

Besin Endüstrisinde Kullanılan Mikrobiyal Kaynaklı Enzimler

Abdurrahman ASLAN (1) — Yılmaz SEKİN (2)

(1) Dr., E.Ü. Müh. Fak. Gıda Müh. Bölümü Bornova - İZMİR

(2) Doç. Dr., Tuborg Biracılık A. Ş. — İZMİR

1. GİRİŞ

Çok eski tarihlerden beri insanoğlu, tarımsal ürünlerden değişik besin maddelerinin yapımı için bilinçli olmaksızın mikroorganizmalardan faydalanmış, daha ilk çağlarda mayalanma olayı yardımı ile ekmek, peynir, kırmız ve şarap gibi besinler üretmiştir. Bu ve benzeri olaylarda rol oynayan etmenlerin mikroorganizmalar ve içerdikleri ya da salgıladıkları enzimler olduğu ancak, son yüzyıllarda yapılan çalışmalar sonucu anlaşılmıştır.

Biyolojik sistemlerde çeşitli genetik informasyonlarla üretilen proteinlerin büyük bölümünü enzimler, diğer adıyla biyokatalizatörler oluşturmakta ve bunların yaşam için gerekli sayısız reaksiyonları birbiri yanısıra gerçekleştirdikleri bilinmektedir. Metabolizmada çeşitli tepkimeleri katalizleyen 12000 değişik enzim olduğu sanılmasına karşın zamanımızda ancak 2000 enzim saptanabilmiştir. Bunlardan 50 enzimin aminoasit dizinimi, 30 enzimin ise stereo yapısı aydınlatılabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu, enzimlerin özelliklerinin daha iyi tanınmaları, yapılarının aydınlatılması, kinetik davranışlarının saptanmasıyla, başta besin endüstrisi olmak üzere çeşitli endüstri dallarında kullanımları giderek artmıştır. Ancak biyolojik sistemlerde sentezlenebilen enzimler ya hayvansal ya bitkisel ya da mikrobiyolojik kaynaklardan elde edilerek saflaştırılabilmektedirler. Uygun koşullarda üretimin kolay, hızlı ve ucuz olması nedeni ile en önemli enzim kaynağı olarak mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Çoğu mikrobiyal kaynaklı olan ve endüstriyel boyutlarda üretilerek ve başta gıda endüstrisinde kullanılan enzim preparatlarının sayısı günümüzde 50 civarındadır.

2. ENZİMLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Enzimler katalitik etkileri sayesinde, canlı organizmada kimyasal reaksiyonları kontrol altında tutarlar. Genel olarak protein yapısında olan enzimler, aminoasit birimlerinin peptid

bağlarıyla bağlanarak kondenzasyonu ile meydana gelmişlerdir. Protein yapısındaki çeşitli aminoasitlerin diziliş sırası ve buna bağlı olarak zincir konformasyonu enzimlerin katalitik etkiye sahip olup olamayacağını belirler.

Enzimin katalitik etkisinin görüldüğü kısma «Aktif merkez» adı verilmektedir. Aktif merkez enzimin gerçekleştirdiği kimyasal reaksiyonun sorumlusudur.

İki kısımdan oluşmaktadır;

1 — Substratın bağlanma merkezi; enzimin substrata olan ilgisini belirler,

2 — Katalitik merkez; katalizlenecek reaksiyonu gerçekleştirir.

Katalitik merkez substrata karşı pek spesifik etkiye sahip olmadığı halde, substratın bağlanma merkezinin spesifik etkisi çok yüksektir. Aktif merkez, enzimin protein yapısının stereo şekillerinden ileri gelen bir boşluk (cep, kanal) içinde bulunmaktadır. Bu bölgeye substrat yerleşerek enzimin reaktif grupları ile substrat arasında kimyasal ya da fiziksel bağlar oluşur ve katalizlenecek olan reaksiyon gerçekleşir. Bazı enzimlerin faaliyet gösterebilmeleri için ayrıca Koenzim ya da kofaktör denilen bileşiklere gereksinimleri vardır. Koenzim olarak vitaminler ve türevleri, NAD (Nikotinamid adenin dinükleotid), NADP (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat), FMN (flavinmononükleotid), FAD (flavin adenin dinükleotid), APT (adenosin trifosfat) ve Koenzim A görev yaparlar. Kofaktörler ise çoğunlukla katyonlar (Mg^{++} , Ca^{++} , Mn^{++} , Fe^{++} , Co^{++}), az rastlanmakta birlikte klorür (Cl^{-}) gibi anyonlardır.

Koenzim ve kofaktörler gibi varlıkları enzim aktivitesini esas olarak etkilemeyen ancak reaksiyonunun hızını artırıp azaltan bazı maddeler vardır ki bunlara **effektörler** denir. Bunlardan **Aktivatör**ler aktiviteyi düşüren faktörlere karşı aktiviteyi artırıcı etki yaparlar. Ör-

nek olarak, papainin siyanür asidi ile aktivasyonu gösterilebilir. Siyanür asidi sayesinde papainin faaliyetini engelleyen ağır metal iyonları kompleks oluşturmaktır ve böylece enzim aktif hale geçmektedir. Diğer yandan aktivatörler fiziksel etkiler (pH, sıcaklık,) sonucu enzim proteininin yapısal değişimlerini önlerler. Buna örnek olarak α -amilazın Ca^{++} iyonları ile stabilizasyonu verilebilir. **Inhibitörler** ise dönüşümlü ya da dönüşümsüz olarak etki yapabilirler. Dönüşümsüz inhibisyona örnek olarak aktif merkezinde sülfidril grupları içeren enzimlerin iyod ile aktivitelerinin yok olması gösterilebilir.

Dönüşümlü inhibisyon olayı enzim ile inhibitör arasındaki denge durumu ile karakterize edilir. Dönüşümlü inhibisyonların birçok örnekleri vardır. Enzimatik reaksiyon sonucunda oluşan parçalanma ürünlerinin enzim aktivitesini engelleyici etkisi birçok olayda görülür. Örneğin nişastanın α - ve β -amilazlarda parçalanması sonucunda oluşan maltoz, söz konusu enzimi dönüşümlü olarak inhibe eder.

pH'nın enzim aktivitesi üzerine etkisi, amfoter karakter taşıyan proteinlerin elektriksel yüklerinin değişmesi esasına dayanır. Böylece proteinin zincir konformasyonunda bir değişme meydana gelir. Her enzimin katalitik etkisinin maksimum olduğu bir optimum pH değeri vardır. Diğer yandan enzimler, pH değerini büyük ölçüde değiştirmek suretiyle kolaylıkla tamamen inaktif hale getirilebilirler ve bu durumda dönüşümsüz denaturasyon söz konusudur. Bazı sindirim enzimleri (Proteazlar) ekstrem pH optimumlarına sahiptirler, örneğin pepsin pH 1.5-2.5, tripsin pH 8-11 arasında en yüksek aktiviteye sahiptir. Ayrıca enzimlerin stabilitesi de hidrojen iyonları konsantrasyonunun bir fonksiyonudur.

Enzimatik reaksiyonlarda sıcaklığın etkisi bütün kimyasal reaksiyonlarda olduğu gibidir ve sıcaklığın $10^{\circ}C$ yükseltilmesi reaksiyon hızını 2-4 kat artırır. Bazı enzimlerin $40-50^{\circ}C$ de dönüşümsüz olarak denatüre olmalarına karşın ancak az sayıda enzim $60^{\circ}C$ nin üzerinde aktivitesini sürdürmektedir. Örneğin Bacillus subtilis'ten elde olunan proteaz'lar ve amilazlar gibi ısıtma yolu ile enzimlerin denaturas-

yonu çoğunlukla dönüşümsüzdür. Bir çok enzim çok düşük sıcaklıklara ($-191^{\circ}C$ sıvı hava içinde) dayanabilmektedir. Derin soğutma ($-22^{\circ}C$) bile enzimatik faaliyetler besin maddelerinin özelliklerini değiştirebilmektedir. Besin maddelerinin önce dondurulması ve sonra çözümleri sırasında bazı enzim aktivitelerinde artış görünürken bazılarında da azalmalar ortaya çıktığı saptanmıştır.

3. MİKROBİYAL KAYNAKLI ENZİMLERİN ÜRETİMİ

Mikrobiyal kaynaklı enzimler çeşitli bakteri, maya ve küflerden uygun yöntemler yardımıyla ekonomik olarak endüstriyel boyutlarda elde edilmektedir. Enzimlerin mikroorganizmalardaki sentezlenen miktarları mikroorganizmaların türüne göre değişmektedir. Bu nedenle enzim üretiminde, önce istenilen enzimi en bol oranda sentezliyen mikroorganizma türü ya da suşu saptanmalıdır. Ayrıca bilinmelidir ki bir mikroorganizmadaki istenen belirli bir enzimin miktarı, mikroorganizmanın yaşamı boyunca aynı kalmaz.

Genellikle gelişimin başlangıç süresinde enzim miktarı yok denilecek kadar az olmasına karşın zamanla artar ve bu artışın hızı giderek azalır ve belirli bir noktadan sonra ortamdaki enzim miktarı yavaş yavaş düşmeye başlar.

Hücrelerde ribozomlar tarafından sentezlenen enzimler ya stoplazmada serbest olarak ya belirli membranlar üzerinde bağlı olarak ya da hücre zarından dışarıya salgılanarak hücre dışında bulunabilirler. Hücrenin içinde bulunan enzimlere «hücre içi» (Intraselüler) enzimler, hücrenin dışına salgılanan enzimlere ise «hücre dışı» (ekstraselüler) enzimler denilmektedir. Hücre içi enzimlerden bir membrana bağlı olarak bulunan enzimlere «desmoenzim», stoplazmada serbest olarak bulunan enzimlere ise «Liyoenzim» adları verilmektedir. Enzimler sentezlendikleri ortamdaki etki edecekleri ortama salgılanmaları sırasında bazı bilinmeyen faktörler yardımıyla etkin hale dönüşürler ve hücrenin yaşamı için gerekli belirli fonksiyonları yerine getirirler. Hücre dışı enzimlerin salgılanabilmeleri için hücre duvarlarında, çap büyüklükleri $10-60$ nm arasında değişen ve

330000 mol tartısındaki enzimlerin salgılanmalarını sağlayan gözenekler bulunmaktadır. Hücre dışı enzimlerin ayrılmalari (izolasyonları) hücre içi enzimlere göre daha kolay olduğundan, teknikte kullanılan birçok enzim preparatı hücre dışı enzimlerdendir. Endüstride çoğunlukla bu tür enzimlerin özütleri (ekstratları) daha ileri saflandırma işlemlerine gerek kalmadan kullanılabilir. Hücre içi enzimlerin eldeleri ise daha zor olup uygun yöntemlerle hücrelerin parçalanmaları ve enzimlerin daha sonra özütlenmesiyle elde edilmeleri söz konusudur.

Mikroorganizmaların enzim verimini arttırmada besi ortamının önemi büyüktür. Besi ortamına katılan bazı maddeler mikroorganizmayı uyarak enzim sentezini başlatabilir ya da hızlandırabilir. Bu gibi maddelere «hızlandırıcı» (promatör); başlatıcı (induktör) denilmektedir. Bazı mikroorganizmalardan elde edilecek enzimin substratının besi ortamına konulmasıyla söz konusu enzimin biyosentezi hızlandırılabilir. Örneğin α -amilaz üretiminde nişasta, invertaz üretiminde sakkaroz, β -galaktozidaz üretiminde laktoz başlatıcı (iduktif) etki gös-

termektedirler. Mikroorganizmalar tarafından daha az tüketilen enzim substrat türevlerinin indüktif etkileri daha yüksektir. Bu amaçla Pullularia pullulans'dan invertaz eldesi için besi ortamına katılan sakkaroz monopalmıtat'ın enzim üretimini 100 kat arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca bazı mantarlardan selulaz üretimi sırasında besi ortamına katılan tween 80 gibi özel yüzey aktif maddeler (sümfaktanlar) enzim verimini 20 kat arttırabilir. Kimi zaman özel mütasyon yöntemleri ile de mikroorganizmaların enzim aktiviteleri arttırılabilir. Genetik mühendisliğinin konusuna giren böyle yöntemler sayesinde enzim aktivitesi çok yüksek mikroorganizma suşları elde edilebilir.

Diğer taraftan enzimlerin mikroorganizmalar tarafından biyosentezi sırasında oluşan yan ürünler bazen enzim üretimini frenleyebilirler. Örneğin, Bacillus megaterium'dan elde edilen proteazların üretimi, ortamda oluşan bazı aminoasitler tarafından yavaşlatılmaktadır.

Çizelge 1'de gıda endüstrisinde kullanılan bazı önemli enzimler ve elde edildikleri mikrobiyal kaynaklar görülmektedir.

Enzim	Kullanılan Mikroorganizmalar	Etkisi	Kullanım Alanları
α -Amilaz	Aspergillus oryzae, Asp. niger,	Nişastanın α , 1-4 glikozid bağlarının hidrolizler	Ekmek ve pasta sanayi
α -Amilaz	Bacillus subtilis, B. amyloliquefaciens	Nişastanın α , 1-4 glikozid bağlarını hidrolizler	Nişastadan glukoz eldesi, kumaşlardan haşıl sökmede
β -Amilaz	Aspergillus oryzae, Bacillus megaterium, B. cereus	Nişastanın α , 1-4 glikozid bağlarını kırarak maltoz oluşturur.	Nişastadan maltoz eldesi.
Glukoamilaz	Aspergillus niger, A. Oryzae, Rhizopus niveus, R. delemar	α -1,4 glikozid bağlarını hidrolizleyerek glukoz oluşturur.	Bakteri α -amilazından sonra nişastadan glukoz eldesinde.
Pullulanaz	Aerobacter aerogenes, Escherichia intermedia	α -1,6 glikozid bağlarını parçalar maltoz ve maltotrioz oluşur.	Biracılıkta, dekstrinden maltoz ve maltotrioz teşekkülü için.
Melibiaz	Mortierella vinacea	Rafinozun α -1,6 galaktozid bağlarını parçalar	Şeker pancarından şeker eldesi.
Pektinaz	Aspergillus niger, Coniothyrium dipodiella	Pektinin α -1,4 glikozid bağlarının ve metil esterlerini hidrolizler.	Meyve ve sebze sularının eldesinde, bulanıklıklarının giderilmesinde, esansiyel yağların eldesinde.

Çizelge 1. Gıda Endüstrisinde kullanılan bazı önemli enzimler ve elde edildikleri mikrobiyal kaynaklar

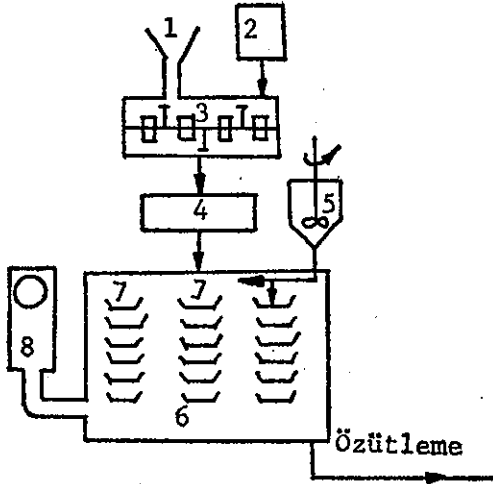
E n z i m	Kullanılan Mikroorganizmalar	E t k i s i	Kullanım Alanları
Narenginaz	Aspergillus niger	L - ramnosidaz ve B - glukozidaz karışımı olup naringini naringenine dönüştürür.	Narenciye sularının acılaştırılmasının engellenmesinde.
Selüloz	Trichoderma viride, Penicillium sp.	Selülozun yıkımı ve glukoz oluşumu	Bitkilerden yağ eldesinde, artıkların parçalanması selüloz liflerin hidrolizi için.
Hemiselüloz β - glukanaaz pentosanaz	Trichoderma viride, Bacillus subtilis	Glukozların arabonların ksilanların parçalanmasını sağlar.	Çekirdek kahvesi eldesinde yapışkanimsi maddelerin uzaklaştırılması için.
Laktaz (β - galaktozidaz) fragilis	Saccharomyces	Laktozun glukoz ve galaktoza hidrolizini sağlar.	Laktozsuz süt eldesinde.
Invertaz	Saccharomyces cerevisiae (ekmek mayası)	Sakkarozu glukoz ve fruktoza parçalar.	Marmelat, dondurma, tatlıların imalinde.
Rennin	Mucor miehei M. Pusillus, M. rouxi. Bacillus subtilis	Kazeini hidrolizler ve çökeltir.	Peynir eldesinde.
Proteaz	Aspergillus oryzae A. niger A. saltoi, Mucor pusillus	Proteinlerin hidrolizi	Etlere olgunlaştırılması, hazım kolaylaştırıcı olarak.
Proteaz	Bacillus subtilis, streptomyces griseus	Proteinlerin hidrolizi	Artıkların giderilmesi, dericilik ve yıkama maddesi olarak.
	Aspergillus niger, Rhizopus sp.	Yağların hidrolizi	Dondurma, margarın, peynir, çikolatada aromanın düzeltilmesi amacıyla, hazım kolaylaştırıcı olarak.
Glukozoksidaz	Aspergillus niger, Penicillium chrysogenum, P. amagasakiense	D - Glukozun glukonik aside yükseltilmesi	Gıdalardan O ₂ ya da glukozun fruktoz eldesinde, uzaklaştırılması için.
Katalaz	Aspergillus niger, Penicillium sp.	2H ₂ O ₂ → 2H ₂ O + O ₂	Sütlerden ve gıdalardan hidrojenperoksidin uzaklaştırılmasında.
Glukozizomeraz	Laktobacillus brevis, Streptomyces olivaceus, streptomyces sp. Bacillus coagulans.	Glukoz → Fruktoz	Fruktoz eldesinde

Çizelge 1. Gıda Endüstrisinde kullanılan bazı önemli enzimler ve elde edildikleri mikrobiyal kaynaklar (Devamı)

Mikrobiyal enzim üretimi teknik olarak endüstriyel boyutlarda genellikle ya yüzey kültür fermentasyonu ya da derin kültür fermentasyonu olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır.

3.1. Yüzey Kültür Fermentasyonu

Bu yöntemde enzim üreten mikroorganizmalar katı, yarı katı ya da durgun sıvı besi ortamı yüzeyinde geliştirilirler. Bu tip fermentasyonda kullanılan en önemli fermentör tipi tavalı fermentörlerdir. Sıcaklığı, nemi, havalandırması ayarlanabilen bir bina içerisinde bulunan tavalarda ki besi yeri kalınlığı 2 - 4 cm arasında olması en uygundur. Fermentasyon sonunda, enzim üretiminin en yüksek olduğu periyotta kültür alınarak enzim özütlenmesi (ekstraksiyonu) ve diğer son işlemler yapılır (Çizge 1).



Çizge : 1. Yüzey Kültür Fermentasyonunun Şematik Görünüşü

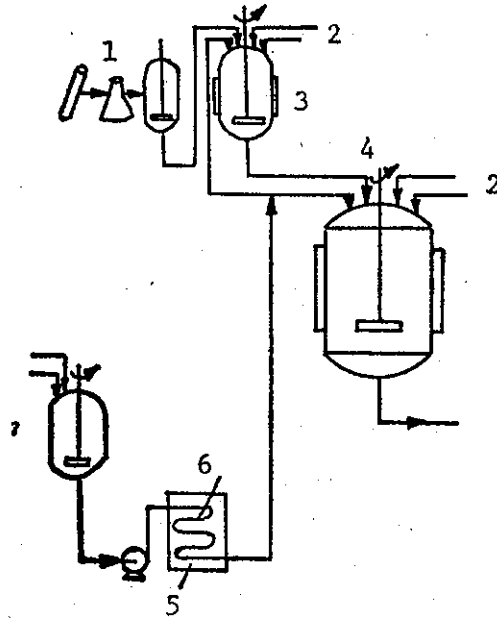
- 1) Besin maddeleri girişi; 2) Su tankı; 3) Karıştırıcı; 4) Sterilizatör;
- 5) Aşı Kültürü Tankı; 6) Yüzey kültür fermentörü; 7) Tavalalar;
- 8) Havalandırma düzeni.

Birçok ülkede zamanımıza dek, mikrobiyal enzim preparatlarının büyük bölümü yüzey kültür fermentasyonu yöntemi ile yapılmıştır. Örneğin bu yöntemle, asit proteazlar *Aspergillus*'tan, glucoamilaz *Rhizopus*'tan, rennet *Mucor pusillus*'tan elde edilmektedir. Yüzey fermentasyonu ile enzim üretiminde besi ortamı olarak nemlendirilmiş pirinç, buğday kepeği, çeşitli tuzlar, karbonhidratlar, protein, yağ ve mısır ıslatma suyu gibi maddeler kullanılmaktadır. Besi ortamı steril hale getirildikten sonra

fermentöre yayılmalıdır ve daha önce hazırlanmış olan aşı kültürü ile ekim yapılır. Fermentasyon sonunda elde edilen kültür uygun yöntemle işlenerek (santrifüjleme, filtrasyon, enzimlerin çöktürülmesi, kurutma) istenilen enzim preparatları hazırlanır.

3.2. Derin Kültür Fermentasyonu :

Derin kültür fermentasyonunun yüzey kültür fermentasyonuna göre bazı üstünlükleri vardır. Bu yöntemle, boyutları istenilen büyüklüklerde tasarlanabilen bir tank içerisinde besi ortamı ve aşı kültürü, uygun karıştırma hızı ve tekniği ile devamlı karıştırılarak, gerekirse havalandırılarak mikroorganizmaların büyümesi ve enzim biosentezinin gerçekleşmesi sağlanmaktadır. Derin kültür fermentasyonu yönteminde ortamın koşulları daha iyi ve otomatik olarak kontrol edilebilmektedir. Ayrıca besi ortamının devamlı karıştırılması, fermentasyonun besi ortamının her yönünde aynı hızda yürümesini sağlamaktadır. Yüzey kültür fermentasyonuna göre daha az yer kaplaması, üretimde çalışan personelin mikroorganizmalarla temasının daha az olması gibi üstünlükleri de vardır (Çizge 2).



Çizge : 2. Derin Kültür Fermentasyonu

- 1) Stok kültür; 2) Asit, baz, köpük kırıcı maddeler; 3) Aşı fermentörü; 4) Fermentör; 5) Besi yeri sterilizatörü; 6) Isı değiştiricisi;
- 7) Besi yeri hazırlama tankı.

Derin kültür fermentasyonunda kullanılan fermentörler paslanmaz çelikten, 10 - 125 m³ büyüklüklerde yapılabilmektedir. Böyle bir sistemde kesikli çalışılabildiği gibi son zamanlarda devamlı olarak çalışılmaktadır. Bazı derin kültür fermentasyonlarında karıştırma işlemi, alttan belirli açı ile üflenmiş hava ile yapılmakta, böylece mikroorganizmaların mekanik olarak parçalanması önlenmektedir.

Derin kültür fermentasyonunda kullanılan uygun besiyen ortamlarında karbonhidrat kaynağı olarak; nişasta, melas, hububat artıkları, nişasta şurubu, sakkaroz, glukoz, protein kaynağı olarak ise; balık unu, kazein, jelatin kullanılmaktadır. Besiyen ortamında ayrıca azotlu tuzlar, maya hidrolizati, mısır ıslatma suyu, mineral maddeler ve tampon tuzları gibi maddelerin de bulunması istenir. Aşı kültürü ise, laboratuvarlarda depolanan stok kültürler uygun şekilde, birkaç aşamada miktarı çoğaltılarak hazırlanır ve daha sonra üretim tanklarına alınarak fermentasyona başlanır.

Bu yöntemle enzim üretiminde mantarlar ve aerob bakteriler çok iyi netice vermektedir. Zamanımızda aneorob bakterilerle de çalışmalar ve teknik uygulamalar vardır.

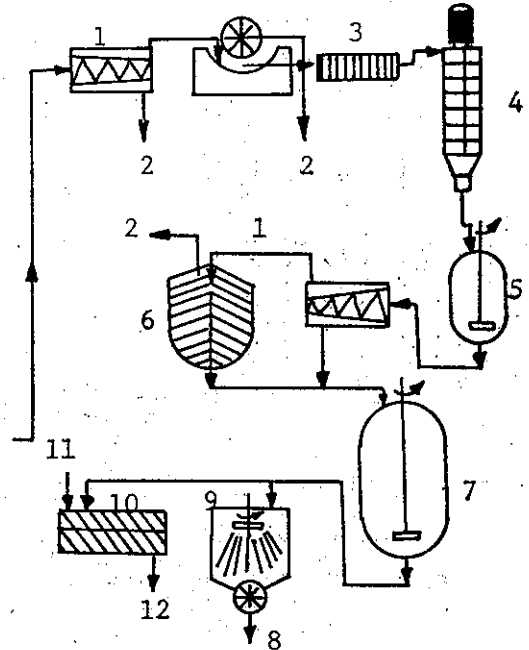
Fermentasyon sonunda elde edilen kültür sıvısı fermentörden alınır ve üretilecek olan enzim tipine uygun yöntemlerle işlenerek istenen özelliklerde enzim preparatları hazırlanır.

3.3. Fermentasyondan Sonraki İşlemler

Fermentasyondan sonraki işlemler, elde edilecek enzim hücre içi ya da hücre dışı olmasına göre değişmektedir. Hücre dışı salgılanan enzimlerin üretimi ve fermentasyondan sonraki işlemleri hücre içi enzimlere göre daha kolaydır. Yüzey kültür fermentasyonu sonucu elde edilen kültür karışımından hücre dışı enzimler, 20 - 40°C'de ya su ya tampon ya da uygun tuz çözeltileriyle özütlenirler. Elde edilen özüte koruyucu maddeler ilâve edilerek isteğe göre, ya sıvı ya da toz preparat olarak hazırlanırlar. Derin kültür fermentasyonu ile elde edilen kültür sıvısı ya doğrudan santrifüj ya da filtre edilerek katı kısımlarından ayrılır, koruyucu maddeler ilâve edilerek sıvı ya da toz olarak hazırlanırlar.

Üretilen enzim hücre içi ise, bazı ön işlemlerle hücrelerin parçalanması, böylece enzimlerin serbest hale geçmeleri sağlanmalıdır. Hücre içi enzim üretiminde mikroorganizma kütlesi santrifüj ya da filtre edilerek sıvı kısımdan ayrılır. Böylece elde edilen mikroorganizma kütlesi ya alüminyum oksit, kuars kumu, cam tozu gibi maddelerle homojenize edilerek, ya da ozmatik şok, enzimatik parçalama gibi yöntemlerle parçalanarak içerdikleri enzimler uygun tampon çözeltiler yardımıyla özütlenirler. Böyle elde edilen özütlerde bulunan nükleik asitlerin ya Mn⁺⁺ iyonlarıyla, ya da streptomisin sülfat ile çöktürülerek ayrılması gereklidir. Daha sonra, enzim özütüne koruyucu maddeler ilâve edilerek ya sıvı ya da toz halinde piyasaya verilebilir.

Çizge 3'de fermentasyon sonrası işlemler şematik olarak görülmektedir.



Çizge : 3. Fermentasyon sonrası uygulanan işlemler

- 1) Dekanter; 2) Biokütle; 3) Steril filtre; 4) Döner ince tabaka buharlaştırıcısı; 5) Çöktürme tankı; 6) Santrifüj; 7) Toplama tankı; 8) Kurutulmuş ürün; 9) Püskürtmeli kurutucu; 10) Karıştırma Trommeli; 11) Katkı maddeleri; 12) Granüle enzim preparatı.

Mikroorganizmalardan özütlenen enzim çözeltilisiyle yapılacak olan tüm çalışmalar, enzimlerin denatüre olmamalarını sağlamak amacıyla

la düşük sıcaklıklarda yapılmalıdır. Enzimlerin çöktürülmesi için etanol, metanol, aseton, 2 -propanol gibi organik çözenlerin su ile uygun karışımları kullanılabilir. Organik çözenlerle çöktürme işleminin, enzimlerin aktivitelerini azaltmaları nedeniyle düşük sıcaklıklarda ve en kısa sürede yapılması gereklidir. Amonyum sülfat, sodyum sülfat, sodyum klorür, kalsiyum fosfat, sodyum asetat gibi anorganik tuzların yüksek konsantrasyondaki çözeltileri de enzimlerin çöktürülmesi işlemlerinde kullanılmaktadır. Organik ya da anorganik maddelerle çöktürülen enzimler daha sonra sıvı kısımdan filtre edilerek ya da santrifüjlenerek ayrılır ve uygun yöntemlerle kurutulur. Enzim preparatlarının uzun süre kararlılıklarını koruyabilmeleri için, enzimin tipine bağımlı olmak koşuluyla bir çok stabilizatör kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlileri benzoik asit ve sodyum tuzu, salisilik asit, p-hidroksibenzoik asit etil ester, p-hidroksibenzoik asit propil ester, sorbik asit ve sodyum tuzu, kükürt dioksit, sülfidler, toluen, bazı fenolik bileşiklerle, sistein gibi maddelerdir.

Sıvı enzim preparatlarının stabilitesini sakkaroz, glukoz, sorbit, gliserin gibi şekerler ve polialkoller de arttırmaktadır. Şekerlerin ve polialkollerin stabilizatör olarak kullanılan miktarları % 10 ile % 70 arasında değişmektedir. Katı enzim preparatlarında da aynı amaçla en çok sorbit kullanılır.

Kuru enzim preparatlarını standardize etmek amacıyla uygun dolgu maddeleri ile seyreltme yapılmalıdır. Bu amaçla kullanılan dolgu maddelerinin nem çekmemeleri ve enzimleri inaktive etmemeleri gereklidir. Ticari enzim preparatlarında, sodyum sülfat, sodyum tripoli fosfat, sodyum klorür, kalsiyum asetat, kalsiyum sülfat, laktoz, sakkaroz, nişasta, un, jips, taş unu, odun talaşı gibi maddeler bu amaçla kullanılmaktadır. Böyle hazırlanan kuru ve toz haldeki bir enzim preparatındaki nem % 5 - 7, protein % 30 - 40, karbonhidratlar % 35 - 40, kül ise % 10 - 20 oranında olmalıdır.

Sıvı enzim preparatlarını standardize etmek için, enzimin özütlenmesinde kullanılan tampon çözeltiyle seyreltilmesi genellikle yeterli olmaktadır.

Böylece hazırlanan kuru ya da sıvı enzim preparatları besin endüstrisinde kullanılacaksa, katılan koruyucu maddeler, standardizasyon için kullanılan dolgu maddeleri ve tampon tuzlarının, nicelik ve niteliklerinin İnsan sağlığına zararlı olmaması gereklidir.

Ayrıca, enzim preparatları uzun süre aktivitelerini koruyabilmeleri için düşük sıcaklıklarda (4 - 6°C'de) saklanmalı ve kullanım için ambalajları açılan enzimler kısa sürede tüketilmelidir.

KAYNAKLAR

1. BRUCHMANN, E.E., 1976, *Angewandte Biochemie*, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
2. REED, G., 1975, *Enzymes in Food Processing*, Academic Press, New York
3. REHM, H.J., 1971, *Einführung in die Industrielle Mikrobiologie* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
4. PEKİN, B., 1982, *Bioteknoloji*, E.Ü. Kimya Fakültesi Ders Notları No. 29, İzmir.
5. PAMİR, N.H., 1977, *Fermentasyon Mikrobiyolojisi*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No. 639, Ankara.
6. RUTTLOFF, H., J. NUBER, F. ZICKLER ve K.H. MANGOLD, 1978, *Industrielle Enzyme*, VEB Fachbuchverlag, Leipzig.