

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**β -GALACTOSIDASE ENZİMİ ile YAĞSIZ SÜTTE
LAKTOZ HİDROLİZİNİN İNCELENMESİ ve
MODELLENMESİ**

Kimya Mühendisi Fatma Betül AKGÜL

**FBE Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Kimya Mühendisliği Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Belma KIN ÖZBEK

İSTANBUL, 2010

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	v
KISALTIMA LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ÖNSÖZ.....	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. ENZİMLER	2
2.1 Enzim Nedir?	2
2.2 Enzimlerin Özellikleri	3
2.3 Enzimlerin Yapısı	3
2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması.....	4
2.5 Enzimlerin Etki Mekanizması	5
2.6 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler.....	6
2.7 Enzim İnhibisyonu.....	7
2.8 Enzimlerin Uygulama Alanları.....	8
3. SÜT.....	10
3.1 Sütün Yapısı	10
3.2 Sütün Bileşimi	10
3.3 Sütün Besin Değeri	11
3.4 Sütün Yararları.....	14
3.5 Süt Üretimi.....	15
3.5.1 Süthanelere gelen sütlere uygulanan işlemler.....	15
3.5.1.1 Platform testleri	15
3.5.1.2 Sütlerin santrifüjden ve filtrelerden geçirilmesi	15
3.5.1.3 Sütlerin homojenize edilmesi	16
3.5.1.4 Süte uygulanan ısı işlemleri.....	16
3.5.1.5 Sütün soğutulması ve dondurulması	17
3.6 Pastörize ve Sterilize Sütler	18
3.7 Üretilen Sütün Değerlendirilmesi	21
3.8 Laktoz Alerjisi	21
4. LAKTOZ	23

4.1	Karbonhidratlar ve Laktoz	23
4.2	Laktozun Hidrolizi	24
4.3	Laktozun Kullanım Alanları	26
5.	SONİKASYON	27
5.1	Sonikasyonun Tanımı	27
5.2	Frekans Aralığı	27
5.3	Sonikasyonun Genel Prensipleri	28
5.4	Kavitasyon	29
5.5	Kavitasyonu Etkileyen Faktörler	31
5.6	Sonikasyon İşleminde Kullanılan Cihazlar	32
5.6.1	Ultrasonik banyo	32
5.6.2	Ultrasonik prob	33
5.7	Sonikasyonun Yararları	34
5.8	Sonikasyonun Kullanım Alanları	35
6.	β -GALACTOSIDASE ENZİMİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ	39
6.1	β -Galactosidase Enziminin Yapısı	40
6.2	β -Galactosidase Enziminin Endüstriyel Uygulamaları	42
7.	β -GALACTOSIDASE ENZİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	43
8.	MATERYAL VE YÖNTEM	50
8.1	Kullanılan Materyaller	50
8.2	Kullanılan Cihazlar	50
8.2.1	Biyoreaktör	50
8.2.1.1	Biyoreaktör kontrol modülleri	54
8.2.2	Sonikatör	54
8.2.2.1	Sonikatör kontrol modülleri	56
8.2.3	Homojenizatör	57
8.3	Deneylerin Yapılışı	58
8.4	Analiz Yöntemleri	59
8.4.1	Laktoz konsantrasyonu tayini	59
8.4.2	% Enzim aktivite tayini	59
8.5	Hesaplamalar	60
8.5.1	Laktoz konsantrasyonunun hesaplanması	60
8.5.2	Enzim aktivitesinin hesaplanması	61
8.6	İstatistiksel Hesaplamalar	61
9.	ARAŞTIRMA BULGULARI	63
9.1	Biyoreaktörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular	63
9.1.1	Sıcaklığın enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi	63
9.1.2	Karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi	68
9.1.3	Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi	74
9.2	Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular	79
9.2.1	Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi	79
9.2.2	% Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi	84
9.2.3	Reaksiyon hacminin enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi	89

9.3	Homojenizatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular	95
9.4	Farklı Reaktör Tiplerinde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Elde Edilen Sonuçların Karşılaştırılması.....	97
10.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR.....		108
EKLER		113
Ek 1	Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler	113
Ek 2	Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler	114
Ek 3	Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....	115
Ek 4	Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler	116
Ek 5	Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler	117
Ek 6	Sonikatörde hacim etkisinin incelendiği deneylere ait veriler.....	118
Ek 7	Homojenizatörde gerçekleştirilen deneye ait veriler	119
ÖZGEÇMİŞ.....		120

SİMGE LİSTESİ

[S ₀]	t=0 anındaki laktoz konsantrasyonu, g/L
[S ₁]	İşlem sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu, g/L
[M _{LAKTOZ}]	Laktozun molekül ağırlığı, 342.32 g/mol
[M _{GLUKOZ}]	Glukozun molekül ağırlığı, 180.17 g/mol
C _G	İşlem sonunda ol uşan glukozun absorbens değeri
C _{St}	Glukoz standart çözeltilisinin absorbens değeri
f	Seyreltme faktörü
[H]	% Hidroliz derecesi
[A ₀]	t=0 anındaki ONP'nin absorbens değeri
[A ₁]	İşlem sonundaki ONP'nin absorbens değeri
[A]	% Enzim aktivitesi
[F]	% Frekans aralığı
[V]	Hacim
σ	Standart sapma
R ²	Regresyon katsayısı
T	Sıcaklık, °C
N	Karıştırıcının bir dakikadaki devir sayısı, devir/dak
E	Enzim konsantrasyonu, ml/L
t	Zaman, dakika

KISALTMA LİSTESİ

ONPG	Orto-nitrophenol- β -D-galactoside
ONP	Orto-nitrophenol
Hz	Hertz
kDa	Kilodalton
F.A.	Frekans aralığı
mPOS	Magnetik polisilokzan
PVA	Polivinil alkol

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Enzimin yapısı..... 3
Şekil 2.2	Enzimlerin etki mekanizması..... 5
Şekil 2.3	Tersinir inhibitörler..... 7
Şekil 2.4	Tersinmez inhibitörler..... 8
Şekil 3.1	Pastörize içme sütü üretimi akış diyagramı..... 19
Şekil 3.2	Sterilize içme sütü üretimi akış diyagramı..... 20
Şekil 4.1	Laktoz molekülü..... 24
Şekil 4.2	Laktozun enzimatik hidrolizi..... 25
Şekil 5.1	Ultrasonik dalgaların ilerleyişi..... 30
Şekil 5.2	Kavitasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönmesi..... 31
Şekil 5.3	Ultrasonik temizleme banyosu..... 33
Şekil 5.4	Ultrasonik prob sistemi..... 33
Şekil 6.1	β -Galactosidase enziminin kimyasal görünümü..... 41
Şekil 8.1	Biyoreaktör sisteminin genel görünümü..... 51
Şekil 8.2	Biyoreaktör ve kontrol modüllerinin şeması..... 52
Şekil 8.3	Sonikatör sisteminin genel görünümü..... 55
Şekil 8.4	Sonikatör ve kontrol modüllerinin şeması..... 56
Şekil 8.5	Homojenizatör cihazı..... 58
Şekil 8.6	ONPG hidrolizi..... 60
Şekil 9.1	Biyoreaktörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun sıcaklık ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — enzim aktivitesi, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 64
Şekil 9.2	Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 30 °C, ■ 35 °C, ◆ 37 °C, ● 40 °C, ◆ 45 °C, ◆ 50 °C, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 66
Şekil 9.3	Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 30 °C, ■ 35 °C, ◆ 37 °C, ● 40 °C, ◆ 45 °C, ◆ 50 °C, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 67
Şekil 9.4	Biyoreaktörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun karıştırıcı hızı ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ kalan laktoz, — modeller (pH= 6.7, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 70
Şekil 9.5	Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 100 rpm, ■ 200 rpm, ◆ 300 rpm, ◆ 400 rpm, ● 500 rpm, ■ 600 rpm, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 72
Şekil 9.6	Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 100 rpm, ■ 200 rpm, ◆ 300 rpm, ◆ 400 rpm, ● 500 rpm, ■ 600 rpm, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 73
Şekil 9.7	Biyoreaktörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%) ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (pH= 6.7,

	T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	75
Şekil 9.8	Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 0.5 ml/L, ■ 1 ml/L, ◆ 1.25 ml/L, ■ 1.5 ml/L, ▲ 2 ml/L, — modeller (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	77
Şekil 9.9	Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 0.5 ml/L, ■ 1 ml/L, ◆ 1.25 ml/L, ◆ 1.5 ml/L, ● 2 ml/L, — modeller (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	78
Şekil 9.10	Sonikatörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	80
Şekil 9.11	Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ▲ 20 W, ■ 40 W, ▲ 60 W, ◆ 80 W, ● 100 W, — modeller (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	82
Şekil 9.12	Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 20 W, ■ 40 W, ▲ 60 W, ◆ 80 W, ● 100 W, — modeller (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	83
Şekil 9.13	Sonikatörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	85
Şekil 9.14	Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ▲ %10 F.A., ■ %30 F.A., ▲ %50 F.A., ◆ %70 F.A., ● %90 F.A., — modeller (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T=37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	87
Şekil 9.15	Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● %10 F.A., ■ %30 F.A., ▲ %50 F.A., ◆ %70 F.A., ● %90 F.A., — modeller (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.=1.25 ml/L).....	88
Şekil 9.16	Sonikatörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun reaksiyon hacmi ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (Frekans Aralığı=%10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	91
Şekil 9.17	Sonikatörde farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 62.5 ml, ■ 125 ml, ◆ 187.5 ml, ◆ 250 ml, ● 375 ml, ■ 500 ml, ▲ 625 ml, — modeller (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	93
Şekil 9.18	Sonikatörde farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 62.5 ml, ■ 125 ml, ▲ 187.5 ml, ◆ 250 ml, ● 375 ml, ● 500 ml, ■ 625 ml, — modeller (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	94
Şekil 9.19	Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon	

	değerleri; ▲ deneysel, — model (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	96
Şekil 9.20	Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ▲ deneysel, — model (pH= 6.7, T= 37 °C, N=3500 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	97

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Çeşitli enzimler ve uygulama alanları..... 9
Çizelge 3.1	Süte ait enerji ve besin değerleri..... 13
Çizelge 3.2	Sütlerin ısı işleminde ortalama değerler..... 17
Çizelge 3.3	Laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı (%)... 22
Çizelge 5.1	Ses dalgaları ve frekansları..... 27
Çizelge 5.2	Güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulamaları..... 27
Çizelge 5.3	Frekans aralığı ve titreşim oranlarının karşılaştırılması..... 28
Çizelge 5.4	Sonikasyonun kullanım alanları..... 36
Çizelge 6.1	β -Galaktosidase enziminin kimyasal özellikleri..... 39
Çizelge 6.2	β -Galaktosidase enziminin mikrobiyolojik özellikleri..... 40
Çizelge 8.1	Biyoreaktör ile ilgili komponentler ve değerleri..... 53
Çizelge 8.2	Pınar yağsız süte ait enerji ve besin değerleri..... 60
Çizelge 9.1	Biyoreaktörde sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 63
Çizelge 9.2	Biyoreaktörde sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 65
Çizelge 9.3	Biyoreaktörde farklı sıcaklık değerleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak)..... 68
Çizelge 9.4	Biyoreaktörde karıştırıcı hıza karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 69
Çizelge 9.5	Biyoreaktörde karıştırıcı hıza karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 71
Çizelge 9.6	Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 74
Çizelge 9.7	Biyoreaktörde enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)..... 75
Çizelge 9.8	Biyoreaktörde enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)..... 76
Çizelge 9.9	Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)..... 79
Çizelge 9.10	Sonikatörde akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 80
Çizelge 9.11	Sonikatörde akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 81
Çizelge 9.12	Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)..... 84
Çizelge 9.13	Sonikatörde % frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).. 84

Çizelge 9.14	Sonikatörde % frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	86
Çizelge 9.15	Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	89
Çizelge 9.16	Sonikatörde reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	90
Çizelge 9.17	Sonikatörde reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)...	92
Çizelge 9.18	Sonikatörde 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= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	95
Çizelge 9.19	Homojenizatörde laktoz konsantrasyonu ve % enzim aktivitesi için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons. = 1.25 ml/L).....	97
Çizelge 9.20	Laktoz dönüşüm oranlarının karşılaştırılması.....	99
Çizelge 10.1	Yağlı ve yağsız süt deneysel verilerinin karşılaştırılması.....	106
Çizelge E1.1	Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	113
Çizelge E1.2	Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	113
Çizelge E2.1	Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	114
Çizelge E2.2	Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	114
Çizelge E3.1	Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	115
Çizelge E3.2	Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak).....	115
Çizelge E4.1	Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	116
Çizelge E4.2	Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	116
Çizelge E5.1	Sonikatörde farklı %frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	117
Çizelge E5.2	Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen	

	% enzim aktivite değerleri (Akustik G= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 �C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	117
Çizelge E6.1	Sonikatörde farklı hacimler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik G= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 �C, Enzim Kons. = 1.25 ml/L).....	118
Çizelge E6.2	Sonikatörde farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik G= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 �C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L).....	118
Çizelge E7.1	Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 �C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons. = 1.25 ml/L).....	119
Çizelge E7.2	Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 �C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons. = 1.25 ml/L).....	119

ÖNSÖZ

Tez çalışmamı değerli fikir ve önerileri ile yönlendiren, yardım eden ve her aşamada beni destekleyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Belma KIN ÖZBEK'e, çalışmam süresince hiçbir yardımdan kaçınmayan Araştırma Görevlisi Elçin DEMİRHAN YILMAZ'a, Lisans ve Yüksek Lisans eğitimimi yaptığım Kimya Mühendisliği Bölümümüzün tüm saygıdeğer Öğretim Üyelerine, Yüksek Lisans tezim ile ilgili projem için maddi destek sağlayan Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje No: 2010-07-01-YL01), maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyip yaşantım boyunca yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

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

Bu çalışmada, proses parametrelerinin yağsız sütteki laktoz hidrolizi ve enzim aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -Galactosidase enzimi ile laktoz hidrolizi deneyleri için Gallenkamp marka modüler biyoreaktör, Bandelin Sonopuls marka sonikatör ve IKA Ultra Turrax T 18 marka Homojenizatör kullanılmıştır. Hidroliz reaksiyonları 250 ml yağsız süt içerisinde gerçekleştirilmiştir. Biyoreaktöre ait proses değişkenleri; sıcaklık, karıştırıcı hızı ve enzim konsantrasyonu; sonikatöre ait proses değişkenleri % frekans aralığı, akustik güç ve hacim; homojenizatöre ait tek proses değişkeni ise 3500 devir/dak hızdır. Belirtilen proses değişkenlerinde; zamana karşılık laktoz konsantrasyonu (g/L), hidroliz derecesi (%) ve enzim aktivitesi (%) değerlerinin değişimi incelenmiştir. Ayrıca, laktoz konsantrasyonu ve % enzim aktivite değerlerine ait elde edilen deneysel veriler kullanılarak ilgili matematiksel modeller kurulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laktoz hidrolizi, β -Galactosidase, biyoreaktör, sonikatör, homojenizatör, yağsız süt, modelleme, proses değişkenleri.

ABSTRACT

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

The present investigation describes the effects of the process parameters on enzymatic hydrolysis of skimmed milk lactose and enzyme stability. Gallenkamp Modular Bioreactor System, Bandelin Sonopuls Sonicator and IKA Ultra Turrax T 18 Homogenizer were used for the lactose hydrolysis experiments. β -Galactosidase enzyme used in the present study is produced from *Kluyveromyces marxianus*. The reactions were carried out in 250 ml of skimmed milk. While process variables for the bioreactor are temperature, impeller speed and enzyme concentration; process variables for the sonicator are duty cycle, acoustic power and volume, one process variable for the homogenizer is 3500 rpm/min. The amount of lactose concentration (g/L), the degree of lactose hydrolysis (%) and enzyme activity (%) against time were investigated under chosen process variables. Beside of this; the mathematical models depending on the operating conditions were also derived by using the experimental data of lactose concentration and enzyme activity.

Keywords: Lactose hydrolysis, β -galactosidase, bioreactor, sonicator, homogenizer, skimmed milk, modelling, process variables.

1. GİRİŞ

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

Doğal katalizör olarak adlandırılan enzimler başta gıda sektörü olmak üzere tarım, deterjan, tekstil, kimya gibi endüstriyel alanlar ve biyokimya, moleküler biyoloji, bakteriyoloji, genetik, farmakoloji, tıp, mühendislik gibi bilim dalları için büyük bir önem taşımaktadır.

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

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

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

2. ENZİMLER

2.1 Enzim Nedir?

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

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

Enzimlerin kimyasal katalizörlerden en önemli farkı özgül (spesifik) olmalarıdır. Genel olarak enzimler belirli maddeler arasındaki belirli reaksiyonları katalize ederler. [3].

Enzimler, atmosferik basınçta, düşük sıcaklık ve asitliği yüksek olmayan ortamlarda çalışırlar. Birçok enzimin fonksiyonlarını sürdürebilmesi için en uygun koşullar; 30-70°C arasında sıcaklık ve nötr değere yakın pH değerleridir [4].

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, canlılığın yapısı karmaşıklaştıkça hücredeki enzim sayısı da artar [1].

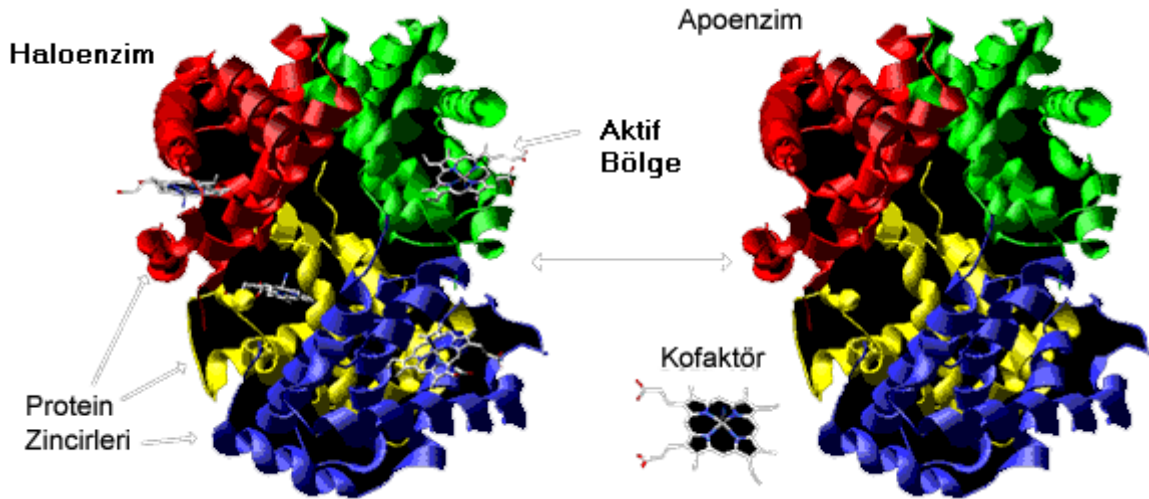
2.2 Enzimlerin Özellikleri

- Enzimlerin tümü protein yapısındadır ya da protein kısmı bulundurulur.
- Etki ettiği maddenin sonuna “-az” eki getirilerek ya da katalizlediği tepkimenin çeşidine göre adlandırılırlar.
- Suda yada sulandırılmış tuz çözeltilerinde çözülebilirler.

- Enzimin etki ettiği bileşiğe “substrat” denir. Bazı enzimler çok spesifiktir ve yalnızca bir substrata etki ederler. Bazı enzimler ise çeşitli substratlara etki ederler.
- Enzimler hücrede bir takım halinde beraber çalışır. Bir enzimin son ürünü kendisinden sonraki enzimin substratını oluşturur.
- Kuramsal olarak enzimli tepkimeler dönüşlüdür. Enzim, tepkimenin yönünü değil dengenin oranını saptar. Denge noktası, yani tepkimenin hangi yöne gideceği termodinamik yasalarına göre belirlenir (Demirsoy, 1989).

2.3 Enzimlerin Yapısı

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



Şekil 2.1 Enzimin yapısı [5]

- **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 (Çetin, 1983; Demirsoy, 1989).

2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması

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

1. Oksiredüktazlar: Redoks reaksiyonlarında indirgenme ve yükseltgenmeyi sağlayan enzimlerdir (katalaz, dehidrojenaz vb.).
2. Tranferazlar: Metil, açıl, amino, glukozil ya da fosfat gibi spesifik bir grubun bir maddeden diğerine transferini sağlarlar (glikokinaz, 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.).

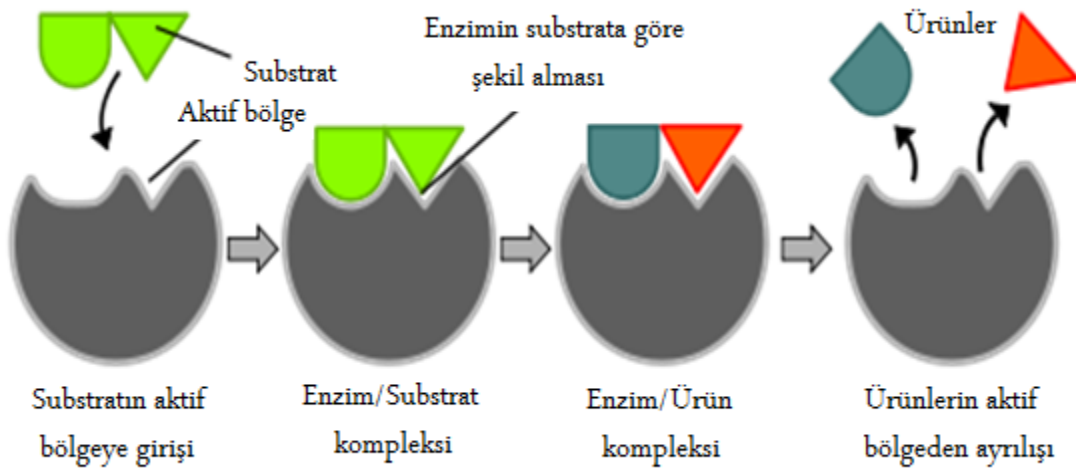
6. Ligazlar: Enerji kullanarak küçük molekülleri birbirine bağlayıp sentez gerçekleştiren enzimlerdir (amidsintetaz).

2.5 Enzimlerin Etki Mekanizması

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

- Substrat enzimi fark eder ve enzime tutunur. Enzim substrat kompleksi oluşur.
- Enzimin katalitik kısmı (aktif bölgesi) substratla temas eder ve substratı ürüne dönüştürür.
- Ürünler enzim yüzeyinden uzaklaştırılır, böylece enzim diğer substrat molekülleri ile etkileşmek üzere serbest kalır. (Demirsoy, 1989; [6; 7]).

Enzimlerin etki mekanizması Şekil 2.2’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Enzimlerin etki mekanizması [8]

2.6 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler

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

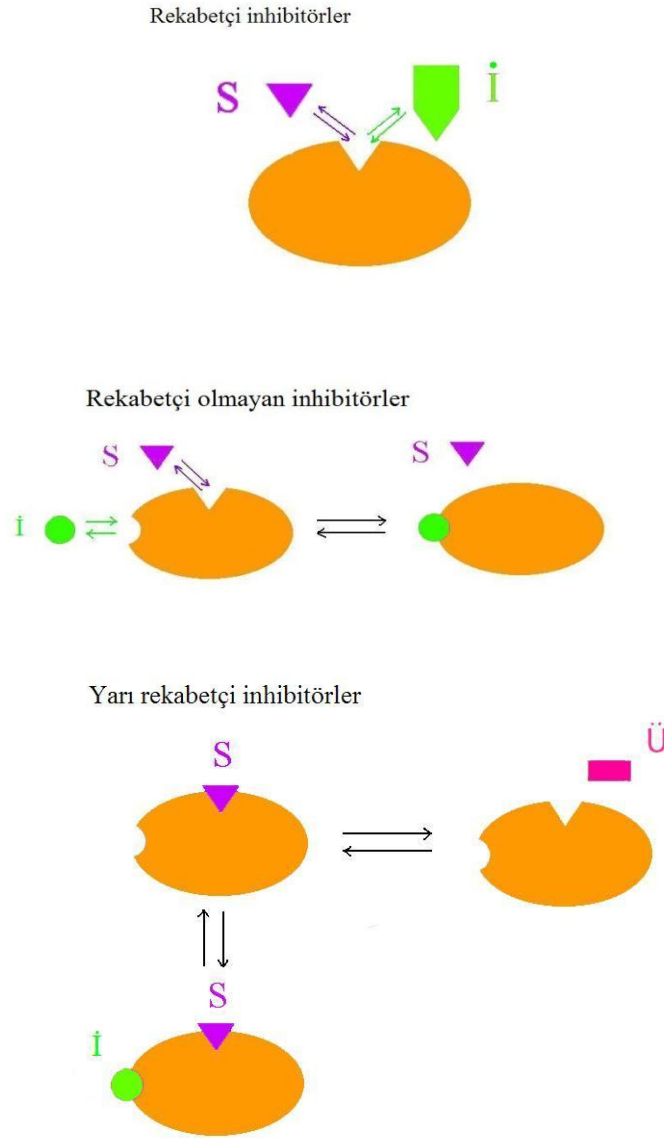
2.7 Enzim İnhibisyonu

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

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

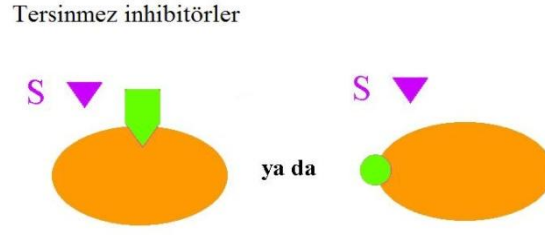
- **Rekabetçi (competitive) inhibitörler:** Yapıları bakımından substrata benzeyen inhibitörlerdir. Substratın bağlanacağı aktif kısma bağlanıp substrat molekülünün enzime bağlanmasını engelleyerek reaksiyon hızını düşürürler. Yani, substrat ve inhibitör enzimin aktif bölgesine bağlanabilmek için rekabete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

(enzim substrat kompleksine) bağlanırlar.



Şekil 2.3 Tersinir inhibitörler [9]

2) Tersinmez inhibitörler: Enzime sıkıca, genellikle kovalent bağlarla bağlanan ya da enzim yapısındaki kovalent bağları parçalayan inhibitörlerdir (Şekil 2.4). Tersinmez inhibitörlerin etkisi tersinmezdir [9-11].



Şekil 2.4 Tersinmez inhibitörler [9]

2.8 Enzimlerin Uygulama Alanları

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

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

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

3. SÜT

Dünyanın en yararlı içeceği olan süt insanların doğumlarından itibaren aldıkları ilk besindir. Bu ilk dönemde önce anne sütü daha sonrada diğer hayvan sütleri çocuklara verilmektedir. Süt bebeklerin vücutlarını sağlamlaştırır, güçlendirir. Çocukluk döneminin ilk birkaç yılının, bir çocuğun gelecekteki sağlığını üzerinde hayati bir önemi vardır [12].

Ergenlik çağında kalsiyum ihtiyacı kemiklerin büyüme ve gelişmesine bağlı olarak çok yüksektir. Günde 500 ml süt küçük bir kase yoğurt veya küçük bir parça peynir yerine geçebilir. Süt aynı zamanda enerji, protein ve çeşitli vitaminleri de sağlar, yemek arası içecek olarak dişleri de korur. Geceleri tüketimi yapıldığında vücutta yağ yakımını sağlar. Vücudun uyurken de enerji kullanmasına yardımcı olur. Süt ve süt ürünlerinin uyumluluğu, çeşitliliği ve besleyici olması bu ürünleri yaşlılar için de çekici kılmaktadır [12].

3.1 Sütün Yapısı

Süt, kendine özgü tat, koku ve kıvamda olan, hemen hemen tüm besin öğelerini yeterli ve dengeli bir şekilde bünyesinde bulunduran değerli bir besindir [13].

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

3.2 Sütün Bileşimi

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

- Su % 87.3
- Mineral maddeler % 0.75
- Protein % 3.40
- Laktoz % 4.70
- Yağ % 3.50
- Vitaminler % 0.35 oranında bulunur [13].

Sütün bileşimini etkileyen en önemli faktörler;

- Besleme
- İklim
- Hayvanın türü ve ırkı
- Hastalıklar
- Mevsimsel değişimler
- Laktasyon dönemi
- Çevre faktörleri' dir [13].

3.3 Sütün Besin Değeri

Sütün besin değeri, bileşimine göre beş ana başlık altında toplayarak açıklanabilir [13; 14];

Laktoz (Süt şekeri)

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

Süt yağı

Dengeli beslenmede yeterli miktarda yağın gıdalarla birlikte alınması önemlidir.

- Süt yağı enerji kaynağıdır.
- Süt yağı, laktozun en iyi şekilde kullanımını ve vücudumuz için gerekli olan A, D, E, K vitaminlerinin taşınmasını sağlar.
- Süt yağındaki fosfolipitler, beyin ve sinir hücrelerinin hayati önem taşıyan kısımlarını oluşturur.
- Vücut için gerekli olan doymamış yağ asitlerini bünyesinde bulundurmasından dolayı süt yağının beslenmede önemli fonksiyonları bulunmaktadır.

- Çeşitli gıda maddelerinde bulunan kolestrol miktarına göre süt, sanıldığı kadar yüksek oranda kolestrol içermemektedir. 100 ml sütün içerdiği kolestrol miktarı 12 g'dır.

Süt proteini

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

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

Mineral maddeler

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

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

Vitaminler

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

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

Çizelge 3.1 Süte ait enerji ve besin değerleri [13]

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

3.4 Sütün Yararları

- Büyüme ve gelişmeyi sağlar.
- Vücudu güçlendirir, güçlendirir.
- Kemik erimesini önler.
- Mikrobik enfeksiyonlara karşı etkilidir.
- Sütten elde edilen yoğurt ishal tedavisinde etkilidir.
- Mide rahatsızlıklarını giderir.
- Sindirim sistemini düzene sokar.
- Ülseri önler.
- Beyne enerji verir.
- Diş çürüklerini önler.
- Kronik bronşiti önler.
- Tansiyonu düşürür.
- Yağsız süt kolestrolü düşürür.
- Kanserin önlenmesine yardımcı olur.
- Saç ve tırnakların oluşumunda büyük rol oynar.
- Yaşlanmayı geciktirir.
- Vücutta ödem yapan sıvıların toplanmasını önler.
- Cilt üzerinde nemlendirici etki yaparak cildin yıpranmasını engeller [12].

3.5 Süt Üretimi

Sütten elverişli bir şekilde yararlanmak, ancak sütün özellikle süt, diğer bir deyişle pastörize süt veya steril süt, olarak tüketilmesiyle mümkündür. Çünkü diğer süt ürünlerinde sütün bileşimine giren bazı maddeler bulunmaz. Bu nedenle birçok ülkede içme sütü üretim ve tüketiminin artırılması için çeşitli önlemler alınmaktadır.

Ülkemizde, çiğ süt genellikle pastörizasyon ya da UHT-sterilizasyon yöntemleriyle işlendikten sonra içme sütü olarak tüketime sunulmaktadır (Tekinşen, 2000).

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

3.5.1 Sthanelere gelen sütlere uygulanan işlemler

3.5.1.1 Platform testleri

Sthaneye getirilen stlar platform testlerinin sonuçları dikkate alınarak fabrikaya işlenmek üzere kabul edilirler. Bu amaçla donatılmış fabrika laboratuvarında aşağıdaki testler uygulanır:

- Sütün yağ miktarının tespiti
- Yoğunluk
- Asidite derecesinin tespiti (tazelik deneyi)
- Kir maddeleri tespiti
- Prezervatif maddeler (soda, formol, asit borik vs.) aranması
- Organoleptik muayeneler
- Genel aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı (total jerm)

3.5.1.2 Sütlerin santrifüjden veya filtrelerden geçirilmesi

Süt işlenmesinde santrifüjden geçirmenin iki amacı vardır:

1. Sütü kir maddelerinden arındırmak
2. Sütün kaymağının alınması veya yağ oranının ayarlanması

Modern separatrlerde kir maddelerinden temizleme ve yağından ayırma işlemleri kombine olarak yapılır. Böylece süt, cihazdan bir defa geçirilerek her iki işlem tamamlanmış olur. Temizleme santrifüjünde tutulan santrifüj çamuru denilen kir maddesi tüm süt hacminin %0.005 ile %0.1'ini oluşturur. Kir maddesinden oluşan bu çamurumsu kısım, %66 su, %2.5 eterde eriyen substanslar, %25 azotlu maddeler, %2.6 diğer organik bileşikler ve %3 mineral maddelerden ibarettir. Bu artık kısım kimyasal açıdan değerli besin unsurlarını içerirse de kullanılması imkan dııdır. Çünkü bu kir çamuru yüksek oranda süt mikroorganizmasını ve patojen mikroorganizmaları da taşır. Bu nedenle de santrifüjde kalan kir maddelerinin zararsız biçimde yok edilmesi gerekir. Son sistem santrifüjler, bir yandan bütün kir maddelerini toplarlar, öte yandan sütün yapısında herhangi bir değişikliğe sebebiyet vermezler. Eski tip cihazlarda ise sütteki lipaz aktif duruma geçerdi. Bu nedenle de santrifüjden geçirilen sütün derhal pastörize edilmesi gerekirdi. Son yıllarda, yalnızca mikroorganizmaların bertaraf edilmesini sağlayan santrifüjler de geliştirilmiştir. Bu işleme "baktofaj" adı verilmektedir. Ancak bu işlemin uygulamasıyla, pastörizasyon seviyesinde bir etkinliğe ulaşılmaz. Bu yöntemle sütteki mikroorganizmaların azami %99'u elimine edilmektedir. Baktofaj işlemi,

pastörizasyonla kombinasyon halinde uygulandığı zaman, hem daha iyi sonuç alınmakta hem de süt kalitesinde mükemmelleşme dikkati çekmektedir (İnal ve Ergün, 1996).

3.5.1.3 Sütlerin homojenize edilmesi

Bu işlemle sütün organoleptik ve fiziksel özellikleri daha belirgin hale gelmektedir. Bu nedenle de, özellikle İskandinav ülkeleri, Kanada ve ABD'de yaygın biçimde tüketilir. Homojenize edilmiş sütte yağ globüllerinin disperzif şekilde dağılması sonucu kaymak bağlama özelliği kalkar. Almanya'da homojenize edilmiş süte homojenize edilmemiş yağsız süt ilave edilmek suretiyle az kaymak oluşturan bir homojenize süt üretilmektedir.

Sütü homojenize etmenin amacı, sütteki yağ globüllerini küçültmektir. Bunun için 58-62°C arasında ısıtılan süt 150-200 atmosfer basınç altında çok ince yarık veya deliklerden geçirilir. Normal sütte 1'le 15 mikron çapında olan yağ globülleri, bu işlem sonunda ortalama 3-5 mikron çapına sahip olurlar. Aynı anda yağ globüllerinin sayısı da 1000 misline çıkmış olur. Yağ globüllerinin oluşturduğu tüm yüzey ise 10 misli artar (İnal ve Ergün, 1996).

3.5.1.4 Süte uygulanan ısı işlemleri

1830 yıllarına kadar süte uygulanan ısı işleminin sütü kaynatmaktan ibaret olduğu sanılmaktadır. Bu dönemden sonra süt teknolojisinde yeni bir devir başlamış ve sütün çeşitli metotlarla ısıtılması denenmiştir. Bu konudaki gelişmeler halen devam etmektedir. Sütün ısı işleminden geçirilmesi söz konusu olunca, bugün pastörizasyon, sterilizasyon ve UHT (ultra yüksek ısı) işlemleri akla gelir. Bu üç ana metot, birbirlerinden ısı ve zamanın gösterdiği varyasyonlarla ayrılırlar. Bu metotlar uygulanırken, bir yandan sütün çiğ niteliğinin korunmasına, öte yandan patojen mikroorganizmaların tümünün, saprofitlerin ise büyük kısmının yok edilmesine çalışılır.

Pastörize süt, genellikle çiğ süt niteliğini koruyan ve hemen hemen bütün özellikleriyle çiğ süte çok benzeyen bir ürün olduğu halde, steril süt, renk, lezzet ve kimyasal yapı itibarıyla çiğ süte oranla oldukça belirgin farklılıklar gösterir. UHT sütünün ise süt teknolojisinde ayrı bir yeri vardır. Tam anlamıyla mikropsuz olması ve steril sütlerin yapısal ve organoleptik dezavantajlarını taşımaması açısından son yıllarda birçok ülkede üretilmektedir. Her üç metotta da ısı, ısıtma zamanı ve hareket önemli rol oynar. Bu üç faktörden ilk ikisinin önemi uzun süreden beri bilinmekle beraber, hareketin taşıdığı önem ancak son yıllarda anlaşılmıştır. Bu konuda mevcut yasal uygulamalar tamamen ısı ve zaman faktörüne yönelmiş ise de, ısıtma

işlemi üzerine, sütün taze veya olgunlaşmış olması, bakterilerde kirlenme derecesi çok önemli tesirde bulunur.

Çizelge 3.2 Sütlerin ısı işleminde ortalama değerler (İnal ve Ergün, 1996)

İşlem	°C	Süre
Termizasyon(*)	68-72	1-40 saniye
Devamlı pastörizasyon	62-65	30 dakika
Kısa zaman pastörizasyonu	71-74	40 saniye
Yüksek derecede pastörizasyon	85	En çok bir dakika
UHT işlem	140-150	Birkaç saniye
Sterilizasyon	109-112	20-40 dakika

(*): yalnız peynir yapımında kullanılacak sütler için.

3.5.1.5 Sütün soğutulması ve dondurulması

Sütün sağılması sırasında ve bunu izleyen ilk dakikalarda çok hassas bir gıda maddesi olan sütü mikroorganizmalardan korumak için önlemlerin alınması gereklidir. Bu gayretlerin başında ilk gelen sütün soğutulması işlemidir. Sütün soğutulmasıyla mikroorganizmaların çoğalması yavaşlatılmış olur. Bu açıdan soğutulmuş sütlerin bir an önce pastörizasyon, sterilizasyon veya diğer ısı işlemlerinden geçirilmesi gerekir.

Sütün dondurulması, soğutulmasının aksine, sütün strüktüründe ve bazı özelliklerinde köklü değişikliklere neden olur. Soğutulmuş sütün nakli çok soğuk kış günlerine rastlarsa, sütün aracın tankında donması durumuyla karşılaşılır. Süt, bu durumda tam manasıyla donmaz. Kısmi bir donma meydana gelir. Süt donmaya başlarken önce sütteki su donar. Donmuş sütte kuru madde dipte toplanırken, sütün yağı üstteki buz tabakasında toplanır. Sütün tuzları donmamış kısımda konsantre olur ve bu kısımdaki klorür miktarı 13 katına, sodyum-potasyum ve nitrat miktarı 11 katına, fosfat oranı 8 katına ve kalsiyum da 6 katına çıkar. Bu konsantrasyon artışına bağlı olarak da pH değeri 6.7'den 5.8'e çıkar.

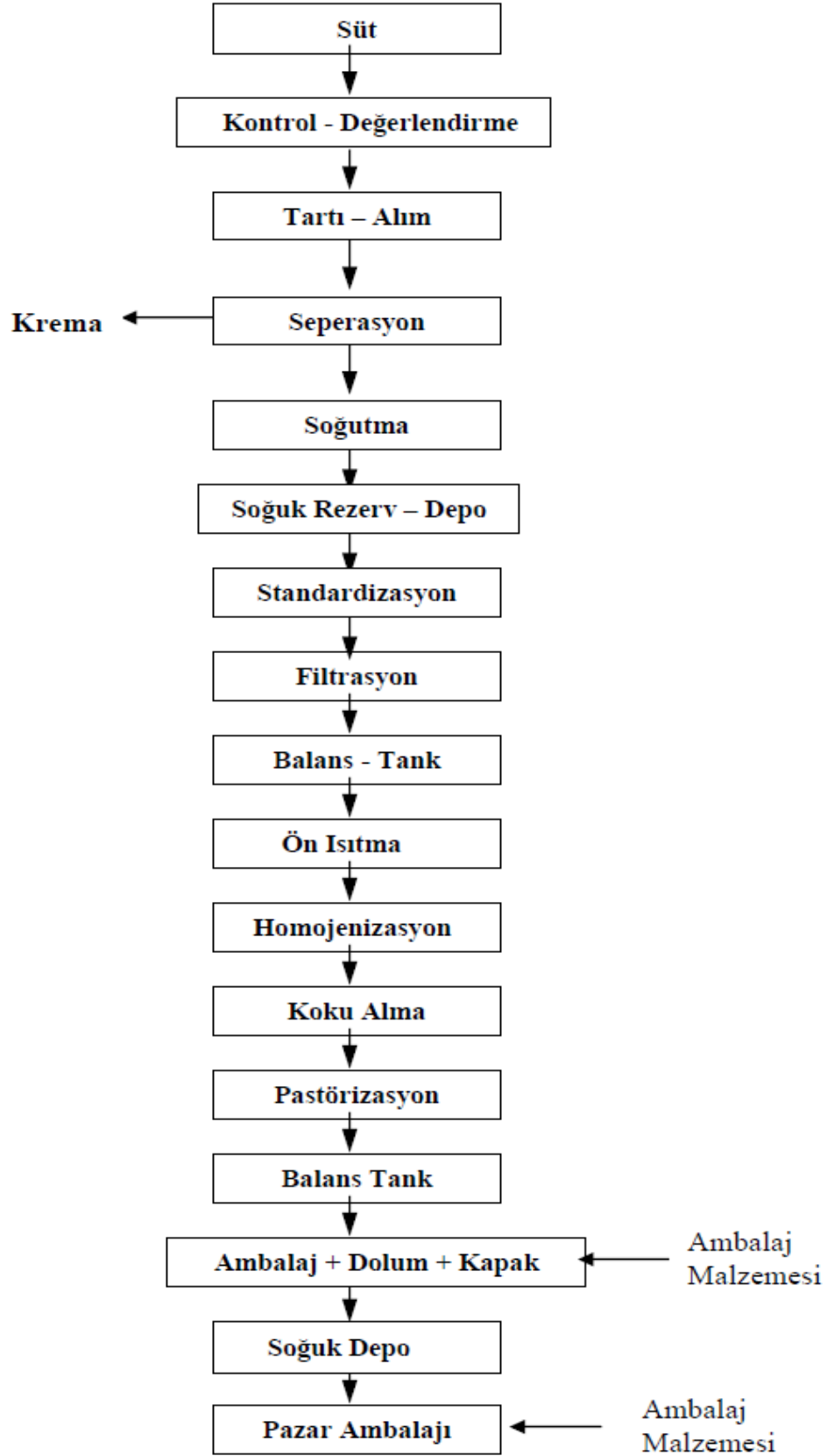
Yavaş yavaş donarak kısmi donma durumuna girmiş bir süt, dikkatli olarak çözündürülürse, hemen hemen çiğ sütün özelliklerine yeniden kavuşur. Fakat yağ ve minerallerinin birbirinden ayrılmasıyla meydana gelen tabakalaşma tam anlamıyla ortadan kalkmaz. Bu bakımdan böyle

sütlerde yapılan yağ tayini her zaman kesin ve güvenilir sonuçlar vermez. Böyle ürünlerde yağ tayini için ortalama değerler verecek bir örneğin alınması da mümkün değildir.

Süt teknolojisinde son zamanlarda kaydedilen değişimler ve uygulanan yeni yöntemler, yukarıda zikredilen hataları göstermeyen dondurulmuş süt yapımını mümkün kılmıştır. Bu yöntemde seri dondurma ve derin derecelerde saklama uygulanmaktadır. -40 °C'lik ısı derecesi bunda en önemli rolü oynar. Dondurulmuş sütün muhafaza ısısı -23.3 °C olmalıdır. Donma sırasında sütün yağının ve sütte oluşan buzun genleşme katsayıları farklıdır. Buna bağlı olarak da yağ globüllerinin zarları yırtılmaktadır. Amerikalı araştırmacılar, sütün dayanıklı hale sokma için seri dondurmadan hemen sonra bir ultra dalga işlemine geçirilmesini önermektedirler. Ancak, bütün bu işlemler, dondurulmuş sütün çok pahalıya mal olmasına yol açmaktadır. Bu nedenle, dondurulmuş süt, ancak özel durumlarda örneğin uzak yola çıkarken gemilerde tatbikat sahası bulabilmiştir (İnal ve Ergün, 1996).

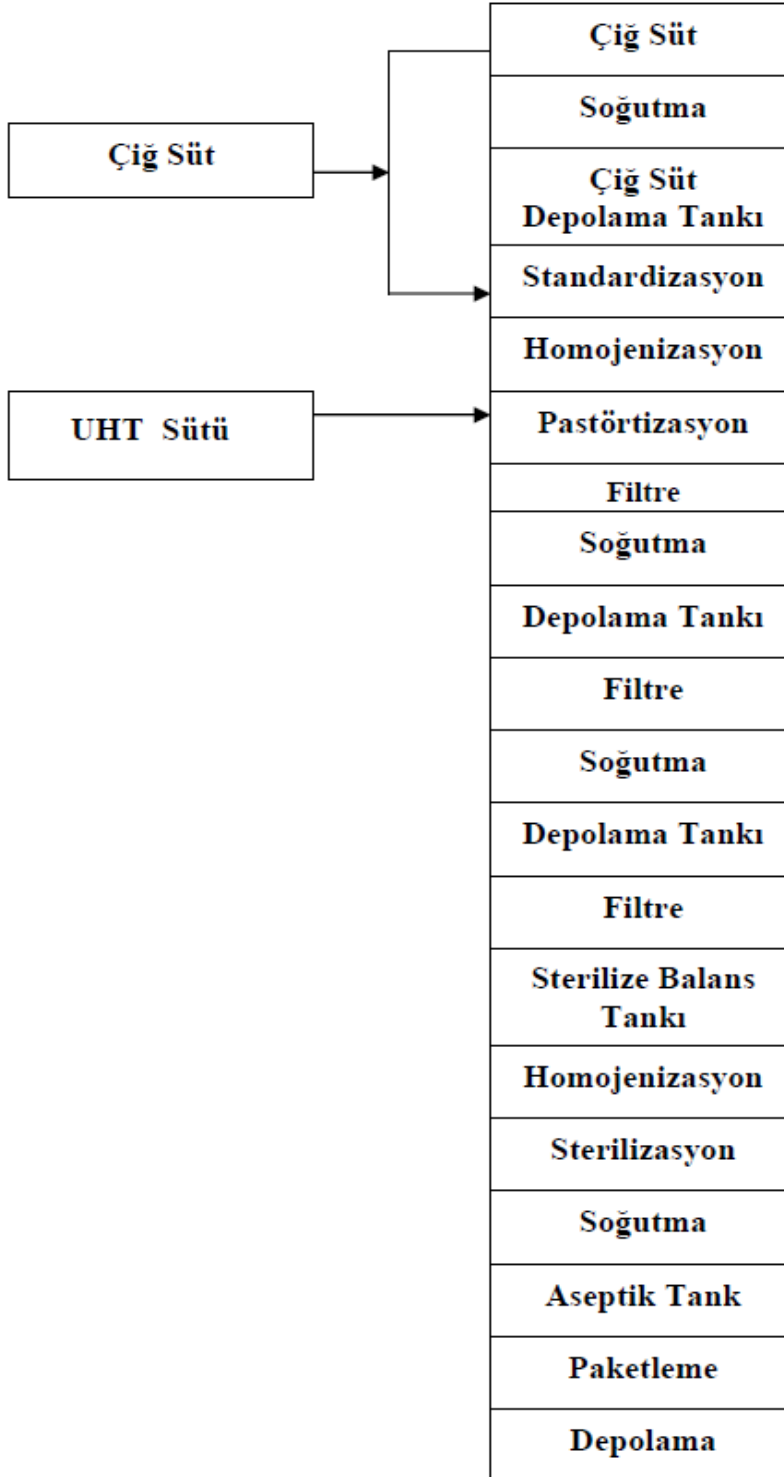
3.6 Pastörize ve Sterilize Sütler

Pastörize sütler, kaynama derecesinin altında belli bir sıcaklıkta, sütün doğal niteliklerinde değişiklikler oluşturmadan, hastalık yapan etmenlerinden tamamen, diğer etmenlerden de çoğunlukla arınmış bir içme sütün çeşididir. Soğukta muhafaza edilmek şartıyla dayanma süreleri iki gündür. Pastörize süt üretim akış şeması Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Pastörize içme sütü üretimi akış diyagramı [15]

Uzun ömürlü sütler, tüketiciler tarafından sterilize, kutu ve UHT olarak da tanmlanrlar. Özel bir teknolojik ilemele 135-150 °C’de 2-4 saniye tutularak ilerinde sütün bozulmasına neden olan ve hastalık yapan etkenlerin tümü yok edilmiş bir içme sütü çeşididir [13; 14]. Sterilize içme sütü üretimi ak diyagramı ekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2 Sterilize içme sütü üretimi ak diyagramı [15]

3.7 Üretilen Sütün Değerlendirilmesi

Ülkemizde üretilen sütün ancak %60'ı pazarlanmakta, bunun da %40'ına yakın kısmı işlem görmeden tüketiciye ulaşmaktadır. Geri kalan kısmı ise modern işletmelerde ve mandıralarda işlenmektedir. İşlenen sütün %20'si içme sütü, %80'i ise dayanıklı süt ürünleri (peynir, yoğurt, ayran, tereyağı v.b) olarak değerlendirilmektedir [13].

3.8 Laktoz Alerjisi

Süt şekeri olarak tanımlanan laktoz, sütün tek karbonhidratıdır. Glukoz ve galaktozdan oluşan bir disakkarit olan laktozun, anne sütündeki ortalama miktarı yaklaşık %7, inek sütündeki miktarı ise yaklaşık %4.8'dir. Süt ve süt ürünleri ile alınan laktoz, organizmada glukoz ve galaktoza parçalanır. Ancak, bazı kişilerin organizmaları laktaz enzimi eksikliği ya da yetersizliği nedeniyle bu görevi yerine getiremez. Hidrolize olamayan laktozun yoğunluğu artmakta ve sonuçta barsakta yüksek osmotik basınç oluşmaktadır. Bu basınç, barsak boşluklarına su akımına yol açmakta; kişide şişkinlik, barsakta gaz toplanması, kramplar ve diare görülmektedir (Binkey, 1996; Ladero vd.; 2001; Jelen ve Tossavainen, 2003). Çizelge 3.3'de laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı ile ilgili bilgi verilmiştir.

Çizelge 3.3 Laktoz alerjisinin görüldüğü sosyal gruplar ve rastlanma sıklığı (%)
(Korukluoğlu, 1999)

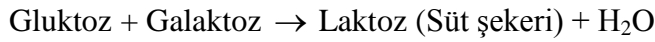
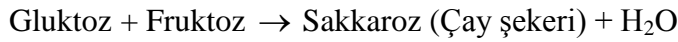
Sosyal Gruplar	Rastlanma Sıklığı (%)
	Çok yüksek (> %70)
Eskimolar	80-100
Asyalılar	75-100
Kızılderililer	60-100
Zenciler	65-100
	Yüksek (%50-70)
Orta Doğu/Afrikalılar	40-80
Güney Amerikalılar	45-75
Meksikalılar	50-70
Hintliler	35-70
	Orta (%25-50)
Avrupalılar	35-60
	Düşük (%10-25)
Beyazlar	15-25
Avustralya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

4. LAKTOZ

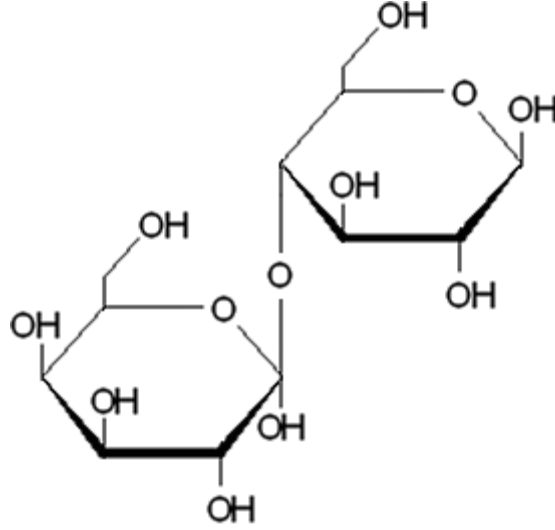
4.1 Karbonhidratlar ve Laktoz

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

Monosakkaritler, hücre zarından geçebilecek kadar küçük karbonhidratlardır. Sindirime uğramazlar. Karbon sayısı 3-8 arasında değişir. Disakkaritler, iki tane 6 karbonlu monosakkaritin dehidrasyon reaksiyonuyla birleşmesi sonucunda oluşur. Disakkaritler hücre zarından geçemez [16].



Laktoz, 6 karbonlu moleküller olan glukoz ve galaktozun aralarında glukozit bağı ile bağlanmaları sonucunda oluşan 12 karbonlu bir disakkarittir. Sadece memeli canlılar tarafından sentezlenir [17]. Laktoz molekülünün yapısı ve kimyasal görünümü Şekil 4.1'de gösterilmiştir [18].



Şekil 4.1 Laktoz molekülü [19]

4.2. Laktozun Hidrolizi

Sütün yapısında bulunan bir karbonhidrat olan laktozu birçok insan, β -Galactosidase eksikliği ya da yetersizliği nedeniyle tam olarak sindirememektedir (yalnız USA'de yaklaşık 50 milyon kişi). Bu nedenle de gaz, mide ağrısı ve diare gibi problemlerle karşılaşmaktadırlar. Bu kişilerin laktoz içermeyen diyetler yapmaları ya da laktozsuz gıdaları tüketmeleri gerekmektedir. Bu nedenle yeni gıda ürünlerinin geliştirilebilmesi açısından laktozun hidrolizi büyük önem taşımaktadır.

Diğer şekerlere göre laktozun çözünürlüğü ve tatlılığı daha azdır. 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). Laktozun hidrolizlenmesinde iki yöntem kullanılmaktadır;

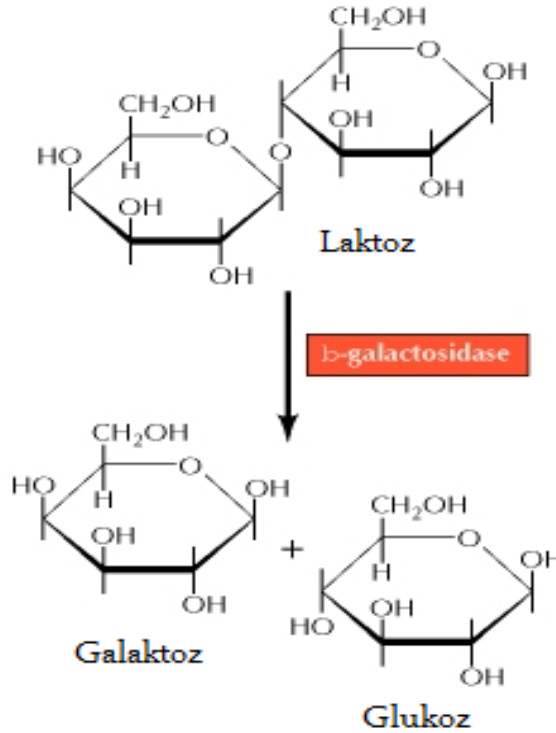
- 1- asidik
- 2- enzimatik

Asit ile hidrolizde, asit çözeltisi ya da asidik iyon değiştirici reçineler kullanılarak 150°C ve

pH 1-2'de hidrolizlenme gerçekleştirilir. Reaksiyon çok hızlı gerçekleşir. Ancak, hidrolizlenmenin çok yüksek sıcaklıklarda olması dolayısıyla asitler, proteinler ve yağlar arasında oluşan ikincil reaksiyonlar, koku ve aromada oluşan yaygın değişimler, süt içeriğindeki besin değerlerinin azalması gibi nedenler dolayısıyla hidrolizlenme yetersiz olmaktadır.

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 -galaktosidase 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 aza 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 [20]

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 farklarını 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 -galactosidase) 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).

SONİKASYON

5.1 Sonikasyon Tanımı

Sonikasyon, insan kulağının işitebileceği ses frekansının üzerindeki akustik dalgalara denir. Ultrasonik dalgaları insan kulağı duyamaz [21]. 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 ise güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulama alanları görülmektedir.

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

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

Çizelge 5.2 Güç ve frekansa göre sonikasyonun uygulamaları [22]

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

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.

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

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 [23; 24].

Titreşim oranı, zamana göre enerji konsantrasyonunu ifade eder. Yani, cihazın açık olduğu sürenin kapalı olduğu süreyle karşılaştırılması sonucu elde edilen bir orandır. Örneğin, titreşim oranı 1:4 ve toplam titreşim süresi 10 milisaniye ise; sonikasyon ünitesi bir birim süre (2 milisaniye) enerji vermekte, 4 birim süre (8 mili saniye) enerji vermemektedir. Yani; sürenin % 20'sinde cihaz çalışmaktadır. Sonikasyon cihazı daha yüksek frekans aralığında, daha fazla enerji verir. Çizelge 5.3'te frekans aralığı ile titreşim oranlarının karşılaştırılması yapılmıştır [25].

Çizelge 5.3 Frekans aralığı ve titreşim oranlarının karşılaştırılması [25]

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 [21]. 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 [21]. Ultrasonik dalgalarının elde edildiği başlıca 3 çeşit dönüştürücü mevcuttur;

- **Sıvı sürücü dönüştürücüler:** Bir sıvının ince bir metal yüzeye hızla çarpmasıyla çalışır. Böylelikle, titreşimler meydana gelir. Bu titreşimsel hareketler ile basınç ve

dolayısıyla da kavitasyon oluşur (Povey ve Mason, 1998).

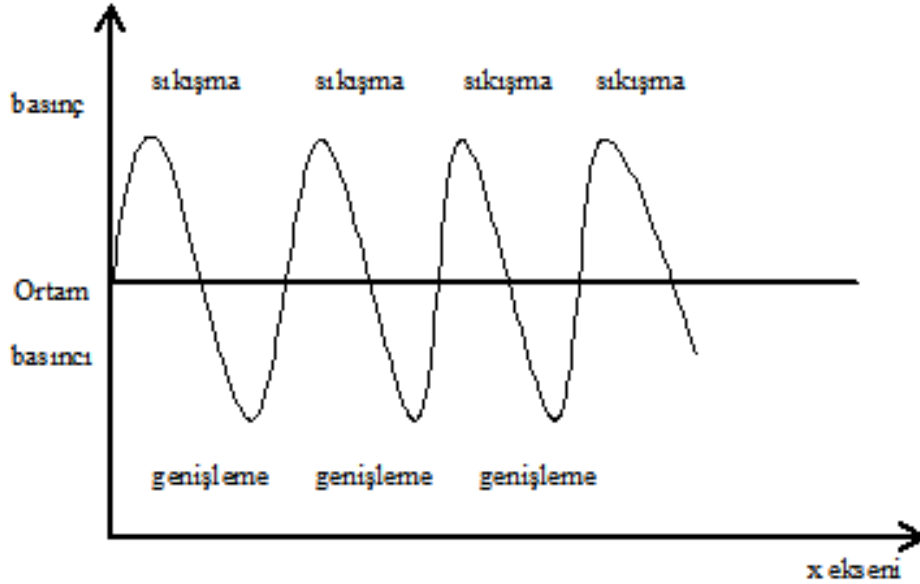
- **Manyetostriktif (manyetik büzülümlü) dönüştürücüler:** Ters manyetostriktif etkisini kullanarak, manyetik enerjiyi ultrasonik enerjiye çevirirler. Bu, metal alaşımlara (ferrometalik gibi) güçlü bir alternatif manyetik alan uygulanarak sağlanır. Bu tip dönüştürücülerin 2 dezavantajı bulunmaktadır. Birincisi, frekans aralığı 100 kHz den küçük olması; ikincisi ise kayıplar nedeniyle sadece %60'a yakın elektriksel verimlilik sağlanabilmesidir (Povey ve Mason, 1998; [21]).
- **Piezoelektrik dönüştürücüler:** Kuvvetli piezoelektrik davranışı gösteren doğal veya yapay tek kristal (kuvars gibi) veya seramik (baryum titanat gibi) kullanıp ters piezoelektrik etki oluşturarak çalışırlar. Seramiklerin şekillendirilmesi daha kolay olduğundan kristallerden daha avantajlıdır. Piezoelektrik etki, ilk olarak 1880 yılında Pierre Curie tarafından ortaya atılmıştır. Kuvars ve roşel tuzu (potasyum sodyum tartarat) gibi asimetrik kristallerin mekanik basınç altında elektrik enerjisi ürettiğini bulmuştur. Aslında mekanik titreşimler, elektriksel salınımların uygulanmasıyla elde edilmektedir. En yaygın olarak kullanılan dönüştürücü piezoelektrik dönüştürücülerdir. Piezoelektrik dönüştürücüler, tüm frekans aralıklarında kullanılabilmekte ve %95 elektriksel verim sağlamaktadır (Povey ve Mason, 1998; [21]).

Ultrasonik güç kaynakları, voltaj hattındaki normal elektrik enerjisini yüksek frekanstaki elektrik enerjisine dönüştürmektedir. Bu elektrik enerjisi, mekanik enerjiye dönüştüren proba iletilmektedir. Prob, boylamsal yönde titreşir ve bu hareket çözeltiliye daldırılmış titanyum uca iletilir. Probdaki titreşimler, titanyum uç tarafından şiddetlendirilmektedir. Çözeltiliye yayılan güçlü şok dalgaların etkisiyle oluşan mikroskopik kabarcıkların anlık olarak oluşup sönmeleriyle kavitasyon oluşur (Cropek ve Dankowski, 2000; [26]).

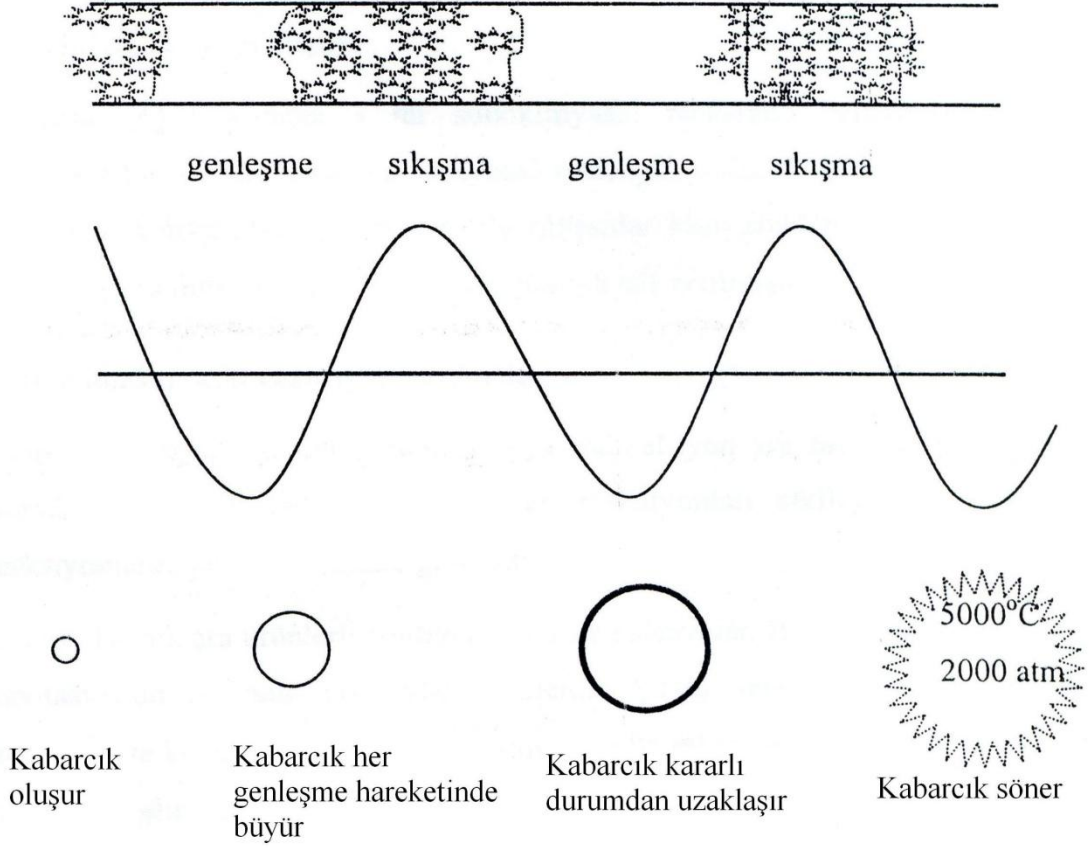
5.4 Kavitasyon

Kavitasyon; sonikasyon uygulanan bir çözeltide, ultrasonik dalgaların genleşme evresinde sıvının içinde mikro kabarcıkların ve çukurların oluşması ve dalgaların sıkıştırma evresinde bu kabarcıkların sönmeleri şeklinde gerçekleşen bir akustik prosestir (Schlager, 1998). Sönen kabarcıklar ile ortamda şiddetli dalgalar oluşmaktadır. Kabarcığın oluşması ve sönmeleri çok hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Kavitasyon, sadece ultrasonik güç uygulandığında oluşmaktadır.

Ses, Şekil 5.1’de gösterildiği gibi ardarda gelen sıkışma ve genişlemelerden oluşan basınç dalgaları halinde ilerler. Bu basınç dalgaları, içinde ilerledikleri ortamdaki moleküllerin titreşimlerini etkiler (Andaç, 2002). Bir sıvı sıkışma dalgalarına kolaylıkla dayanırken, yeterince güçlü bir genişleme dalgası sıvı molekülleri arasındaki bağların kopmasına sebep olabilir. Bu durumda oluşan boşluk, sıvı içinde bulunan gaz ya da buhar tarafından doldurulur ve kavitasyon baloncğu oluşur. Oluşan bu baloncuk peş peşe birkaç genişleme dalgası boyunca ortamdaki gaz ya da buhar olarak büyümeye devam eder ve kararlı durumunu kaybeder. Böylece bir sıkışma dalgası kavitasyon baloncğunun 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 Kavitasyon kabarcığının oluşması, büyümesi ve sönməsi (Casadonte, 2000; Giz, 2000)

5.5 Kavitasyonu Etkileyen Faktörler

- **Uygulanan frekansın etkisi:** Ultrasonik dalgaların frekansı arttıkça, sıvıdaki kavitasyonun şiddeti ve üretimi azalır. Bunun sebebi, çok yüksek frekanslarda genişleme ve sıkışma evrelerinin çok kısa olmasıdır. Genişleme evresinin sınırlı zamanı, kabarcığın yeterli derecede büyümesine izin vermez. Genişleme sırasında kabarcık üretilse bile, sönməsi için belirli bir süre gereklidir. Bu nedenle, yüksek frekanslarda meydana gelen kavitasyon etkiler daha az olur.
- **Çözücünün etkisi:** Bir sıvıda boşlukların ve mikrokabarcıkların oluşması için, sıvının kohesiv kuvvetlerinin üstesinden gelebilecek genişleme evresiyle etkisini gösteren negatif bir sabit basınç gereklidir. Viskoz veya yüksek yüzey gerilimli sıvılarda bu daha zordur. Bu durumda daha büyük şiddet gereklidir. Bununla birlikte; viskoz sıvı 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).

5.6 Sonikasyon İşleminde Kullanılan Cihazlar

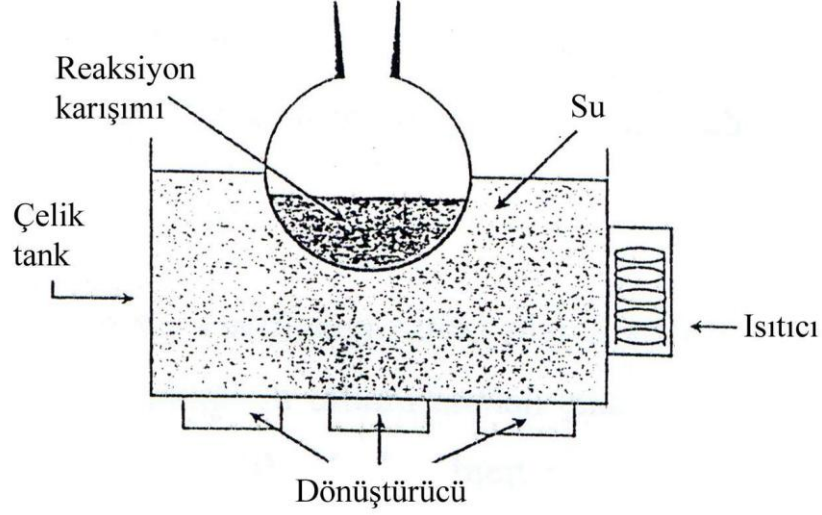
Sonikasyon kaynağı olarak, elektrik enerjisini ses enerjisine çeviren bir dönüştürücü kullanılır. Laboratuvarlarda en çok kullanılan sonikasyon cihazları, ultrasonik banyo ve ultrasonik prob sistemidir (Koç (Öncül), 2001).

5.6.1 Ultrasonik banyo

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

Reaksiyon kabı için özel bir adaptör gerekli değildir. Kap içerisinde inert bir atmosfer veya basınç sağlanabilir. Cihazın duvarlarından reaksiyon ortamına ulaşan enerji miktarı düşüktür,

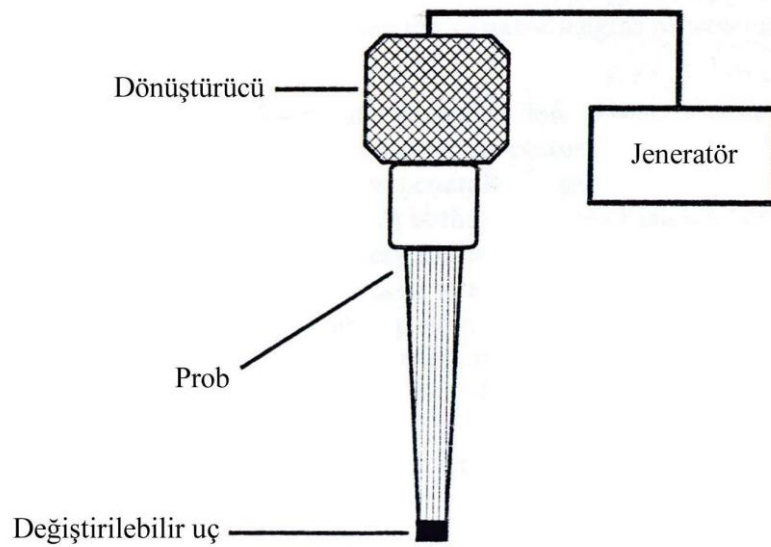
normal olarak $1-5 \text{ W cm}^{-2}$ arasındadır. Ticari ultrasonikasyon banyolarında termostatik kontrol genellikle zayıftır ve bu nedenle sistem ek olarak termostatik kontrol gerektirir (Koç (Öncül), 2001; Povey ve Mason, 1998).



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

5.6.2 Ultrasonik prob

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



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

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

5.7 Sonikasyonun Yararları

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

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

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

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

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

5.8 Sonikasyonun Kullanım Alanları

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

Çizelge 5.4 Sonikasyonun kullanım alanları (Andaç, 2002; Cropek ve Dankowski, 2000; Chisti, 2003; Koç (Öncül), 2001; [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 arttırma • Reaksiyon mekanizması değiştirme • Katalizör aktivitesini arttırma • 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.
Plastikler ve Polimerler	<ul style="list-style-type: none"> • Termoplastiklerle kaynak yapımında, • Polimerizasyon reaksiyonlarını başlatmada, • Polimer zincirlerinin kırılmasında.

Çizelge 5.4 (Devam)

Okyanus bilimi	<ul style="list-style-type: none"> • Su altının izlenmesi • Deniz tabakasının hatlarının çizilmesi • Batık gemilerin bulunması • Balık sürülerinin aranması
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)
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.

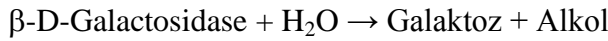
Çizelge 5.4 (Devam)

İlaç	<ul style="list-style-type: none"> • Enzim aktiveleştirme • Emülsiyon haline getirme • Kemoterapi uygulamaları
Tıp	<ul style="list-style-type: none"> • Cerrahi aletlerin sterilizasyonu • Görüntüleme teknikleri: İnsan kalbindeki kanın akışı, kalp kapakçıklarının durumu (doppler); böbrek, safrataşı ve tümörlerin tetkikinde kullanılmaktadır. 2-10 MHz frekans aralığı sonikasyon ile görüntüleme, özellikle doğumlarda, fetusu (cenini) gözlemlemek için ve ameliyatlarda kesim aletlerine rehberlik etmek için kullanılır. • Fizyoterapi: Düşük frekanslarda (20-50 kHz) kas incinmelerin tedavisinde kullanılır.
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 • Haşereler ile mücadele

6. β -GALACTOSIDASE ENZİMİ VE GENEL ÖZELLİKLERİ

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

β -Galactosidase enzimi, süt şekeri laktozu, glukoz ve galaktoz olarak iki monosakkarite hidrolize eder. β -Galactosidase enzimi, aşağıdaki hidroliz reaksiyonunu katalizler, hidroliz reaksiyonu sırasında, bir molekül su kullanılır ve şeker molekülü bağlanır. Optimum pH 6-8 aralığındadır. Enzim suda çözünürdür [27].



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

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

Çizelge 6.1 β -Galactosidase 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 -Galactosidase enziminin mikrobiyolojik özellikleri (DSM Food, 2004)

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

6.1 β -Galactosidase Enziminin Yapısı

Moleküler ağırlığı yaklaşık 540.000 olan β -Galactosidase dört eşdeğer alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Her bir alt birim yaklaşık 120-135 kDa molekül ağırlığındadır. β -Galactosidase açıklanan en uzun protein zincire sahip enzimdir. Her bir alt birimi yaklaşık 1021-1170 amino asit içermektedir (Nichtl, 1998; Ullman, 2001; [27]).

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

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

aminoasitler) arasındaki etkileşimi içermektedir. Şekil 6.1(c)'de zincirdeki bölümlerin organizasyonunu gösteren β -Galactosidase monomerinin kurdele diyagramı bulunmaktadır. Birbirini izleyen bölümlerdeki aminoasitler, renk skalasında birbirini izleyen renklerle gösterilmiştir (Ullman, 2001).

6.2 β -Galactosidase Enziminin Endüstriyel Uygulamaları

Sütte bulunan laktozun hidrolizinde kullanılan β -Galactosidase enzimi birçok gıda prosesinde kullanılmaktadır. Bunlardan başlıcaları;

- Sütün hidrolizi
- Laktozsuz süt ürünlerinin eldesi
- Dondurma üretimi
- Peynir altı suyunun hidrolizi
- Hayvansal besin uygulamaları'dır (Şener, 2006).

7. β -GALACTOSIDASE ENZİMİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

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

Ansari ve Husain, (2010) tarafından yapılan çalışmada; *Asspergillus oryzae* kaynaklı β -Galactosidase enzimi immobilize edilmiştir. Çözünür ve immobilize enzim aynı optimum pH'ı göstermiştir (pH 4.6). Doğal enzimin bir aylık saklama koşulu sonrasında aktivitesinin %63'ü kalırken, immobilize edilmiş enzim aynı şartlar altında aktivitesinin %93'ünü korumuştur. Immobilize edilmiş enzim 60 °C'de, kesikli proseste laktoz hidrolizi için 50 °C'ye kıyasla daha yüksek verim göstermiştir.

Puri vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada *Kluyveromyces marxianus* (YW-1) kaynaklı β -Galactosidase enzimi immobilize edilmiş ve süttten laktoz hidrolizi için kullanılmıştır. Immobilize edilmiş enzim optimum pH'ı 7'de, optimum sıcaklığı ise 40 °C'de göstermiştir. Süttten laktoz hidrolizinde 4 saatlik inkübasyon sonunda %49 oranında dönüşüm sağlanmıştır.

Haider ve Husain, (2009) tarafından yapılan çalışmada; *Asspergillus oryzae* kaynaklı β -Galactosidase enzimi özellik kazandırılmış kalsiyum aljinat yüzeyinde immobilize edilmiştir. Immobilize edilmiş β -Galactosidase'ın maksimum aktivitesi 60 °C'de görülmüş olup yaklaşık olarak serbest enzimden 10 °C daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Immobilize enzim ısı, üre, $MgCl_2$ ve $CaCl_2$ 'e karşı normal enzime göre daha yüksek kararlılık göstermiştir. Serbest enzimde $MgCl_2$ 'ün %3'ün üzerinde olduğunda enzim aktivitesinde düşüş gözlenirken, immobilize edilmiş enzim aktivitesinde $MgCl_2$ 'ün %5'e artırılmasıyla artış gözlenmiştir. 37°C'deki 1 saatlik inkübasyon sonucunda, %5'lik $CaCl_2$, %5 galaktoz ve 4 M üre varlığında immobilize edilmiş β -Galactosidase aktivitesi sırasıyla %61, %50 ve %43 olarak kalmıştır. Immobilize edilmiş β -Galactosidase normal enzime göre süttten veya peynir altı suyundan kesikli proseste laktozun hidrolizlenmesinde daha çok üstünlük göstermiştir; immobilize enzim peynir altı suyunda laktozu 3 saatte %89 hidrolizlemiş, süttte ise 4 saatte %79 hidrolizlemiştir. 4°C'lik saklama koşulu altında 2 ay sonunda enzimin %61'i orijinal aktivitesinde kalmış, çözünebilir enzim ise aynı şartlar altında sadece %37'sini başlangıç aktivitesinde göstermiştir.

Rhimi vd., (2009) tarafından yapılan çalışmada *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* ATCC 11842 (*L. bulgaricus*)'den elde edilen β -Galactosidase geni içeren LacZ klonlanmış, dizilmiş ve proteinden karakterize edilmiş ve saflaştırılmış *E. coli* içinde muamele edilmiştir.

Mutant enzim laktozun peynir altı suyu ve sütte hidrolizlenmesinde optimum sıcaklığı 35-50 °C'de göstermiş, optimum pH'ı ise 6.5-7 aralığında sergilemiştir.

Haider ve Husain, (2009) tarafından yapılan çalışmada kalsiyum aljinat ile tutuklanmış β -Galactosidase preparatı, süt ve peynir altı suyundan laktozun hidrolizi için kesikli proste ve dolgulu yatak kolonda kullanılmıştır. 32 °C'lik sıcaklık ve değişik akış oranları altında yapılan incelemelerde kalsiyum aljinat ile tutuklanmış β -Galactosidase enzimi serbest β -Galactosidase enzimi ile kıyaslandığında kesikli proste laktoz hidrolizinin daha verimli olduğu görülmüştür; sütte %77, peynir altı suyunda %86.

Neri vd., (2008) tarafından yapılan çalışmada *Kluyveromyces lactis*'ten elde edilen β -Galactosidase aktifleştirici faktör olarak glutaraldehit kullanılarak mPOS-PVA üzerinde immobilize edilmiş ve özellikleri değerlendirilmiştir. İmmobilize enzimatik türevleri serbest enzimle aynı optimum PH'ı (6.5) ve optimum sıcaklığı (50 °C) göstermiştir. mPOS-PVA β -Galactosidase enzim preparatı serbest enzimden daha yüksek operasyon ve sıcaklık stabilitesi göstermiştir. İmmobilize β -Galactosidase enziminin süttten laktoz hidrolizinde daha verimli olduğunu savunmuşlardır.

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 -Galactosidase 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 -Galactosidase'ın 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 kademeli birinci dereceden basit bir model seçilmiştir. Asidik koşullarda, endüstriyel uygulamaları için önemli olan peynir altı suyu, immobilizasyon ile sağlanan stabilizasyon kinetik parametrelerini etkilemiştir. pH inaktivasyonu için kinetik parametrelerin değişimi incelenmiştir. Çok değişkenli lineer olmayan regresyon teknikleri kullanılarak en iyi kinetik denklem seçilmiştir.

Şener vd., (2006) tarafından yapılan çalışmada; alternatif bir metod olarak ultrasonikasyonun yağlı sütteki laktozun hidroliz kinetiğine etkisi incelenmiştir. Sonikatörün frekans aralığı ve akustik gücü ile enzim stabilitesine etkisi çalışılmıştır. Hidroliz reaksiyonları *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı ticari β -Galactosidase enzimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimum çalışma şartları olan, 20 watt 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 -Galactosidase enzimi süt akışı boyunca sistemde sirküle olmaktadır. Enzim aktivitesi ve süt akış hızı gibi proses parametrelerinin hidroliz üzerindeki 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 -Galactosidase enzimi kullanılarak yapılan laktoz hidrolizasyonunun, Michaelis-Menten kinetiğine uymadığı görülmüştür. Yeni bir kinetik modeli oluşturmak amacıyla, galaktoz ve glukozun β -Galactosidase aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Düşük galaktoz ve laktoz konsantrasyonlarında galaktoz, inhibitör etkisi göstermiştir. Buna karşılık, galaktozun (50 mM'den yüksek) ve laktozun (100 mM'den yüksek) yüksek konsantrasyonlarında, galaktoz β -Galactosidase'ın aktivitesini inhibe etmemiştir. 50 mM'den düşük glukoz konsantrasyonlarında reaksiyon hızında artış gözlenmiştir ve optimum hidroliz değeri yaklaşık %87 olarak belirlenmiştir. Hidroliz reaksiyonlarında *Kluyveromyces lactis* kaynaklı β -Galactosidase enzimi için glukoz ve laktozun konsantrasyonuna bağlı yeni bir model oluşturulmuştur. *Kluyveromyces lactis* kaynaklı β -Galactosidase enzimi kullanılarak yapılan hidroliz işleminde zamana bağlı reaksiyonlardan elde edilen laktoz konsantrasyon değerlerinin, oluşturulan yeni modelle açıklanabildiği ileri sürülmüştür.

Numanoğlu ve Sungur, (2004) tarafından yapılan çalışmada; hücre dışı enzim üreten hücrelerin direkt olarak immobilize edilebildiği, fakat hücre içi enzim üreten hücrelerin öncelikle hücre geçirgenliklerinin artırılması gerektiği belirtilmiştir. Bu çalışmada, *Kluyveromyces lactis* (ATTC 8583) kaynaklı β -Galactosidase enzimi kullanılmıştır. β -Galactosidase 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 -Galactosidase 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 saat belirlenmiştir. Immobilize enzimin, akışkan yataklı reaktörde performansında herhangi bir azalma olmadan 3 kere kullanılabilirliği belirtilmiştir. İmmobilizasyon sonunda enzim için optimum pH 7 ve sıcaklık 55 °C olarak bulunmuştur. Akışkan yataklı reaktörde %60 verimde süt hidrolizinin 5 saat sonunda elde edilebileceği ileri sürülmüştür.

Pessela vd., (2003) tarafından yapılan çalışmada; *Thermus* kaynaklı β -Galactosidase enzimi; galaktoz (3.1 mM) ile rekabetçi olacak ve glukoz (49.9 mM) ile rekabetçi olmayacak şekilde

inhibe edilmiştir. Bu durum enzimin endüstriyel performansı üzerinde etkili olmuştur. %5'lik laktoz hidrolizinde, serbest enzimler kullanılırken, reaksiyon %90'lık hidroliz oranında durmuştur. Bu çalışmanın sonucunda, β -Galactosidase enzimi immobilizasyonunun, süt içerisindeki laktoz hidrolizinde veya 70 °C'deki peynir altı suyundaki laktozun hidrolizinde kullanılabilineceği gösterilmiştir. Serbest enzimlerle yapılan bu çalışmada, galaktoz ve glukozun güçlü inhibisyonu nedeniyle, laktoz %85 oranında hidrolizlenmiştir. İmmobilize edilmiş β -Galactosidase enziminin yüksek stabilitesi nedeniyle, reaksiyonun 70 °C'de yapılması önerilmiştir.

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

Di Serio vd., (2003) tarafından yapılan çalışmada alüminyum oksit ve silisyum oksit gibi farklı oksit destekleri üzerine immobilize edilmiş *Kluyveromyces marxianus* (*Saccharomyces lactis*) kaynaklı β -Galactosidase enziminin kinetik davranışı incelenmiştir. İmmobilize enzim aktivitesinin, destek malzemesinin kimyasal yapısı ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Destek malzemesinin partikül büyüklüğünün artışıyla enzim aktivitesinin hızla düştüğü tespit edilmiştir. En uygun immobilize destek malzemesi silisyum oksit olarak belirlenmiştir. Silisyum oksit kürecikleri üzerine immobilize edilmiş β -Galactosidase 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 -galactosidase 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.

Tanrıseven ve Doğan, (2002) tarafından yapılan çalışmada; *Aspergillus oryzae* kaynaklı β -Galactosidase enzimi, gluteraldehit ile katılaştırılmış jelatinden oluşan tüpler içerisinde,

immobilize edilmiştir. İmmobilizasyon 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 -Galactosidase enzimlerinin daha kararlı oldukları gözlenmiştir. Serbest ve immobilize edilmiş β -Galactosidase'nin kinetik parametreleri belirlenmiştir. Yeni geliştirilen immobilizasyon metodu, basit ancak etkilidir. Bu metodun, diğer enzimlerin immobilizasyon işlemlerinde de kullanılabilineceği belirtilmiştir.

Vasiljevic ve Jelen, (2002) tarafından yapılan çalışmada; β -Galactosidase kaynağı olarak kullanılan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842'nin üreme ortamında pH'ı ayarlamak için NaOH, KOH ve NH₄OH gibi üç farklı nötrleştirici kullanılmıştır. Süt için laktoz hidroliz kinetikleri ile 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.

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

Ladero vd., (2001) tarafından yapılan çalışmada; hem çözelti içinde hem de silika alüminyum üzerinde immobilize edilmiş *Escherichia coli* kaynaklı β -Galactosidase enzimi kullanılarak laktoz ve orto-nitrophenol- β -D-Galactoside'in (ONPG) hidrolizi incelenmiştir. Bu çalışmada kullanılan enzim genetik mühendisleri tarafından modifiye edilmiş ve kromotografik yolla homojenize edilmiştir. Laktozun hidrolizinde, glukozdan dolayı inhibe edilmiş, rekabetçi olmayan enzimin özellikleri gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, galaktozun herhangi bir inhibisyon etkisine rastlanmamıştır. ONPG hidrolizinde, hem serbest enzimler hem de immobilize enzimler için optimum pH 7.5-8 olarak bulunmuştur. Laktoz hidrolizinde ise serbest enzimler için optimum pH yaklaşık 6 olarak gözlemlenirken immobilize enzimler için optimum pH yaklaşık 7'dir. İmmobilize edilmiş enzimler katalizör görevi görürken; laktoz, hidroliz işlemi 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 değerdedir, 40 °C'de daha düşük değerdedir. Sıcaklığın artırılması ile, serbest enzimlere kıyasla immobilize enzimlerde aktivitenin daha az etkilendiği görülmüştür. 40 °C'de laktoz ve glukoz inhibisyonu birbirine benzer olduğu halde 5 °C'de bir benzerlik gözlemlenmemiştir. Düşük sıcaklıklara kıyasla yüksek sıcaklıklarda immobilizasyon prosesi, enzimlerin katalitik aktivitesini düşürmüştür. Hidroliz, bunun tam tersi bir özellik göstererek; 40 °C'de yaklaşık %50 iken, 5 °C'de yaklaşık %2 olarak hesaplanmıştır.

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

Szczodrak, (2000) tarafından yapılan çalışmada; *Kluyveromyces fragilis* kaynaklı, %90'dan yüksek aktivitede tutuklanmış ve hidrojen bağları modifiye edilmiş, doğal β -Galactosidase enzimi gözenekli cam üzerinde immobilize edilmiştir. Yüksek katalitik aktivite, geniş pH aralığındaki stabilite ve serbest kalan enzimlerin aktivitesini koruduğu sıcaklık aralığı incelenmiştir. Aynı zamanda, sıvı fazdaki enzimlerin, optimum pH aralığındaki (pH=6-7) ve optimum sıcaklık aralığındaki (35-50 °C) değişimleri gözlemlenmiştir. Hem kesikli proseste hem de geri dönüşümlü dolgulu yatak biyoreaktörlerinde; peynir altı suyunun içindeki yüksek verimlilikteki laktozun şekerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir.

8. MATERYAL VE YÖNTEM

8.1 Kullanılan Materyaller

- β -Galactosidase enzimi
- Yağsız süt
- Glukoz Deney Kiti
- ONPG çözeltisi
- Glukoz Standart Çözeltisi
- 100 mM fosfat tampon çözeltisi
- Kimyasal maddeler (5 M HCl, 1 M Na₂CO₃)

Yağsız sütteki laktozun hidroliz işleminde kullanılan, ticari adı Maxilact LX 5000 olan, *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -Galactosidase 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-nitrophenol- β -D-Galactoside (ONPG) substratından 1.3 μ mol orto-nitro-fenol oluşturan enzim miktarıdır.

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

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

8.2 Kullanılan Cihazlar

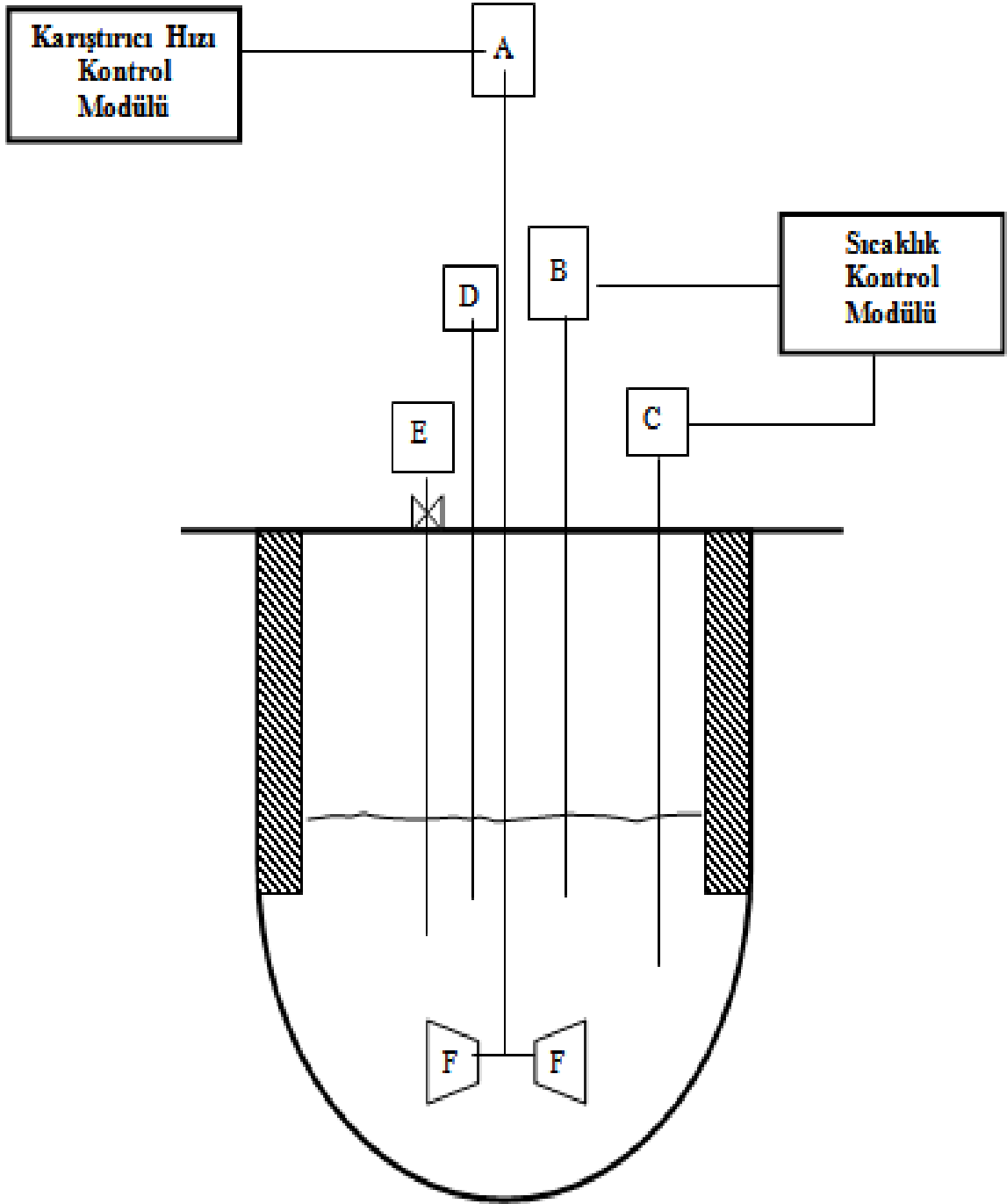
8.2.1 Biyoreaktör

Bu çalışmada, Sanyo Gallenkamp firması tarafından üretilen modüler biyoreaktör sistemi (FER-195-010) kullanılmıştır. Bu sistem, bir biyoreaktör ile karıştırıcı hızı, sıcaklık, pH'ı kontrol eden modüllerden oluşmaktadır. Ayrıca, örneklerin hidroliz tayini için 37 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu, enzim aktivite tayini için 28 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu ve

absorbans değerlerini okumak için de Shimadzu marka UV-150-02 ift işinli spektrofotometre kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan biyoreaktör sisteminin genel görünüşü Şekil 8.1’de, şeması Şekil 8.2’de verilmiştir.



Şekil 8.1 Biyoreaktör sisteminin genel grnşm



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

Şekil 8.2 Biyoreaktör ve kontrol modüllerinin şeması

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

Çizelge 8.1 Biyoreaktör ile ilgili komponentler ve değerleri

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 rpm

Karıştırıcı motor: 65 W, 24V dc

Karıştırıcı hızının kalibrasyonu bir takometre ile yapılmıştır.

- **Sıcaklık kontrol modülü:**

Sıcaklık: 15-90°C

Doğruluk: \pm %1

Isıtıcı tipi: dc rezistans

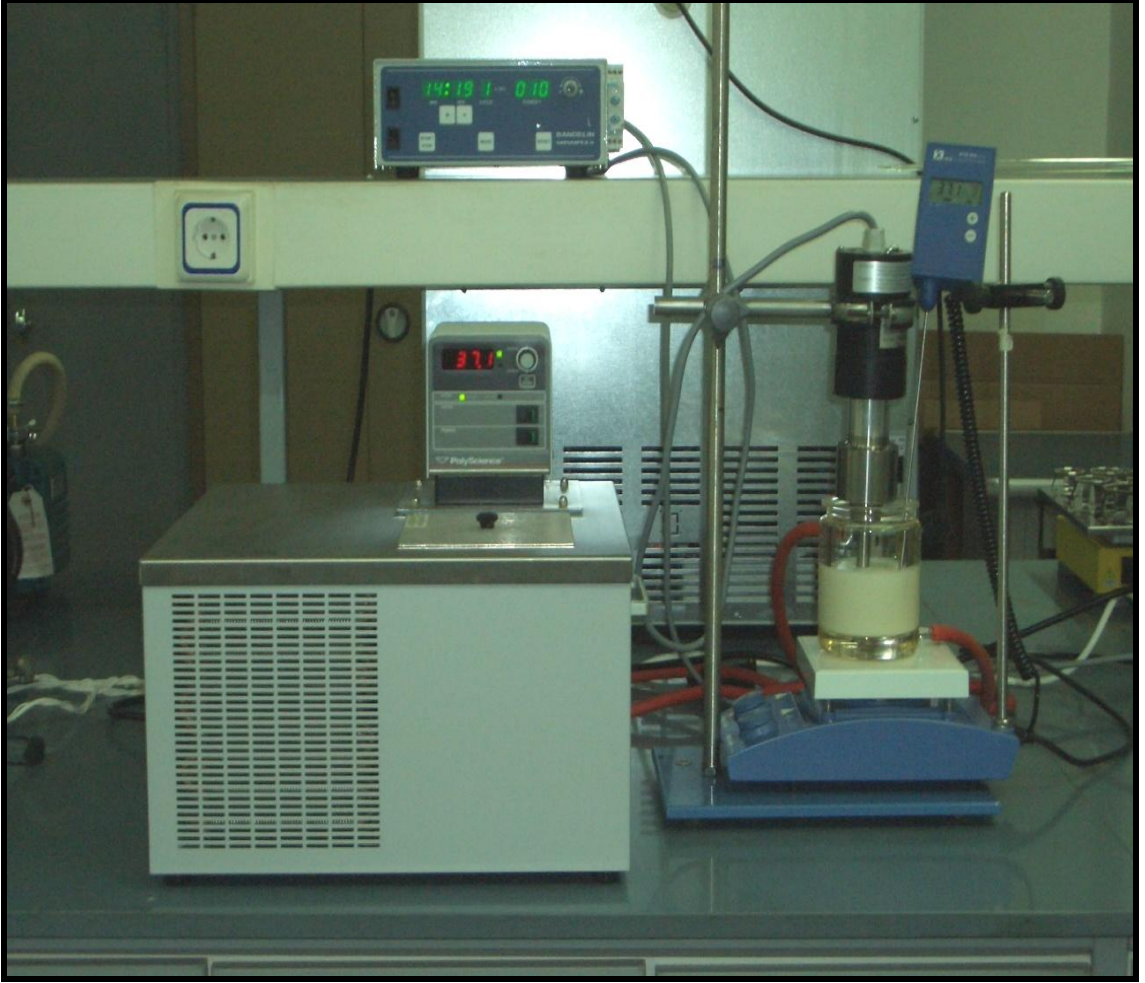
Isıtıcı gücü: 24V dc 100W

Termistör tipi: Yarı iletken LM5DZ

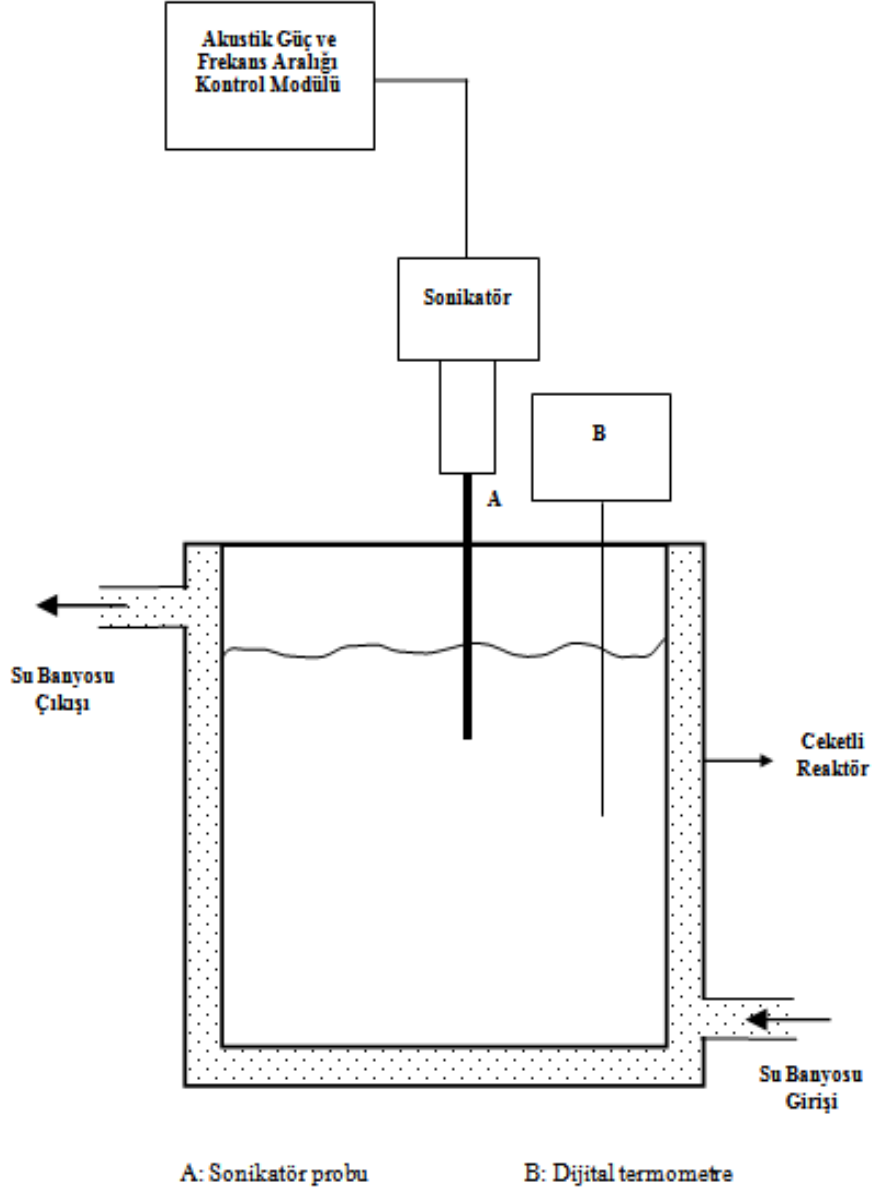
Sıcaklık kontrol modülünün kalibrasyonu bir termometre yardımıyla yapılmış olup, deney sırasında reaktör içerisindeki sıcaklık, bu termometre ile kontrol edilmiştir.

8.2.2 Sonikatör

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



Şekil 8.3 Sonikatör sisteminin genel görünüşü



Şekil 8.4 Sonikatör ve kontrol modüllerinin şeması

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

8.2.2.1 Sonikatör kontrol modülleri

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

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

Çalışma frekansı : 20 kHz

Akustik güç : max. 200 W

Frekans aralığı : %5 - %100

- **Su banyosu:**

Sıcaklık aralığı : (-20) – 150 °C

Doğruluk : ± 0.05 °C

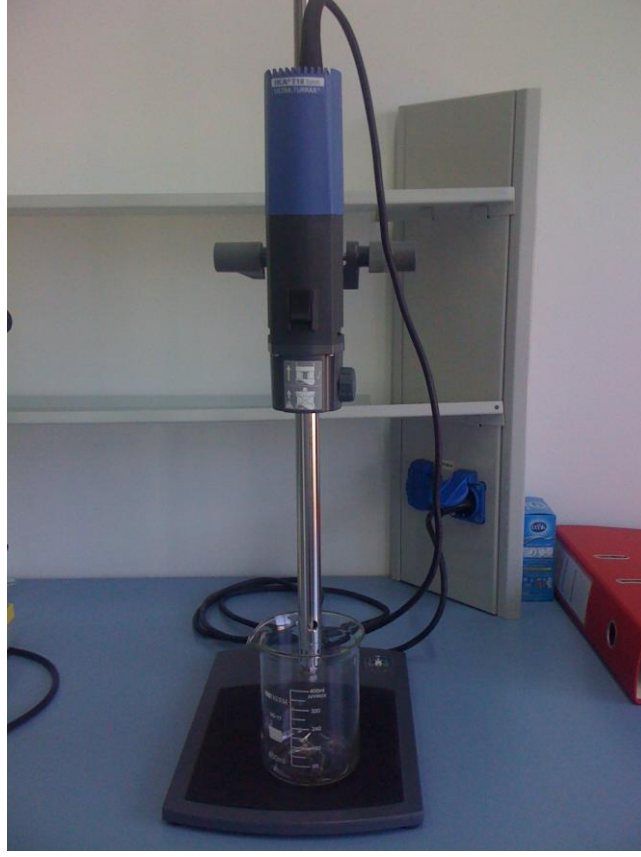
Pompalama hızı : 7 veya 15 (L/dak)

Kapasite : 6 L

Çift cidarlı cam reaktörün su banyosuna bağlanmasıyla sıcaklık kontrolü sağlanmıştır.

8.2.3 Homojenizatör

Homojenizatör deneyinde, IKA Ultra Turrax T 18 homojenizatör sistemi kullanılmıştır. Sütün sıcaklık değerleri, PolyScience marka (9005 model) sıcaklık kontrollü su banyosu ile kontrol edilmiştir. Reaktörün iç sıcaklığı (IKA Labortechnik, ETS-D4 fuzzy) marka dijital termometre ile reaksiyon süresi boyunca ölçülmüştür. Ayrıca, örneklerin hidroliz tayini için 37 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu, enzim aktivite tayini için 28 °C'ye ayarlanmış bir su banyosu ve örneklerin absorbans değerlerini okumak için Shimadzu marka UV-150-02 çift ışınli Spektrofotometre kullanılmıştır. Homojenizatör deneyinde kullanılan homojenizatör cihazı Şekil 8.5'de gösterilmiştir.



Şekil 8.5 Homojenizatör cihazı

8.3 DeneYlerin Yapılışı

Biyoreaktörde gerçekleştirilen deneylerde; 250 ml yağsız süt, istenilen karıştırıcı hızına ve sıcaklığa getirildikten sonra, enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonlar 30 dakika sürmüştür. Reaksiyon süresince belirli zaman aralıklarında süttten 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 yağsız süt, istenilen akustik güce, % frekans aralığına ve sıcaklığa getirildikten sonra, enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonlar, sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika sürmüştür. Reaksiyon süresince belirli zaman aralıklarında süttten alınan örnekler, ortamda kalan laktoz miktarı ve % enzim aktivitesi tayini için hazırlanmıştır. Örneklerin analizleri 5'er kez tekrar edilmiş ve elde edilen değerlerin ortalamaları alınmıştır.

Homojenizatörde gerçekleştirilen deneyde; 250 ml yağsız süt, istenilen sıcaklığa getirildikten sonra 3500 devir/dak hızda, enzim ilavesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon 30 dakika

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

8.4 Analiz Yöntemleri

8.4.1 Laktoz konsantrasyonu tayini

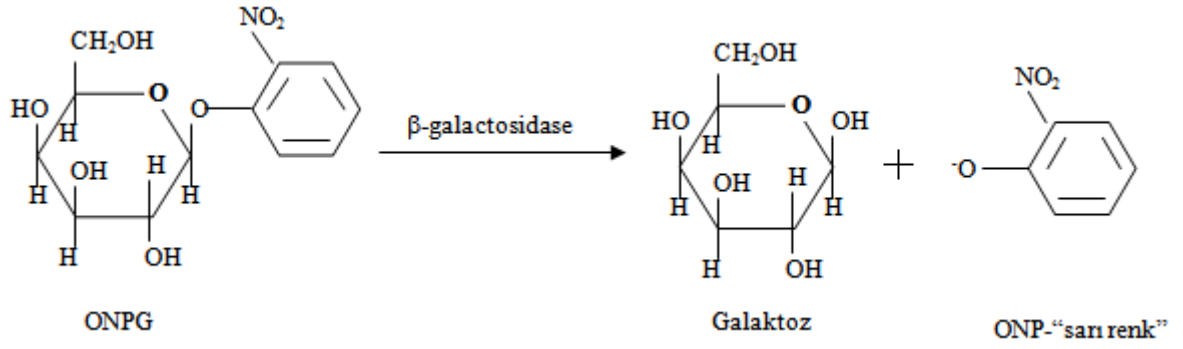
Ortamda kalan laktoz miktarının tayini için, 30 dakikalık işlem süresi boyunca 5 dakika aralıklarla biyoreaktördeki süttten 0.5 ml numune alınmış, 50 µl 5 N HCL ilavesi ile reaksiyon durdurulmuştur. Ayrıca; 0.5 ml'lik numuneler, 5 ml saf su ilave edilerek seyreltilmiştir. Elde edilen son karışımdan,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

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

8.4.2 % Enzim aktivite tayini

Ortamdaki % enzim aktivitesinin tayini için, 30 dakikalık işlem süresi boyunca belirli zaman aralıklarında biyoreaktördeki süttten 0.1 ml numune alınmış ve üzerine 2 ml ONPG çözeltisi ilave edilerek β-Galactosidase ile ONPG'nin hidrolizi sağlanmış ve 28 °C'de 5 dakika bekletilmiştir. 5 dakika sonunda karışım üzerine 1 ml 1M Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Referans çözeltisi de, 0.1 ml enzim içermeyen süt 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 çözeltilisine karşılık olarak örnek çözeltilerinin absorbans değerleri okunmuştur

(Craven, 1965; [23; 24]). ONPG hidrolizasyonu şematik olarak Şekil 8.6’da verilmiştir.



Şekil 8.6 ONPG hidrolizi [25]

% Enzim aktivite değerleri biyoreaktörde, sonikatörde ve homojenizatörde tayin edilmiştir. Hidroliz deneylerinde ve % enzim aktivite tayininde kullanılan Pınar yağsız süte ait enerji ve besin değerleri Çizelge 8.2’de verilmiştir.

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

100 ml Sütün Enerji ve Besin Değerleri	
	Pınar Süt
Enerji (kcal)	34.1
Protein (g)	3.3
Yağ (g)	0.1
Karbonhidrat (g)	5.0
Kalsiyum (mg)	127

8.5 Hesaplamalar

8.5.1 Laktoz konsantrasyonunun hesaplanması

Laktoz konsantrasyonu tayinlerinde aşağıdaki bağıntılar kullanılmıştır;

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

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

Burada;

[S₀] : t=0 anındaki laktoz konsantrasyonu, g/L

[S₁] : İşlem sonunda ortamda kalan laktoz konsantrasyonu, g/L

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

[M_{GLUKOZ}] : Glukozun molekül ağırlığı, 180.17 g/mol

C_G : İşlem sonunda oluşan glukozun absorbands değeri

C_{St} : Standart çözeltisinin absorbands değeri

f : Seyreltme faktörü

[H] : % Hidroliz derecesi

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

8.5.2 Enzim aktivitesinin hesaplanması

Enzim aktivite tayinlerinde aşağıdaki bağıntı kullanılmıştır;

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

Burada;

[A₀] : t=0 anındaki ONP'nin absorbands değeri

[A₁] : İşlem sonundaki ONP'nin absorbands 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.

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

(8.4)

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

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

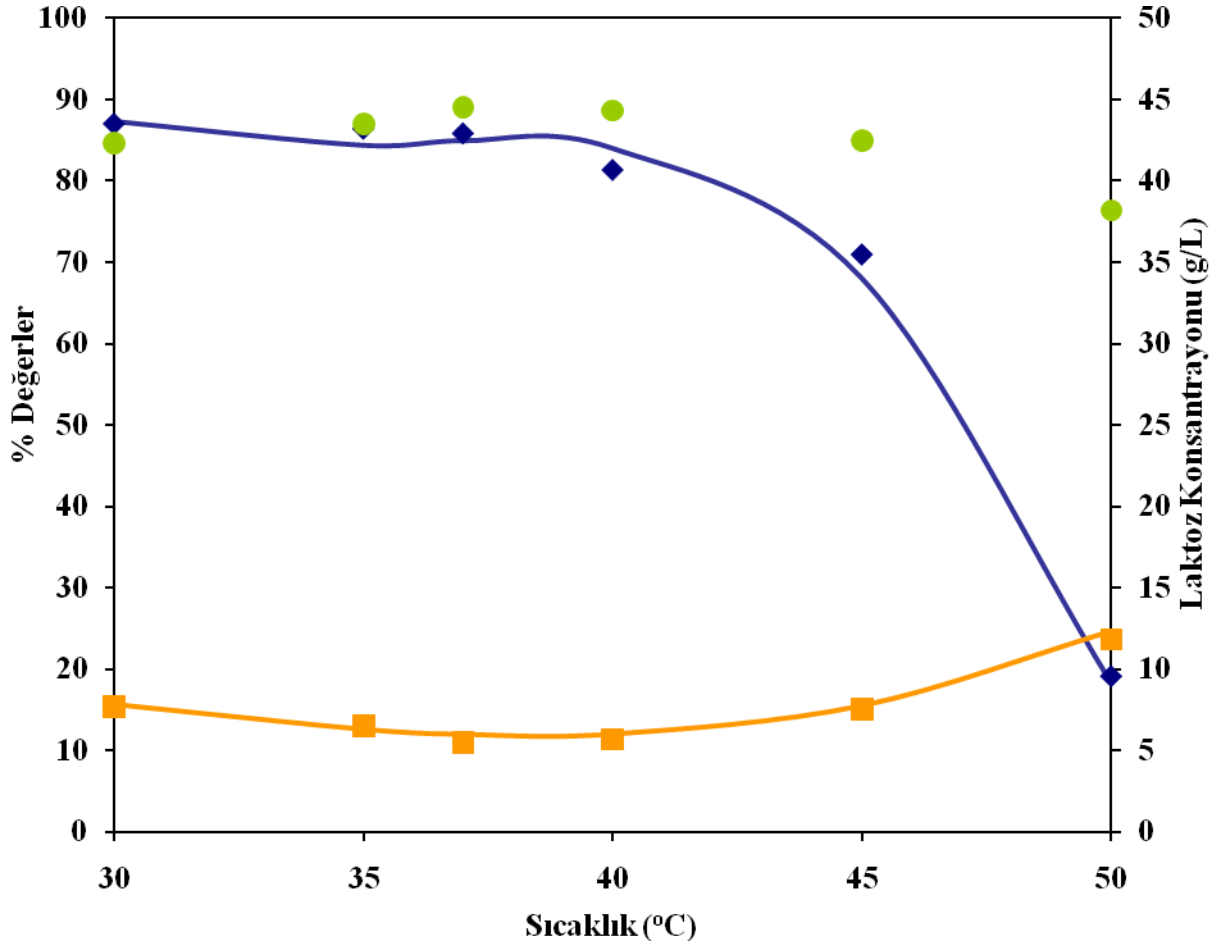
9.1 Biyoreaktörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

9.1.1 Sıcaklığın enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Enzimatik reaksiyonlarda sıcaklık artışının reaksiyon hızını arttırdığı ancak enzimlerde yapısal bozunmalara neden olduğu bilinmektedir. Yağsız sütte sıcaklık artışının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. 250 ml yağsız süt, pH 6.7 ve 300 devir/dak karıştırıcı hızında, 1.25 ml/L enzim ilavesi ile 30-50 °C arasındaki sıcaklıklar için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda yağsız sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.1’de verilmiş ve Şekil 9.1’de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.1 Biyoreaktörde sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Sıcaklık (°C)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)	Laktoz Kons. (g/L)
30	84.64	87.09	7.68
35	87.00	86.49	6.50
37	89.04	85.91	5.48
40	88.64	81.42	5.68
45	84.96	71.01	7.52
50	76.40	19.13	11.80



Şekil 9.1 Biyoreaktörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun sıcaklık ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — enzim aktivitesi, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.1 ve Şekil 9.1'de görüldüğü gibi 37 °C'ye kadar sıcaklık artışıyla sütteki hidroliz derecesi artarken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 30 °C'deki hidroliz derecesi yaklaşık %85 iken sıcaklık ile artarak 37 °C'de yaklaşık %89 olmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 50 °C'de hidroliz derecesi yaklaşık %76'ya kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen sıcaklık aralığı boyunca enzim aktivitesi %87.09'tan %19.13'e (yaklaşık %78) azalmıştır. Kullanılan enzim 30 °C için yaklaşık %13, 37 °C için %14 ve 50 °C için %81 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.

Sıcaklığın ortamda kalan laktoz miktarı, yağsız sütteki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde edilen deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel

modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.2’de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.2 Biyoreaktörde sıcaklığa karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [T] + c_S [T]^2 + d_S [T]^3$	$a_S = -1.9188$ $b_S = 1.9903$ $c_S = -0.0876$ $d_S = 0.00107$	0.3587	0.9904
$[A] = a_A + b_A [T] + c_A [T]^2 + d_A [T]^3$	$a_A = 1175.05$ $b_A = -92.244$ $c_A = 2.5922$ $d_A = -0.0242$	3.0108	0.9948

*Katsayılar ait birimler; a_S : (g laktoz/L), b_S : (g laktoz/L.°C), c_S : (g laktoz/L.°C²), d_S : (g laktoz/L.°C³), a_A : (birimsiz), b_A : (°C)⁻¹, c_A : (°C)⁻², d_A : (°C)⁻³

Laktoz konsantrasyonunun farklı sıcaklık değerlerinde 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 sıcaklık değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1).

$$C_L = C_{L0} * \exp(-k.t) \quad (9.1)$$

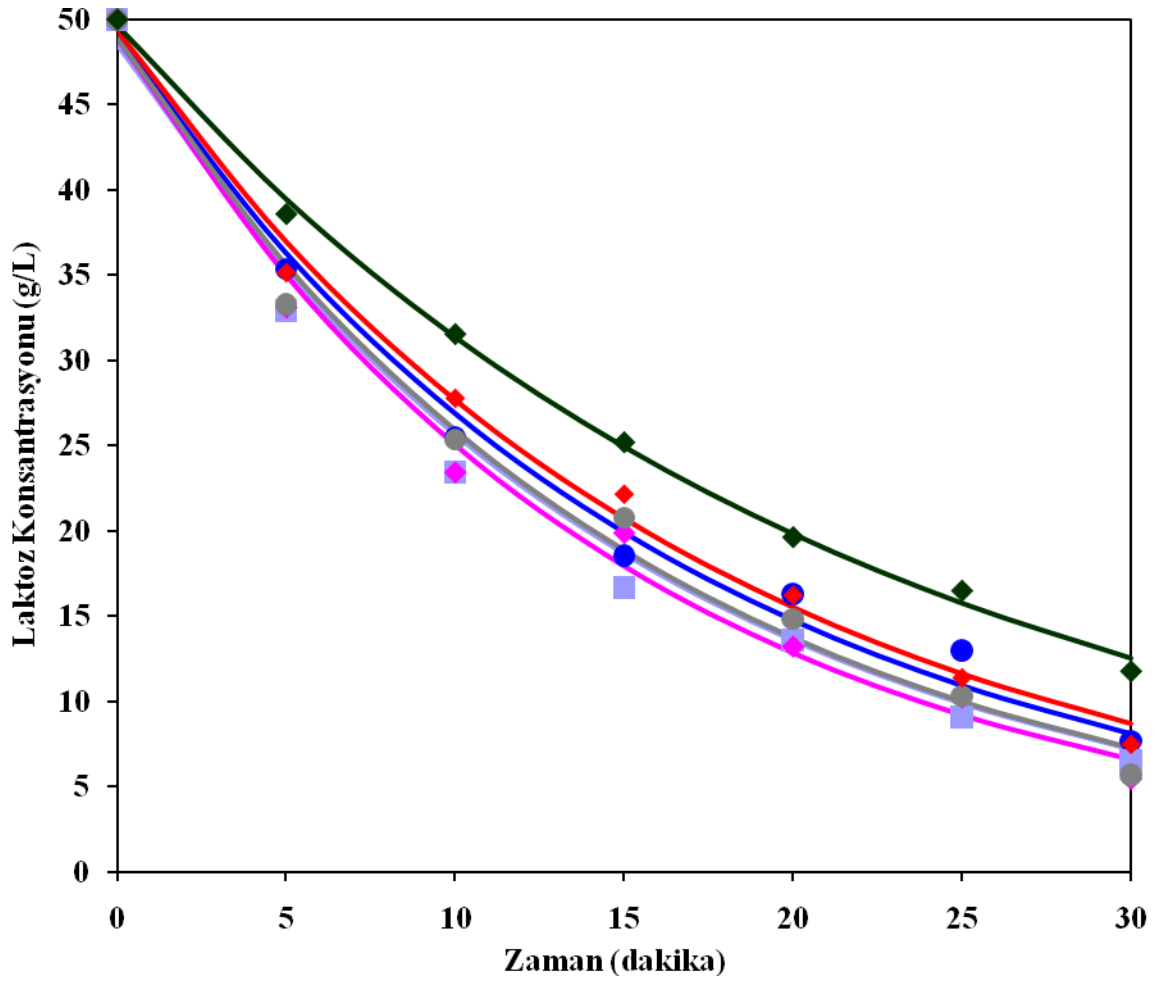
Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.3’te verilmiştir.

% Enzim aktivitesinin farklı sıcaklık değerlerinde 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 sıcaklık değerleri, % enzim

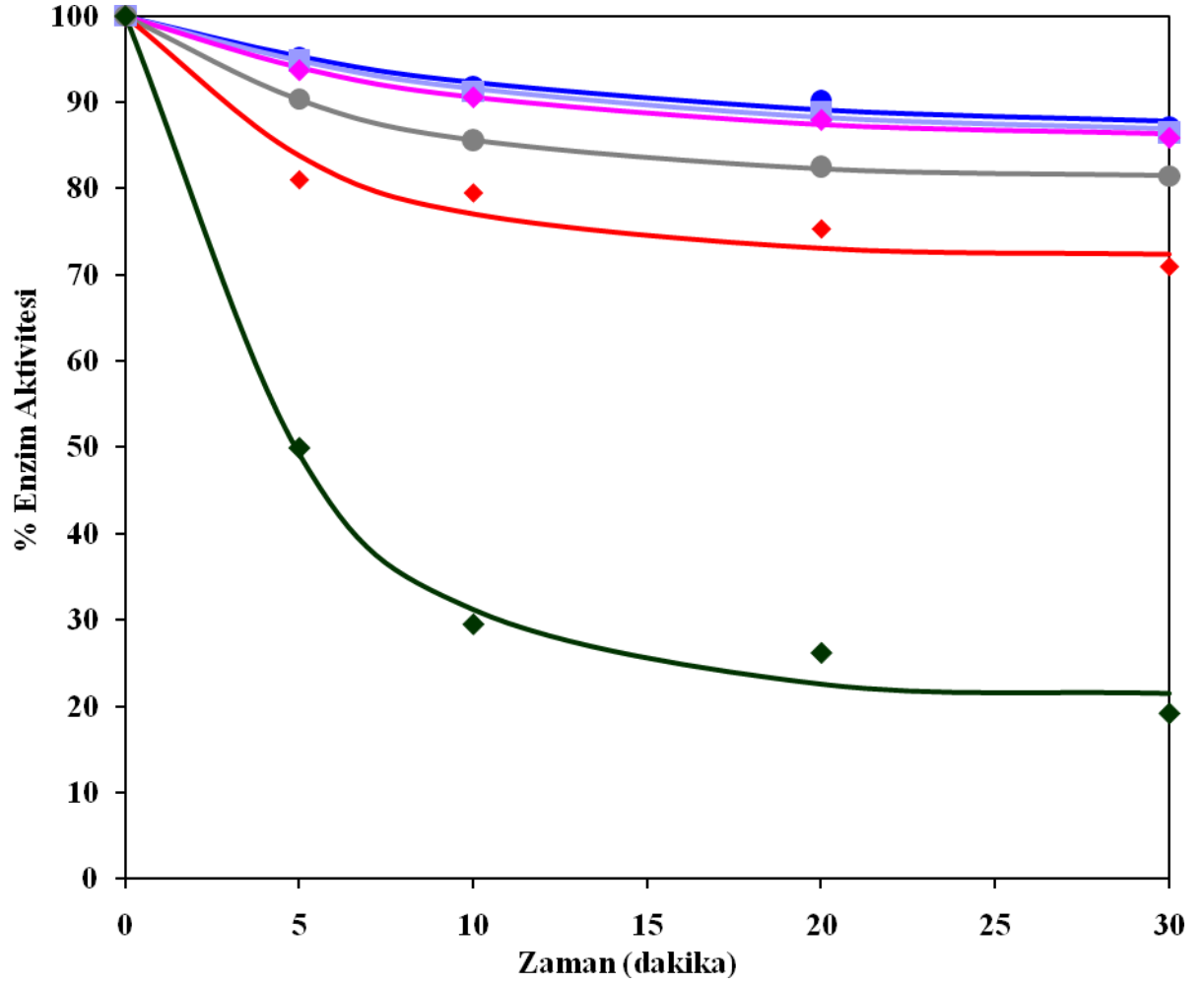
aktivitesi ile zaman arasındaki değişimin Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen enzim inaktivasyon kinetiği modeline uyduğu görölmüştür. (Denklem 9.2).

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

% 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 Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 30 °C, ■ 35 °C, ◆ 37 °C, ● 40 °C, ◆ 45 °C, ◆ 50 °C, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)



Şekil 9.3 Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 30 °C, ■ 35 °C, ◆ 37 °C, ● 40 °C, ◆ 45 °C, ◆ 50 °C, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.3 Biyoreaktörde farklı sıcaklık değerleri için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.7, N= 300 devir/dak)

T (°C)	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
	k	δ	R ²	α_1	k _D	δ	R ²
30	0.0599	1.5781	0.9902	86.77	0.0876	0.7918	0.9807
35	0.0637	1.6279	0.9900	85.98	0.0921	0.0482	0.9938
37	0.0669	1.6541	0.9902	85.77	0.1083	0.4477	0.9950
40	0.0634	1.6930	0.9896	81.34	0.1460	0.1657	0.9996
45	0.0577	1.2464	0.9940	72.18	0.1749	01.2034	0.9916
50	0.0459	0.6511	0.9980	21.37	0.2076	2.7012	0.9950

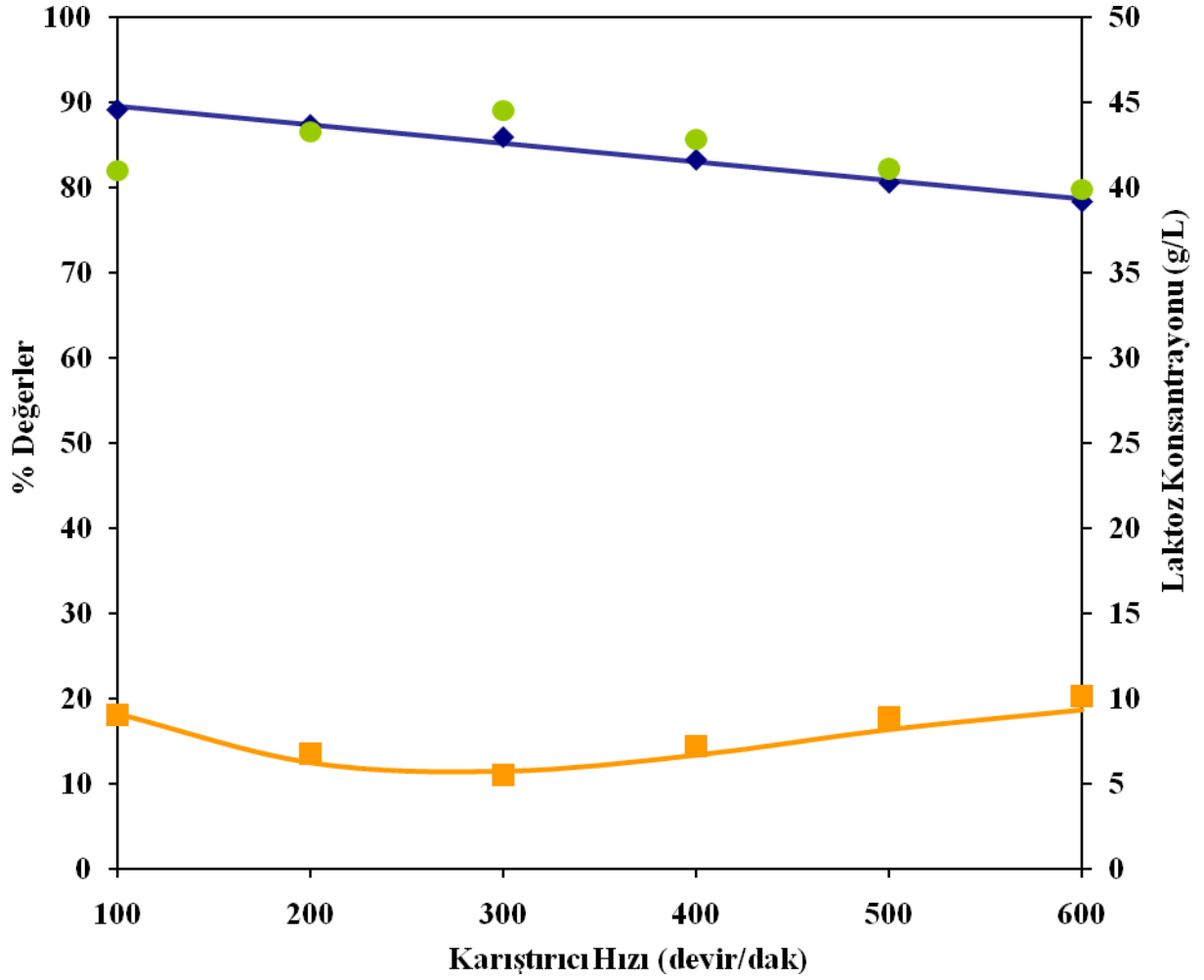
*Katsayılara ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D: dakika⁻¹

9.1.2 Karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Yağsız sütte karıştırıcı hızının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. 250 ml yağsız süt, pH 6.7 ve 37 °C sıcaklıkta, 1.25 ml/L enzim ilavesi ile 100-600 devir/dak arasındaki karıştırıcı hızları için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda yağsız sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.4'te verilmiş ve Şekil 9.4'te grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.4 Biyoreaktörde karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Karıştırıcı Hızı (devir/dak)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)	Laktoz Kons. (g/L)
100	81.94	89.13	9.03
200	86.52	87.36	6.74
300	89.04	85.91	5.48
400	85.64	83.27	7.18
500	82.22	80.57	8.89
600	79.78	78.36	10.11



Şekil 9.4 Biyoreaktörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun karıştırıcı hızı ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ kalan laktoz, — modeller (pH= 6.7, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.4 ve Şekil 9.4'te görüldüğü gibi 300 devir/dak'a kadar karıştırıcı hızı artışıyla yağsız sütteki hidroliz derecesinde artış olurken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 100 devir/dak'daki hidroliz derecesi yaklaşık %82 iken karıştırıcı hızı ile artarak 300 devir/dak'da yaklaşık %89 olmuştur. Daha yüksek karıştırıcı hızlarında ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 600 devir/dak'da hidroliz derecesi yaklaşık %80'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen karıştırıcı hızı aralığı boyunca enzim aktivitesi %89'dan %78'e (yaklaşık %12) azalmıştır. Kullanılan enzim 100 devir/dak için yaklaşık %11, 300 devir/dak için yaklaşık %14 ve 600 devir/dak için yaklaşık %22 inaktif 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.

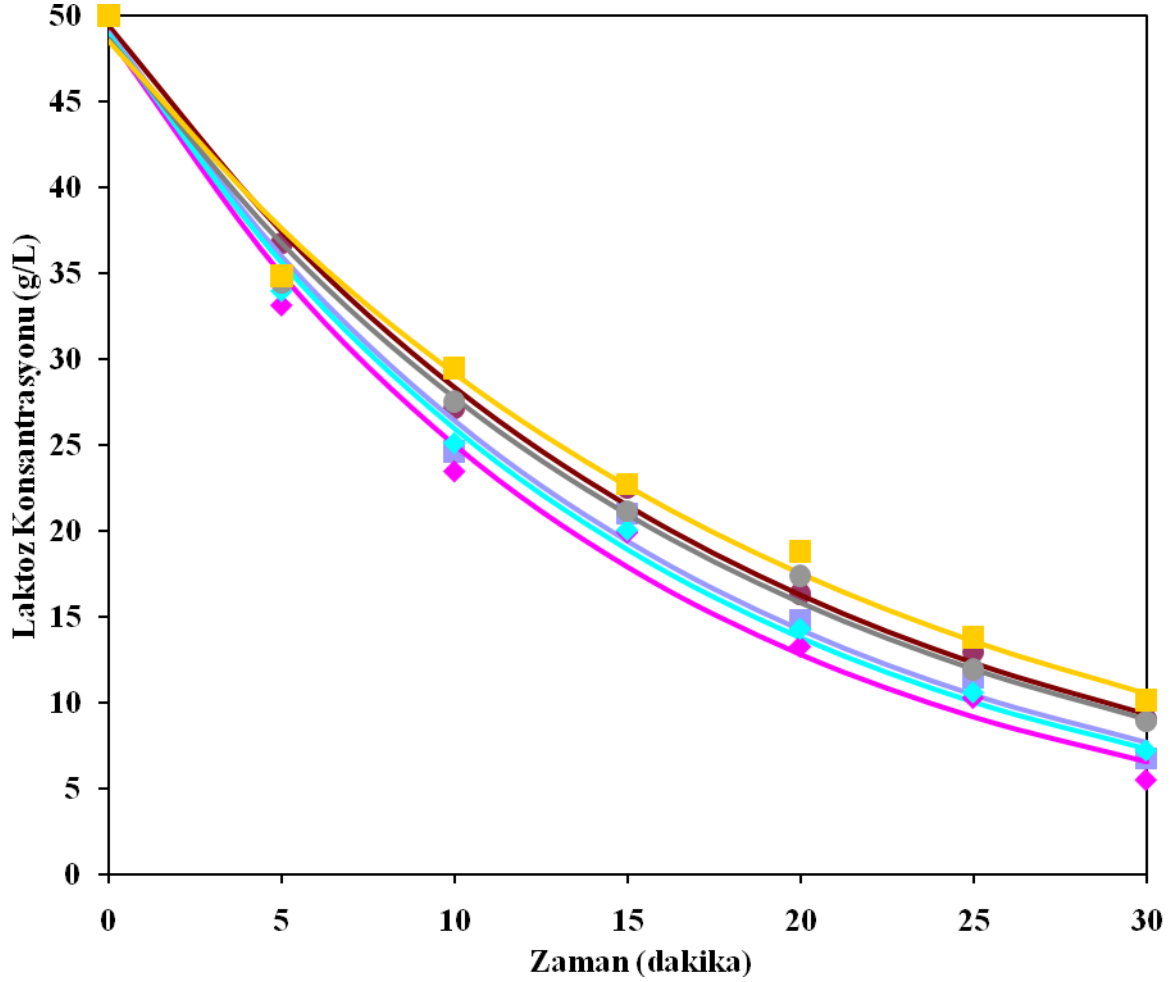
Karıştırıcı hızının ortamda kalan laktoz miktarı, yağsız sütteki enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.5'te verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.5 Biyoreaktörde karıştırıcı hızına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [N] + c_S [N]^2$	$a_S = 15.2933$ $b_S = -0.0812$ $c_S = 0.00021$	0.4605	0.9714
$[A] = a_A + b_A [N]$	$a_A = 91.786$ $b_A = -0.0219$	0.4769	0.9894

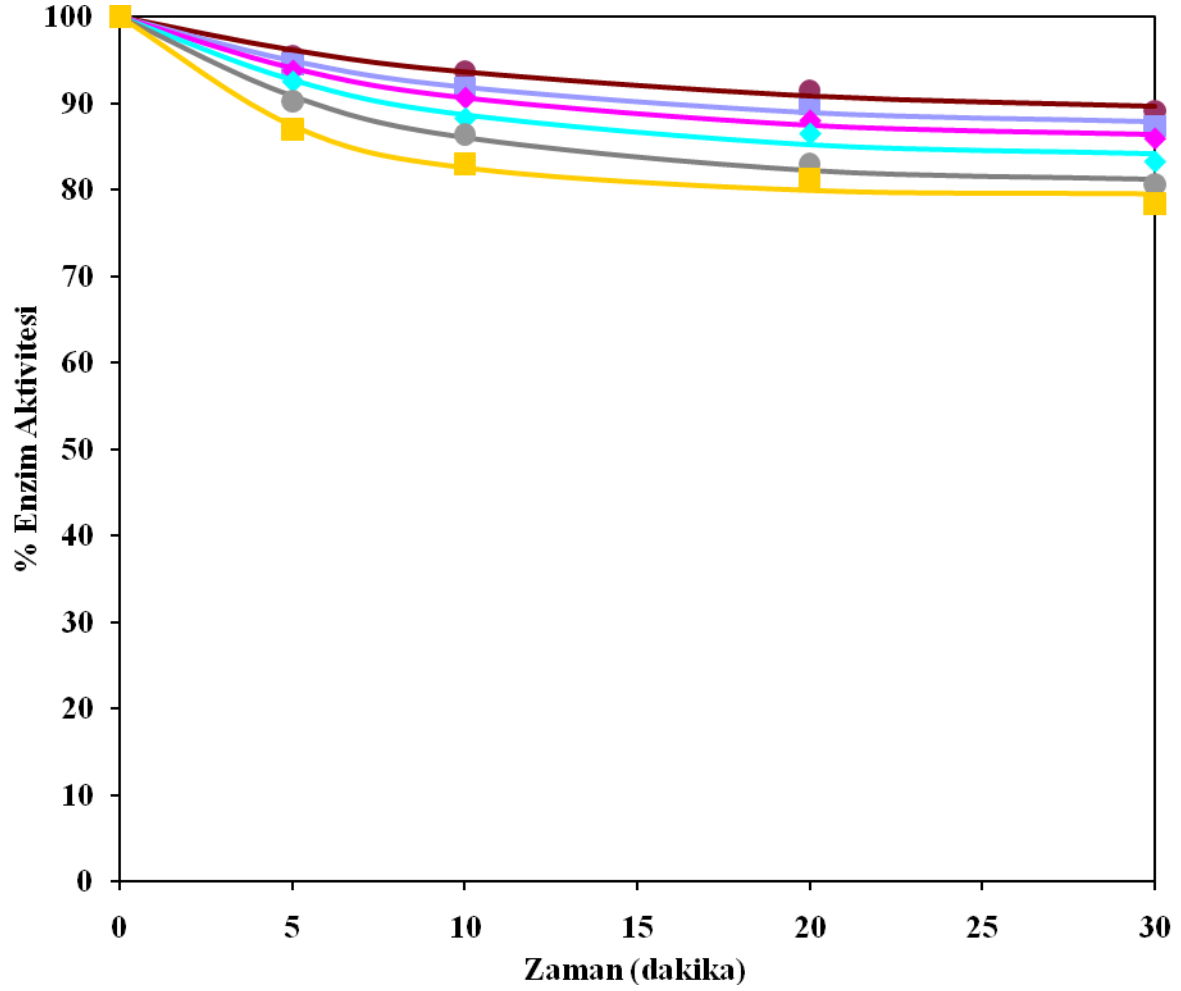
*Katsayılara ait birimler; a_S : (g laktoz/L), b_S : (g laktoz/L.(devir/dakika)), c_S : (g laktoz/L.(devir/dakika)²), a_A : (birimsiz), b_A : (devir/dakika)⁻¹

Laktoz konsantrasyonunun farklı karıştırıcı hızlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 2, Çizelge E2.1'de verilmiş ve Şekil 9.5'te grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm karıştırıcı hızı değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci 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 9.6'da verilmiştir.



Şekil 9.5 Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 100 rpm, ■ 200 rpm, ◆ 300 rpm, ◆ 400 rpm, ● 500 rpm, ■ 600 rpm, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Yağsız sütteki, % enzim aktivitesinin farklı karıştırıcı hızlarında 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 9.6’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). % 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 9.6 Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 100 rpm, ■ 200 rpm, ◆ 300 rpm, ◆ 400 rpm, ● 500 rpm, ■ 600 rpm, — modeller (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.6 Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

N (rpm)	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
	k	δ	R ²	α_1	k _D	δ	R ²
100	0.0555	0.8779	0.9970	88.65	0.0832	0.6007	0.9843
200	0.0619	1.4399	0.9922	87.34	0.1019	0.6411	0.9868
300	0.0669	1.6541	0.9902	85.77	0.1083	0.4477	0.9950
400	0.0633	1.1467	0.9950	83.66	0.1188	0.9369	0.9843
500	0.0562	1.3641	0.9924	80.84	0.1299	0.7065	0.9936
600	0.0509	1.5350	0.9896	79.50	0.1896	1.0614	0.9882

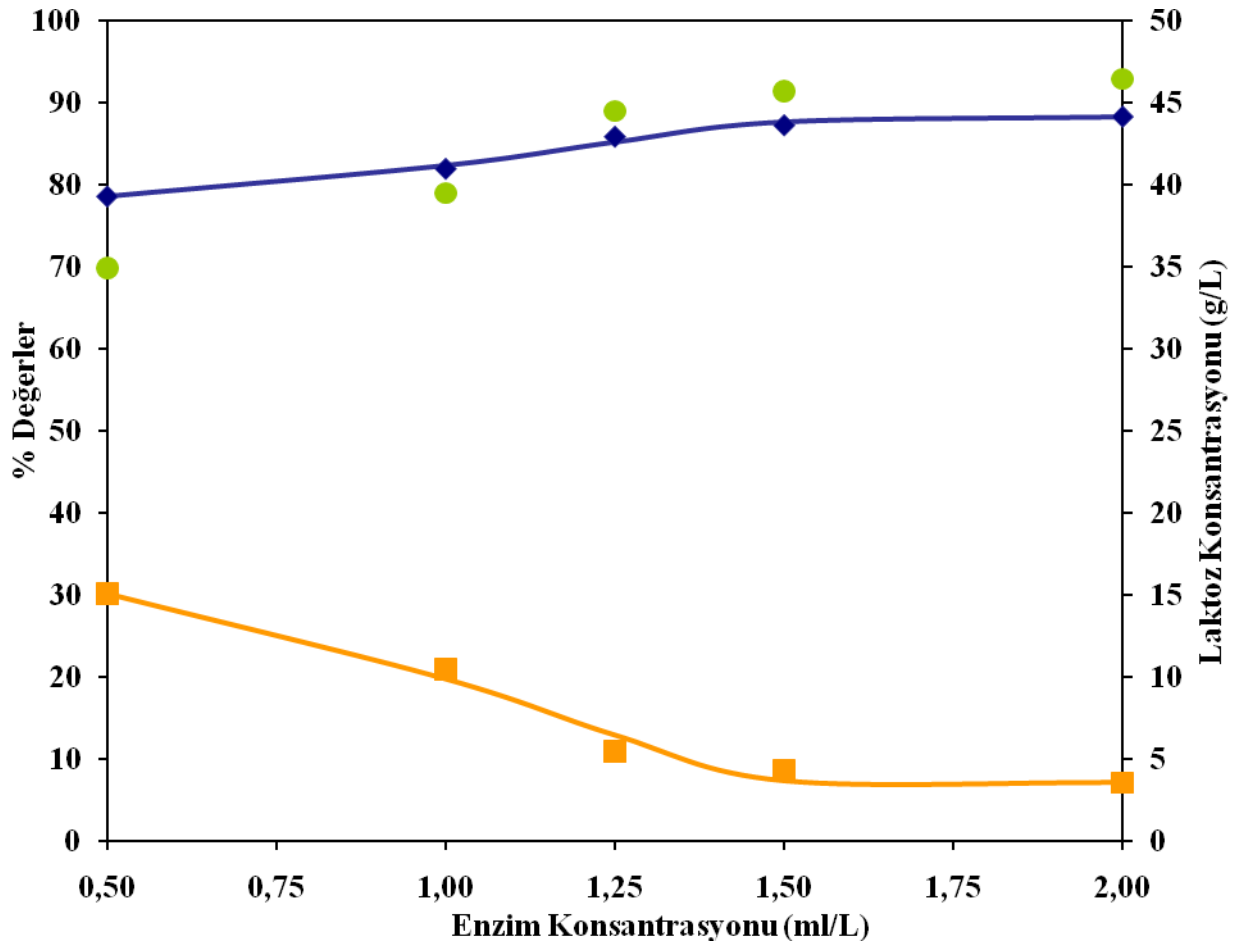
*Katsayılar a ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D: dakika⁻¹

9.1.3 Enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Yağsız sütte enzim konsantrasyonunun enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisi incelenmiştir. 250 ml yağsız süt, pH 6.7 ve 37 °C sıcaklıkta, 300 devir/dak karıştırıcı hızı ile 0.5-2 ml/L arasındaki enzim konsantrasyonları için 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda yağsız sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.7’de verilmiş ve Şekil 9.7’de grafiksel olarak sunulmuştur.

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

Enzim Kons. (ml/L)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)	Laktoz Kons. (g/L)
0.50	69.90	78.68	15.05
1.00	79.04	82.02	10.48
1.25	89.04	85.91	5.48
1.50	91.46	87.30	4.27
2.00	92.94	88.34	3.53



Şekil 9.7 Biyoreaktörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun enzim konsantrasyonu ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%) ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Çizelge 9.7 ve Şekil 9.7’de görüldüğü gibi enzim konsantrasyonu artışıyla yağsız sütteki hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %70 iken, 1.25 ml/L enzim konsantrasyonunda yaklaşık %89 olmuş ve 2 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %93 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyonu aralığı boyunca enzim aktivitesi %79’dan %88’e (yaklaşık % 11) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1.25 ml/L olarak belirlenmiştir.

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

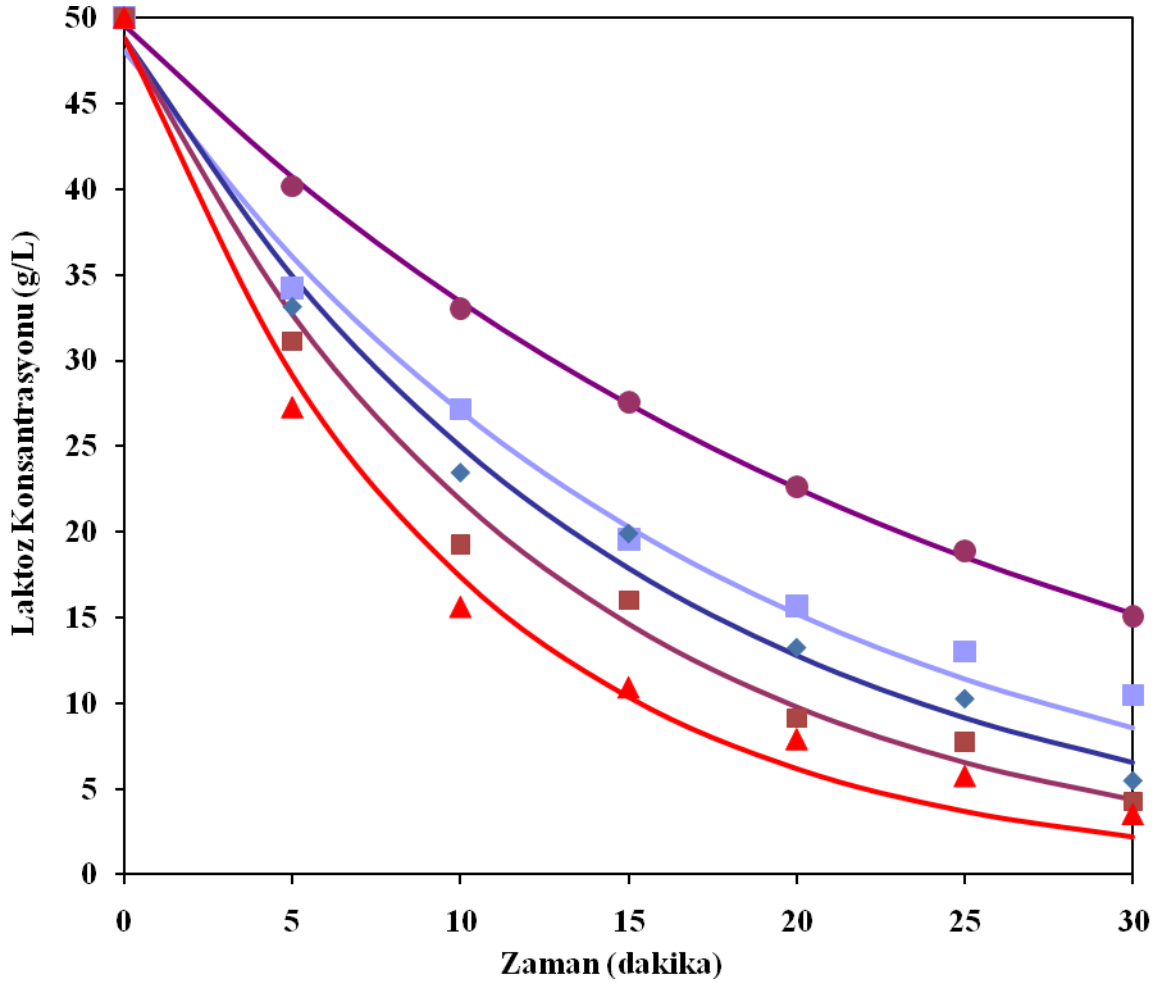
Çizelge 9.8 Biyoreaktörde enzim konsantrasyonuna karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [E] + c_S [E]^2 + d_S [E]^3$	$a_S = 12.1945$ $b_S = 18.6964$ $c_S = -30.4586$ $d_S = 9.48$	1.2926	0.9825
$[A] = a_A + b_A [E] + c_A [E]^2 + d_A [E]^3$	$a_A = 82.575$ $b_A = -19.6929$ $c_A = 27.7571$ $d_A = -8.24$	0.8637	0.9884

*Katsayılar ait birimler; a_S : g laktoz.L⁻¹; b_S : g laktoz.ml⁻¹; c_S : g laktoz.L.ml⁻²; d_S : g laktoz.L².ml⁻³; a_A : birimsiz; b_A : (ml enzim.L⁻¹)⁻¹; c_A : (ml enzim.L⁻¹)⁻²; d_A : (ml enzim.L⁻¹)⁻³

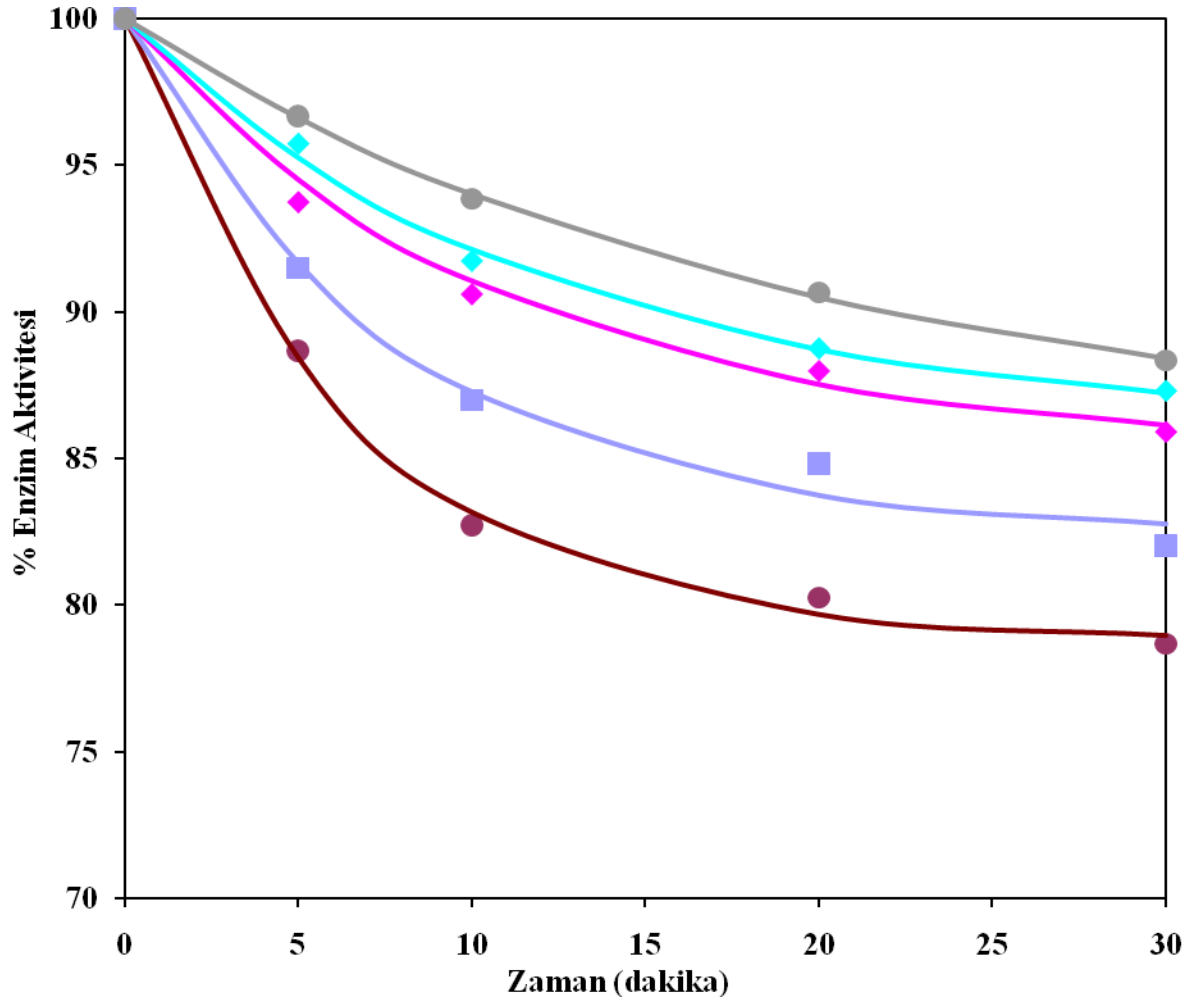
Laktoz konsantrasyonunun farklı enzim konsantrasyonlarında zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 3, Çizelge E3.1’de verilmiş ve Şekil 9.8’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm enzim konsantrasyonları için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modeline 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 9.9’da verilmiştir.



Şekil 9.8 Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 0.5 ml/L, ■ 1 ml/L, ◆ 1.25 ml/L, ■ 1.5 ml/L, ▲ 2 ml/L, — modeller (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Yağsız sütteki % enzim aktivitesinin farklı enzim konsantrasyonlarında 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 9.9’da 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). 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 9.9 Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 0.5 ml/L, ■ 1 ml/L, ◆ 1.25 ml/L, ◆ 1.5 ml/L, ● 2 ml/L, — modeller (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Çizelge 9.9 Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistiksel veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

C	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
	k	δ	R ²	α_1	k _D	δ	R ²
0.50	0.0394	0.4022	0.9932	78.80	0.1575	0.4673	0.9978
1.00	0.0575	1.8786	0.9825	82.38	0.1283	0.7789	0.9908
1.25	0.0669	1.6541	0.9902	85.22	0.0930	0.4477	0.9950
1.50	0.0802	2.1669	0.9846	86.11	0.0834	0.3608	0.9964
2.00	0.1033	1.8575	0.9894	85.43	0.0528	0.1521	0.9992

*Katsayılar a ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D: dakika⁻¹

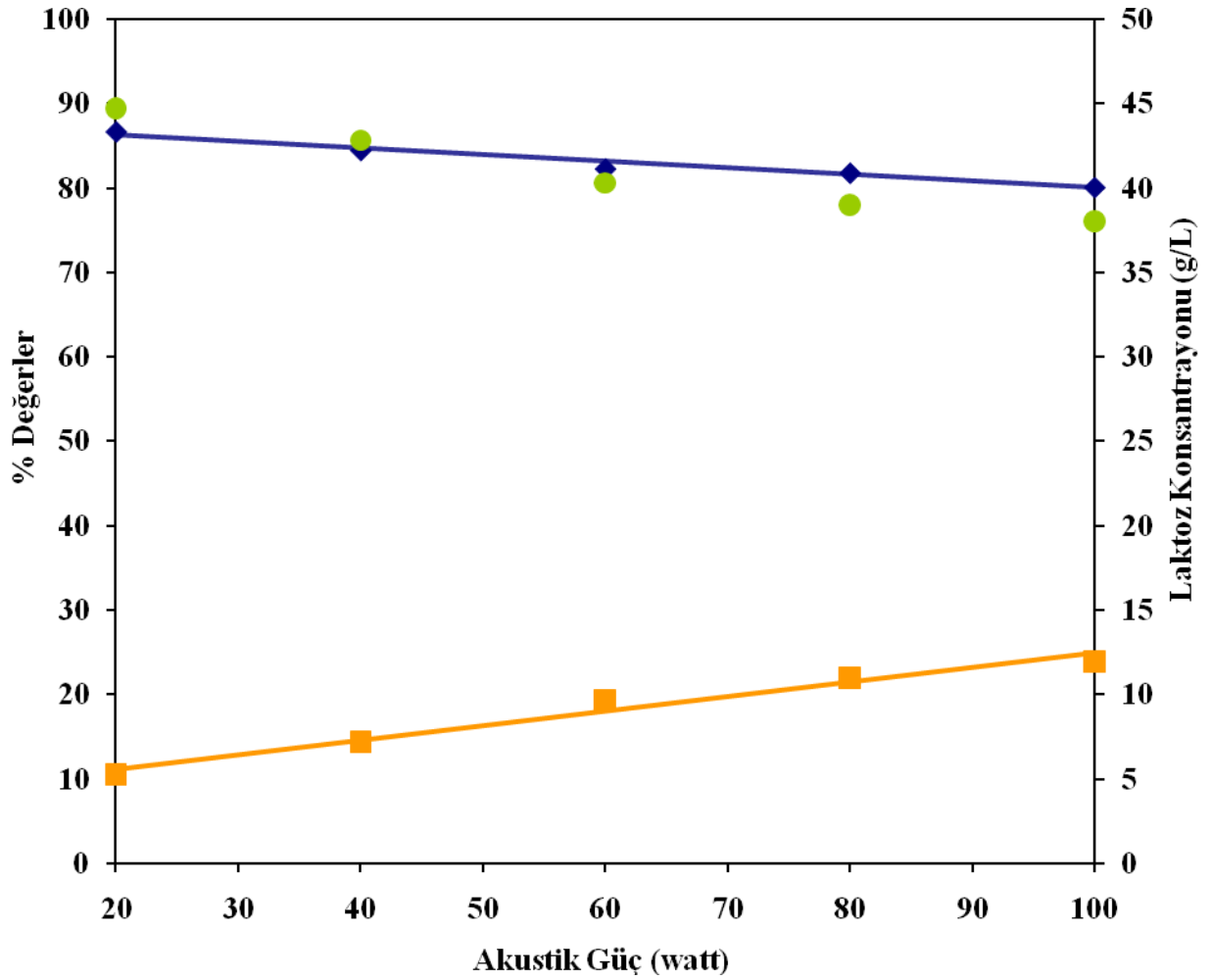
9.2 Sonikatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

9.2.1 Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Akustik gücün enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml yağsız süt, pH 6.7 ve %10 frekans aralığında, 1.25 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 yağsız sütteki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.10'da verilmiş ve Şekil 9.10'da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.10 Sonikatörde akustik güce karşılık elde edilen deneysel veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Akustik Güç (watt)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)	Laktoz Kons. (g/L)
20	89.48	86.62	5.26
40	85.64	84.43	7.18
60	80.60	82.24	9.70
80	78.04	81.74	10.98
100	76.04	80.04	11.98



Şekil 9.10 Sonikatörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun akustik güç ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.10 ve Şekil 9.10’da görüldüğü gibi %10 frekans aralığında akustik güç artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. 20 watt’taki hidroliz derecesi yaklaşık %89 iken akustik güç ile azalarak 100 watt’ta yaklaşık %76 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %86.62’den %80.04’e (yaklaşık %8) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 watt akustik güç için yaklaşık %13 ve 100 watt akustik güç için yaklaşık %20 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.

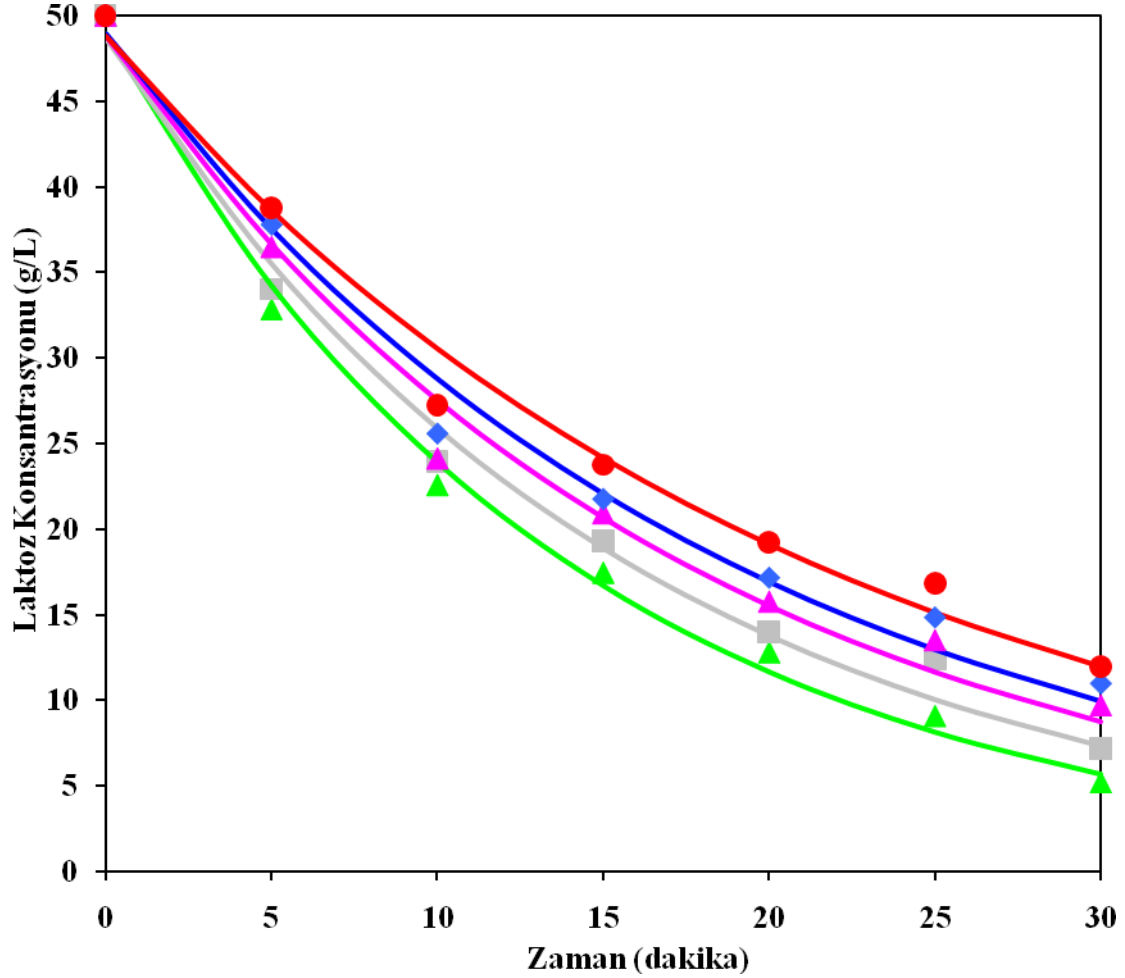
Akustik gücün ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.11’de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.11 Sonikatörde akustik güce karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [G] + c_S [G]^2$	$a_S = 3.8657$ $b_S = 0.1376$ $c_S = -0.00041$	0.1526	0.9880
$[A] = a_A + b_A [G]$	$a_A = 87.969$ $b_A = -0.07925$	0.2613	0.9918

*Katsayılar a ait birimler; a_S : (g laktoz/L), b_S : (g laktoz/L.watt), c_S : (g laktoz/L.watt)²; a_A : (birimsiz), b_A : (watt)⁻¹

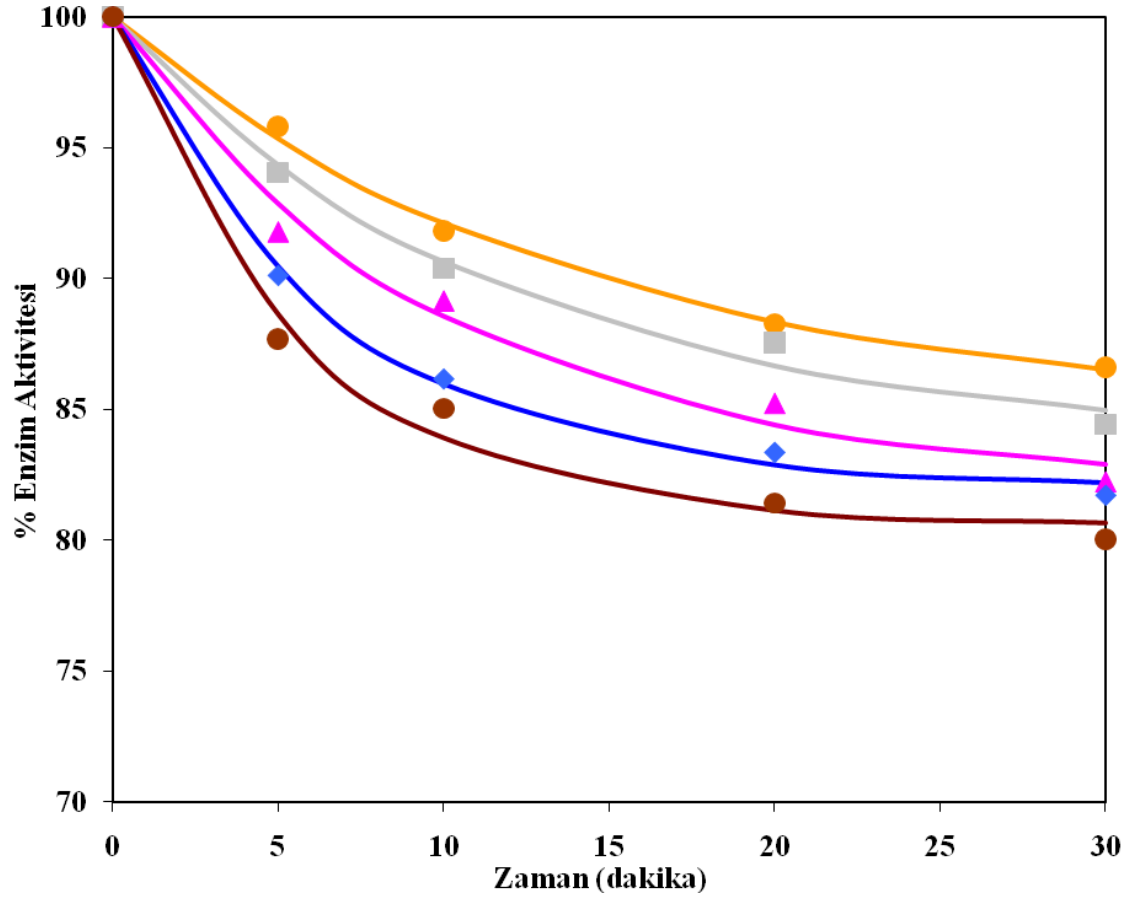
Laktoz konsantrasyonunun farklı akustik güçlerde zamana karşılık değişimini incelemek için hidroliz işlemi süresince belli zaman aralıklarında örnekler alınmıştır. Elde edilen değerler Ek 4, Çizelge E4.1’de verilmiş ve Şekil 9.11’de grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda tüm akustik güç değerleri için, kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklemler 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve istatistik veriler Çizelge 9.12’de verilmiştir.



Şekil 9.11 Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ▲ 20 W, ■ 40 W, ▲ 60 W, ◆ 80 W, ● 100 W, — modeller (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Yağsız sütteki % enzim aktivitesinin farklı akustik güçler için 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 9.12’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).

Yağsız sütte, % 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 9.12 Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 20 W, ■ 40 W, ▲ 60 W, ◆ 80 W, ● 100 W, — modeller (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.12 Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

G	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
	k	δ	R ²	α_1	k _D	δ	R ²
20	0.0716	1.2402	0.9946	84.83	0.0731	0.3219	0.9974
40	0.0631	1.6399	0.9998	83.68	0.0853	0.6295	0.9918
60	0.0573	1.8683	0.9856	82.05	0.1012	0.9351	0.9858
80	0.0531	1.7943	0.9960	82.00	0.1510	0.4503	0.9972
100	0.0469	1.8148	0.9841	80.57	0.1758	0.9385	0.9896

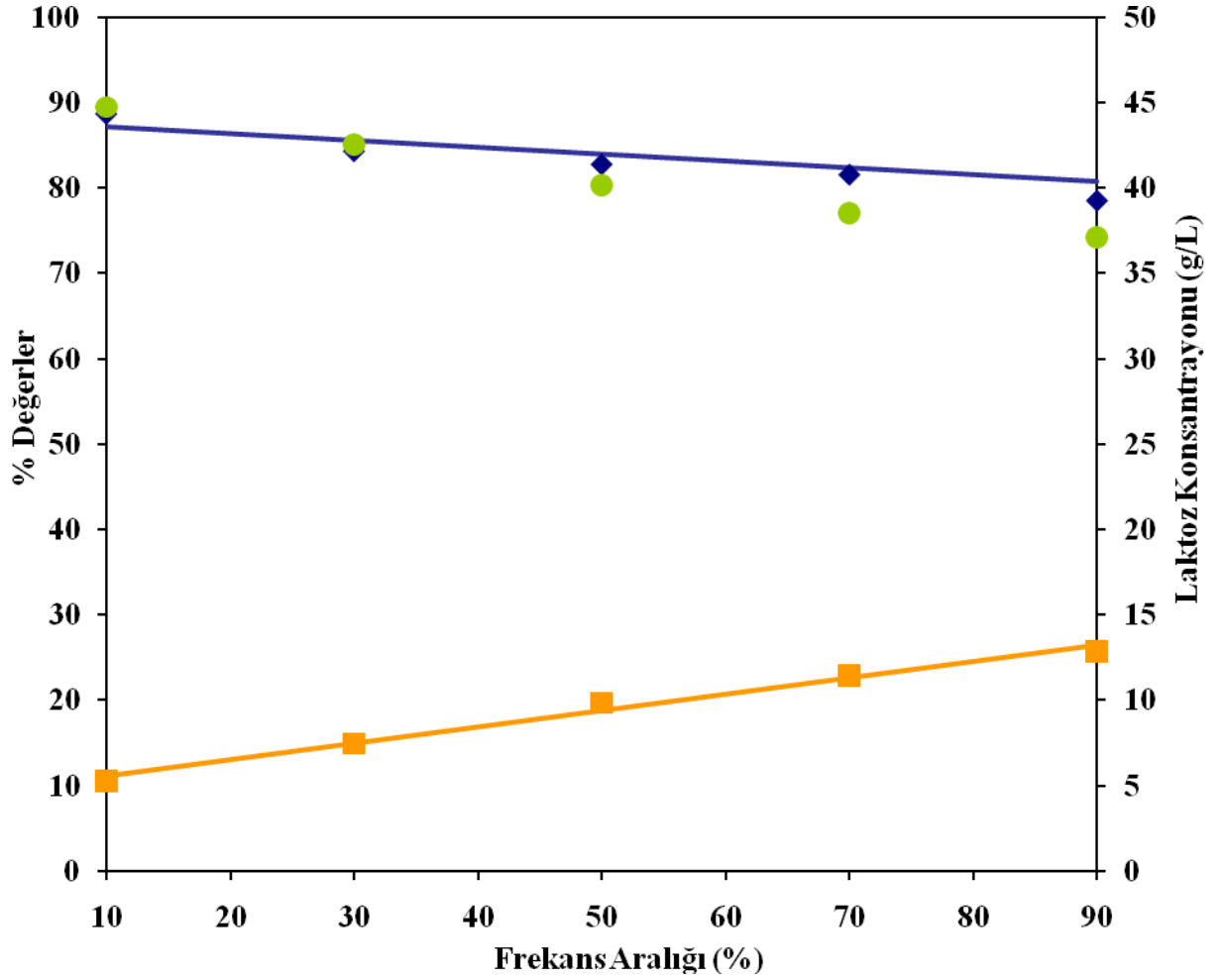
*Katsayılar ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D: dakika⁻¹

9.2.2 % Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

% Frekans aralığının enzim aktivitesi ve hidroliz derecesine etkisini incelemek için 250 ml yağsız süt, pH 6.7 ve 20 watt akustik güçte, 1.25 ml/L enzim ilavesi ile %10-%90 arasındaki % frekans aralıkları için sonikatör 1 dakika çalışıp 1 dakika duracak şekilde toplam 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda süttteki enzim aktiviteler ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.13’de verilmiş ve Şekil 9.13’de grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.13 Sonikatörde % frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Frekans Aralığı (%)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)	Laktoz Kons. (g/L)
10	89.48	88.62	5.26
30	85.08	84.27	7.46
50	80.32	82.71	9.84
70	77.08	81.50	11.46
90	74.24	78.46	12.88



Şekil 9.13 Sonikatörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun % frekans aralığı ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.13 ve Şekil 9.13'te görüldüğü gibi 20 watt akustik güçte % frekans aralığı artışıyla sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi azalmaktadır. %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %89 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %74 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %89'dan %78'e (yaklaşık %12) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %11 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %22 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.

Yağsız sütte % frekans aralığının ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller ve istatistik veriler Çizelge 9.14'te verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3

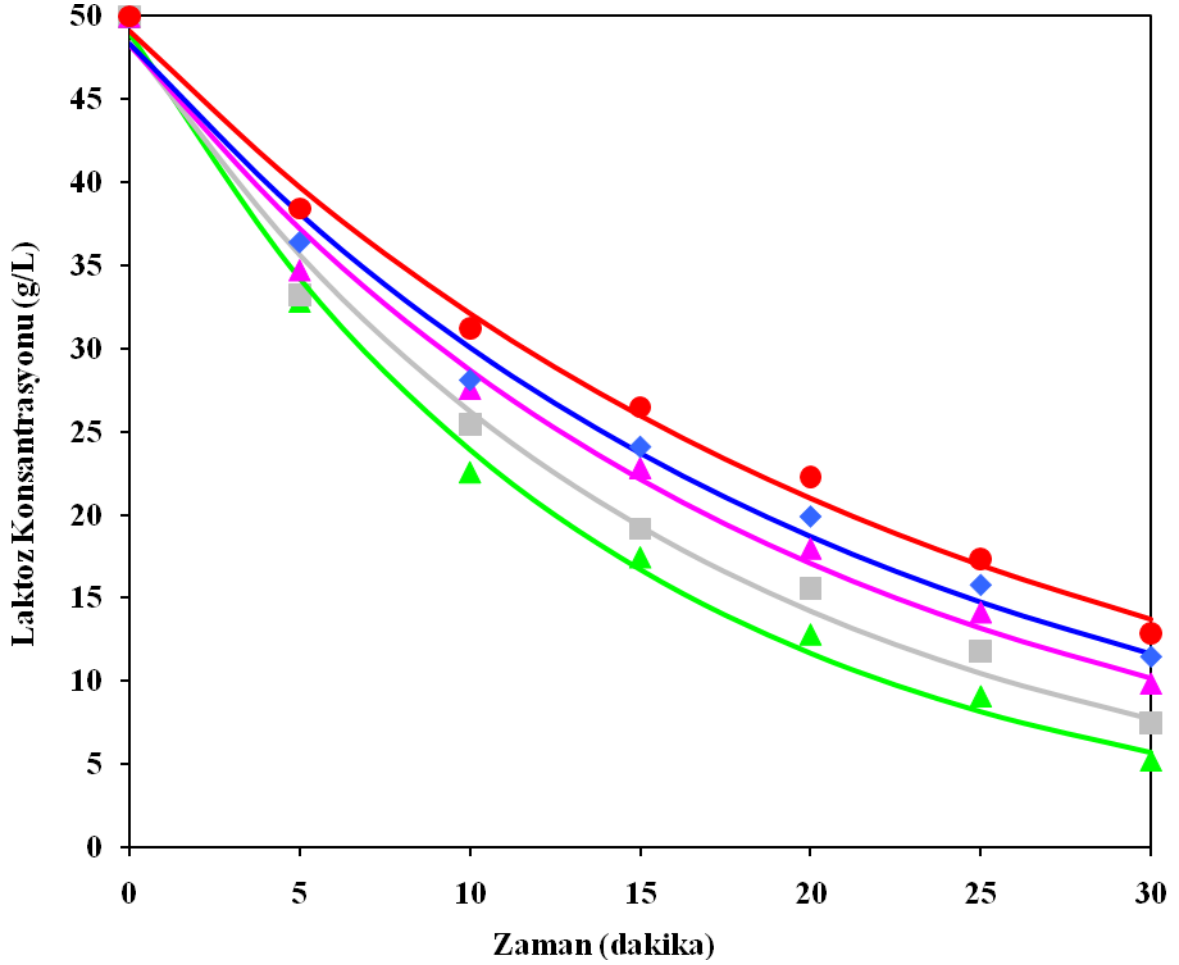
programını kullanılmıştır.

Çizelge 9.14 Sonikatörde % frekans aralığına karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R²
$[S_{\text{LAKTOZ}}] = a_S + b_S [F]$	$a_S = 4.5700$ $b_S = 0.0962$	0.3791	0.9884
$[A] = a_A + b_A [F]$	$a_A = 89.3345$ $b_A = -0.1205$	0.6228	0.9803

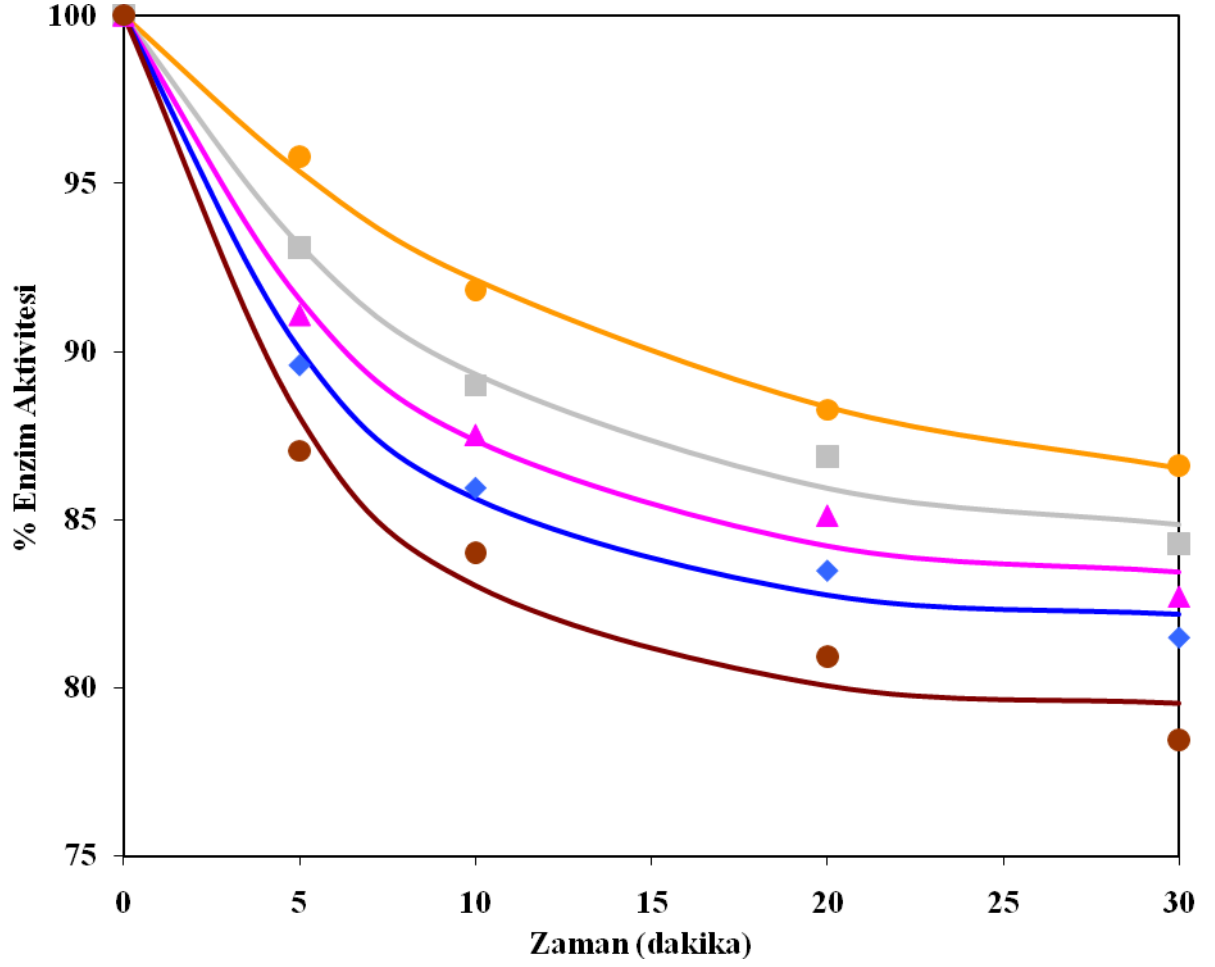
*Katsayılarla ait birimler; a_S : (g laktoz/L), b_S : (g laktoz/L), a_A : (birimsiz), b_A : (birimsiz)

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 5, Çizelge E5.1'de verilmiş ve Şekil 9.14'te 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 (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'de verilmiştir.



Şekil 9.14 Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ▲ %10 F.A., ■ %30 F.A., ▲ %50 F.A., ◆ %70 F.A., ● %90 F.A., — modeller (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

% Enzim aktivitesinin farklı % frekans aralıklarında 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 9.15'de 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 (Denklem 9.2). Yağsız sütte, % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.15'de verilmiştir.



Şekil 9.15 Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● %10 F.A., ■ %30 F.A., ▲ %50 F.A., ◆ %70 F.A., ● %90 F.A., — modeller (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.15 Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

F	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
	k	δ	R^2	α_1	k_D	δ	R^2
10	0.0716	1.2402	0.9946	84.83	0.0731	0.3219	0.9974
30	0.0613	1.5877	0.9902	84.35	0.1145	0.6678	0.9912
50	0.0520	1.5978	0.9886	83.19	0.1395	0.7288	0.9912
70	0.0475	1.5574	0.9884	82.05	0.1642	0.6649	0.9938
90	0.0424	1.0951	0.9938	79.42	0.1740	1.1339	0.9864

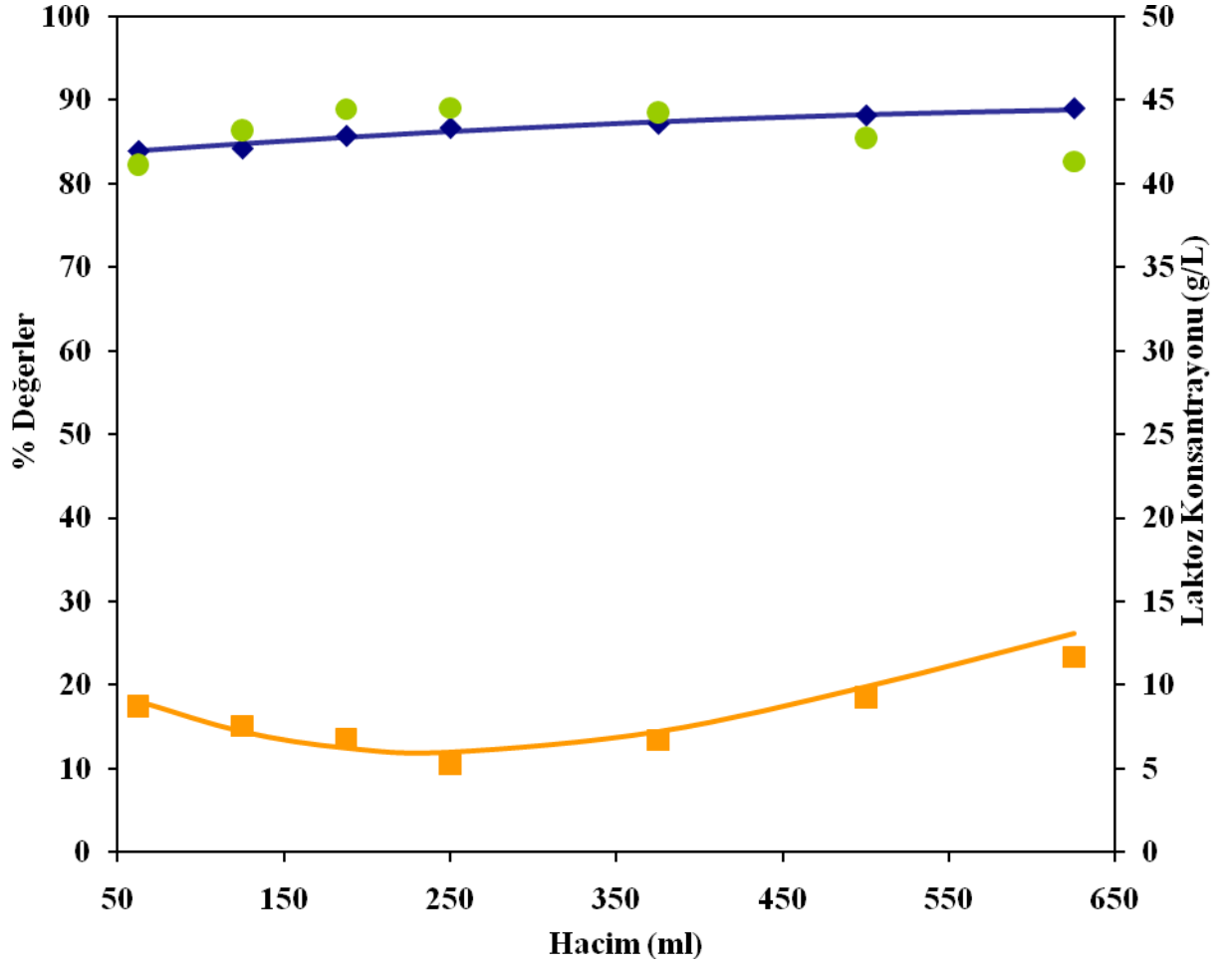
*Katsayılar a ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D : dakika⁻¹

9.2.3 Reaksiyon hacminin enzim aktivitesi ve hidroliz üzerindeki etkisi

Reaksiyon hacminin hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisini incelemek için 250 ml yağsız süt, pH 6.7, 20 watt akustik güçte ve %10 frekans aralığında, 1.25 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 ortamdaki enzim aktiviteleri ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonları tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 9.16'da verilmiş ve Şekil 9.16'da grafiksel olarak sunulmuştur.

Çizelge 9.16 Sonikatörde reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel veriler (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Reaksiyon Hacmi (ml)	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)	Laktoz Kons. (g/L)
62.5	82.26	83.84	8.76
125	86.38	84.14	7.56
187.5	88.87	85.66	6.80
250	89.02	86.62	5.26
375	88.55	87.12	6.72
500	85.48	88.12	9.26
625	82.64	88.98	11.68



Şekil 9.16 Sonikatörde % enzim aktivitesi, % hidroliz derecesi ve laktoz konsantrasyonunun reaksiyon hacmi ile değişimi; ● hidroliz derecesi (%), ◆ enzim aktivitesi, ■ laktoz konsantrasyonu, — modeller (Frekans Aralığı=%10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.16 ve Şekil 9.16'da 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 %82 iken hacim ile artarak 250 ml'de yaklaşık %89 olmuştur. Artan hacim değerlerinde ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 625 ml'de hidroliz derecesi yaklaşık %83'ye kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen hacim aralığı boyunca enzim aktivitesi %84'ten %89'a (yaklaşık %6) artmıştır. Sonuç olarak, elde edilen deneysel verilere göre hidroliz reaksiyonu için optimum hacim 250 ml olarak belirlenmiştir.

Farklı hacim değerlerinin ortamda kalan laktoz miktarı ve enzim aktivite değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde elde deneysel verilerden yararlanılarak kurulan matematiksel modeller

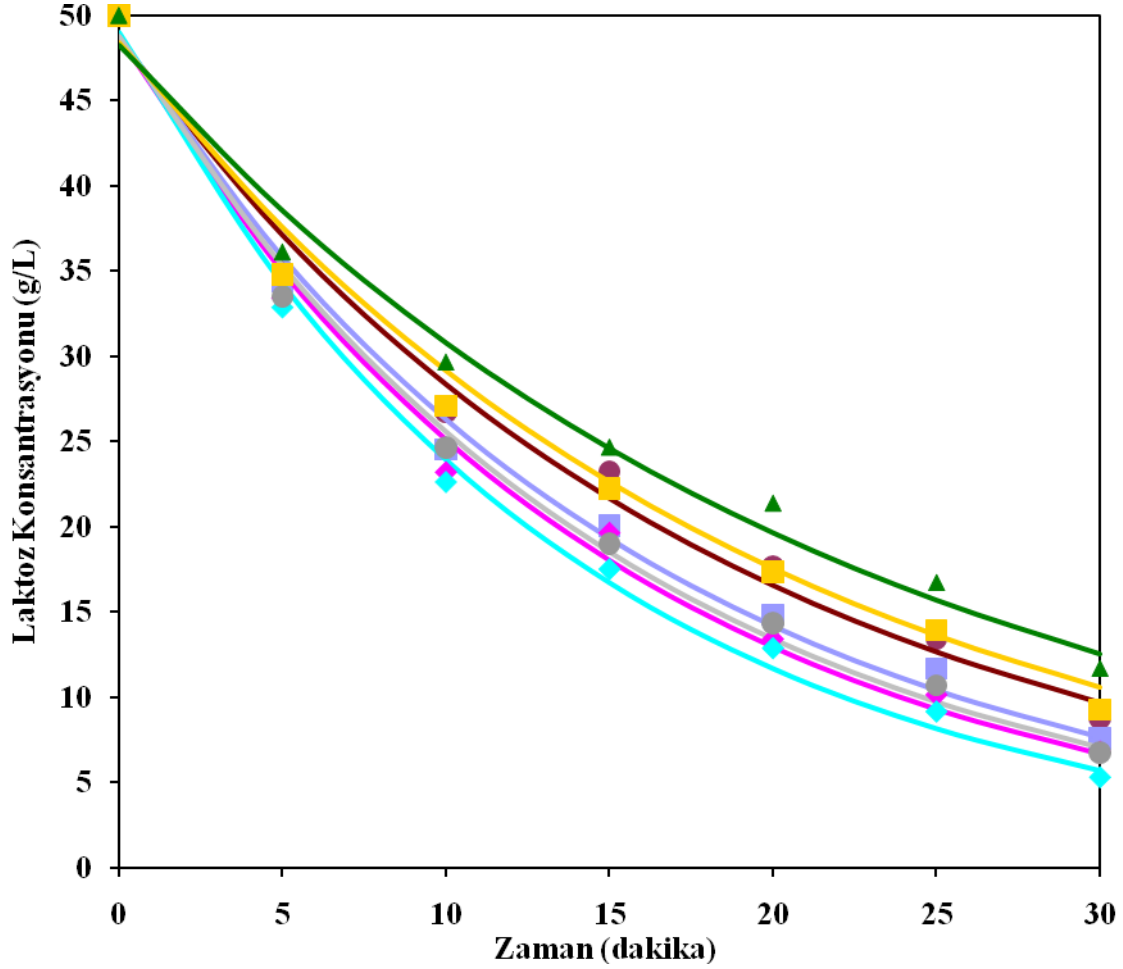
ve istatistik veriler Çizelge 9.17’de verilmiştir. Bu çalışma için Curve Expert 1.3 programı kullanılmıştır.

Çizelge 9.17 Sonikatörde reaksiyon hacmine karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel ifadeler ve istatistik veriler (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı=%10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Matematiksel model	Katsayılar*	Standart sapma (δ)	R ²
$[C_L] = a_s + b_s [V] + c_s [V]^2 + d_s [V]^3$	$a_s = 11.8262$ $b_s = -0.0531$ $c_s = 0.00014$ $d_s = -8.29 \cdot 10^{-8}$	0.4591	0.9771
$[A] = a_A + b_A [V] + c_A [V]^2$	$a_A = 82.914$ $b_A = -0.01561$ $c_A = 9.77 \cdot 10^{-6}$	0.3113	0.9817

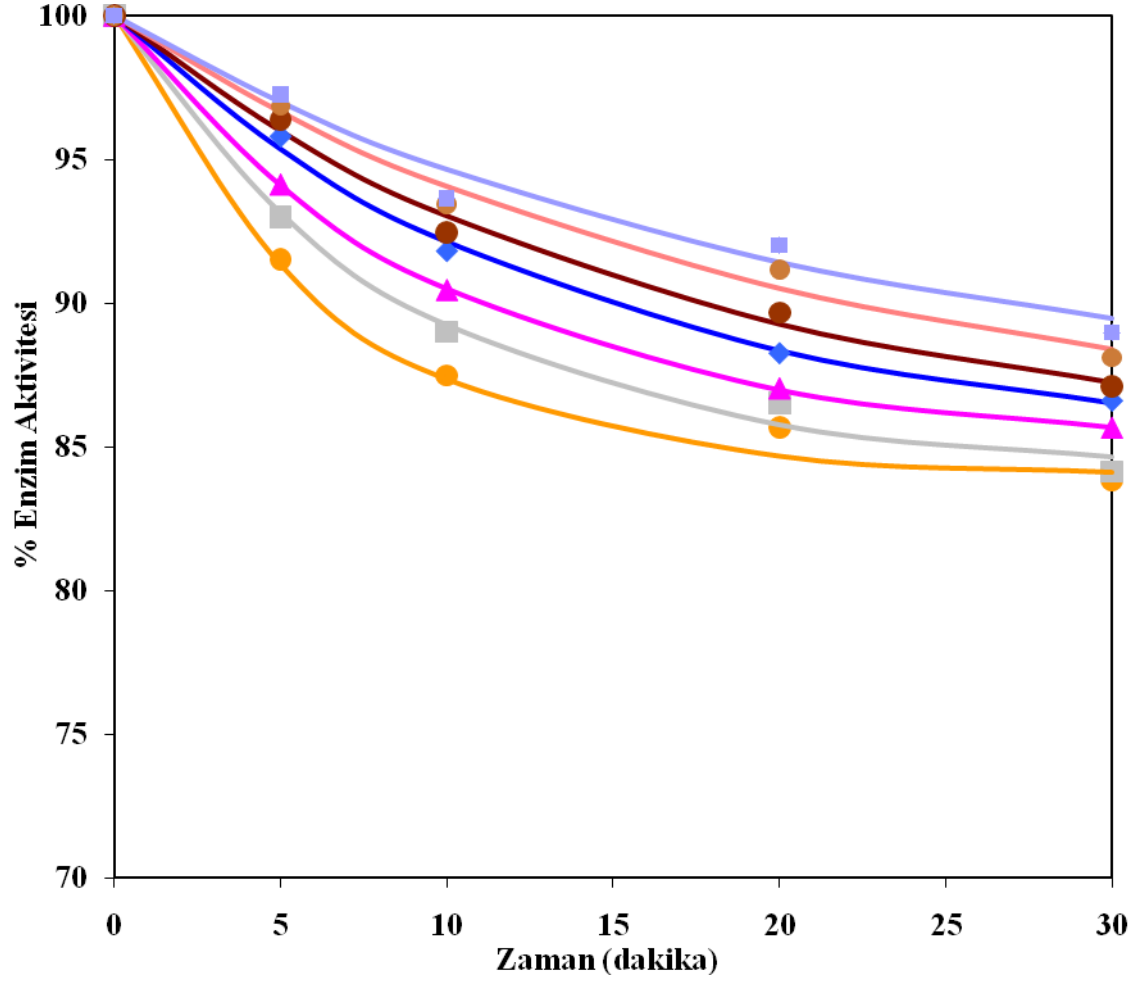
*Katsayılar a ait birimler; a_s : g laktoz.L⁻¹; b_s : g laktoz.L⁻¹.mL⁻¹; c_s : g laktoz.L⁻¹.mL⁻²; d_s : g laktoz.L⁻¹.mL⁻³; a_A : birimsiz; b_A : mL⁻¹; c_A : mL⁻²

Laktoz konsantrasyonunun farklı reaksiyon hacimlerinde 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 9.17’de 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 9.1). Laktoz konsantrasyonunun zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.18’de verilmiştir.



Şekil 9.17 Sonikatörde farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ● 62.5 ml, ■ 125 ml, ◆ 187.5 ml, ◆ 250 ml, ● 375 ml, ■ 500 ml, ▲ 625 ml, — modeller (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Yağsız sütteki % enzim aktivitesinin farklı reaksiyon hacimlerinde 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 9.18’de 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). Yağsız sütte, % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modele ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.18’de verilmiştir.



Şekil 9.18 Sonikatörde farklı reaksiyon hacimleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ● 62.5 ml, ■ 125 ml, ▲ 187.5 ml, ◆ 250 ml, ● 375 ml, ● 500 ml, ■ 625 ml, — modeller (Akustik Güç= 20 watt, Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.18 Sonikatörde 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= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

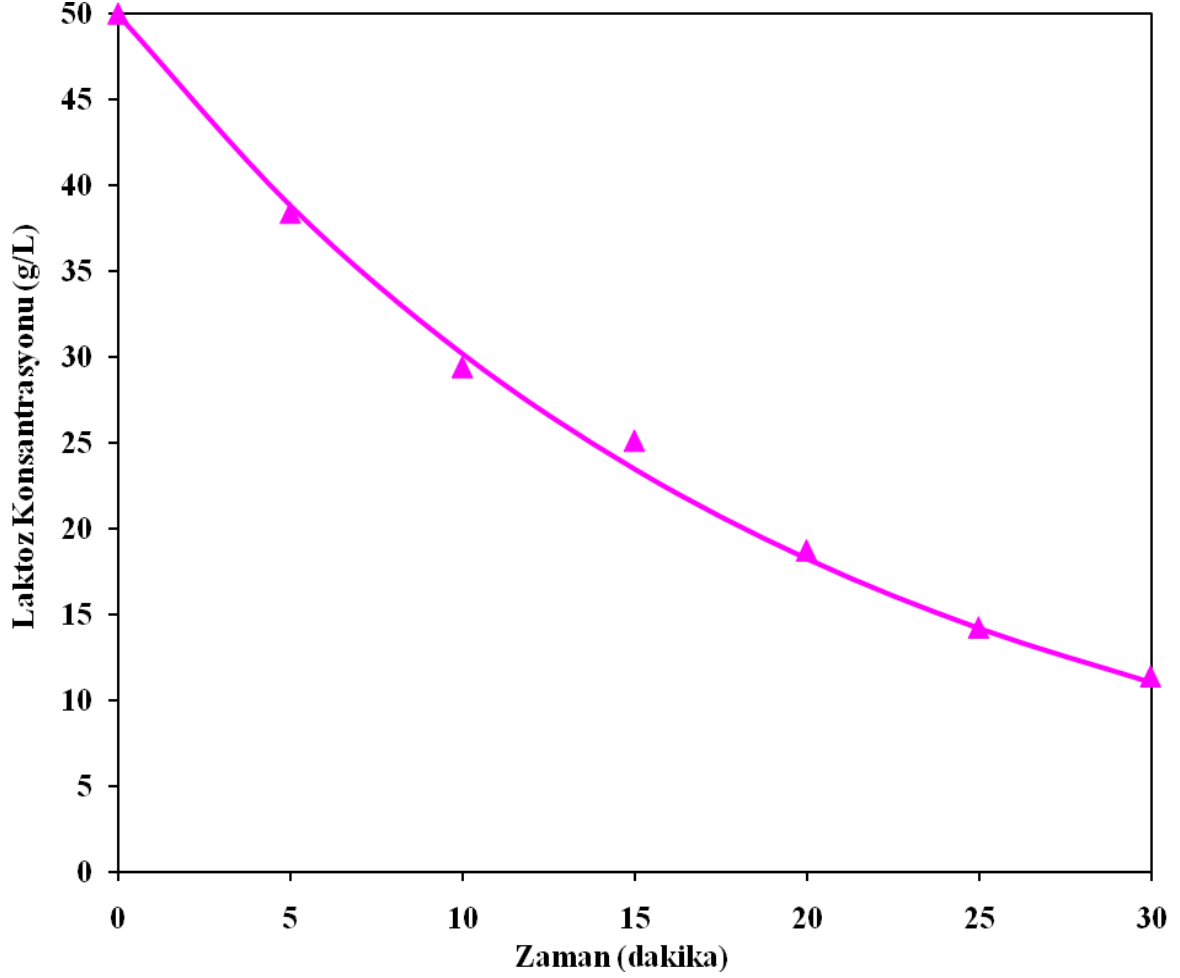
V	Kalan laktoz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
	k	δ	R^2	α_1	k_D	δ	R^2
62.5	0.0538	1.6794	0.9880	83.99	0.1555	0.5214	0.9950
125	0.0618	1.3450	0.9930	84.10	0.1132	0.5469	0.9942
187.5	0.0662	1.5011	0.9918	84.92	0.9940	0.0441	0.9998
250	0.0716	1.2402	0.9946	84.83	0.0731	0.3219	0.9974
375	0.0646	1.2490	0.9942	84.88	0.0616	0.4658	0.9938
500	0.0507	1.5237	0.9900	85.26	0.0516	0.5547	0.9894
625	0.0449	1.7321	0.9848	86.51	0.0504	0.7239	0.9791

*Katsayılar a ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D : dakika⁻¹

9.3 Homojenizatörde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Bulgular

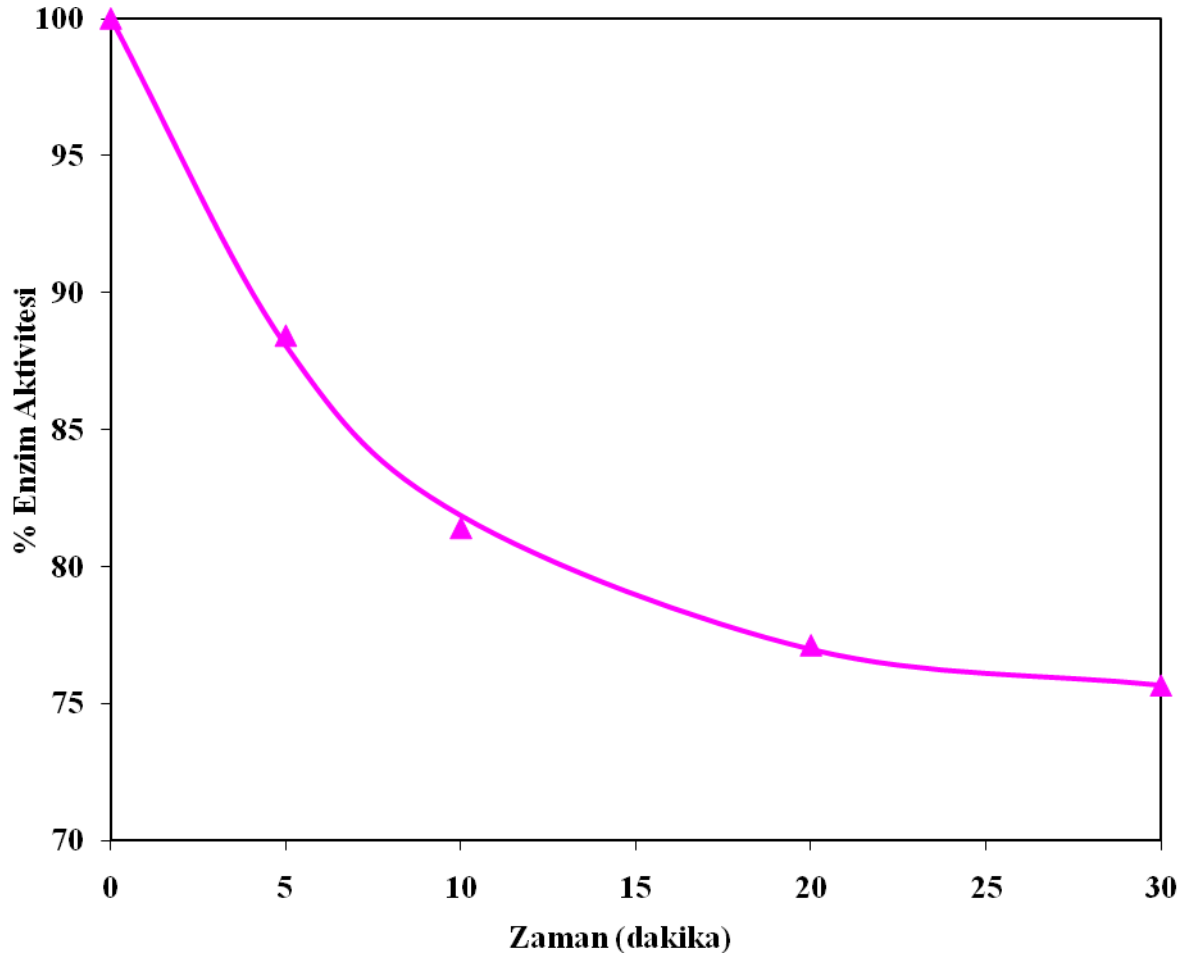
250 ml yağsız süte, 37°C sıcaklıkta, pH 6.7 ve 3500 devir/dak homojenizatör hızında, 1.25 ml/L enzim ilavesi ile homojenizatörün hidroliz derecesi ve enzim aktivitesine etkisi incelenmiştir. Yağsız süt homojenizatörde 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda enzim aktivitesi ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonu tayin edilmiştir. 30 dakika sonunda ortamda kalan laktoz miktarı yaklaşık 11 gr; hidroliz derecesi yaklaşık %54; % enzim aktivitesi ise yaklaşık %76 bulunmuştur. (Şekil 9.19 ve Şekil 9.20)

Laktoz konsantrasyonunun 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 9.19'da grafiksel olarak sunulmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda kalan laktoz konsantrasyonu ile zaman arasındaki değişimin birinci derece kinetik modele uyduğu görülmüştür (Denklem 9.1).



Şekil 9.19 Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri; ▲ deneysel, — model (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

% Enzim aktivitesinin 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 9.20’de 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 (Denklemler 9.2). Laktoz konsantrasyonunun ve % enzim aktivitesinin zamana karşılık değişimi için kurulan matematiksel modellere ait katsayılar ve yapılan istatistiksel analiz sonucunda elde edilen istatistik veriler Çizelge 9.19’da verilmiştir.



Şekil 9.20 Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri; ▲ deneysel, — model (pH= 6.7, T= 37 °C, N=3500 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Çizelge 9.19 Homojenizatörde laktöz konsantrasyonu ve % enzim aktivitesi için zamana karşılık elde edilen deneysel verilere uyan matematiksel modellere ait katsayılar ve istatistik veriler (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Kalan laktöz konsantrasyonu			Kalan Enzim Aktivitesi			
k	δ	R^2	α_1	k_D	δ	R^2
0.0504	1.1286	0.9948	75.17	0.1313	0.3489	0.9990

*Katsayılar ait birimler; k: dakika⁻¹; α_1 : birimsiz; k_D : dakika⁻¹

9.4 Farklı Reaktör Tiplerinde Gerçekleştirilen Deneylere Ait Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada biyoreaktör, sonikatör ve homojenizatör 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 9.20'de verilmiştir.

Çizelge 9.20 Laktoz dönüşüm oranlarının karşılaştırılması

Literatür Çalışmaları	Laktoz	Enzim	Proses Şartları	Laktoz dönüşüm oranı
Santos vd., (1998)	50 g/L süt tampon çözeltisinde	<i>Kluyveromyces fragilis</i> (Lactozym 3000L) kaynaklı immobilize β -Galactosidase	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
Ladero vd., (2001)	50 g/L süt tampon çözeltisinde	<i>Escherichia coli</i> kaynaklı β -Galactosidase	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
Roy ve Gupta, (2003)	Peynir altı suyu ve süt	<i>Kluyveromyces fragilis</i> (Lactozym 3000L) kaynaklı immobilize β -Galactosidase	30 °C ve pH 6.6'da, 30 dakika sonunda, kesikli reaktör ve akışkan yatak reaktörde	<u>Peynir altı suyu</u> ; kesikli reaktörde %94 ve akışkan yatak reaktörde %80; <u>Süt</u> ; akışkan yatak reaktörde %7
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 -Galactosidase	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
Pessela vd., (2003)	50 g/L Novo tampon çözeltisinde	Termofilik β -Galactosidase	50 °C ve pH 6.5'da, 30 dakika sonunda, kesikli reaktörde	60 mg/ml enzim kons. da %15
Şener vd., (2006)	Yağlı süt	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -Galactosidase	37 °C ve pH 6.7'de, 1 ml/L enzim kons. da, 30 dakika sonunda, biyoreaktörde ve sonikatörde	%84 biyoreaktörde, %89 sonikatörde
Demirhan (2007)	50 g/L peynir altı suyundan elde edilen laktoz fosfat tampon çözeltisinde	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -Galactosidase	37 °C ve pH 6.5'da, 30 dakika sonunda, 1 ml/L enzim kons. da biyoreaktörde ve sonikatörde	%81 biyoreaktörde, %92 sonikatörde
Neri vd., (2008)	Süt	<i>Kluyveromyces lactis</i> kaynaklı immobilize β -Galactosidase	50 °C ve pH 6.5'da, 120 dakika sonunda, kesikli reaktörde	10 mg/ml enzim kons. da %90

Çizelge 9.20 (Devam)

Literatür Çalışmaları	Laktoz	Enzim	Proses Şartları	Laktoz dönüşüm oranı
Haider ve Husain, (2009a)	Peynir altı suyu ve süt	<i>Aspergillus oryzae</i> kaynaklı immobilize β -Galactosidase	37 °C ve pH 4.6'da, 1 saat sonunda, kesikli reaktörde, 500 ml hacimde	peynir altı suyu, %89 (220 U enzim); süt %79 (440 U enzim)
Haider ve Husain, (2009b)	Peynir altı suyu ve süt	<i>Aspergillus oryzae</i> kaynaklı immobilize β -Galactosidase	32 °C ve pH 6.5-6.8'de, kesikli reaktörde, 500 ml hacimde	<u>1 saat sonunda;</u> peynir altı suyu, %43.3 (400 U enzim); süt %36 (1000 U enzim); <u>3 saat sonunda;</u> peynir altı suyu, %86 (400 U enzim); süt %77 (1000 U enzim)
Rhimi vd., (2009)	Peynir altı suyu ve süt	<i>Lactobacillus dellbrueckii</i> kaynaklı immobilize β -Galactosidase	pH 6.5-7'de, 1 saat sonunda, kesikli reaktörde	<u>Peynir altı suyu;</u> 42°C'de %88, 10°C'de %60; <u>Süt;</u> 42°C'de %80, 10°C'de %60 (40 g/L enzim kons.)
Puri vd., (2010)	Süt	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (YW-1) kaynaklı immobilize β -Galactosidase	40 °C ve pH 7'de, 4 saat sonunda, biyoreaktörde, 100 ml hacimde	%49 (150 U enzim)
Ansari ve Husain, (2010)	Peynir altı suyu ve süt	<i>Aspergillus oryzae</i> kaynaklı immobilize β -Galactosidase	pH 4.6'da, kesikli reaktörde, 500 ml hacimde	50 °C'de; 3 saat sonunda %69, 8 saat sonunda %86, 60 °C'de; 1 saat sonunda %55, 6 saat sonunda %90 (400 U enzim)
Bu çalışma	Yağsız süt	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -Galactosidase	37 °C ve pH 6.7'de, 30 dakika sonunda, 1.25 ml/L enzim kons. da biyoreaktörde; sonikatörde ve homojenizatörde	%89 biyoreaktörde, %89.5 sonikatörde, %54.3 homojenizatörde

10. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Fiziksel, besinsel, teknolojik ve çevresel nedenlerden dolayı laktoz hidrolizi ilgi çeken bir konu olmuştur. Birçok insan, β -galactosidase 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 reaksiyonunu katalizeyecek alternatif teknolojilerin dezavantajları olması nedeni ile, endüstride β -galactosidase 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, yağsız sütteki laktozun; ticari bir enzim olan *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -galactosidase enzimi (ürün kodu: EC 3.2.1.23) ile biyoreaktördeki hidroliz işlemine ait proses parametrelerinin (sıcaklık, karıştırıcı hızı, enzim konsantrasyonu) ve sonikatördeki hidroliz işlemine ait proses parametrelerinin (akustik güç, % frekans aralığı, hacim) hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

A) Biyoreaktörde;

- 1) **Sıcaklığın etkisi incelendiğinde;** 37 °C'ye kadar sıcaklık artışıyla sütteki hidroliz derecesi artarken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. 30 °C'deki hidroliz derecesi yaklaşık %85 iken sıcaklık ile artarak 37 °C'de yaklaşık %89 olmuştur. Daha yüksek sıcaklıklarda ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 50 °C'de hidroliz derecesi yaklaşık %76'ya kadar düşmektedir. Buna karşılık, belirtilen sıcaklık aralığı boyunca enzim aktivitesi %87'den %19'a (yaklaşık %78) azalmıştır. Kullanılan enzim 30 °C

için yaklaşık %13, 37 °C için %14 ve 50 °C için %81 oranında inaktive olmuştur. Hidroliz derecesi ve enzim aktivitesindeki bu düşüş enzimin yapısal bozunmaya uğradığına bağlanmaktadır. Elde edilen deneysel verilere göre optimum sıcaklık 37 °C olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 2) ***Karıştırıcı hızının etkisi incelendiğinde;*** 300 devir/dak'a kadar karıştırıcı hızı artışıyla sütteki hidroliz derecesinde artış olurken enzim aktivitesinde düşüş gözlenmektedir. 100 devir/dak'daki hidroliz derecesi yaklaşık %82 iken karıştırıcı hızı ile artarak 300 devir/dak'da yaklaşık %89 olmuştur. Daha yüksek karıştırıcı hızlarında ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 600 devir/dak'da hidroliz derecesi yaklaşık %80'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen karıştırıcı hızı aralığı boyunca enzim aktivitesi %89'dan %78'e (yaklaşık %12) azalmıştır. Kullanılan enzim 100 devir/dak için yaklaşık %11, 300 devir/dak için yaklaşık %14 ve 600 devir/dak için yaklaşık %22 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. Elde edilen deneysel verilere göre optimum karıştırıcı hızı 300 devir/dak olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin sırası ile polinom ve lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 3) ***Enzim konsantrasyonunun etkisi incelendiğinde,*** enzim konsantrasyonu artışıyla sütteki hidroliz derecesinde ve enzim aktivitesinde artış gözlenmektedir. 0.5 ml/L enzim konsantrasyonundaki hidroliz derecesi yaklaşık %70 iken, 1.25 ml/l enzim konsantrasyonunda yaklaşık %89 iken, 2 ml/L enzim konsantrasyonu için yaklaşık %93 bulunmuştur. Diğer taraftan, belirtilen enzim konsantrasyon aralığı boyunca enzim aktivitesi %79'tan %88'e (yaklaşık %12) artmıştır. Elde edilen deneysel

verilere göre optimum enzim konsantrasyonu 1.25 ml/L olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin polinom denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.

- 4) Optimum koşullar olan, 37 °C sıcaklık, 300 devir/dak karıştırıcı hızı ve 1.25 ml/L enzim konsantrasyonunda hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %89 ve %86'dır.

B) Sonikatörde;

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

%10 frekans aralığında 20 watt'taki hidroliz derecesi yaklaşık %89 iken akustik güç ile azalarak 100 watt'ta yaklaşık %76 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen akustik güç aralığı boyunca enzim aktivitesi %87'den %80'e (yaklaşık %8) azalmıştır. Kullanılan enzim 20 watt akustik güç için yaklaşık %13 ve 100 watt akustik güç için yaklaşık %20 oranında inaktive olmuştur.

Sonuç olarak %10 frekans aralığı için elde edilen deneysel verilere göre optimum akustik güç 20 watt olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin sırası ile kwadratik ve lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi 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 sütteki hidroliz derecesi ve enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir.

20 watt akustik güçte %10 frekans aralığındaki hidroliz derecesi yaklaşık %89 iken % frekans aralığı ile azalarak %90 frekans aralığında yaklaşık %74 olmuştur. Diğer taraftan, belirtilen % frekans aralığı boyunca enzim aktivitesi %89'dan %78'e (yaklaşık %12) azalmıştır. Kullanılan enzim %10 frekans aralığı için yaklaşık %13 ve %90 frekans aralığı için yaklaşık %22 oranında inaktive olmuştur.

Sonuç olarak, 20 watt akustik güç için elde edilen deneysel verilere göre optimum frekans aralığı %10 olarak belirlenmiştir. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda, ortamda kalan laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin lineer denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla 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 %82 iken hacim ile artarak 250 ml'de yaklaşık %89 olmuştur. Artan hacim değerlerinde ise hidroliz derecesinde azalma olmakta ve 625 ml'de hidroliz derecesi yaklaşık %83'e kadar düşmektedir. Buna karşılık belirtilen reaksiyon hacim değerleri aralığı boyunca enzim aktivitesi %84'ten %89'a (yaklaşık %6) artmıştır. Kullanılan enzim 62.5 ml hacim için yaklaşık %16 ve 625 ml hacim için yaklaşık %11 oranında inaktive olmuştur. 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 ile ilgili değerlerin sırasıyla polinom ve quadratik denkleme uyduğu; zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim aktivitesi ile ilgili değerlerin ise sırasıyla birinci derece kinetik modele ve Sadana ve Henley (1987) tarafından türetilen modele uyduğu saptanmıştır.
- 4) Optimum koşullar olan, %10 frekans aralığı, 20 watt akustik güç ve 1.25 ml/L enzim konsantrasyonunda hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %89 ve %87'dir.

C) Homojenizatörde;

Yağsız süt homojenizatörde 30 dakika boyunca hidroliz işlemine tabi tutulmuş, reaksiyon sonunda enzim aktivitesi ile ortamda kalan laktoz konsantrasyonu tayin edilmiştir. 30 dakika sonunda hidroliz derecesi yaklaşık %54; % enzim aktivitesi ise yaklaşık %76 bulunmuştur. Deneysel verilere dayanılarak yapılan matematiksel modelleme sonucunda zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyonu ve enzim

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

D) Biyoreaktör, sonikatör ve homojenizatör verileri karşılaştırıldığında;

- 1) % Hidroliz derecelerine ait elde edilen veriler incelendiğinde; 1.25 ml/L enzim konsantrasyonu için hem biyoreaktör hem de sonikatörde hemen hemen aynı hidroliz derecesi elde edilmiş olup yaklaşık %89'dur. Homojenizatörde elde edilen hidroliz derecesi değeri ise yaklaşık %54 olup, biyoreaktör ve sonikatörde elde edilen hidroliz derecesinden yaklaşık %39 daha azdır.
- 2) % Enzim aktivitelerine ait elde edilen veriler incelendiğinde; 1.25 ml/L enzim konsantrasyonunda hem biyoreaktör hem de sonikatörden elde edilen % enzim aktivite değerleri hemen hemen aynıdır. Biyoreaktörde elde edilen değer yaklaşık olarak %86 iken, sonikatörde elde edilen değer %87'dir. Homojenizatörde elde edilen % enzim aktivite değeri ise %76 olup, biyoreaktörde ve sonikatörde elde edilen % enzim aktivite değerinden yaklaşık %12 daha azdır.

Sonuç olarak, biyoreaktöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %89 ve %86 bulunurken; sonikatöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivitesi için elde edilen değerler sırasıyla yaklaşık %89 ve %87 bulunmuş; homojenizatöre ait optimum koşullardaki % hidroliz derecesi ve % enzim aktivite değerleri ise sırasıyla yaklaşık %54 ve %76 bulunmuştur. Dolayısı ile, sonikatörden elde edilen % hidroliz derecesi ile % enzim aktivite değeri biyoreaktörden elde edilen hidroliz derecesi ve enzim aktivite değeri ile hemen hemen aynı sonucu veririrken, homojenizatörden elde edilen % hidroliz derecesi ve % enzim aktivite değeri biyoreaktör ve sonikatörden elde edilen değerlere göre daha düşük bir sonuç göstermiştir. Bu nedenle, sütteki laktozun *Kluyveromyces marxianus* kaynaklı β -Galactosidase enzimi ile hidrolizi için sonikasyon işlemi ya da kesikli biyoreaktör kullanımının homojenizatöre kıyasla daha verimli bir proses olduğu tespit edilmiştir.

E) Yağlı ve yağsız süt deneysel verileri karşılaştırıldığında;

şener vd. (2006) tarafından β -Galactosidase enzimi ile yağlı sütte laktoz hidrolizi çalışılmıştır. Bu çalışmada ise β -Galactosidase enzimi ile yağsız sütte laktoz hidrolizi geręekleştirilerek sütün içerisinde bulunan yağ miktarının hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Yağsız sütteki çalışma için belirlenen optimum proses şartları,

yağlı sütteki çalışma için (Şener vd., 2006) belirlenen optimum proses şartları ile aynı bulunmuş, her iki çalışmaya ait biyoreaktörde ve sonikatörde elde edilen hidroliz derecesi ve enzim aktivitesi değerleri Çizelge 10.1’de verilmiştir.

Çizelge 10.1 Yağlı ve yağsız süt deneysel verilerinin karşılaştırılması

	Süt	Enzim	Proses Şartları	Hidroliz Derecesi (%)	Enzim Aktivitesi (%)
Şener vd., (2006)	Yağlı süt	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -Galactosidase	37 °C ve pH 6.7’de, 1 ml/L enzim kons. da, 30 dakika sonunda	%84 biyoreaktörde, %89 sonikatörde	%52 biyoreaktörde, %75 sonikatörde
Bu çalışma (2010)	Yağsız süt	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (Maxilact LX 5000) kaynaklı β -Galactosidase	37 °C ve pH 6.7’de, 1.25 ml/L enzim kons. da, 30 dakika sonunda	%89 biyoreaktörde, %89.5 sonikatörde	%86 biyoreaktörde, %87 sonikatörde

Çizelge 10.1 incelendiğinde biyoreaktörde gerçekleştirilen deneyler için; yağsız sütte hidroliz derecesi %89, yağlı sütte ise %84 olup, yağsız sütteki hidroliz derecesi yağlı sütteki hidroliz derecesine kıyasla %6 daha fazladır. Biyoreaktörde elde edilen enzim aktivite değerleri ise yağsız sütte %86, yağlı sütte %52 olup, yağsız sütteki enzim aktivite değeri yağsız sütteki enzim aktivite değerine kıyasla yaklaşık %40 daha fazladır.

Sonikatörde gerçekleştirilen deneyler karşılaştırıldığında; hem yağlı sütte hem de yağsız sütte hemen hemen aynı hidroliz derecesi elde edilmiş olup, yaklaşık %89’dur. Sonikatörde elde edilen enzim aktivite değerleri incelendiğinde ise; yağsız sütteki enzim aktivite değeri %87, yağlı sütteki enzim aktivite değeri ise %75 olup, yağsız sütteki enzim aktivite değeri yağlı sütteki enzim aktivite değerine kıyasla %14 daha fazladır.

Sonuç olarak laktoz hidrolizi için sonikatör, hem yağlı süt hem de yağsız süt için aynı etkiyi göstermekte, fakat laktoz hidrolizinde biyoreaktör yağsız süt için daha verimli sonuç vermektedir. % Enzim aktivite değerleri bakımından ise hem sonikatör hem de biyoreaktör yağsız sütte daha verimli sonuç göstermiştir. Bu durum, sütün yağ içermemesinin enzim aktivitesi üzerinde olumlu etkisi olduğunu göstermektedir.

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

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

KAYNAKLAR

- Andaç, Ö., (2002), Ultrases Dalgalarının Zeolit A Sentezi Üzerindeki Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ansari, S. A. ve Husain, Q., (2010), “Lactose hydrolysis by β -galactosidase immobilized on concanavalin A-cellulose in batch and continuous mode”, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 63:68-74.
- 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., Jelen, P., Kalab, M., (2001), “Disruption of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842 cells for lactose hydrolysis in dairy products: a comparison of sonication, high-pressure homogenization and bead milling”, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2:23-29.
- Casadonte, D. J., (2000), “The Sound of Science: The Chemical Effect of High-Intensity Ultrasound”, *Texas Technical University, Lubbock Magazine*, January:40-43.
- Chisti, Y., (2003), “Sonobioreactors: Using Ultrasound for Enhanced Microbial Productivity”, *Trends in Biotechnology*, 21(2):89-93.
- Cracknell, A.P., (1980), *Ultrasonics*, Wykeham Publications, London and Basingstoke.
- Craven GR., Steers E. Jr., Anfinsen CB., (1965), “Purification, composition and molecular weight determination of the 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.
- Demirhan, E., (2007), *Peynir Altı Suyundan Elde Edilen Laktozun Enzimatik Hidrolizinin İncelenmesi ve Modellenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- 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.
- Elliott, D. C., Wend, C.F., Alnajjar, M.S., (2001), “Lactose Processing Technology-Creating New Utilization Opportunities”, *Cheese Seminar File*, 55:147-165, Washington, USA.

- Gates, B., (1992), "Catalytic Chemistry", John Wiley&Sons Inc., New York.
- Giz, H., (2000), Serbest Radikal Polimerizasyonunda Ultrases Kullanılarak Sonlanma Mekanizmasının Belirlenmesi, Araştırma Fonu Raporu, İTÜ.
- Haider, T. ve Husain, Q., (2009a), "Immobilization of β -galactosidase by bioaffinity adsorption on concanavalin A layered calcium alginate–starch hybrid beads for the hydrolysis of lactose from whey/milk", International Dairy Journal, 19:172-177.
- Haider, T. ve Husain, Q., (2009b), "Hydrolysis of milk/whey lactose by β -galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme", Chemical Engineering and Processing, 48:576–580.
- İnal, T. ve Ergün, Ö., (1996), Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi, Teknik Yayıncılık, İstanbul.
- Jelen P. ve Tossavainen O., (2003), "Low lactose and lactose-free milk and dairy products-prospects, technologies and applications", Australian Journal of Dairy Technology, 58(2):161-165.
- 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.
- Korukluoğlu, M. (1999) "Süt Alerjisi", Gıda-Haziran 1999, 44-48.
- Ladero, M., Santos, A., Garcia, J. L., Garcia-Ochoa, F., (2001), "Activity Over Lactose and ONPG of a Genetically Engineered 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.
- Neri, D.F.M., Balcao, V. M., Carneiro-da-Cunha, M. G., Carvalho, J. L. B., Teixeira, J. A., (2008), "Immobilization of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* onto a polysiloxane polyvinyl alcohol magnetic (mPOS–PVA) composite for lactose hydrolysis", Catalysis Communications, 9:2334-2339.
- Nichtl A., Buchner J., Jaenicke R., Rudolph R. and Scheibel (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.

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.

Puri, M., Gupta, S., Pahuja, P., Kaur, A., Kanwar, J. R., Kennedy, J. F., (2010), “Cell Disruption Optimization and Covalent Immobilization of β -D-Galactosidase from *Kluyveromyces marxianus* YW-1 for Lactose Hydrolysis in Milk”, *Appl Biochem Biotechnol*, 160:98-108.

Rhimi, M., Aghajari, N., Jaouadi, B., Juy, M., Boudebbouze, S., Maguin, E., Haser, R., Bejar, S., (2009), “Exploring the acidotolerance of β -Galactosidase from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: an attractive enzyme for lactose bioconversion” *Research in Microbiology*, 160(10):775-784.

Roy, I. ve Gupta, M. N., (2003), “Lactose hydrolysis by LactozymTM immobilized on cellulose beads in batch and fluidized bed modes”, *Process Biochemistry*, 39:325-332.

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

Szczodrak, J., (2000), “Hydrolysis of Lactose in Whey Permeate by Immobilized 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.

Tekinşen, O. C., (2000), *Süt Ürünleri Teknolojisi*, Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya.

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.

Üçüncü, M., (2004), *A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi*, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir.

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.

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

İNTERNET KAYNAKLARI

- [1] http://www.europabio.org/pages/module_14.asp
- [2] [http://www.metrex.com/TechInfo/TechBulletins/Canada%20%20EmPowerMetriZymeDergergeZyme%20Technical%20Bulletin%20\(metrex\).pdf](http://www.metrex.com/TechInfo/TechBulletins/Canada%20%20EmPowerMetriZymeDergergeZyme%20Technical%20Bulletin%20(metrex).pdf)
- [3] <http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM/1214/unite09.pdf>
- [4] <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/dergi/99/ekim/enzim.pdf>
- [5] <http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/Metabolism/Enzymes.html>
- [6] <http://www.ann.com.au/MedSci/enzymes.html>
- [7] <http://www.mills.edu/RESARCH/FUTURES/JOHNB/Structurefunction/727.html>
- [8] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Enzim>
- [9] http://www.cf.ac.uk/biosi/staff/kille/dentals/dentals5_99/sld001.html
- [10] <http://ceiba.cc.ntu.edu.tw/603371B1/lecture6.ppt>
- [11] <http://www.nti.tamuk.edu/cell/kinetics.html>
- [12] http://www.sgk.gov.tr/wps/wcm/connect/589a5a804dd635a6a6bfa74b42be684a/20071211_makale07.pdf?MOD=AJPERES
- [13] <http://www.kkgm.gov.tr/Genel/index.asp?Prm=/Kampanyalar/sut/sut03.html>
- [14] <http://www.pinar.com.tr>
- [15] www.kimyamuhendisi.com
- [16] <http://www.bioclub.sitemynet.com>
- [17] http://www.apv.com/Industries/Dairy/whey_lactose.html
- [18] <http://www.elmhurst.edu/chm/vchembook/546.lactose.html>
- [19] <http://sci-toys.com/ingredients/lactose.html>
- [20] www.science-projects.com/onpg
- [21] <http://www.angelfire.com/nj3/soundweapon/ultrales.html>
- [22] <http://www.bandelin.com/english/index.html>
- [23] http://www.electrotherapy.org/electro/ultrasound/therapeutic_ultrasound.html
- [24] <http://science.concerresearchuk.org/sci/fs/downstream1/sonication/?version=1>

[25] <http://www.rehabpub.com/features/102002/2.asp>

[26] http://www.biologics-inc.com/ultrasonic_homogenizers.html

[27] http://www.worthington_biochem.com/BG/default.html

EKLER**Ek 1. Biyoreaktörde sıcaklık etkisinin incelendiği deneylere ait veriler**

Çizelge E1.1 Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)					
	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)
0	50	50	50	50	50	50
5	35.37	32.94	33.12	33.30	35.16	38.60
10	25.50	23.43	23.45	25.36	27.80	31.56
15	18.56	16.70	19.90	20.78	22.18	25.22
20	16.32	13.57	13.24	14.84	16.26	19.66
25	12.98	9.10	10.26	10.32	11.42	16.52
30	7.68	6.50	5.48	5.68	7.52	11.80

Çizelge E1.2 Biyoreaktörde farklı sıcaklıklar için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, N= 300 devir/dak, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)					
	30 (°C)	35 (°C)	37 (°C)	40 (°C)	45 (°C)	50 (°C)
0	100	100	100	100	100	100
5	95.11	94.78	93.74	90.34	81.06	49.92
10	91.84	91.25	90.60	85.58	79.54	29.47
20	90.18	88.88	87.98	82.57	75.37	26.15
30	87.09	88.49	85.91	81.42	71.01	19.13

Ek 2. Biyoreaktörde karıştırıcı hızının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E2.1 Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 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	36.76	34.82	33.12	33.94	34.50	34.86
10	27.12	24.60	23.45	25.08	27.52	29.46
15	22.52	21.00	19.90	20.02	21.14	22.72
20	16.34	14.80	13.24	14.26	17.36	18.82
25	12.92	11.44	10.26	10.56	11.9	13.80
30	9.03	6.74	5.48	7.18	8.89	10.11

Çizelge E2.2 Biyoreaktörde farklı karıştırıcı hızları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 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	95.52	94.58	93.74	92.5	90.23	86.94
10	93.72	91.81	90.6	88.25	86.38	82.94
20	91.49	89.86	87.98	86.49	83.03	81.2
30	89.13	87.36	85.91	83.27	80.57	78.36

Ek 3. Biyoreaktörde enzim konsantrasyonunun etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E3.1 Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	0.5 (ml/L)	1 (ml/L)	1.25 (ml/L)	1.5 (ml/L)	2 (ml/L)
0	50	50	50	50	50
5	40.17	34.21	33.12	31.12	27.26
10	33.05	27.16	23.45	19.28	15.61
15	27.55	19.57	19.90	16.01	10.92
20	22.63	15.65	13.24	9.13	7.90
25	18.91	13.02	10.26	7.75	5.75
30	15.05	10.48	5.48	4.27	3.53

Çizelge E3.2 Biyoreaktörde farklı enzim konsantrasyonları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 300 devir/dak)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	0.5 (ml/L)	1 (ml/L)	1.25 (ml/L)	1.5 (ml/L)	2 (ml/L)
0	100	100	100	100	100
5	88.68	91.5	93.74	95.73	96.68
10	82.74	86.99	90.6	91.73	93.85
20	80.26	84.82	87.98	88.75	90.67
30	78.68	82.02	85.91	87.3	88.34

Ek 4. Sonikatörde akustik gücün etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E4.1 Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 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	32.86	34.03	36.48	37.78	38.78
10	22.60	23.96	24.12	25.58	27.25
15	17.48	19.32	20.92	21.76	23.76
20	12.84	13.98	15.76	17.16	19.25
25	9.12	12.40	13.50	14.84	16.84
30	5.26	7.18	9.70	10.98	11.98

Çizelge E4.2 Sonikatörde farklı akustik güçler için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	20 (watt)	40 (watt)	60 (watt)	80 (watt)	100 (watt)
0	100	100	100	100	100
5	95.80	94.05	91.79	90.13	87.68
10	91.82	90.39	89.15	86.18	85.04
20	88.27	87.53	85.24	83.38	81.42
30	86.62	84.43	82.24	81.74	80.04

Ek 5. Sonikatörde % frekans aralığının etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E5.1 Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	50	50	50	50	50
5	32.86	33.24	34.732	36.42	38.42
10	22.60	25.42	27.60	28.12	31.24
15	17.48	19.16	22.82	24.10	26.48
20	12.84	15.56	17.98	19.90	22.28
25	9.12	11.80	14.14	15.78	17.36
30	5.26	7.46	9.844	11.46	12.88

Çizelge E5.2 Sonikatörde farklı % frekans aralıkları için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.= 1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)				
	%10	%30	%50	%70	%90
0	100	100	100	100	100
5	95.80	93.10	91.09	89.60	87.05
10	91.82	88.99	87.52	85.95	84.02
20	88.27	86.87	85.12	83.49	80.92
30	86.62	84.27	82.71	81.50	78.46

Ek 6. Sonikatörde hacim etkisinin incelendiği deneylere ait veriler

Çizelge E6.1 Sonikatörde farklı hacimler için zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.=1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Konsantrasyonu (g/L)						
	62.5 (ml)	125 (ml)	187.5 (ml)	250 (ml)	375 (ml)	500 (ml)	625 (ml/L)
0	50	50	50	50	50	50	50
5	35.06	34.42	33.42	32.86	33.52	34.82	36.12
10	26.72	24.54	23.20	22.60	24.62	27.08	29.66
15	23.25	20.04	19.64	17.48	19.00	22.24	24.66
20	17.66	14.82	13.41	12.84	14.34	17.34	21.38
25	13.44	11.66	10.14	9.12	10.69	13.92	16.72
30	8.76	7.56	6.80	5.26	6.72	9.26	11.68

Çizelge E6.2 Sonikatörde farklı hacim değerleri için zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (Frekans Aralığı= %10, Akustik Güç= 20 watt, pH= 6.7, T= 37 °C, Enzim Kons.=1.25 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	91.54	92.99	94.12	95.80	96.39	96.86	97.26
10	87.49	89.01	90.45	91.82	92.48	93.44	93.66
20	85.67	86.52	87.03	88.27	89.68	91.16	92.03
30	83.84	84.14	85.66	86.62	87.12	88.12	88.98

Ek 7. Homojenizatörde gerçekleştirilen deneye ait veriler

Çizelge E7.1 Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen laktoz konsantrasyon değerleri (pH= 6.7, T= 37 °C, N= 3500 devir/dak, Enzim Kons=1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Laktoz Kons. (g/L)
0	50
5	38.41
10	29.43
15	25.14
20	18.76
25	14.28
30	11.43

Çizelge E7.2 Homojenizatörde zamana karşılık elde edilen % enzim aktivite değerleri (pH=6.7, T=37 °C, N=3500 devir/dak, Enzim Kons=1.25 ml/L)

Zaman (dakika)	Enzim Aktivitesi (%)
0	100
5	88.43
10	81.41
20	77.13
30	75.66

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi	30.12.1985	
Doğum Yeri	Merzifon	
Lise	1998-2003	Ümraniye Lisesi (Y.D.A.)
Lisans	2003-2008	Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans	2008-	Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü