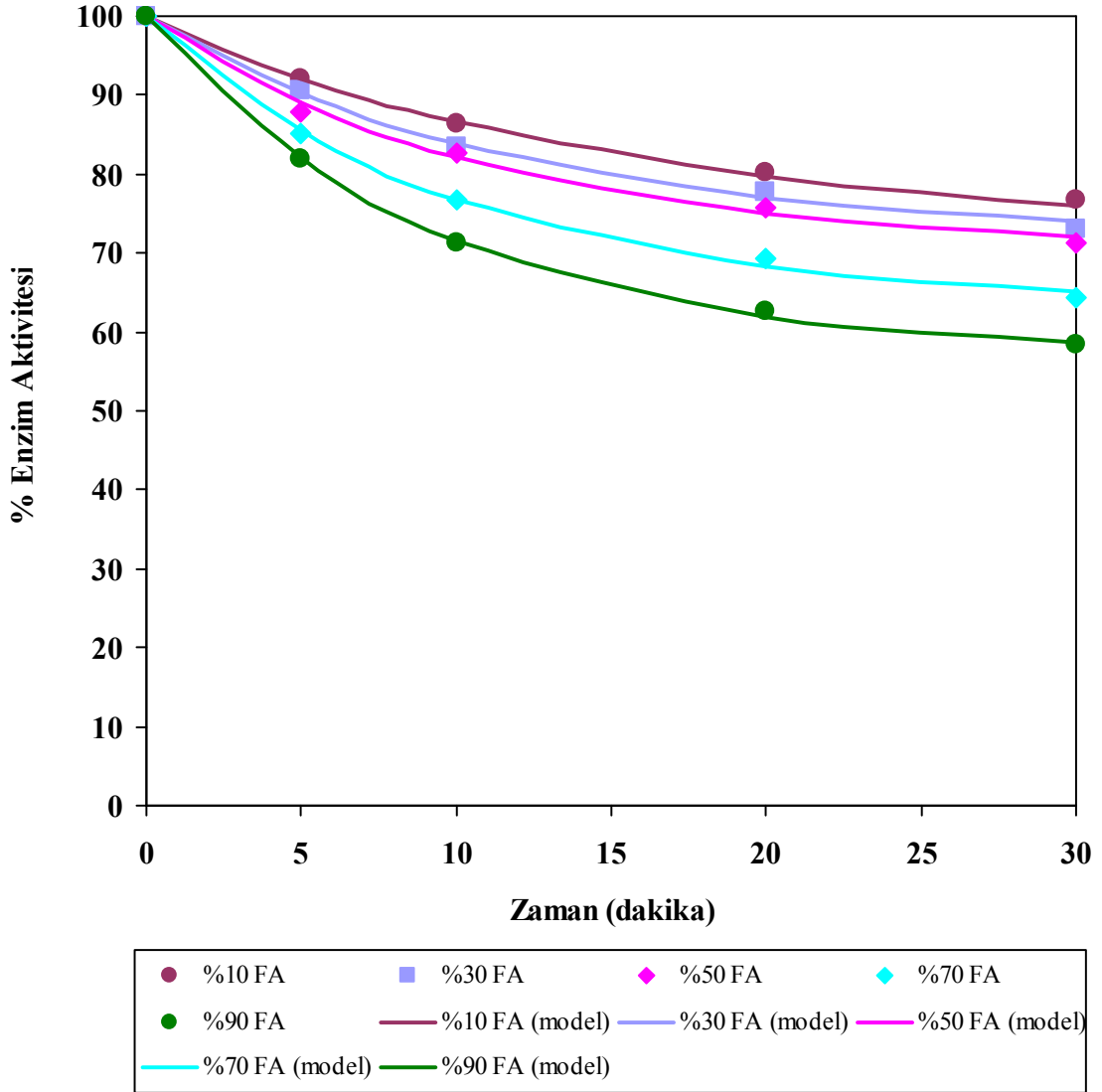
*Katsayılara ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹; a_A, b_A: birimsiz

Laktoz konsantrasyonunun 20 Watt akustik güçte farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 12, Çizelge E12.1'de verilmiş ve Şekil 9.59'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm % frekans aralıkları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.3). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.46'da verilmiştir.



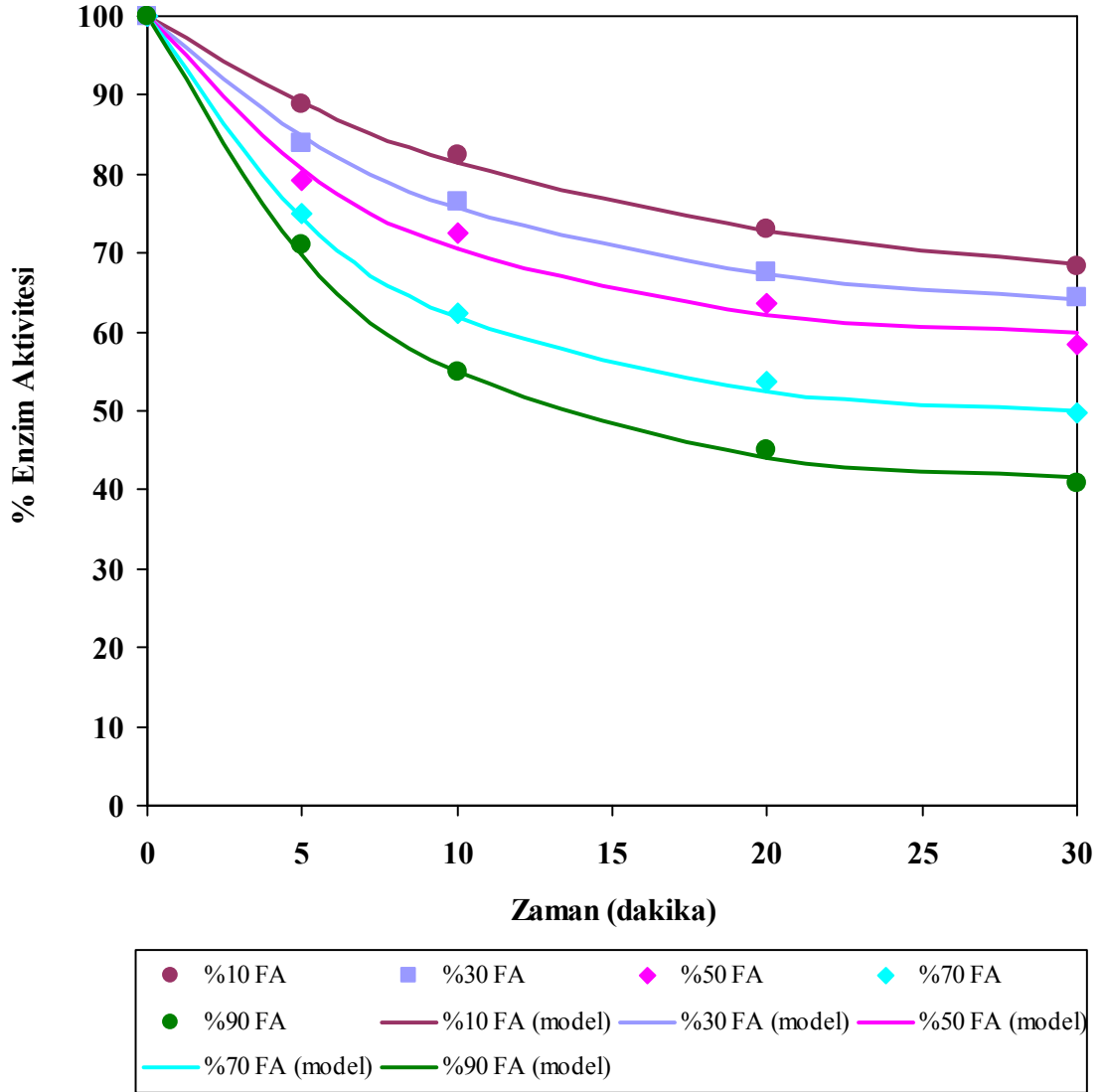
Şekil 9.59 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 12, Çizelge E12.2’de verilmiş ve Şekil 9.60’da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm % frekans aralıkları için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.46’da verilmiştir.



Şekil 9.60 Laktozlu ortamda farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamda % enzim aktivitesinin farklı % frekans aralıklarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 12, Çizelge E12.3'te verilmiş ve Şekil 9.61'de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm % frekans aralığı değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.46'da verilmiştir.



Şekil 9.61 Laktozsuz ortamda farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.46 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

FA	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktozlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktozsuz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
10	0.0838	0.4554	0.9996	72.29	0.0663	0.4554	0.9991	64.90	0.0748	0.9511	0.9978
30	0.0780	0.5974	0.9993	71.69	0.0846	1.2263	0.9948	62.42	0.1030	2.0694	0.9922
50	0.0662	1.1159	0.9973	70.03	0.0907	1.0819	0.9965	59.07	0.1277	2.2364	0.9928
70	0.0581	0.7173	0.9989	63.12	0.0989	0.7724	0.9989	49.27	0.1399	2.5144	0.9942
90	0.0504	0.9846	0.9976	57.03	0.1079	0.4459	0.9997	40.82	0.1436	1.8636	0.9977

* Katsayılara ait birimler; k, k_{D1}, k_{D2}: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz

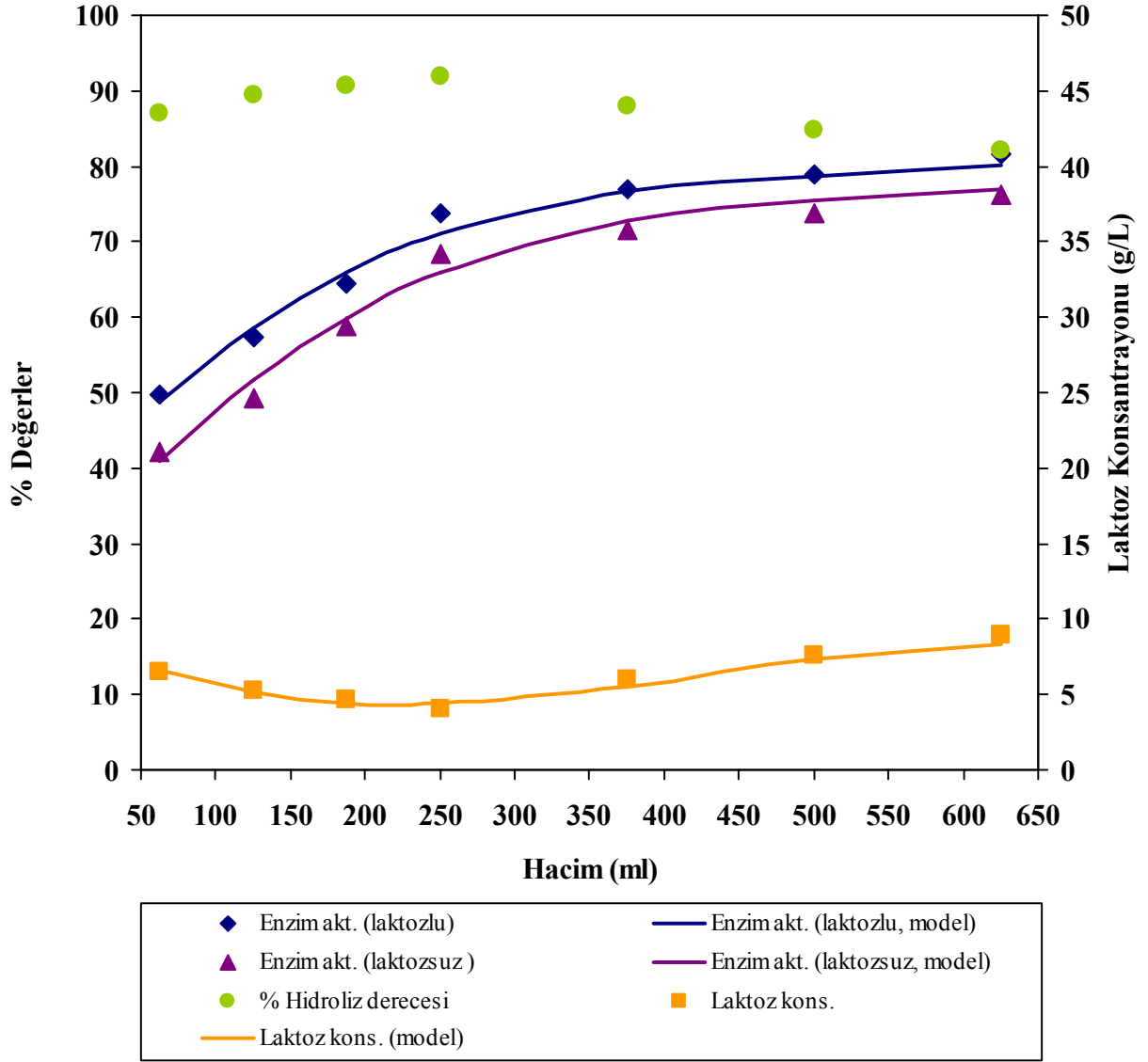
9.2.3 Reaksiyon hacminin hidroliz ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi

Reaksiyon hacminin hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için %5 (ağırlık/hacim) laktoz içeren reaksiyon çözeltisi, pH 6.5, 20 Watt akustik güçte ve %10 frekans aralığında, 1 ml/L enzim ilavesi ile 62.5-625 ml arasındaki reaksiyon hacimleri için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.47’de verilmiş ve Şekil 9.62’de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.47 Reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Reaksiyon Hacmi (ml)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozlu) (%)	Enzim Aktivitesi (Laktozsuz) (%)	Laktoz Kons. (g/L)
62.5	86.96	49.85	42.06	6.52
125	89.44	57.31	49.35	5.28
187.5	90.74	64.58	58.73	4.63
250	91.94	75.74	68.37	4.03
375	88.04	77.05	71.52	5.98
500	84.72	78.88	73.88	7.64
625	82.20	81.7	76.34	8.9

Çizelge 9.47 ve Şekil 9.62’de görüldüğü gibi 20 Watt akustik güçte ve %10 frekans aralığında 250 ml’ye kadar hacim artışıyla hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. 62.5 ml’de hidroliz derecesi yaklaşık %87 iken hacim ile artarak 250 ml’de yaklaşık %92 olmuştur. Artan hacim değerlerinde ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 625 ml’de hidroliz derecesi yaklaşık %82’ye kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen hacim aralığı boyunca enzim aktivitesi %50’den %82’ye (yaklaşık %64) artmıştır. Ancak, 250 ml hacim değerinden sonra aktivitedeki artış daha azdır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre hidroliz reaksiyonu için optimum hacim 250 ml olarak belirlenmiştir.



Şekil 9.62 % Enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun reaksiyon hacmi ile değişimi (Frekans Aralığı=%10, Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

β -galaktosidaz enziminin reaksiyon koşullarına dayanıklılığını inceleyebilmek amacıyla, hacim deneyleri aynı koşullarda laktozsuz ortamda tekrarlanmıştır. Laktozsuz ortamda gerçekleştirilen deneyler sonucunda enzim aktivitesinin, laktozlu ortamda gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi hacim değerleri ile arttığı Şekil 9.62’de görülmektedir.

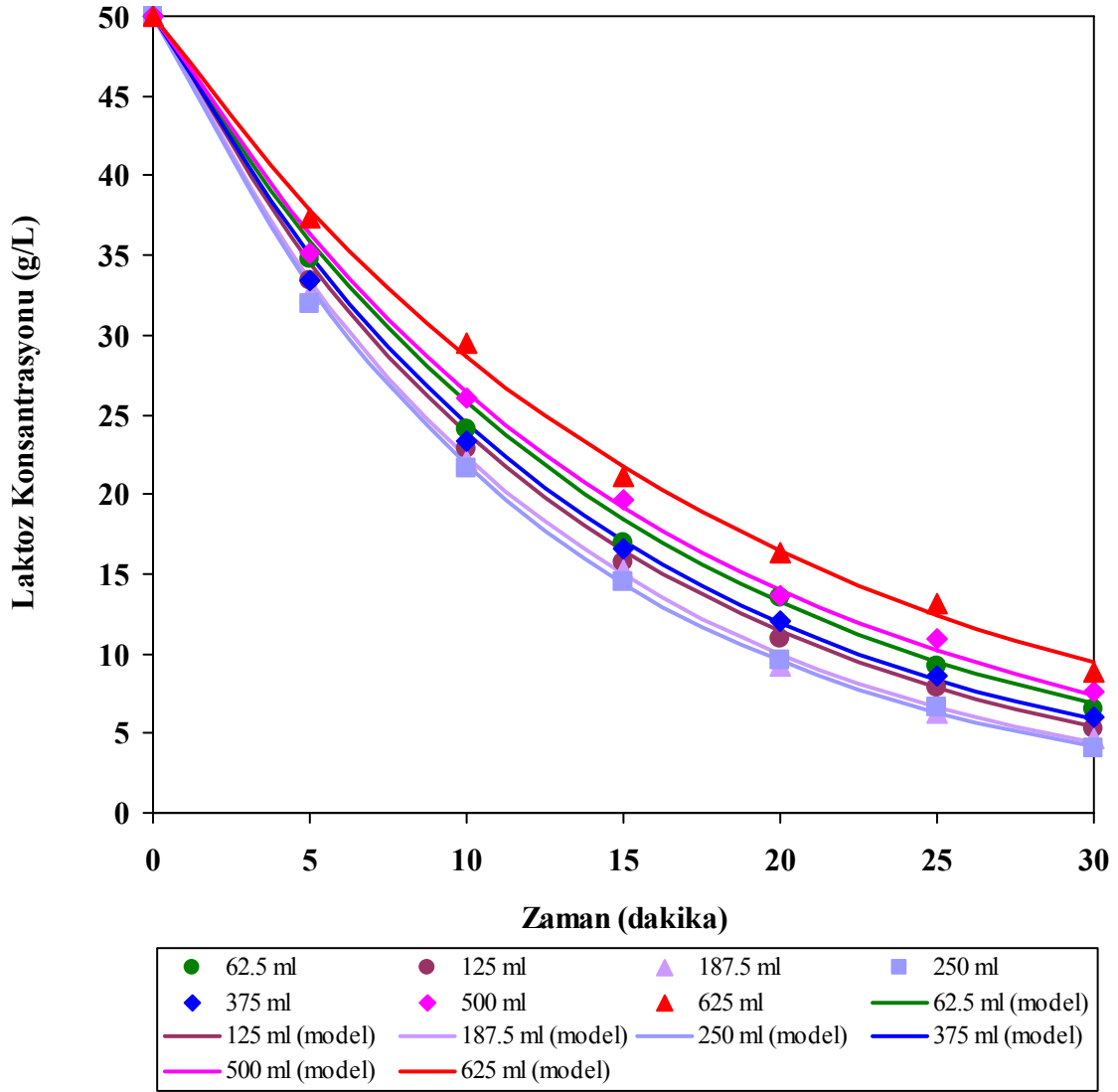
Reaksiyon hacminin ortamda kalan laktoz miktarı, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.48’de verilmiştir.

Çizelge 9.48 Reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar *	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a + b [V] + c [V]^2 + d [V]^3$	a = 9.1384 b = -0.0493 c = 0.0002 d = -1.17*10 ⁻⁷	0.3135	0.9915
$[A] = a_A + b_A [V] + c_A [V]^2 + d_A [V]^3$ (laktozlu)	a _A = 36.2181 b _A = 0.2277 c _A = -0.00042 d _A = 2.69*10 ⁻⁷	1.9497	0.9934
$[A] = a_A + b_A [V] + c_A [V]^2 + d_A [V]^3$ (laktozsuz)	a _A = 27.0275 b _A = 0.2466 c _A = -0.00043 d _A = 2.61*10 ⁻⁷	2.2951	0.9921

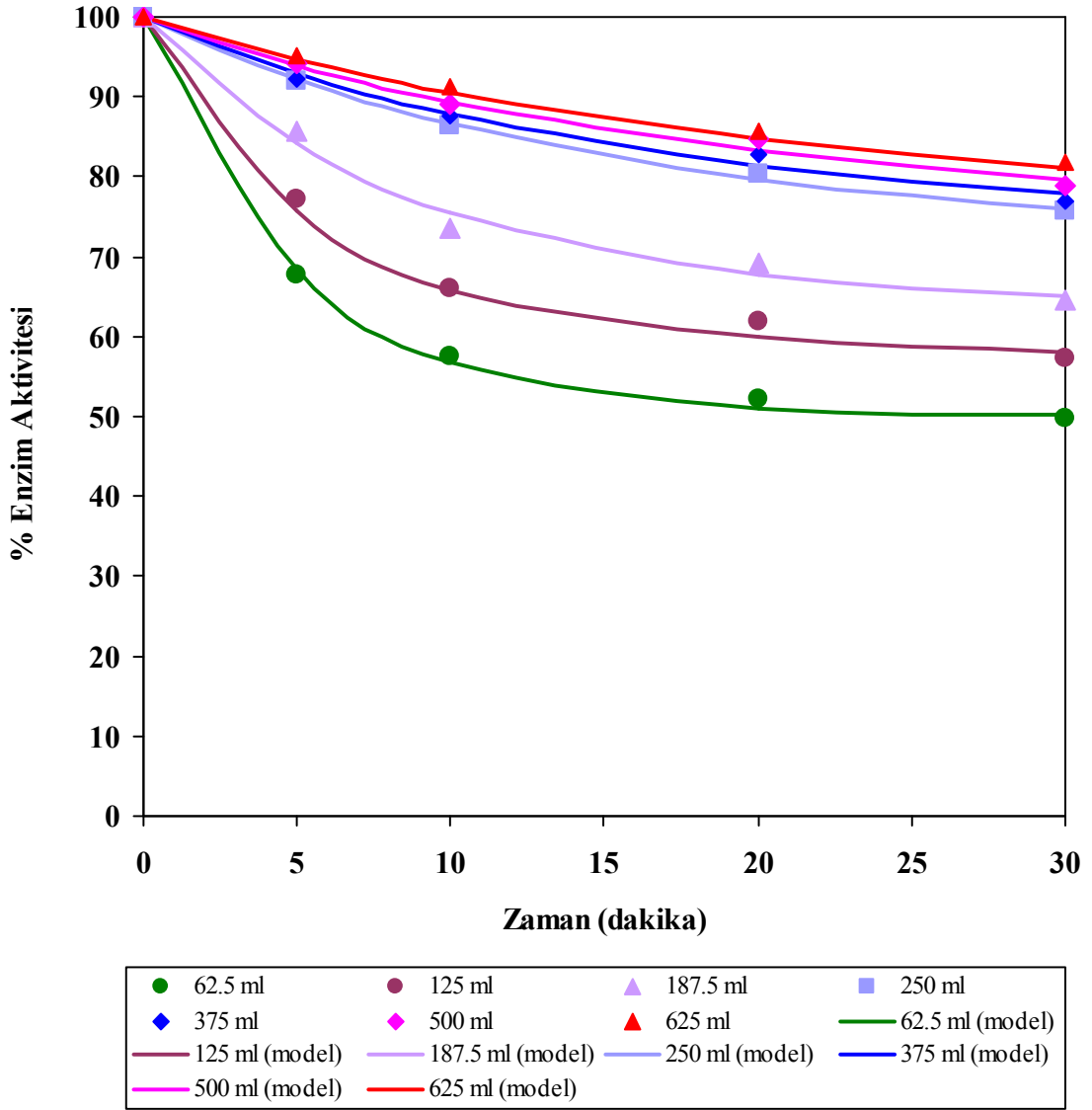
*Katsayılar a ait birimler; a: g laktoz.L⁻¹; b: g laktoz.L⁻¹.mL⁻¹; c: g laktoz.L⁻¹.mL⁻²; d: g laktoz.L⁻¹.mL⁻³; a_A: birimsiz; b_A: mL⁻¹; c_A: mL⁻²; d_A: mL⁻³

Laktoz konsantrasyonunun farklı reaksiyon hacimlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 13, Çizelge E13.1’de verilmiş ve Şekil 9.63’te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm hacim değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.3). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.49’da verilmiştir.



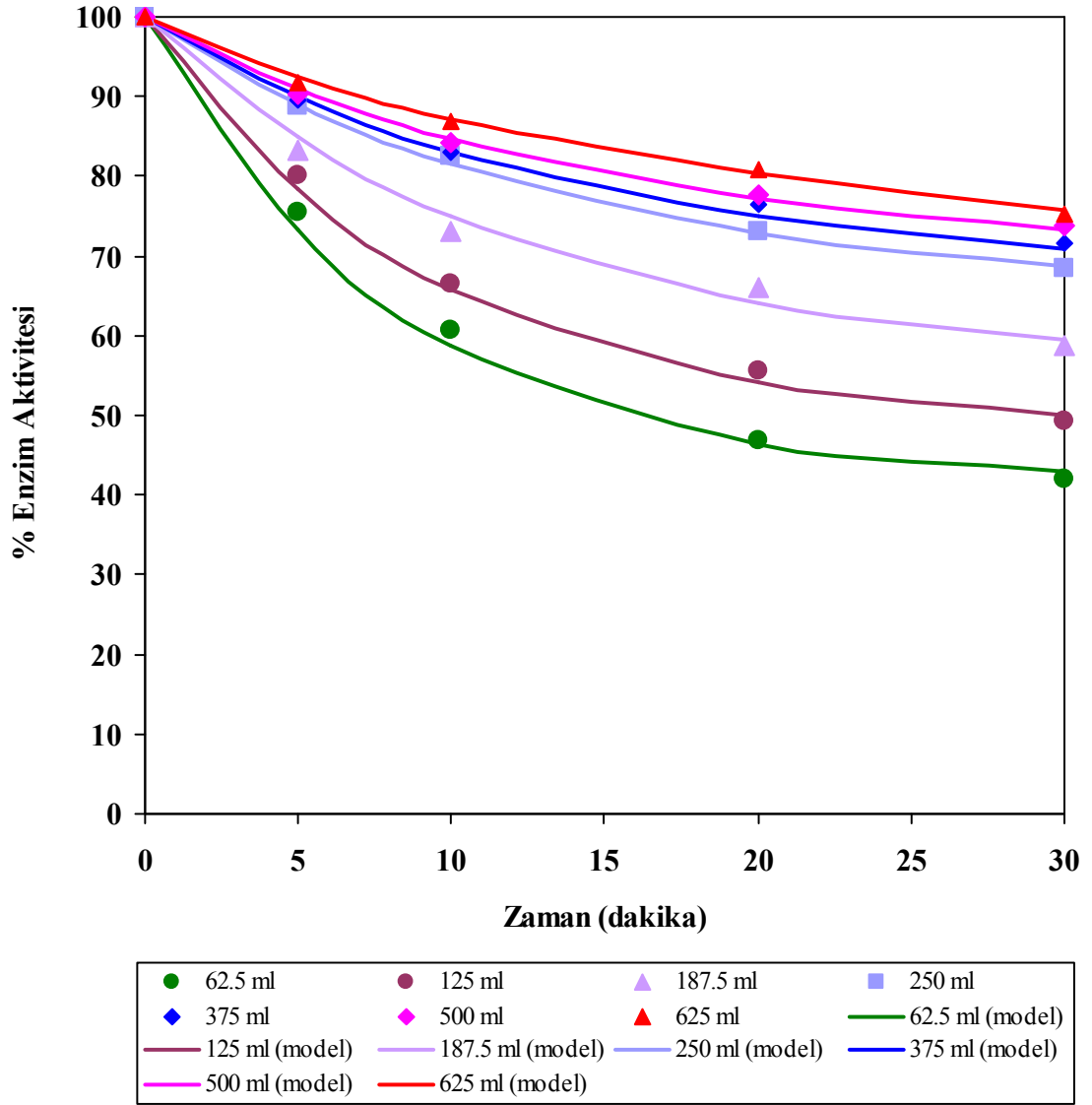
Şekil 9.63 Farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozlu ortamdaki % enzim aktivitesinin farklı reaksiyon hacimlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 13, Çizelge E13.2’de verilmiş ve Şekil 9.64’te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm hacim değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozlu ortamda % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.49’da verilmiştir.



Şekil 9.64 Laktozlu ortamda farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Laktozsuz ortamda % enzim aktivitesinin farklı reaksiyon hacimlerinde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 13, Çizelge E113.3'te verilmiş ve Şekil 9.65'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm hacim değerleri için, % enzim aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görülmüştür (Denklem 9.2). Laktozsuz ortamdaki % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.49'da verilmiştir.



Şekil 9.65 Laktozsuz ortamda farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Çizelge 9.49 Farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

V	Kalan laktöz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi (laktözlu ortam)				Kalan Enzim Aktivitesi (laktözsüz ortam)			
	k	δ	R ²	α_1	k _{D1}	δ	R ²	α_1	k _{D2}	δ	R ²
62.5	0.0664	1.6692	0.9936	50.12	0.1997	1.2266	0.9987	41.35	0.1218	1.8655	0.9976
125	0.0740	1.3221	0.9963	58.24	0.1591	1.4035	0.9975	47.98	0.1073	1.2629	0.9985
187.5	0.0805	0.8780	0.9985	63.97	0.1142	1.6955	0.9947	55.73	0.0828	1.3521	0.9974
250	0.0838	0.4554	0.9996	72.29	0.0663	0.4554	0.9991	64.90	0.0748	0.9511	0.9978
375	0.0715	1.2607	0.9966	73.74	0.0617	1.0734	0.9940	67.31	0.0731	1.1119	0.9965
500	0.0638	0.6433	0.9991	74.53	0.0539	1.2509	0.9912	69.41	0.0687	0.7059	0.9983
625	0.0556	0.5781	0.9992	75.78	0.0501	0.9876	0.9936	72.72	0.0643	0.5998	0.9984

* Katsayılarla ait birimler k, k_{D1}, k_{D2}: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz

9.3 Biyoreaktör ve sonikatörde gerçekleştirilen deneylere ait elde edilen sonuçların değerlendirilmesi

Bu çalışmada, biyoreaktör ve sonikatör ortamında gerçekleştirilen deneylerin sonucunda elde edilen optimum laktoz dönüşüm oranları ile, literatürde laktoz hidrolizi ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen laktoz dönüşüm oranlarının karşılaştırılması Çizelge 9.50'de verilmiştir.

Çizelge 9.50 Laktoz dönüşüm oranlarının karşılaştırılması

Literatür Çalışmaları	Laktoz	Enzim	Proses Şartları	Laktoz dönüşüm oranı
Novalin vd., (2005)	Süt	<i>Kluyveromyces lactis</i> kaynaklı β -galaktozidaz	25°C'de, 120 U/mL enzim aktivitesi, 2 saat sonunda, derin fiber reaktörde	25 L/h akış hızında %81
Ladero vd., (2001)	50 g/L süt tampon çözeltisinde	<i>Escherichia coli</i> kaynaklı β -galaktozidaz	40°C, 300 devir/dak ve pH 7'de, 30 dakika sonunda, kesikli reaktörde	7 ve 3.5 mg/ml enzim kons. da sırası ile %12 ve %7
Pessela vd., (2003)	50 g/L Novo tampon çözeltisinde	termofilik β -galaktozidaz	50°C ve pH 6.5'da, 30 dakika sonunda, kesikli reaktörde	60 mg/ml enzim kons. da %15
Di Serio vd., (2003)	9.58, 23.6 ve 47.54 g/L laktoz fosfat tampon çözeltisi	<i>Kluyveromyces marxianus lactis</i> kaynaklı immobilize β -galaktozidaz	37°C ve pH 7.0'de, 1 saat sonunda, sürekli boru tipi dolgulu yatak reaktörde	9.58, 23.60, 47.54 g/L laktoz kons. da sırası ile %80.2, %63 ve %50
Roy ve Gupta, (2003)	Peynir altı suyu ve süt	<i>Kluyveromyces fragilis</i> (Lactozym 3000L) kaynaklı immobilize β -galaktozidaz	30°C ve pH 6.6'da, 30 dakika sonunda, kesikli reaktör ve akışkan yatak reaktörde	Peynir altı suyu için kesikli reaktörde %94 ve akışkan yatak reaktörde %80; Süt için akışkan yatak reaktörde %7

Çizelge 9.50 (Devam)

Literatür Çalışmaları	Laktoz	Enzim	Proses Şartları	Laktoz dönüşüm oranı
Szczodrak, (2000)	Peynir altı suyu	<i>Kluyveromyces fragilis</i> kaynaklı immobilize β -galaktozidaz	35°C ve pH 7'de, 48 saat sonunda, kesikli reaktör ve geri döngülü dolgulu yatak reaktörde	Kesikli reaktörde %96; 2, 0.7 ve 0.3 ml/dak akış hızlarında geri döngülü dolgulu yatak reaktörde sırası ile %82.6, %87.3 ve %90
Santos vd., (1998)	50 g/L süt tampon çözeltisinde	<i>Kluyveromyces fragilis</i> (Lactozym 3000L) kaynaklı immobilize β -galaktozidaz	40°C ve pH 6.5'de, 30 dakika sonunda, kesikli reaktörde	11.7, 7, 5.7 ve 2.3 mg/ml enzim kons. da sırası ile %67, %52, %37 ve %10
Şener vd., (2006)	Süt	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -galaktozidaz	37°C ve pH 6.7'de, 1 ml/L enzim kons. da, 30 dakika sonunda, biyoreaktörde ve sonikatörde	%84 biyoreaktörde, %90 sonikatörde
Bu çalışma	50 g/L peynir altı suyundan elde edilen laktoz fosfat tampon çözeltisinde	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -galaktozidaz	37°C ve pH 6.5'de, 30 dakika sonunda, 1 ml/L enzim kons. da biyoreaktörde ve sonikatörde	%81 biyoreaktörde, %92 sonikatörde

10. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Fiziksel, besinsel, teknolojik ve çevresel nedenlerden dolayı laktoz hidrolizi ilgi çeken bir konu olmuştur. Birçok insan, β -galaktozidaz eksikliği ya da yetersizliği nedeniyle laktozu tam olarak sindirememektedir. Bu kişilerin laktoz içermeyen diyetler yapmaları ya da laktozsuz gıdaları tüketmeleri gerekmektedir. Ayrıca, diğer şekerlere göre laktozun çözünürlüğü ve tatlılığı daha azdır. Laktozun istenmediği durumlarda; laktoz hidrolizinin gerçekleştirilmesi laktoz içermeyen yeni gıda ürünlerinin elde edilmesi ve peynir altı suyunun çeşitli besin maddelerinde yeniden kullanımının sağlanması gıda sektörü açısından büyük önem taşıyan bir prosestir.

Laktozun enzimatik hidrolizi diğer hidroliz yöntemlerine göre, daha verimli ve maliyeti düşük olduğundan birçok endüstri dalı için büyük önem taşımaktadır. Hidroliz işleminin katalizleyecek alternatif teknolojilerin dezavantajları olması nedeni ile, endüstride β -galaktozidaz enziminin önemini arttırmıştır. Bu nedenle, enzimatik hidroliz reaksiyonları için optimum şartların belirlenmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Ayrıca, ultrasonikasyonun biyokimyasal proseslerde kullanılması, çok çeşitli reaksiyonlar için gereken kimyasal aktifleşmeyi kolay ve ucuz bir şekilde sağlamaktadır. Ultrasonikasyon, reaksiyonları hızlandırmakta, reaksiyon süresini kısaltmakta ve dönüşüm yüzdesini arttırmaktadır. Bu nedenle, enzimin katalizleyici etkisine ultrasonikasyonun katkısı ilgi çeken bir konu olmuştur.

Bu çalışmada, peynir altı suyundan elde edilen laktozun; ticari bir enzim olan *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -galaktozidaz enzimi (ürün kodu: EC 3.2.1.23) ile biyoreaktördeki hidroliz işlemine ait proses parametrelerinin (başlangıç laktoz konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, sıcaklık, pH ve karıştırıcı hızı) ile buna ilave olarak; reaksiyon çözeltisine ilave edilen her bir maddenin (gliserin, hidrolizat, glikoz, galaktoz ve çeşitli iyonlar); ve sonikatördeki hidroliz işlemine ait proses parametrelerinin (akustik güç, % frekans aralığı, reaksiyon hacmi) hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

A) Biyoreaktörde;

- 1) **Başlangıç laktoz konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde;** başlangıç laktoz konsantrasyonu arttıkça % enzim aktivitesi ve hidroliz derecesinin azaldığı görülmüştür. 10 g/L konsantrasyondaki hidroliz derecesi yaklaşık %92 iken, 60 g/L konsantrasyonda hidroliz derecesi yaklaşık %77'e düşmektedir. Aynı zamanda,

belirtilen konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %84'ten %70'e (yaklaşık %17) azalmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum başlangıç laktoz konsantrasyonu 50 g/L olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin sırasıyla polinom ve kuadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 2) ***Enzim konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde;*** enzim konsantrasyonu artışıyla hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış görülmektedir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %66 iken, 1 ml/L enzim konsantrasyonunda yaklaşık %81 olmuş ve 3 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %86 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyonu aralığı boyunca enzim aktivitesi %64'ten %74'e (yaklaşık %16) 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 ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin sırasıyla polinom ve kuadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 3) ***Sıcaklığın etkisi incelendiğinde;*** 37°C'ye kadar sıcaklık artışıyla hidroliz derecesi artarken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. 30°C'deki hidroliz derecesi yaklaşık %72 iken sıcaklık ile artarak 37°C'de yaklaşık %81 olmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 55°C'de hidroliz derecesi yaklaşık %54'e kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen sıcaklık aralığı boyunca enzim aktivitesi %75'ten %9'e (yaklaşık %88) azalmıştır. Kullanılan enzim 30°C için yaklaşık %25, 37°C için %32 ve 55°C için %91 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. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin sırasıyla polinom ve kuadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim

aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 4) ***pH'in etkisi incelendiğinde;*** asidik ortamda enzimin stabil olmadığı, bazik ortamda ise reaksiyonu daha az katalizlediği tespit edilmiştir. pH 5.5'ta hidroliz derecesi yaklaşık %38 iken, pH ile artarak pH 6.5'ta yaklaşık %81 olmuştur. Artan pH değerlerinde ise hidroliz derecesinde azalma olmaktadır. Buna karşılık belirtilen pH aralığı boyunca enzim aktivitesi %25'den %74'e (yaklaşık 1.7 kat) artmıştır. Ancak, pH 6.5 değerinden sonra aktivitedeki artış daha azdır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum pH 6.5 olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 5) ***Karıştırıcı hızının etkisi incelendiğinde;*** 300 devir/dak'a kadar karıştırıcı hızı artışıyla hidroliz derecesinde artış olurken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 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. Düşük karıştırıcı hızlarında yeterli miktarda kütle transfer hızı sağlanamadığı 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. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin quadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 6) ***Viskozitenin etkisi incelendiğinde;*** viskozite artarken hidroliz derecesinin düştüğü ancak enzim stabilitesinin arttığı belirlenmiştir. Elde edilen deneysel sonuçlar viskozite değerlerine göre değerlendirilmiş; kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim

aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortamda) ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 7) ***Giserin miktarının etkisi incelendiğinde;*** ortama ilave edilen gliserin miktarı arttıkça hidroliz derecesinin düştüğü buna karşılık enzim stabilitesinin arttığı belirlenmiştir. Elde edilen deneysel sonuçlar gliserin miktarına göre değerlendirilmiş; ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin sırasıyla polinom ve lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 8) ***Hidrolizat miktarının etkisi incelendiğinde;*** hidroliz ürünlerinin reaksiyonu inhibe ettiği ve hidroliz derecesinin azaldığı, işlem sonu enzim aktivite değerleri incelendiğinde inhibitör etkisinin tersinir olduğu ve ortamda hidroliz ürünleri varken enzim stabilitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 9) ***Glikoz miktarının etkisi incelendiğinde;*** yüksek konsantrasyonlarında glikozun reaksiyonu inhibe ettiği ve hidroliz derecesinin azaldığı görölmüştür. İşlem sonu enzim aktivite değerleri incelendiğinde inhibitör etkisinin tersinir olduğu ve ortamda glikoz varken enzim stabilitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından geliştirilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 10) ***Galaktoz miktarının etkisi incelendiğinde;*** yüksek konsantrasyonlarında galaktozu reaksiyonu inhibe ettiği ve hidroliz derecesinin azaldığı görölmüştür. İşlem sonu

enzim aktivite deęerleri incelendięinde ortamda galaktoz varken enzim stabilitesinin daha dūřuk olduęu tespit edilmiřtir. Deneyler sonucu elde edilen, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili deęerlerin lineer denkleme uyduęu; zamana karřılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili deęerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından tūretilen modele uyduęu saptanmıřtır.

- 11) ***Mg²⁺ iyonunun etkisi incelediğinde***; 0.03 M konsantrasyona kadar artan Mg²⁺ konsantrasyonu ile hidroliz derecesinin ve enzim stabilitesinin arttığı, ancak bu değerden sonra hidroliz derecesi ve enzim stabilitesinin azaldığı belirlenmiştir. Elde edilen deneysel verilere gōre optimum Mg²⁺ konsantrasyonu 0.03 M olarak tespit edilmiştir. Bu değerden daha yūksok konsantrasyonlarda Mg²⁺ iyonlarının reaksiyonu inhibe ettiği gōr÷lmektedir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin quadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından tūretilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 12) ***Mn²⁺ iyonunun etkisi incelediğinde***; artan Mn²⁺ konsantrasyonu ile hidroliz derecesinin değişmediği gōr÷lmüşt÷r. Ancak, Mn²⁺ iyonlarının enzim stabilitesini arttırdığı yani enzimi aktive ettiği gōr÷lmüşt÷r. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin quadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından tūretilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 13) ***Ca²⁺ iyonunun etkisi incelediğinde***; artan Ca²⁺ konsantrasyonu ile hidroliz derecesi ve enzim stabilitesinin belirlenmiştir. İşlem sonu enzim aktivitesi değerleri incelendiğinde Ca²⁺ iyonlarının reaksiyonu inhibe ettiği gōr÷lmüşt÷r. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin quadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin

ise sırasıyla ikinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 14) ***Optimum koşullarda***, 50 g/L laktoz konsantrasyonu, 1 ml/L enzim konsantrasyonu, 37°C sıcaklık, pH 6.5 ve 300 devir/dak karıştırıcı hızında hidroliz derecesi, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %81, %68 ve %58'dir.

B) Sonikatörde;

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

%10 frekans aralığında 20 Watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %92 iken akustik güç ile azalarak 100 Watt'ta yaklaşık %79 olmuştur. Diğer taraftan, kullanılan enzim 20 Watt akustik güç için yaklaşık %24 ve 100 Watt akustik güç için yaklaşık %40 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş akustik gücün enzim yapısında bozunmaya neden olduğuna bağlanmaktadır.

%50 frekans aralığında 20 Watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %87 iken akustik güç ile azalarak 100 Watt'ta yaklaşık %69 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %71'den %53'e (yaklaşık %25) azalmıştır.

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 (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 2) ***% Frekans aralığının etkisi incelendiğinde;*** 20 Watt akustik güçte % frekans aralığı artışıyla hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. %10 Frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %92 iken, % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %76 olmuştur. Diğer taraftan kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %25 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %40 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. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 3) ***Reaksiyon hacminin etkisi incelendiğinde;*** %10 frekans aralığı ve 20 Watt akustik güçte 250 ml hacim değerine kadar artan hacim değerleri ile hidroliz derecesinin arttığı, ancak bu değerden sonra hidroliz derecesinde bir düşüş olduğu gözlenmiştir. 62.5 ml'de hidroliz derecesi yaklaşık %87 iken hacim ile artarak 250 ml'de yaklaşık %92 olmuştur. Artan hacim değerlerinde ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 625 ml'de hidroliz derecesi yaklaşık %82'ye kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen reaksiyon hacim değerleri aralığı boyunca enzim aktivitesi %50'den %82'ye (yaklaşık %64) artmıştır. Ancak, 250 ml hacim değerinden sonra aktivitedeki artış daha azdır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre hidroliz reaksiyonu için optimum hacim 250 ml olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi (laktozlu ve laktozsuz ortam) ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 4) ***Optimum koşullarda,*** %10 frekans aralığı, 20 Watt akustik güç ve 1 ml/L enzim konsantrasyonunda hidroliz derecesi, laktozlu ve laktozsuz ortamdaki enzim aktiviteleri için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %92, %76 ve %68'dir.

C) Biyoreaktörden ve sonikatörden elde edilen deneysel veriler karşılaştırıldığında;

- 1) ***% Hidroliz derecelerine ait elde edilen veriler incelendiğinde;*** sonikatördeki hidroliz derecesinin biyoreaktördekine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 1 ml/L enzim konsantrasyonu, 37°C ve pH 6.5'te biyoreaktördeki hidroliz derecesi yaklaşık %81 iken, sonikatördeki hidroliz derecesi %92'tir.

- 2) **% Enzim aktivitelerine ait laktozlu ortamda elde edilen veriler incelendiğinde;** 1 ml/L enzim konsantrasyonu, 37°C ve pH 6.5'te % enzim aktivite değerlerinin sonikatörde daha yüksek olduğu görülmüştür. Biyoreaktördeki % enzim aktivitesi değeri yaklaşık %68 iken, sonikatördeki % enzim aktivitesi değeri %76'dır. Bu durum, sonikasyon işleminin enzim aktivitesini arttırıcı bir etkisinin olması ile açıklanabilir.
- 3) **% Enzim aktivitelerine ait laktozsuz ortamda elde edilen veriler incelendiğinde;** 1 ml/L enzim konsantrasyonu, 37°C ve pH 6.5'te % enzim aktivite değerlerinin sonikatörde daha yüksek olduğu görülmüştür. Biyoreaktördeki % enzim aktivitesi değeri yaklaşık %58 iken, sonikatördeki % enzim aktivitesi değeri %68'dir. Bu durum, sonikasyon işleminin enzim aktivitesini arttırıcı bir etkisinin olması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, biyoreaktöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesi laktozlu ve laktozsuz ortam için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %81, %68 ve %58 bulunurken; sonikatöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesi laktozlu ve laktozsuz ortam için için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %92, %76 ve %68 bulunmuştur. Dolayısı ile, sonikatörden elde edilen % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesinin biyoreaktörden elde edilen % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesinden laktozlu ve laktozsuz ortam için sırasıyla, yaklaşık %14, %14 ve %17 daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, peynir altı suyundan elde edilen laktozun *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -galaktozidaz enzimi ile hidrolizi için sonikasyon işleminin uygulanmasının kesikli biyoreaktöre kıyasla daha verimli bir proses olduğu tespit edilmiştir.

Bundan sonraki çalışmalarda, peynir altı suyundan elde edilen laktozun hidrolizi ile ilgili proses veriminin arttırılabilmesi ve enzim stabilitesinin mümkün olduğu kadar korunabilmesi için,

- Farklı kaynaklı β -galaktozidaz enzimleri,
- İmmobilize edilmiş β -galaktozidaz enzimleri,
- Enzim stabilitesini sağlayan diğer katkı maddeleri,
- Farklı reaktör tipleri (membran reaktörler veya kombine reaktör sistemleri),
- Farklı sonikatör uçlarının hidroliz reaksiyonuna etkisi

gibi faktörler incelenebilir.

KAYNAKLAR

- Andaç, Ö., (2002), Ultrases 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 β -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. ve Jelen P., (2000), “Lactose Hydrolysis Using a Disrupted Dairy Culture: Evaluation of Technical and Economical Feasibility”, University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Carrara, C.R., ve Rubiolo, A.C., (1996), “Determination of kinetics parameters for free and immobilized β -galactosidase”, Process Biochemistry, 31: 243-248.
- Casadonte, D. J., (2000), “The Sound of Science: The Chemical Effect of High-Intensity Ultrasound”, Texas Technical University, Lubbock Magazine, January:40-43.
- Chandan, R., (1997), Dairy Based Ingredients, Eagan Pres Handbook Series, St. Poul, Minnesota, USA.
- Chen, K., Suga, K., Kobayashi, T., (1980), “Effects of Pore and Film Diffusion Resistance and Deactivation of Enzyme on the Overall Reaction Rate of Immobilized Enzyme”, J. Ferment. Technol., 58: 439-448.
- Chisti, Y., (2003), “Sonobioreactors: Using Ultrasound for Enhanced Microbial Productivity”, Trends in Biotechnology, 21(2):89-93.
- Chitnis, A. ve Sadana, A., (1998), “pH Dependent Enzyme Deactivation Models”, Biotechnology and Bioengineering, 34: 804–818.
- Cracknell, A.P., (1980), Ultrasonics, Wykeham Publications, London and Basingstoke.
- Craven, G.R., Steers, E. Jr., Anfinsen, C.B., (1965), “Purification, composition and molecular weight determination of the β -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 β -galactosidase: the effect of the supports and the kinetics”, Catalysis Today 79–80:333–339.
- DSM Food Specialties, (2004), β -Galactosidase Enzyme Product Specification Sheet, 1-10.

- 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.
- Hatzinikolaou, D.G., Katsifas, E., Mama, D., Karagouni, A.D., Christakopoulos, P., Kekos, D., (2005), "Modelling of the Simultaneous Hydrolysis–Ultrafiltration of Whey Permeate by a Thermostable β -Galactosidase from *Aspergillus niger*", Biochemical Engineering Journal, 24: 161-172.
- Hill, G.A., Macdonald, D.G., Lang, X., (1997), " α -Amylase Inhibition and Inactivation in Barley Malt During Cold Starch Hydrolysis", Biotechnology Letters, 19(11): 1139–1141.
- Jurado, E., Camacho, F., Luzon, G., Vicaria, J.M., (2006), " Influence of the Hollow-fibre Membrane on the Stability of β -Galactosidase and on Lactose Hydrolysis Kinetic Models including Adsorption of the Enzyme onto the Membrane", Enzyme and Microbial Technology, 39: 1008-1015.
- Kim, C.S., Ji, E., Oh, D., (2004), "A New Kinetic Model of Recombinant β -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* α -Amylase", J.Chem.Biotechnol., 51:209-224.
- Korukluoğlu, M. (1999) "Süt Alerjisi", Gıda-Haziran 1999, 44-48.
- Ladero, M., Ruiz, G., Pessela, B.C.C., Vian A., Santos, A., Garcia-Ochoa, F., (2006), "Thermal and pH Inactivation of an Immobilized Thermostable β -Galactosidase from *Thermus sp. Strain T2*: Comparison to the Free Enzyme", Biochemical Engineering Journal, 31: 14-24.
- Ladero, M., Santos, A., Garcia, J.L., Garcia-Ochoa, F., (2001), "Activity Over Lactose and ONPG of a Genetically Engineered β -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. ve Scheibel, T., (1998), "Folding and Association of β -Galactosidase", J. Mol. Biol. 282: 1083-1091.
- Novalin, S., Neuhaus, W., Kulbe, K.D., (2005), "A new innovative process to produce lactose-reduced skim milk", Journal of Biotechnology, 119: 212-218.
- Numanoğlu, Y. ve Sungur, S., (2004), " β -Galactosidase From *Kluyveromyces lactis* Cell Disruption and Enzyme Immobilization Using a Cellulose-Gelatin Carrier System", Process Biochemistry, 39: 703-709.

- Panesar, R., Panesar, P.S., Singh, R.S., Kennedy, J.F., Bera, M.B., (2007), "Production of Lactose Hydrolyzed Milk Using Ethanol Permeabilized Yeast Cells", *Food Chemistry*, 101: 786-790.
- Pasin, Ş. ve Akar, E., (1989), "Peynir Altı Suyunda Laktik Asit Fermantasyonu", İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Bitirme Tezi.
- 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 β -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.
- Rariy, R.V., Bec, N., Klyachko, N.L., Levashov, A.V., (1998), "Thermobarostability of α -Chymotrypsin in Reversed Micelles of Aerosol OT in Octane Solvated by Water-Glycerol Mixtures", *Biotechnology and Bioengineering*, 57(5): 552-556
- Roy, I., ve Gupta, M. N., (2003), "Lactose hydrolysis by Lactozym™ immobilized on cellulose beads in batch and fluidized bed modes", *Process Biochemistry*, 39:325-332.
- Sadana, A., ve Henley, J.M., (1987), "Single step unimolecular non-first-order enzyme deactivation kinetics", *Biotechnology and Bioengineering*, 30: 717-723.
- Santos, A., Ladero, M., Garcia-Ochoa, F., (1998), "Kinetic modelling of lactose hydrolysis by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*", *Enzyme and Microbial Technology*, 22: 558-567.
- Schlager, K. J., (1998), "Progress in Ultrasonic Bioreactors for Cells Applications", *Adv. Space Res.*, 22(10):1453-1464.
- Sheely M.L., (1932), "Glycerol Viscosity Tables", *Industrial and Engineering Chemistry*, 24(9): 1060-1064.
- Sienkiewicz, T. ve Riedel, C., (1997), "Whey and Whey Powder Utilization", Chapter 10, 335-400.
- Somers, W., Rozi, H., Bonte, A., Visser, J., Rombouts, K., Riet, K., (1991), "On the Interaction of α -Amylase With Crosslinked Starch: Evaluation of Process Conditions", *Enzyme Microb. Technol.*, 13: 997-1006.
- Szczodrak, J., (2000), "Hydrolysis of Lactose in Whey Permeate by Immobilized β -Galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*" Department of Industrial Microbiology, Maria Curie-Skłodowska University, Akademicka 19, 20-033 Lublin, Poland, 10:631-637.
- Şener, N., Apar, D.K., Özbek, B., (2006), "A modelling study on milk lactose hydrolysis and β -galactosidase stability under sonication", *Process Biochemistry*, 41:1493-1500.
- Tanrıseven, A. ve Doğan, Ş., (2002), "A Novel Method for the Immobilization of β -Galactosidase", Department of Biochemistry, Gebze Institute of Technology, Gebze, Kocaeli, 38:27-30.
- Tauber, H., (1949), *The Chemistry and Technology of Enzymes*, John Wiley&Sons Inc.
- 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.
- Uraz, T., (1997), Gıda, Dünya Yayıncılık A.Ş., İstanbul,(2):9-10.
- Üçüncü, M., (2004), A’dan Z’ye Peynir Teknolojisi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Ünalın, D., (1997), “Peynir Altı Suyunun Değerlendirilmesi ve Biyolojik Arıtılabilirliği”, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Bitirme Tezi.
- Vasiljevic, T. ve Jelen P. (2002), “Lactose hydrolysis in milk as affected by neutralizers used for the preparation of crude β -galactosidase extracts from *Lactobacillus bulgaricus* 11842”, Innovative Food Science & Emerging Technologies, 3:175-184.
- Voget, C.E., Flores, M.V., Faloci, M.M., Ertola, J.J. (1994), “Effects of the ionic environment on the stability of *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase”, Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 27: 324-330.
- Wadiak, D.T. ve Carbonell, R.G., (1975), “Kinetic Behaviour of Microencapsulated β -galactosidase”, Biotechnology and Bioengineering, 17: 1157–1181
- 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.
- Yang, S-T., ve Okos, M.R., (1989), “Effects of Temperature on Lactose Hydrolysis by Immobilized β -galactosidase in Plug-Flow Reactor”, Biotechnology and Bioengineering, 33: 873-885.

İNTERNET KAYNAKLARI

- [1] 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
- [9] <http://ceiba.cc.ntu.edu.tw/603371B1/lecture6.ppt>
- [10] <http://www.nti.tamuk.edu/cell/kinetics.html>

- [11] <http://www.bioclub.sitemynet.com>
- [12] http://www.apv.com/Industries/Dairy/whey_lactose.htm
- [13] <http://www.blc.arizona.edu>.
- [14] <http://www.benjaman.net/images/lactose.gif>
- [15] <http://www.angelfire.com/nj3/soundweapon/ultrales.html>
- [16] <http://www.bandelin.com/english/index.html>
- [17] http://www.electrotherapy.org/electro/ultrasound/therapeutic_ultrasound.html
- [18] <http://science.concerresearchuk.org/sci/fs/downstream1/sonication/?version=1>
- [19] <http://www.rehabpub.com/features/102002/2.asp>
- [20] http://www.biologics-inc.com/ultrasonic_homogenizers.html
- [21] <http://www.bilesim.com.tr/mistoportal/showmakale.nsf>
- [22] http://www.worthington_biochem.com/BG/default.html
- [23] http://www.tcd.ie/Genetics/staff/Miguel_De_Arce_GE3020/Experiment3.doc
- [24] <http://acad.erskine.edu/facultyweb/baker/lab%20manual%202003/Backup%20of%20Enzymes.doc>

EKLER**Ek 1. Biyoreaktörde başlangıç laktoz konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E1. 1 Farklı başlangıç laktoz konsantrasyonu için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C, Enzim Kons.= 3 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)					
	10 g/L laktoz	20 g/L laktoz	30 g/L laktoz	40 g/L laktoz	50 g/L laktoz	60 g/L laktoz
0	10	20	30	40	50	60
5	2.86	6.38	10.54	18.42	21.56	34.22
10	2.16	4.24	7.87	13.63	15.94	24.84
15	1.42	2.92	6.95	11.40	11.67	20.37
20	1.18	2.7	5.33	8.76	10.06	18.78
25	1.02	2.04	4.27	5.96	7.34	16.36
30	0.80	1.96	3.29	5.22	7.11	13.72

Ek 2. Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E2. 1 Farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)					
	0.5 (ml/L)	1.0 (ml/L)	1.5 (ml/L)	2.0 (ml/L)	2.5 (ml/L)	3.0 (ml/L)
0	50	50	50	50	50	50
5	39.11	35.78	28.78	27.23	24.82	21.56
10	31.77	27.01	20.42	17.25	18.10	15.94
15	25.57	18.14	16.86	13.5	12.64	11.67
20	19.51	13.81	13.19	10.74	10.34	9.56
25	18.09	11.97	11.66	9.53	8.88	7.34
30	16.85	9.52	8.88	7.63	7.14	7.11

Çizelge E2. 2 Laktozlu ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	0.5 (ml/L)	1.0 (ml/L)	1.5 (ml/L)	2.0 (ml/L)	2.5 (ml/L)	3.0 (ml/L)
0	100	100	100	100	100	100
5	73.26	77.61	79.79	82.49	84.08	85.45
10	68.02	71.74	74.07	75.88	78.15	81.06
20	65.14	68.79	71.78	73.01	74.02	76.18
30	64.29	67.56	69.19	71.38	72.78	74.30

Çizelge E2. 3 Laktozsuz ortamda farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, T= 37°C)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	0.5 (ml/L)	1.0 (ml/L)	1.5 (ml/L)	2.0 (ml/L)	2.5 (ml/L)	3.0 (ml/L)
0	100	100	100	100	100	100
5	75.09	76.65	78.79	80.64	83.29	87.31
10	65.72	68.29	69.12	70.99	74.43	81.06
20	59.34	62.04	63.84	65.27	67.37	73.63
30	56.55	57.67	59.01	61.03	64.27	68.12

Ek 3. Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E3. 1 Farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)						
	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)	55 (°C)
0	50	50	50	50	50	50	50
5	37.32	35.43	29.78	31.86	33.11	34.83	36.18
10	29.76	27.68	24.01	22.97	23.22	24.34	31.04
15	24.44	22.66	17.74	18.23	18.58	21.98	28.47
20	17.82	14.82	13.81	14.64	16.47	19.04	24.11
25	15.26	13.94	11.97	12.88	14.43	17.22	21.22
30	13.84	10.30	9.52	10.66	12.74	15.74	20.28

Çizelge E3. 2 Laktozlu ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)	55 (°C)
0	100	100	100	100	100	100	100
5	88.32	85.96	77.61	73.47	66.89	47.03	16.83
10	82.33	77.24	71.74	69.68	66.07	45.11	15.28
20	78.84	71.98	68.79	66.87	64.32	44.03	11.06
30	72.41	69.44	67.56	65.96	63.37	43.37	9.11

Çizelge E3. 3 Laktozsuz ortamda farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)	55 (°C)
0	100	100	100	100	100	100	100
5	80.96	79.11	76.65	70.83	68.48	62.28	40.25
10	72.24	69.74	68.29	63.22	59.25	51.47	19.09
20	67.88	64.92	62.04	54.79	52.03	40.08	13.14
30	60.61	58.49	57.67	51.72	46.14	31.95	7.80

Ek 4. Biyoreaktörde pH etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E4. 1 Farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)					
	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 7.5	pH 8.0
0	50	50	50	50	50	50
5	45.27	36.54	32.78	38.42	39.62	41.06
10	40.88	29.12	24.01	28.82	29.42	33.46
15	37.12	20.09	17.74	23.58	25.72	28.54
20	34.77	15.70	13.81	19.34	20.24	22.72
25	32.42	13.11	11.97	17.2	18.36	19.04
30	30.76	10.43	9.52	13.12	15.38	17.88

Çizelge E4. 2 Laktozlu ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 7.5	pH 8.0
0	100	100	100	100	100	100
5	51.28	74.38	77.61	79.49	82.22	84.47
10	42.78	69.29	71.74	72.99	76.47	78.66
20	29.22	66.92	68.79	71.16	73.55	75.84
30	24.54	63.87	67.56	69.78	72.35	73.51

Çizelge E4. 3 Laktozsuz ortamda farklı pH değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0	pH 7.5	pH 8.0
0	100	100	100	100	100	100
5	43.22	71.62	76.65	77.33	79.17	80.37
10	30.34	63.38	68.29	70.45	74.62	76.74
20	22.89	55.41	62.04	64.12	67.54	70.69
30	10.87	49.54	57.67	59.93	62.26	63.73

Ek 5. Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E5. 1 Farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 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	34.16	31.90	30.78	37.18	38.26	39.46
10	25.49	22.72	22.01	28.94	30.41	32.56
15	21.32	18.20	17.24	23.40	25.22	28.10
20	16.74	14.90	13.81	19.98	22.02	23.58
25	13.39	12.04	11.97	17.15	19.84	21.92
30	12.69	10.66	9.52	14.78	16.41	18.44

Çizelge E5. 2 Laktozlu ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 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	85.79	83.22	77.61	72.12	63.50	55.21
10	83.17	78.77	71.74	69.66	59.59	50.63
20	76.65	74.32	69.54	66.43	56.21	47.09
30	74.32	71.23	67.56	63.76	54.34	45.84

Çizelge E5. 3 Laktozsuz ortamda farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 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	79.83	78.16	76.65	71.23	67.55	56.42
10	73.12	71.05	68.29	60.41	53.96	41.28
20	66.45	64.27	62.04	53.92	45.73	34.99
30	62.18	59.40	57.67	49.24	42.18	29.37

Ek 6. Biyoreaktörde viskozite etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E6. 1 Farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)						
	1.005 cp (% 0 gliserin)	1.184 cp (%5 gliserin)	1.415 cp (%10 gliserin)	2.109 cp (%20 gliserin)	3.412 cp (%30 gliserin)	6.188 cp (%40 gliserin)	13.43 cp (%50 gliserin)
0	50	50	50	50	50	50	50
5	30.78	34.84	41.06	44.44	48.16	49.04	49.52
10	22.01	25.58	34.8	39.92	46.58	48.62	49.26
15	17.74	20.08	29.46	34.78	44.54	47.88	49.02
20	13.81	16.66	25.94	30.30	42.86	47.14	48.74
25	11.97	13.34	21.96	27.84	39.64	45.92	48.20
30	9.52	11.68	18.50	24.44	37.80	45.54	47.90

Çizelge E6.2 Laktozlu ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	1.005 cp (% 0 gliserin)	1.184 cp (%5 gliserin)	1.415 cp (%10 gliserin)	2.109 cp (%20 gliserin)	3.412 cp (%30 gliserin)	6.188 cp (%40 gliserin)	13.43 cp (%50 gliserin)
0	100	100	100	100	100	100	100
5	77.61	81.54	83.89	85.92	89.77	91.83	94.75
10	71.74	77.43	80.76	82.60	85.25	87.13	90.83
20	68.79	73.82	74.78	76.38	81.27	84.11	87.22
30	67.56	69.10	71.98	74.12	76.33	79.99	84.45

Çizelge E6.3 Laktozsuz ortamda farklı viskozite değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	1.005 cp (% 0 gliserin)	1.184 cp (%5 gliserin)	1.415 cp (%10 gliserin)	2.109 cp (%20 gliserin)	3.412 cp (%30 gliserin)	6.188 cp (%40 gliserin)	13.43 cp (%50 gliserin)
0	100	100	100	100	100	100	100
5	76.65	82.04	85.22	87.09	88.92	90.66	92.50
10	68.29	73.43	76.26	79.19	83.88	86.70	86.07
20	62.04	65.81	68.13	72.88	75.68	78.27	81.52
30	57.67	59.57	63.88	67.07	70.64	73.26	76.31

Ek 7. Biyoreaktörde hidrolizat etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E7. 1 Farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	% 0 (v/v)	% 25 (v/v)	% 50 (v/v)	% 75 (v/v)	% 100 (v/v)
0	50	50	50	50	50
5	30.78	38.64	40.94	43.27	45.52
10	22.01	32.96	35.72	38.14	41.56
15	17.74	28.56	32.68	35.96	37.90
20	13.81	24.80	29.23	31.52	35.08
25	11.97	21.70	26.80	28.96	32.04
30	9.52	18.26	22.74	25.12	29.09

Çizelge E7. 2 Laktozlu ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	% 0 (v/v)	% 25 (v/v)	% 50 (v/v)	% 75 (v/v)	% 100 (v/v)
0	100	100	100	100	100
5	77.61	84.70	86.63	88.98	90.01
10	71.74	79.54	81.22	83.71	85.43
20	68.79	73.69	76.52	77.74	79.89
30	67.56	70.41	72.35	74.13	76.11

Çizelge E7. 3 Laktozsuz ortamda farklı hidrolizat miktarları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	% 0 (v/v)	% 25 (v/v)	% 50 (v/v)	% 75 (v/v)	% 100 (v/v)
0	100	100	100	100	100
5	76.65	78.84	83.25	82.83	86.50
10	68.29	72.99	74.23	78.44	80.11
20	62.04	65.95	70.05	73.51	74.63
30	57.67	62.13	67.40	68.24	71.72

Ek 8. Biyoreaktörde glikoz etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E8. 1 Farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	0 (g/L)	25 (g/L)	50 (g/L)	75 (g/L)	100 (g/L)
0	50	50	50	50	50
5	30.78	35.42	39.98	41.54	42.32
10	22.01	27.30	32.29	35.38	36.48
15	17.74	22.94	26.56	30.48	33.52
20	13.81	17.62	23.08	27.10	29.62
25	11.97	14.92	22.04	24.62	27.46
30	9.52	12.78	19.74	22.86	25.18

Çizelge E8. 2 Laktozlu ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	0 (g/L)	25 (g/L)	50 (g/L)	75 (g/L)	100 (g/L)
0	100	100	100	100	100
5	77.61	81.61	83.53	85.21	87.74
10	71.74	74.87	77.84	79.28	82.66
20	68.79	71.96	73.86	75.18	78.25
30	67.56	68.42	70.26	71.62	74.33

Çizelge E8. 3 Laktozsuz ortamda farklı glikoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	0 (g/L)	25 (g/L)	50 (g/L)	75 (g/L)	100 (g/L)
0	100	100	100	100	100
5	76.65	79.79	83.29	86.78	87.89
10	68.29	71.74	76.57	79.96	83.53
20	62.04	65.75	71.03	74.39	77.46
30	57.67	61.81	67.41	69.35	73.87

Ek 9. Biyoreaktörde galaktoz etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E9. 1 Farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	0 (g/L)	25 (g/L)	50 (g/L)	75 (g/L)	100 (g/L)
0	50	50	50	50	50
5	30.78	34.08	37.94	40.40	42.68
10	22.01	29.50	32.32	35.70	38.22
15	17.74	24.14	26.64	30.56	33.56
20	13.81	19.92	24.08	27.38	29.50
25	11.97	17.62	20.10	24.18	27.26
30	9.52	15.14	19.14	22.64	24.30

Çizelge E9. 2 Laktozlu ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	0 (g/L)	25 (g/L)	50 (g/L)	75 (g/L)	100 (g/L)
0	100	100	100	100	100
5	77.61	74.53	72.49	68.54	65.01
10	71.74	70.01	68.65	64.11	60.36
20	68.79	67.32	65.09	60.59	57.48
30	67.56	65.28	63.32	58.79	55.01

Çizelge E9. 3 Laktozsuz ortamda farklı galaktoz konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	0 (g/L)	25 (g/L)	50 (g/L)	75 (g/L)	100 (g/L)
0	100	100	100	100	100
5	76.65	73.91	71.71	69.06	67.28
10	68.29	65.94	62.49	61.13	57.91
20	62.04	59.29	57.48	54.28	52.32
30	57.67	55.45	53.67	51.03	48.01

Ek 10. Biyoreaktörde iyonların etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Ek 10.1 Biyoreaktörde Mg²⁺ iyonlarının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E10.4 Farklı Mg²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)					
	0 M	0.01 M	0.02 M	0.03 M	0.04 M	0.06 M
0	50	50	50	50	50	50
5	31.78	27.48	26.59	25.77	28.26	32.85
10	22.01	18.08	17.83	15.96	19.66	23.86
15	17.74	13.02	12.53	12.07	15.98	19.37
20	13.81	10.90	11.04	9.47	12.74	16.60
25	11.97	9.85	9.24	8.56	11.42	14.86
30	9.52	8.77	7.88	7.49	9.90	12.98

Çizelge E10. 5 Laktozlu ortamda farklı Mg^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	0 M	0.01 M	0.02 M	0.03 M	0.04 M	0.06 M
0	100	100	100	100	100	100
5	77.61	88.29	91.64	93.41	89.31	87.21
10	71.74	83.96	87.88	90.48	86.11	79.42
20	68.79	78.79	82.21	84.6	79.86	72.36
30	67.56	75.54	79.55	80.97	77.36	70.84

Çizelge E10. 6 Laktozsuz ortamda farklı Mg^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	0 M	0.01 M	0.02 M	0.03 M	0.04 M	0.06 M
0	100	100	100	100	100	100
5	76.65	89.19	90.58	91.05	87.01	82.62
10	68.29	81.49	83.53	86.54	82.17	77.43
20	62.04	76.22	79.16	81.46	75.69	71.44
30	57.67	20.00	74.13	76.40	71.44	68.25

Ek 10.2 Biyoreaktörde Mn²⁺ iyonlarının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E10.4 Farklı Mn²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)			
	0 M	0.005 M	0.01 M	0.02 M
0	50	50	50	50
5	30.78	29.17	28.68	28.66
10	22.01	20.18	20.2	20.44
15	17.74	15.60	15.72	16.08
20	13.81	12.62	12.96	13.52
25	11.97	11.82	11.44	11.68
30	9.52	9.97	9.88	9.86

Çizelge E10. 5 Laktozlu ortamda farklı Mn^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)			
	0 M	0.005 M	0.01 M	0.02 M
0	100	100	100	100
5	77.61	84.89	90.59	91.24
10	71.74	79.88	84.98	86.14
20	68.79	76.07	80.97	82.33
30	67.56	74.52	79.36	80.15

Çizelge E10. 6 Laktozsuz ortamda farklı Mn^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)			
	0 M	0.005 M	0.01 M	0.02 M
0	100	100	100	100
5	76.65	83.12	85.7	87.97
10	68.29	73.16	79.72	82.36
20	62.04	67.97	73.97	76.65
30	57.67	63.94	69.33	72.66

Ek 10.3 Biyoreaktörde Ca²⁺ iyonlarının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E10.7 Farklı Ca²⁺ konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)			
	0 M	0.01 M	0.02 M	0.04 M
0	50	50	50	50
5	31.78	34.09	35.64	38.88
10	22.01	26.36	28.10	32.64
15	17.74	21.40	23.44	27.24
20	13.81	17.38	19.24	22.60
25	11.97	13.68	15.88	19.54
30	9.52	12.45	14.86	17.84

Çizelge E10. 8 Laktozlu ortamda farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)			
	0 M	0.01 M	0.02 M	0.04 M
0	100	100	100	100
5	77.61	75.07	72.58	62.24
10	71.74	69.98	65.75	54.37
20	68.79	66.93	63.35	52.39
30	67.56	65.69	61.76	50.44

Çizelge E10. 9 Laktozsuz ortamda farklı Ca^{2+} konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (T=37°C, pH=6.5, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)			
	0 M	0.01 M	0.02 M	0.04 M
0	100	100	100	100
5	76.65	63.87	58.77	49.71
10	68.29	52.09	47.80	37.17
20	62.04	47.08	40.96	33.06
30	57.67	43.82	37.25	29.43

Ek 11. Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E11. 1 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 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	31.90	34.06	36.02	37.28	39.88
10	21.68	25.02	26.08	27.90	28.72
15	14.46	16.16	19.14	20.90	22.66
20	9.54	10.86	13.76	16.06	16.86
25	6.58	8.44	10.90	12.48	13.10
30	4.03	5.70	8.09	9.86	10.64

Çizelge E11. 2 Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	91.96	87.52	84.33	81.36	76.44
10	86.33	80.46	75.48	72.68	69.34
20	80.28	74.44	68.96	64.31	62.60
30	75.74	70.38	66.05	62.89	60.26

Çizelge E11. 3 Laktozsuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	88.75	82.61	79.51	77.47	73.83
10	82.48	75.89	72.98	68.22	61.69
20	72.94	66.49	63.86	60.85	56.01
30	68.37	62.70	59.47	55.30	51.25

Çizelge E11. 4 Farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 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	35.48	37.34	38.04	40.56	41.72
10	25.68	27.56	29.16	31.56	33.66
15	18.90	20.84	22.04	25.32	27.46
20	13.32	15.38	17.19	19.40	23.84
25	10.12	11.96	14.32	16.38	18.59
30	6.62	8.70	10.40	12.24	15.57

Çizelge E11. 5 Laktozlu ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	87.75	84.73	81.90	78.63	73.07
10	82.79	79.27	72.19	70.89	65.03
20	75.82	72.81	65.47	62.19	57.12
30	71.29	68.10	61.33	57.86	53.06

Çizelge E11. 6 Laktozsuz ortamda farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %50, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	79.13	75.31	70.09	65.89	60.42
10	70.48	66.09	59.64	53.08	46.77
20	63.67	56.40	50.50	43.32	37.81
30	58.38	53.23	46.14	38.85	34.17

Ek 12. Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E12. 1 Farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	50	50	50	50	50
5	31.90	32.82	35.48	38.76	40.52
10	21.68	22.40	25.68	28.50	31.98
15	14.46	15.74	18.9	20.26	22.98
20	9.54	9.94	13.32	15.30	18.02
25	6.58	7.16	10.12	11.94	14.26
30	4.03	5.14	6.62	9.54	12.10

Çizelge E12. 2 Laktozlu ortamda farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	100	100	100	100	100
5	91.96	90.69	87.75	85.07	82.03
10	86.33	83.35	82.79	76.81	71.39
20	80.28	77.63	75.82	69.24	62.62
30	75.74	72.93	71.29	64.34	58.34

Çizelge E12. 3 Laktozsuz ortamda farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	100	100	100	100	100
5	88.75	83.93	79.13	75.08	71.14
10	82.48	76.43	72.48	62.46	55.00
20	72.94	67.58	63.67	53.67	45.13
30	68.37	64.37	58.38	49.77	40.81

Ek 13. Sonikatörde hacim etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E13. 1 Farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)						
	62.5 ml	125 ml	187.5 ml	250 ml	375 ml	500 ml	625 ml
0	50	50	50	50	50	50	50
5	34.78	33.45	32.56	31.90	33.36	35.18	37.36
10	24.08	22.84	22.06	21.68	23.40	26.06	29.54
15	16.92	15.78	15.18	14.46	16.62	19.64	21.18
20	13.54	10.92	9.23	9.54	12.10	13.63	16.32
25	9.24	7.90	6.21	6.58	8.62	10.94	13.10
30	6.52	5.28	4.63	4.03	5.98	7.64	8.90

Çizelge E13. 2 Laktozlu ortamda farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	62.5 ml	125 ml	187.5 ml	250 ml	375 ml	500 ml	625 ml
0	100	100	100	100	100	100	100
5	67.78	77.26	85.77	91.96	92.2	94.21	95.07
10	57.59	65.95	73.44	86.33	87.56	89.12	91.33
20	52.29	61.87	69.09	80.28	82.87	84.79	85.79
30	49.85	57.31	64.58	75.74	77.05	78.88	81.70

Çizelge E13. 3 Laktozsuz ortamda farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 Watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.5, T= 37°C, Enzim Kons.= 1 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)						
	62.5 ml	125 ml	187.5 ml	250 ml	375 ml	500 ml	625 ml
0	100	100	100	100	100	100	100
5	75.48	80.09	83.19	88.75	89.45	90.21	91.72
10	60.66	66.45	73.13	82.48	83.01	84.12	86.93
20	46.95	55.50	65.98	72.94	76.35	77.79	80.79
30	42.06	49.35	58.73	68.37	71.52	73.88	75.34

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	21.04.1981	
Doğum yeri	İstanbul	
Lise	1996-1999	Adnan Menderes Anadolu Lisesi
Lisans Hazırlık	1999-2000	Yıldız Teknik Üniversitesi, Yabancı Diller Bölümü
Lisans	2000-2004	Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans	2004-	Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Çalıştığı kurum(lar)

2005-Devam ediyor	Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Proses ve Reaktör Tasarımı Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi
-------------------	---