ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RAMAZAN DEVECİ

GLİKOZ İZOMERAZ ENZİMİNİN SIKIŞTIRILMIŞ YATAK REAKTÖRLER VE AKIŞKAN YATAK REAKTÖRLERDE ÇALIŞMA KİNETİKLERİNİN İNCELENMESİ VE KARŞILAŞTIRILMASI VE REAKTÖRLER BOYUNCA FRUKTOZA DÖNÜŞÜM PROFİLLERİNİN ÇIKARILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA, 2006

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLİKOZ İZOMERAZ ENZİMİNİN SIKIŞTIRILMIŞ YATAK REAKTÖRLER VE AKIŞKAN YATAK REAKTÖRLERDE ÇALIŞMA KİNETİKLERİNİN İNCELENMESİ VE KARŞILAŞTIRILMASI VE REAKTÖRLER BOYUNCA FRUKTOZA DÖNÜŞÜM PROFİLLERİNİN ÇIKARILMASI

RAMAZAN DEVECİ
YÜKSEK LİSANS
KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez …../..../…… Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza……	İmza……	İmza……
Prof.Dr.S.Seyhan TÜKEL	Prof.Dr.Nuray ŞAHAN	Doç.Dr.Güzide YÜCEBİLGİÇ
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez Entitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr.Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GLİKOZ İZOMERAZ ENZİMİNİN SIKIŞTIRILMIŞ YATAK REAKTÖRLER VE AKIŞKAN YATAK REAKTÖRLERDE ÇALIŞMA KİNETİKLERİNİN İNCELENMESİ VE KARŞILAŞTIRILMASI VE REAKTÖRLER BOYUNCA FRUKTOZA DÖNÜŞÜM PROFİLLERİNİN

RAMAZAN DEVECİ
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
KİMYA ANABİLİM DALI
Danışman: Prof.Dr. S.Seyhan TÜKEL
Yılı : 2006, Sayfa : 46
Jüri: Prof.Dr. S.Seyhan TÜKEL
Prof.Dr. Nuray ŞAHAN
Doç.Dr. Güzide YÜCEBİLGİÇ

Bu çalışmada immobilize glikoz izomeraz enziminin sıkıştırılmış yatak ve akışkan yatak reaktörlerindeki çalışma kinetikleri, yarı ömürleri ve prodüktiviteleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Yükseklik (H) / Çap (D) oranı 3,75 olan sıkıştırılmış yatak reaktördeki glikoz izomeraz enziminin yarı ömrü 122 gün ve prodüktivitesi 5528 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim olarak bulunmuştur. H/D oranları 2,67;1,71;1,25 olan akışkan yatak reaktörlerinin üçünde de enzimin yarı ömrü 143 gün ancak prodüktiviteleri sırasıyla 6360, 5995 ve 5643 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim olarak bulunmuştur. Yarı ömürler sonunda sıkıştırılmış yatak reaktörün ortalama fruktoza dönüştürme yüzdesi %42,13 iken akışkan yatak reaktörler için bu değer sırasıyla %39,24; %38,05; %37,90 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Glikoz İzomeraz Enzimi, Sıkıştırılmış Yatak Reaktör, Akışkan Yatak Reaktör, Yarı-ömür, Prodüktivite

ABSTRACT

MSc THESIS

KINETIC STUDY AND COMPARISON OF GLUCOSE ISOMERASE ENZYME IN PLUG FLOW REACTOR AND FLUIDIZED BED REACTORS AND TO DETERMINE THE CONVERSION PROFILE TO FRUCTOSE ALONG THE REACTORS

RAMAZAN DEVECİ

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor: Prof.Dr. S.Seyhan TÜKEL

Year : 2006, Pages : 46

Jury : Prof.Dr. S.Seyhan TÜKEL

Prof.Dr. Nuray ŞAHAN

Asst.Prof.Dr. Güzide YÜCEBİLGİÇ

In this study, kinetics, half-lives and productivities of immobilized glucose isomerase enzyme (IGI) were examined and compared in different height (H) / diameter (D) ratios of Plug Flow Reactor (PFR) and Fluidized Bed Reactors (FBR). Glucose Isomerase half-life and productivity for H/D ratio of 3.75 plug flow reactor was found as 122 days and 5528 kg dry substance converted to fructose/ kg enzyme, respectively. H/D ratios of 2.67, 1.71, 1.25 for fluidized bed reactors; half-lives were found as 143 days and productivities were found as 6360, 5995, 5643 kg dry substance converted to fructose per kg enzyme, respectively. At the end of the half-lives percentage conversion to fructose for PFR was found as 42,13% while they were 39.24%, 38.05%, 37.9% for the fluidized bed reactors of H/D ratios of 2.67, 1.71 and 1.25, recpectively.

Key Words: Glucose Isomerase Enzyme, Plug Flow Reactor, Fluidized Bed Reactor, Half-life, Productivity

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca engin bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren danışman hocam sayın Prof.Dr. S.Seyhan TÜKEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarımda bana her zaman moral motivasyon açısından destek olan sayın hocalarım Doç.Dr. Güzide Yücebilgiç ve Yrd. Doç.Dr. Ramazan Bilgin'e ve arkadaşlarım Arş.Gör. Özlem Alptekin'e ve Arş. Gör. Gül Özyılmaz'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ…..…….I

ABSTRACT……I I

TEŞEKKÜR……. I I I

İÇİNDEKİLER…….. IV

SİMGELER VE KISALTMALAR…… .V I

ÇİZELGELER DİZİNİ…….……V I I

ŞEKİLLER DİZİNİ…….....V I I I

1.GİRİŞ……..….1

1.1.Enzimler……1

1.2.Enzimlerin Endüstriyel Proseslerde Kullanımı……..... …...2

1.3.Gıda Sanayinde Enzim Uygulamaları……...4

1.4.Tatlandırıcı Üretimi……...5

1.4.1.Nişasta Modifikasyonu için Enzimler……6

1.4.2.Glikoz Şurupları…….....6

1.4.3.Proses ve Enzimoloji……..7

1.5.İmmobilize Enzimler ve Reaktör Türleri…….12

1.5.1.Sıkıştırılmış Yatak Reaktörler (PBR)……...14

1.5.2.Akışkan Yatak Reaktörler (FBR)…….16

1.6. İdeal Olmayan Akışların Biyokimyasal Reaktörlerin Performanslarına Etkileri ……..18

1.7. İmmobilize Enzim Biyoreaktörlerindeki Fiziksel Problemler……...19

1.8.Yüksek Fruktozlu Mısır Şurupları……...20

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…….…….22

3. MATERYAL VE METOD…….……...23

3.1. Materyal…….....23

3.2. Metod…….....23

4. BULGULAR VE TARTIŞMA…….…….....28

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER……43

5.1.Sonuçlar……...43

5.2.Öneriler…….....43

KAYNAKLAR……....45
ÖZGEÇMİŞ……46

SİMGELER VE KISALTMALAR

PROD.: Prodüktivite

A : Aktivite

Re : Reynold numarası

Bo : Bodenstein numarası

PBR : Sıkıştırılmış yatak reaktör

FBR : Akışkan yatak reaktör

CSTR : Sürekli karıştırıcılı tank reaktörü

H : Yükseklik

D : Çap

GI : Glikoz izomeraz

HFCS : High Fructose Corn Syrup
(Yüksek Fruktozlu Mısır Şurubu)

TP : Toplam prodüktivite

KM : Katı madde

ÇİZELGELER DİZİNİ **Sayfa**

Çizelge 1.1. Glikoz izomerizasyon metotlarının karşılaştırılması……...12

Çizelge 4.1. Sıkıştırılmış Yatak Reaktörde enzimin aktivitesi ve prodüktivitesi.29

Çizelge 4.2. H/D oranı 2,67 olan akışkan yatak reaktör……...30

Çizelge 4.3. H/D oranı 1,71 olan akışkan yatak reaktör……...32

Çizelge 4.4. H/D oranı 1,25 olan akışkan yatak reaktör……...33

Çizelge 4.5. Akışkan Yatak Reaktörlerin Aktivite-Hacim ilişkisi……38

Çizelge 4.6 Akışkan Yatak Reaktörlerde Aktivite-Enzim miktarı ilişkisi……40

Çizelge 4.7. Sıkıştırılmış ve Akışkan Yatak Reaktörler için besleme ve çıkış absorbans (282 nm) değerleri……41

Çizelge 4.8. Sıkıştırılmış ve Akışkan Yatak Reaktörlerde % izo-fruktoz Oluşumu……42

ŞEKİLLER DİZİNİ **Sayfa**

Şekil 1. 1.Enzimatik Nişasta dönüşümünün ana basamakları…….8

Şekil 1.2. Nişasta sıvılaştırma…….9

Şekil 1.3. Enzim işlevleri……...10

Şekil 1.4. Glikoz izomerizasyon……11

Şekil 3.1. İzomerizasyon kolonları D-95 şurubu besleme tankı……24

Şekil 3.2. İzomerizasyon kolonları……25

Şekil 3.3. İzomerizasyon kolonu çalışma sıcaklığı-düzeltme faktörü grafiği...26

Şekil 3.4. Fruktoza dönüşüm-düzeltme faktörü grafiği……27

Şekil 4.1. Sıkıştırılmış yatak reaktör için aktivite-gün ilişkisi……..35

Şekil 4.2. Sıkıştırılmış yatak reaktör için fruktoza dönüşüm
ve prodüktivite-gün ilişkisi……35

Şekil 4.3. Akışkan yatak reaktörler için aktivite-gün ilişkisi……..36

Şekil 4.4. Akışkan yatak reaktörler için fruktoza dönüşüm
ve prodüktivite-gün ilişkisi……...36

Şekil 4.5. Akışkan Yatak Reaktörlerin Bölmeleri…….37

Şekil 4.6. Akışkan Yatak Reaktörlerde Aktivite-Hacim ilişkisi…….……..39

Şekil 4.7. Akışkan Yatak Reaktörlerde Aktivite-Enzim miktarı ilişkisi……..40

1.GİRİŞ

Enzimler biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan biyokatalizörler olarak tanımlanırlar. Enzimler protein yapısında olmaları nedeniyle sıcaklık ve pH değişimi, organik çözücülerin ve ağır metallerin varlığı gibi çevresel değişimlerden etkilenirler. Enzimlerin kimyasal katalizörlere göre üstünlükleri incelendiğinde; enzimler ileri derecede substrat spesifikliğine sahip olmaları nedeniyle istenmeyen yan ürünlerin oluşumunu engellerler. Enzimlerin katalizlediği reaksiyonlarda verim %100'dür. Enzimler ılımlı koşullarda çalıştıkları için reaksiyon maliyetini düşürürler ve çevresel sorunlar yaratmazlar.Yeterli koşulların sağlanması koşuluyla etkilerini doğal ortamların dışında da gösterebiliyor olmaları enzimlerden pek çok alanda yararlanabilme imkanı vermektedir. Enzimler endüstriyel, analitik, tıp, tedavi vb. alanlarda uygulama bulmuşlardır.

Çoğu endüstriyel enzimler bakteri ve maya hücrelerinden intra-selüler veya ekstra-selüler olarak hazırlanırlar. Bir çok durumda ana hücrelerin gelişme şartları ayarlanarak enzimlerin üretimi daha geniş olarak yapılabilir. Bazı enzimler hücrelerden dışarıya çıkarılırlar. Bazıları da hücreye bir şekilde bağlanmışlardır ve hücre duvarları kimyasal veya fiziksel yollarla kırılarak serbest hale getirilirler. Enzimler seçici seçici yöntemler ile kısmen veya tamamen saflaştırılabilirler. Ekstraksiyon ve kısmi saflaştırma işlemlerinden sonra enzimler toz veya çözelti halinde ya da immobilize edilmiş şekilde satışa sunulurlar.

1.1.Enzimler

Enzimler canlı organizmaların hücrelerindeki kimyasal reaksiyonları yürüten globular protein formundaki biyolojik katalizörlerdir. Enzimler çok çeşitli hücre tiplerinin dünyadaki koşullar altında gereksinim duydukları metabolik ihtiyaçlara göre evrimleşmişlerdir. Genel olarak, bu metabolik ihtiyaçlar şu şekilde tanımlanabilir:

1. Kimyasal reaksiyonlar ılımlı koşullarda gerçekleşir
2. Yüksek ürün hedefli
3. Çok yüksek reaksiyon hızları
4. Farklı görevler için uygun enzimler

1.2.Enzimlerin Endüstriyel Proseslerde Kullanımı

Birçok kimyasal proses doğası gereği ticari ve çevresel açıdan bazı sakıncalara sahiptir. Bazı prosesler çok düşük ürün verimliliğine sahiptir. Bu reaksiyonları yüksek sıcaklıklar ve basınçlar altında yüksek enerji maliyeti ile yürütmek mümkündür. Yüksek sıcaklık, basınç, asitlik ve bazlık (alkalite) içeren prosesler yüksek yatırım, ekipman ve kontrol sistemleri gerektirirler. İstenmeyen yan ürünler ortaya çıkabilir ve bunları ana üründen ayırmak yüksek maliyete neden olur. Yüksek kimyasal ve enerji tüketimi ve zararlı yan ürünler çevre üzerinde olumsuz etkilere neden olurlar.

Tüm bu sakıncalar ve olumsuz durumlar enzim kullanımı ile ortadan kaldırılabilir. Enzim reaksiyonları ılımlı koşullarda gerçekleşirler, ürün hedeflidirler, hızlı gerçekleşirler ve farklı rollere sahip birçok enzim çeşidi vardır.

Bunlara ek olarak enzim reaksiyonları kolayca kontrol edilebilirler ve istenilen substrat dönüşümü sağlandığında durdurulabilirler. Ayrıca üretimin çevreye olan olumsuz etkilerini enerji ve kimyasal kullanımını düşürerek kabul edilebilir seviyelere indirebilirler.

Genetik ve protein mühendisliğindeki gelişmeler enzimlerin kararlılığı, ekonomik oluşu ve çeşitliliği alanlarında iyi bir duruma getirmiştir ve enzimler yükse bir endüstriyel uygulama potansiyeline sahip olmuşlardır.

Enzim kullanımının yararları dikkate alındığında enzim uygulamalarının her yıl artmasının nedenleri daha iyi anlaşılabilir.

1.2.1.Kimyasal Reaksiyonlar Ilımlı Koşullarda Gerçekleşir

Hemen hemen tüm hayvanların, bitkilerin ve mikroorganizmaların hücreleri çok dar sıcaklık aralıklarında optimum fonksiyon gösterirler, enzimler ılımlı koşullarda kimyasal reaksiyonları gerçekleştirirler. Buna örnek olarak birçok organizmada pH=7'de gerçekleşen Maltoz'un Glikoz'a hidrolizi verilebilir:

$$\text{Maltoz} + H_2O \xrightarrow{\text{ısı}} 2\ \text{Glikoz}$$

Bu reaksiyon enzim yokluğunda maltoz çözeltisi ısıtılarak yapılabilir.Maltoz ve su moleküllerinin iç enerjisini artırarak çarpışmalarına neden olup reaksiyon vermelerini sağlamak için ısı gereklidir. Isı, aktivasyon enerjisi olarak adlandırılan engeli aşmak için verilir.

Alternatif olarak maltaz enzimi aynı reaksiyonu 25 ^{o}C 'de aktivasyon enerjisi engelini aşarak gerçekleştirebilir.

1.2.2.Yüksek Ürün Hedefli

Bir hücrede herhangi bir karmaşa olmaması ve belli bir ahenk olması açısından farklı kimyasal reaksiyonlar her biri için özel enzimler tarafından gerçekleştirilmelidir. Bir enzim genel olarak sadece özel bir reaksiyonu katalizler veya buna çok yakın bir reaksiyonu katalizleyebilir. Enzimatik olmayan reaksiyonların aksine enzim reaksiyonları nadiren yan ürün ve atık oluştururlar.

1.2.3.Çok Yüksek Reaksiyon Hızları

Canlı organizmaların hücreleri ve dokuları kendilerine yapılan etkilere ve ihtiyaçlarına çok hızlı bir şekilde cevap vermelidirler. Gelişme, onarım-yenilenme, gıdalardan enerjiyi elde etme gibi aktiviteler hızlı, etkin ve devamlı olmalıdır.

Enzimler reaksiyonları en az milyon derecesinde hızlandırırlar. Bilinen en hızlı enzimlerden ‘’karbonik anhidraz’’ karbondioksitin kan gibi sıvı ortamlarda taşınmasını hızlandırmak için karbondioksitin hidratlanmasını katalizler. Her bir enzim molekülü saniyede 100,000 karbondioksit molekülünü hidratlayabilir. Bu, enzimatik olmayan reaksiyondan 10 milyon kat hızlıdır.

1.2.4.Farklı Görevler için Farklı Enzimler

Enzimlerin her bir reaksiyon için özel olmasından dolayı hücrelerde meydana gelen çok sayıdaki reaksiyonlar için çok sayıda enzim olması gerekmektedir. Birçok enzim büyük molekülleri küçük moleküllere parçalayarak enerji açığa çıkmasını sağlarlar.

Bugüne kadar bilim adamları 1500 farklı enzim tanımlamışlardır. Sayının çok fazla olmasından dolayı bir sınıflandırma metodu geliştirilmiştir. Bu sayede enzimlerin her biri açık bir şekilde belirtilebilir ve tanımlanabilir.

1.3.Gıda Sanayinde Enzim Uygulamaları

Gıda endüstrisindeki ilk önemli enzim kullanımı 1960’lı yıllarda Glukoamilaz’la başladı. Bu enzim nişastayı glikoz’a parçalayan bir enzimdir. O günden sonra tüm glikoz üretimi asit hidrolizi yerine enzimatik hidrolizle yapılmıştır. Eski asit prosesine kıyasla enzimatik hidroliz prosesi buhar maliyetini %30, kül oranını %50 ve yan ürünleri de %90 oranında azaltmıştır.

1973’den bu yana nişasta endüstrisi deterjan sanayinden sonra en büyük enzim pazarına sahip olagelmiştir. Enzimatik hidroliz sıvılaştırma (liquefaction), şekerlendirme (saccharification) ve izomerizasyon (isomerization) basamaklarında kullanılmaktadır.

Başka bir büyük enzim pazarı da fırıncılık endüstrisindedir. Enzimler hamura katılarak ekmeğin kaliteli bir ekmek içi yapısı ve iyi ve düzgün bir hacme sahip

olması sağlanır. Bazı özel enzimler de ekmeğin tazeliğini korumasını sağlayarak raf ömrünü uzatırlar.

Süt endüstrisindeki en önemli enzim uygulaması peynir yapımının ilk aşaması olan sütün pıhtılaştırılması, çökeltilmesidir.

Birçok bira fabrikalarında endüstriyel enzimler bira prosesini kontrol için ve yüksek kalitede bira üretimi için kullanılmaktadır.

Meyve suyu ve şarap endüstrilerinde bitki materyallerinin ekstraksiyonunda enzim kullanılarak hücre duvarlarının yıkılmasıyla yüksek bir meyve suyu kalitesi, iyi bir renk ve aroma ve daha berrak bir meyve suyu elde edilir.

1.4.Tatlandırıcı Üretimi

Endüstriyel enzimlerin nişasta endüstrisinde kullanılmaları diğerlerine göre daha erken bir tarihte başlamıştır. Eski kimyasal metotlarla yapılamayan özel şuruplar enzimatik yöntemler kullanılarak hazırlanabilmiştir.

Nişastadan birçok değerli ürün üretilmektedir. Bu alanda enzim araştırmalarına büyük yatırımlar yapılmakta ve proses uygulamalarında gelişmeler kaydedilmektedir. Reaksiyon etkinliği, ürün hedefli olması, ılımlı koşullarda çalışma ve yüksek saflaştırma derecesinde olma gibi nedenler enzimleri nişasta sanayi için ideal kılmaktadır. Reaksiyonlar için orta derecedeki sıcaklıklar ve pH değerleri rengi, kokuyu ve tadı en az derecede olumsuz etkileyecek yan ürünler ve safsızlıklar çıkmasını sağlar. Bunun yanında enzim reaksiyonları kolayca kontrol edilebilirler ve istenilen nişasta dönüşümü sağlandığında durdurulabilirler.

Gıda sanayi için 1960'da Glikoamilaz'ın ilk kez kullanılması gerçek bir dönüm noktası olmuştur. Bu enzim nişastayı tamamen glikoza çevirebilmekteydi ve bundan sonra tüm glikoz üretimi asit hidrolizinden enzimatik hidrolize geçti. Çünkü enzimatik hidroliz yüksek ürün verimliliği, temiz ürün, yüksek saflık ve kolay kristalizasyonu da sağlamaktadır. Bununla beraber en önemli olay Glikoz İzomeraz enziminin 1973 yılında geliştirilmesiyle gerçekleşti. Bu enzim yüksek fruktoz şurubu

üretimini ekonomik kıldı. Bu gelişmenin hemen ardından Amerika Birleşik Devletleri'nde milyar dolarlık bir yüksek fruktozlu şurup üretimi pazarı oluştu.

1.4.1.Nişasta Modifikasyonu için Enzimler

Doğru enzim ve doğru reaksiyon koşulları seçildiğinde gıda sanayinde uygun ürünleri üretmek mümkün olur. Şuruplar ve modifiye nişastalar içeceklerde, şekerlemelerde, et ürünlerinde, dondurmada, soslarda, bebek gıdalarında, reçellerde, gıda koruyucularında ve daha birçok üründe kullanılmaktadır.

Fermentasyon yoluyla elde edilen birçok gıda dışı ürün enzimatik olarak üretilmiş modifiye nişasta ürünlerinden elde edilir. Örneğin enzimatik olarak hidroliz edilmiş nişasta, alkol, poliol, monosodyum glutamat (MSG), sitrik asit, lizin ve penisilin gibi ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır.

Nişasta dönüşümündeki önemli basamaklar sıvılaştırma (liquefaction), şekerlendirme (saccharification) ve fruktoza çevrim (isomerization)'dir. Basit bir deyimle nişasta prosesi ilerledikçe daha tatlı şurup elde edilmektedir.

1.4.2.Glikoz Şurupları

Glikoz şurupları genel olarak buğday, mısır ve patates nişastasının hidrolizi ile elde edilmektedir. Bu proses nişasta zincirindeki glikozidik bağları koparır. Uygulanan metot ve hidroliz son karbonhidrat ürününün fonksiyonel özelliklerini belirler. Hidroliz derecesi genel olarak Dekstroz Eşdeğeri (Dextrose Equivalent;DE) olarak ifade edilir.

Dekstroz Eşdeğeri (DE)

Glikoz (Dekstroz olarak da isimlendirilir) bir indirgen şekerdir. Bir amilaz nişastadaki bir Glikoz-Glikoz bağını hidrolizlediğinde iki yeni Glikoz grubu oluşur. Öyleyse hidroliz derecesi indirgen şekerlerdeki artma olarak ölçülebilir. Elde edilen değer saf Glikoz eğrisiyle karşılaştırılır ve Dekstroz Eşdeğeri olarak bulunur.

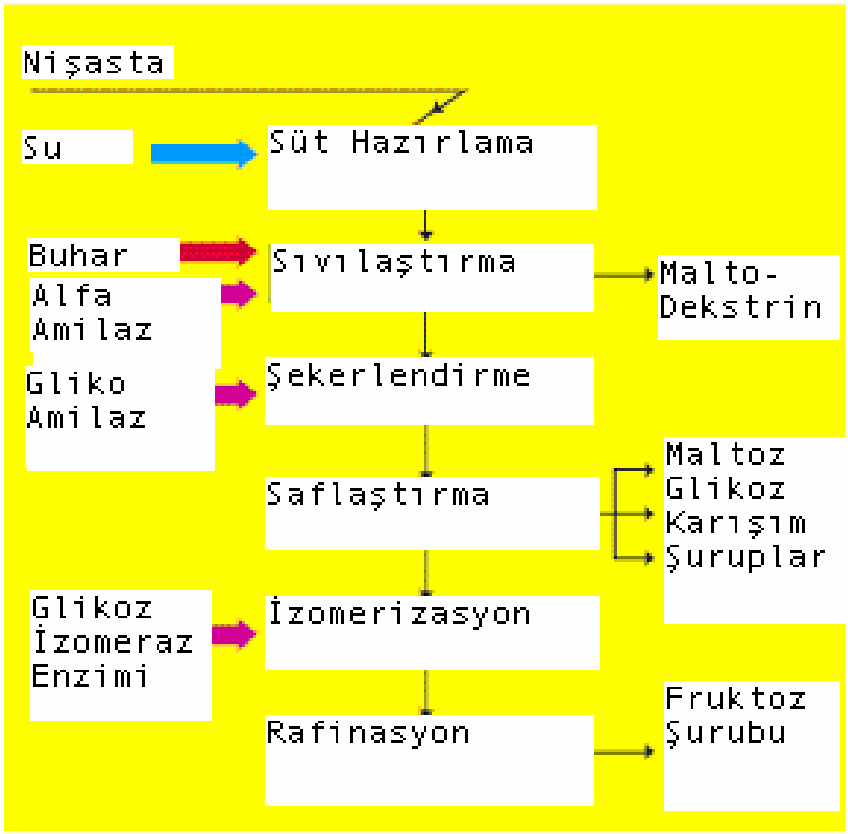
Orijinal olarak asit dönüşümü Glikoz şuruplarının üretimi için kullanılmaktadır. Günümüzde, ürün hedefli olmaları nedeniyle enzimler hidrolizde kullanılmaktadır. Bu yolla istenilen özelliklerde Glikoz şurupları üretilmektedir.

Şeker spektrumları Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) ve Jel Geçirgenlik Kromatografisi (GPC) gibi farklı teknikler kullanılarak analiz edilmektedir. Bu teknikler moleküler ağırlık dağılımı ve Glikoz şurubunun karbonhidrat kompozisyonu ile ilgili bilgileri verir. Bunlar ürünü tanımlamada ve karekterize etmede kullanılır, örn. yüksek maltoz şurubu.

1.4.3.Proses ve Enzimoloji

Modern enzim teknolojisi mısır ıslak değirmenleme sektöründe geniş olarak kullanılmaktadır. Şu anki araştırmalar rafine etmedeki temel enzimatik dönüşümlerin proses verimini ve etkinliğini artırma üzerine yoğunlaşmıştır.

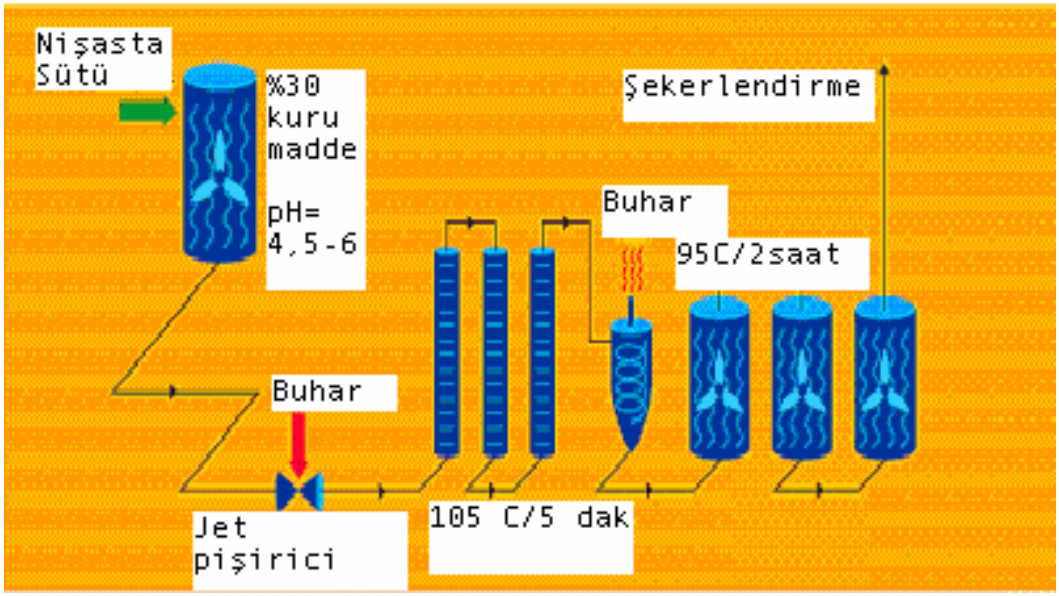
Nişasta dönüşümünün ana basamakları Şekil.1.1’de verilmiştir ve enzimatik basamaklar kısaca açıklanacaktır.



Şekil 1. 1.Enzimatik Nişasta dönüşümünün ana basamakları

1.4.3.1.Sıvılaştırma

Mısır nişastası en geniş uygulama alanı bulmuş olan hammaddedir. 30-40% kuru madde içeren nişasta süspansiyonu enzimatik kırılmaya devam edebilmesi için öncelikli olarak jelatinize edilmeli ve sıvılaştırılmalıdır. Bu, nişasta süspansiyonuna sıcaklığa kararlı α-amilaz eklenmesiyle yapılır. Sıvılaştırma prosesi mekanik olarak karıştırıcılı tank reaktörler ve jet pişiriciler içerir.



Şekil 1.2. Nişasta sıvılaştırma

Çoğu tatlandırıcı fabrikasında nişasta sıvılaştırması Şekil 1.2'de görüldüğü gibi tek dozda ve jet pişiricide gerçekleşir. α-amilaz nişasta sütüne pH ayarı yapıldıktan sonra eklenir ve jet pişiriciye pompalanır. Burada sıcaklığı 105^{o}C'ye getirmek için canlı buhar verilir ve nişasta sütü jelatinleşmeyi tamamlaması için 5-7 dakika bekleme süresini geçireceği bekleme tüplerine gönderilir. Kısmi olarak sıvılaşmış olan nişastanın sıcaklığı flaş soğumayla 90-100^{o}C'ye düşürülür ve enzimin daha fazla çalışması ve istenilen DE değerine ulaşmak için kısmi sıvılaşmış nişasta bu sıcaklıkta 1-2 saat bekletilir.

Enzim nişastadaki α-1,4-glikozidik bağlarını hidroliz eder ve jelleşmiş olan nişastanın viskozitesi ani olarak düşer ve maltodekstrinler oluşur. Proses bu aşamada durdurulabilir, solüsyon saflaştırılır ve kurutulur. Maltodekstrinler (DE:15-25) reolojik özelliklerinden dolayı ticari öneme sahiptirler. Gıda endüstrisinde doldurucu, karalaştırıcı, yapıştırıcı, soslarda katkı maddesi vb. amaçlarla kullanılırlar.

1.4.3.2.Şekerlendirme

Maltodekstrinler glikoamilaz veya fungal α-amilaz kullanılarak daha fazla şekerlendirilebilirler ve bu yolla birçok tatlandırıcı üretilebilir. Beta-amilaz, glikoamilaz ve pullulanaz gibi enzimlerle orta derecede dönüşüm sağlanmış şuruplar üretilebilir.

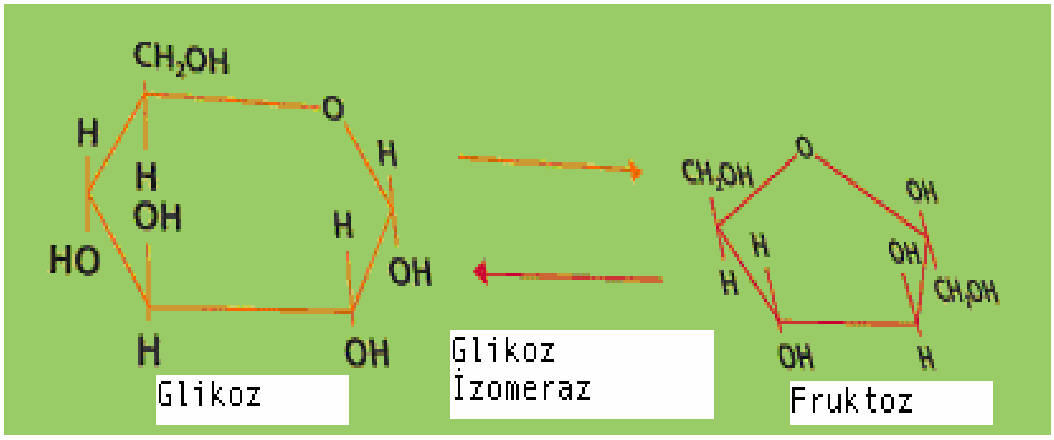
Nişastadan %95-97 glikoz verimli şuruplar üretilebilir. Amilazların ve dalları kırıcı enzimlerin işlevleri Şekil 1.3'de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Enzim işlevleri

1.4.3.3.İzomerizasyon

Glikoz geri dönüşümlü bir reaksiyon üzerinden fruktoza dönüştürülebilir, Şekil 1.4.



Şekil 1.4. Glikoz izomerizasyon

Endüstriyel koşullar altında Fruktoz seviyesi %50 olduğunda dengeye ulaşılmıştır. Reaksiyon az miktarda ısı açığa çıkarır ve devamlı olarak bu ısının alınması gerekir. Uzun reaksiyon süresinden sakınmak için reaksiyon %45 seviyesinde durdurulur. İmmobilize bir enzim reaktör sistemi kullanıldığında bu izomerizasyon reaksiyonu hızlı, etkin ve ekonomiktir. Optimum reaksiyon pH=7,5-8,3 ve sıcaklığı T=55-60 ^{o}C'dir. Bu parametreler yüksek enzim aktivitesi, yüksek fruktoz verimi ve yüksek kararlılığı sağlar. Bununla beraber glikoz ve fruktoz bu koşullar altında kolayca organik asitlere ve renkli yan ürünlere parçalanabilir. Bu problem sürekli immobilize enzim reaktör sistemi ile çözülebilir.

İmmobilize enzim zaman geçtikçe aktivitesini yitirir. Genel olarak bir glikoz izomeraz enzimi başlangıç aktivitesinin %10-15'ine düştüğünde değiştirilir. En kararlı ticari glikoz izomeraz enzimi endüstriyel boyutta kullanıldığında 200 günlük bir yarı ömre sahiptir.

Üretilen şuruptaki Fruktoz içeriğinin sabit olması için reaktöre giren glikoz şurubu miktarı enzimin gerçek aktivitesine göre ayarlanır. Enzimin yarı ömrüne yaklaşıldıkça besleme miktarı azalır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde Glikoz izomerizasyon reaktör dizaynları teknik literatürde tanımlanmıştır. Reaktör çapları 0,6-1,5 m ve reaktör yatak yükseklikleri 2-5 m arasında değişir.

1.5.1.İmmobilize Enzimler ve Reaktör Türleri

İmmobilize enzimlerin serbest enzimlere göre bazı üstünlüklerinin olması bu enzimleri endüstriyel alanda daha kullanışlı hale getirmiştir. Bunlar;

- Reaksiyon sonunda ortamdan kolayca uzaklaştırılabilirler.
- Çevre veya reaksiyon koşullarına (pH, sıcaklık) karşı daha dayanıklıdırlar.
- Birçok kez ve uzun süre kullanılabilirler.
- Sürekli işlemlere uygulanabilirler.
- Ürün oluşumu kontrol edilebilir.
- Birbirini izleyen zincirleme reaksiyonlar için uygundurlar.

İmmobilize ve çözünebilir glikoz izomeraz ve farklı reaktör türlerindeki karşılaştırılmaları Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Glikoz izomerizasyon metotlarının karşılaştırılması

Parametre	**Kesikli (çözünür Gl)**	**Kesikli (immobilize Gl)**	**Sürekli (PBR)**
Reaktör hacmi (m^3)	1100	1100	15
Enzim tüketimi (ton)	180	11	2
Aktivite, yarı-ömür (saat)	30	300	1500
Aktif ömür, yarı-ömürler	0.7	2	3
Alıkonma süresi (saat)	20	20	0.5
Co^{2+} (ton)	2	1	0
Mg^{2+} (ton)	40	40	7
Sıcaklık (°C)	65	65	60
pH	6.8	6.8	7.6
Renk Oluşumu (A_{420})	0.7	0.2	< 0.1
Ürün Rafinasyonu	●Filtrasyon	-	-

	●Aktif karbon etkileştirme ●Katyonik değişim ●Anyonik değişim	●Aktif karbon etkileştirme ●Katyonik değişim ●Anyonik değişim	●Aktif karbon etkileştirme - -
Kapital, işçilik ve enerji maliyeti, £ ton^{-1}	5	5	1

İmmobilize enzimlerin kullanıldığı reaktör tipleri Kesikli Karıştırıcılı Tank, Sürekli Karıştırıcılı Tank, Akışkan Yatak ve Sıkıştırılmış Yatak reaktörlerdir. Bu reaktörlerin birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları vardır. Bunları bir tablo halinde özetlersek;

TİP	**AVANTAJ**	**DEZAVANTAJ**
Kesikli Karıştırıcılı Tank	Basit Başarılı kinetik etkinlik Küçük partikül boyutu kullanılabilir	Yüksek hacim Enzimin geri alınması Karıştırma enzime zarar verebilir Doldurma ve boşaltma sırasında zaman kaybı
Sürekli Karıştırıcılı Tank	Basit Küçük partikül boyutu kullanılabilir	Yüksek hacim gerekliliği Enzimin geri alınması Karıştırma enzime zarar verebilir Çokbasamak kullanılmadığında

		kötü bir dönüşüm
Akışkan Yatak	Plug akış kolay olmaz	Uygun enzim yoğunluğu gerekir
	Basınç düşmesi minimum	Hareket enzime zarar verebilir
	Küçük partikül boyutu	Yüksek dönüşüm gerektiğinde
	kullanılabilir	çok etkin değil
	Düşük hacim gerekliliği	
Sıkıştırılmış Yatak	Etkin kinetik	Besleme temiz olmalı
	Düşük hacim gerekliliği	Yüksek basınç düşmesinden
		Enzim zarar görmez
		korunmak için besleme miktarı
	Çok basamaklı kullanılabilir	çok iyi kontrol edilmeli
		Büyük partikül boyutu
		Kullanılmalı

1.5.1.Sıkıştırılmış Yatak Reaktörler (PBR)

Sıkıştırılmış yatak reaktörlerin (PBR) en önemli karakteristiği materyalin reaktör içindeki hareketinin plug olmasıdır bundan dolayı bu reaktörler plug akış

reaktörler olarak da isimlendirilirler. İdeal olarak tüm substrat aynı hızla, reaktör eksenlerine paralel bir şekilde geri karışım olmadan ilerler. Herhangi bir zamanda reaktörün herhangi bir alanındaki materyaller aynı alıkonulma zamanına sahiptirler. PBR boyunca olan pozisyon, reaktörde harcanan zamanla orantılıdır ve tüm substrat molekülleri aynı alıkonma zamanına sahip olarak reaksiyon için eşit derecede şansa sahiptir. Bir PBR'ın uzunluğuna bağlı dönüşüm etkinliği bir iyi karıştırılan kesikli reaktörün reaksiyon zamanına benzer. Her hacim elementi PBR boyunca ilerlerken kesikli reaktör gibi davranır. Herhangi bir istenen dönüşüm derecesi PBR'ın uygun bir uzunluğu seçilerek gerçekleştirilebilir.

Kesikli bir reaktör için akış hızı (F), hacim(Vol)/t'ye eşittir. O halde ;

$$(V_{max} / Vol_s) \cdot t = [S]_0 \cdot X - K_m \cdot \ln (1-X)$$

formülü ideal bir PBR için (difüzyon limitlerinin olmadığı farzedilirse) şu şekilde ifade edilebilir;

$$V_{max} / F = [S]_0 \cdot X - \ln (1-X)$$

Burada;
Vol_s: substratın reaktör içindeki hacmi
$[S]_0$: substratın başlangıç konsantrasyonu
X: fraksiyonel dönüşüm ($X=([S]_0-[S])/ [S]_0$)

PBR boyunca ideal bir plug akış elde etmek için turbulent akış laminar akışa tercih edilir çünkü turbulent akış daha iyi bir karışım verir, ısı transferini iyi sağlar ve eksenel geri karışımı azaltır. Yüksek Re sağlanabilir fakat bu kabul edilemeyecek bir besleme miktarında olmamalıdır. PBR'ın plug akış karakteri substrat konsantrasyonunun maksimumda ve ürün konsantrasyonunun
minimumda olmasını sağlayıp reaktör girişinde etkinliğin yüksek ve reaktör çıkışında düşük olması sonucunu doğurur. Bu nedenle diğer tüm faktörler aynı kabul

edilirse ürün inhibisyonu, substrat aktivasyonu ve reaksiyon geri dönüşümleri olan durumlarda PBR'lar tercih edilirler. Düşük Re 'lerde akış hızı PBR boyunca basınç düşmesine orantılıdır. Bu basınç düşmesi genelde yatak yüksekliğine, doğrusal (linear) akış hızına, substratın dinamik viskozitesine ve $(1-\varepsilon)^2/\ \varepsilon^3$ (burada ε reaktörün porosity'sidir ve PBR reaktörün sıvı faz tarafından doldurulan hacminin toplam reaktör hacmine oranı) oranı ile doğru orantılıdır, fakat immobilize enzim parçalarının dik yüzey alanları ile ters orantılıdır. Genel olarak PBR'lar sabitlenmiş ve 1-3 mm çapında olan immobilize enzimlerle kullanılırlar çünkü akış hızındaki artışlar sıkıştırılabilen veya fiziksel olarak zayıf olan parçacıkların yapısını bozabilirler. Parçacıkların deformasyonları katalitik yüzey alanın azalmasına, kötü bir kütle transfer karakterinin ortaya çıkmasına ve basınç düşmesini artırarak akış hızının azalmasına neden olur. Geri basıncın artması, parçacıkların deformasyonları ve akış hızındaki azalma en sonunda PBR boyunca hiç akış olmamasına kadar sonuçlanabilir.

PBR'lar substratlar için derin-yatak filtreleri gibi davranırlar. Reaktörün küçük parçacıklar tarafından tıkanması biyokatalistin deaktivasyonundan önce gerçekleşiyorsa önlem alınmalıdır. Ayrıca bu reaktörler çöken materyaller ve koloidal materyaller tarafından kolayca tıkanabilirler. İdeal plug akıştan sapmalar , geri akış gibi, alıkonma zamanlarında farklılıklar yaratırlar. Aşırı durumlarda geri karışım reaktörün CSTR gibi davranmasına neden olur ve istenilen dönüşümler elde edilemez. Substratın bir kısmının reaktör içinde daha hızlı hareket etmesine ve substratın bir kısmının bazı tıkanmış alanlardan geçememesine neden olan kanallaşma bu sapmaları doğurur. Kanallar reaktör içinde aşırı basınç düşmelerine ve substratın düzensiz akışına neden olurlar. Düzenli boyutlarda katalizörlerin yukarı akış yönünde kullanılması ideal akıştan uzaklaşma tehlikesini ortadan kaldırır.

1.5.2.Akışkan Yatak Reaktörler (FBR)

Bu reaktörler genel olarak CSTR'lar ve PBR'ların arasında bir karekter gösterirler. Bunlar substratın yukarı yönde akışının olduğu immobilize enzim yatağı

içerirler. Yatak genişlemesini sağlayacak minimum bir akış hızına gerek vardır ve bu genişleme boyuta, gözenekliliğe (porosity), parçacıkların yoğunluğuna ve sıvının yoğunluğu ve viskozitesine bağlıdır. Bu minimum akışkan yatak hızı oldukça düşüktür (0,2-0,1 cm s^{-1}). Yüksek akış hızlarında ve küçük reaktör çaplarında ideal plug akış karakteri sağlanabilir. Bununla beraber FBR'ın kinetik performansı PBR ve CSTR arasındadır. FBR'ın dizayn parametreleri PBR veya CSTR'ın hangisine yakın olması isteniyorsa ona göre seçilebilir.

FBR normal olarak yüksek bir katalitik yüzey alanı sağlamak için oldukça küçük immobilize enzim parçacıkları (çap:20-40 μm) ile kullanılır. Bu parçacıklar reaktör dışına çıkmamaları için substrat yoğunluğundan daha fazla bir yoğunluğa sahip olmalıdırlar. Çok yüksek akış hızlarından kanallaşma olmaması ve katalizörlerin kaçmaması için sakınılır.

Novo Laboratuarları tarafından geliştirilen denklem FBR'ın kinetiği için kullanılabilir.

$$\text{Aktivite} = F \cdot DX \cdot (DS \cdot DX \cdot X - K_m \cdot \ln (1-X)\ IGIC/g) / (m \cdot k \cdot \Phi(X) \cdot W)$$

formuna getirilmiştir.

Burada;

F = şurup akış hızı, gr/saat

DS = kuru madde, %w/w

DX = glikoz içeriği, % kuru madde bazında

IGIC/g = Novo izomerizasyon aktivite birimi

X = dönüşüm, fruktoz/(fruktoz+glikoz)

K_m = Michaelis sabiti = 58% w/w (deneysel)

k = istenilen aktivite ünitesi için dönüşüm sabiti = %40 DS için 2,65

W = enzim ağırlığı, gr

m = sıcaklık düzeltme faktörü, 65 ^oC için 1

$\Phi(X)$ = ampirik düzeltme faktörü, X=0,45 için 0,60

1.6. İdeal Olmayan Akışların Biyokimyasal Reaktörlerin Performanslarına Etkileri

Substratın farklı akış hızlarında reaktör boyunca hareketi ile enzimle etkileşim halinde olması ve substratın her elementinin reaktör içinde ürünlere dönüşmesi için farklı alıkonulma sürelerine sahip olduğu durumlarda ideal olmayan akış meydana gelir. Geri-karışım , kanallaşma, veya reaktör boyunca durgun akış bölgelerinin olması ideal olmayan akışa neden olur. İdeal olmayan akışın varlığı reaktör girişine enjekte edilen bir boyanın reaktörü terk etmesi izlenerek anlaşılabilir.

Kanallaşma dolgu maddesinin düzensiz yerleştirilmesinden, aşırı basınç düşmesinden ve substratın kolona dengesiz beslenmesinden kaynaklanır. Akışkan kolon boyunca bir yol tercih eder. Bunun sonucunda kolon içindeki bazı partiküller substratla temas kuramazlar.

Akışkanın homojen olmamasına bir başka neden de destek partiküllerinin büyüklüğündeki ve şeklindeki farklılıklardır. Büyük partiküllerin kolon duvarına yakın dolgulanmasından dolayı kolonun yüzey kesitinde akış hızı değişebilir. Bu, Eddy difüzyonu olarak bilinir.

Kolonlardaki geri-karışım $D_c/\mu l_c$ şeklinde ifade edilen yayılma (dispersiyon) numarası ile belirlenir,

D_c : yayılma katsayısı

μ : interstial hız (yarıklara, çatlaklara ait hız)

l_c : yatağın derinliği

Yayılma numarası kabaca Re (Reynold) numarası ile yükselir. $\mu l_c / D_c$ Bodenstein numarasıdır. Bodenstein numarası (Bo) plug-flow akış varsa ∞'dur ve mükemmel karışım varsa 0'dır. İmmobilize enzim/hücre kolonlarında genellikle ideal akıştan önemli sapmalar olur. Sıklıkla destek maddeleri (partikülleri) arasındaki boşluklar karışma odacıkları gibi davranırlar, Bo'nun 1'den küçük olduğu durumlar. Bununla beraber plug-flow rejimden uzaklaşmaların çok düşük olduğunu ifade eden yayınlar vardır, örneğin polyester keselerdeki Streptomyces hücrelerinin kullanılmasıyla (Ghose&Chand 1978) ve glucoamylazın porous glass partiküllere

immobilize edildiği durumda (Marsh&Tao 1976) plu-flow'a çok yaklaşılmıştır. Hesaplamalar bu sonucu destekler, bundan dolayı dikkatlice çalıştırılan reaktörler plug-flow davranışına yaklaşırlar.

Yayılma numarası Peclet numarasıyla da ifade edilebilir ($N_{pe}= \mu d_p/D_c$),

$D_c/ \mu l_c=d_p/l_c N_{pe}$

Kolonlarda karışma enine (karşıdan karşıya) veya uzunlamasına ya da her iki şekilde de olabilir, ikincisi en büyük problemdir. Uzunlamasına (boyuna) karışım destek partikülleri arasındaki boşlukların karışma odacıkları olarak davranmasından kaynaklanır.

Bir reaktörün verimi geri-karışma'dan birçok yolla etkilenir. Bazı substrat molekülleri reaktörü terk eden ürünle karışarak yeni ürün oluşumunu engellemiş olur. Üstelik geri-karışım substrat konsantrasyonunu düşürerek reaksiyon hızını azaltır. Başka bir etki de ürün konsantrasyonunu artırmaktır.

1.7. İmmobilize Enzim Biyoreaktörlerindeki Fiziksel Problemler

Enzim reaktörlerinin kullanımında başlıca mekanik problem karıştırıcılı reaktörlerde aşınma ve sıkıştırılmış kolonlarda sıkışma (basınç artışı) ve kirlenmedir. Bu şekilde mekanik problemler büyük ölçeklerde gerçekten ortaya çıkarlar, küçük ölçek analitik ve tıbbi kullanımlarda ortaya çıkmazlar.

1.7.1 Aşınma

CSTR ve FBR'lardaki biyokatalist partiküllerinin aşınması shear rate ve partiküller tarafından doldurulan reaktör hacminin oranının artmasıyla artar ve akışkanın viskozitesinin ve destek partiküllerinin güçlülüğünün artmasıyla azalır.

1.7.2. Sıkışma (Basınç Yapma)

Biyokatalist partiküllerinin sıkıştırılmış yatak reaktörlerde basınç altında kalarak sıkışması kolon boyunca akışkan ve destek partikülleri arasındaki sürtünme veya partiküller tarafından kolonun kısmi bloklaşmasından dolayı kolon boyunca aşırı basınç düşmesinden kaynaklanır.

Basınç düşmesi Carmen-Kozeny ve başka benzer denklemlerle ifade edilmiştir (Coulsen & Richardson, 1970), kolonun uzunluğu ve akışkanın akış hızı en önemli belirleyicilerdir. Sıkıştırılmış yatağın kompakt olması küçük veya düzensiz şekilli veya sıkıştırılmış partiküllerin büyük ölçeklerde ve uzun kolonlarda uzun süre kullanımı ile gerçekleşir. Kompres olmayan kolonlarda düşük Reynold Numarasına sahip akışlarda basınç düşmesi akış hızının doğrusal bir fonksiyonudur ve akışa karşı direnç sabittir. Deforme olabilen veya kompres olabilen kolonlarda basınç düşmesi akış hızının artışıyla logaritmik olarak artar.

1.8.Yüksek Fruktozlu Mısır Şurupları (High-Fructose Corn Syrups; HFCS)

1940 ve 1950'lerde glikoamilaz'ın geliştirilmesi ile yüksek DE (Dekstroz Eşdeğeri) glikoz şuruplarının üretimi hızlandı. Bununla beraber D-glikoz şurubu sukrozun tatlılığının sadece %70'ine sahiptir ve kristalize olmaması için sıcak olarak korunmalıdır ve düşük konsantrasyonlarda mikrobiyal aktiviteye maruz kalır. Fruktoz sukrozdan %30 daha tatlıdır. Glikozun fruktoza dönüştürülmesi bu problemin üstesinden gelir. İzomerizasyon kimyasal olarak mümkündür fakat ekonomik değildir (0,1 M glukoz 1,22 M KOH ile 5 ^{o}C ve azot altında 3,5 ay bekletilirse sadece %5 fruktoz oluşur, glikozun %7'si değişmeden kalır ve büyük oranda hidroksi asitler meydana gelir).

Enzim teknolojisinin en büyük gelişmelerinden biri glikoz izomeraz enziminin bulunmasıdır. Tüm glikoz izomeraz enzimleri immobilize formda kullanılırlar. İmmobilizasyonda farklı organizmalar için değişik metotlar

kullanılmaktadır. İmmobilizasyon genel olarak gluteraldehit ile çarpraz bağlamayla yapılır.

1 kg glikoz izomeraz enzimi hayatı süresince katı madde olarak 10-11 ton %42 fruktoz şurubu üretir.

İzomerizasyon sonrasında şurubun pH' ı 4-5 'e düşürülür ve iyon değiştiriciler ve aktif karbon ile saflaştırılır. Daha sonra evaporasyon ile 70% katı maddeli şurup haline getirilir. Birçok amaç için %42 fruktoz şurubu idealdir. Fakat sükroza alternatif olduğu asidik içecekler için uygun değildir. Bu içeceklerde %55 fruktoz şurubu kullanılmaktadır. Bu şurup fruktozu diğer şekerlerden ayıran kromatografik bir metotla üretilir.

HFCS için şu anki dünya pazarı 5 milyon tonun üzerindedir. Bunun %60'ı %55 fruktoz ve geriye kalanı %42 fruktoz şurubu olarak dağılmaktadır. Bu pazar her geçen gün artmaktadır ve HFCS üretimi immobilize enzim teknolojisi için en büyük uygulamadır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

M.Asıf ve A.E.Abasaeed, 30 July 1997 Bioresource Technology, immobilize akışkan yatak biyoreaktörle glikoz'un fruktoz'a dönüştürülebileceğini bildirmişler ve bu tip reaktörün kütle transfer direncini düşürdüğünü ve bunun sonucunda da prosesin daha etkin yani enzimin daha etkin olduğunu belirtmişlerdir.

Emilio Palazzi ve Attilio Converti, 13 October 2000 Enzyme and Microbial Technology, çalışmalarında Immobilize Glikoz izomeraz enzimin difüzyon direncini incelemişler ve bu çalışmada Glikoz'dan Fruktoz'a dönüşüm proses performansının enzimin termal inaktivasyonundan önemli derecede etkilendiğini belirtmişlerdir.

N.M.Faqir, 7 July 1997 Bioprocess Engineering, sıkıştırılmış yatak reaktörde optimum sıcaklık ve sıcaklıkla enzimin prodüktivite değişimini incelemiştir. Bu çalışmada optimum azalan sıcaklıklarla yapılan denemelerde enzim prodüktivitesinde %7 artış olduğunu belirtmiştir.

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

pH-metre (Consort pH/EC Meter C731), Refraktometre (Atago 3T), HPLC (Shimadzu LC-10AS), Pharmacia UV/Visible Spektrofotometre

Sodyum Hidroksit (NaOH), Sülfürik Asit (H_2SO_4), İyot çözeltisi, Nişasta İndikatörü, Trietanolamin, Potasyum Hidroksit, EDTA, Amonyak (NH_3), İmmobilize Glikoz İzomeraz Enzimi, Glikoz Şurubu, Sodyum Karbonat (Na_2CO_3), Sodyum Metabisülfit ($MgSO_4.7H_2O$)

3.2. Metod

60 ppm Mg, 80 ppm sodyum metabisülfit (BSS) içeren ve pH'sı 7,8 olacak şekilde ayarlanmış olan %95'lik glikoz (Dextrozu 95%) şurubu T=54 ^oC'de glikoz izomeraz enzimi yüklenmiş reaktörlere beslendi. Fabrika ortamında hazırlanan deney düzeneği Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de görülebilir. Şekil 3.1'de görülen izomerizasyon deney kolonları besleme tankı deney kolonlarında gerekli basıncı sağlamak amacıyla 10 m. yüksekliğe konuldu. Üç farklı H/D oranına sahip 6 adet reaktör Şekil 3.2'de görüldüğü gibi ana bir kollektörden beslendi.



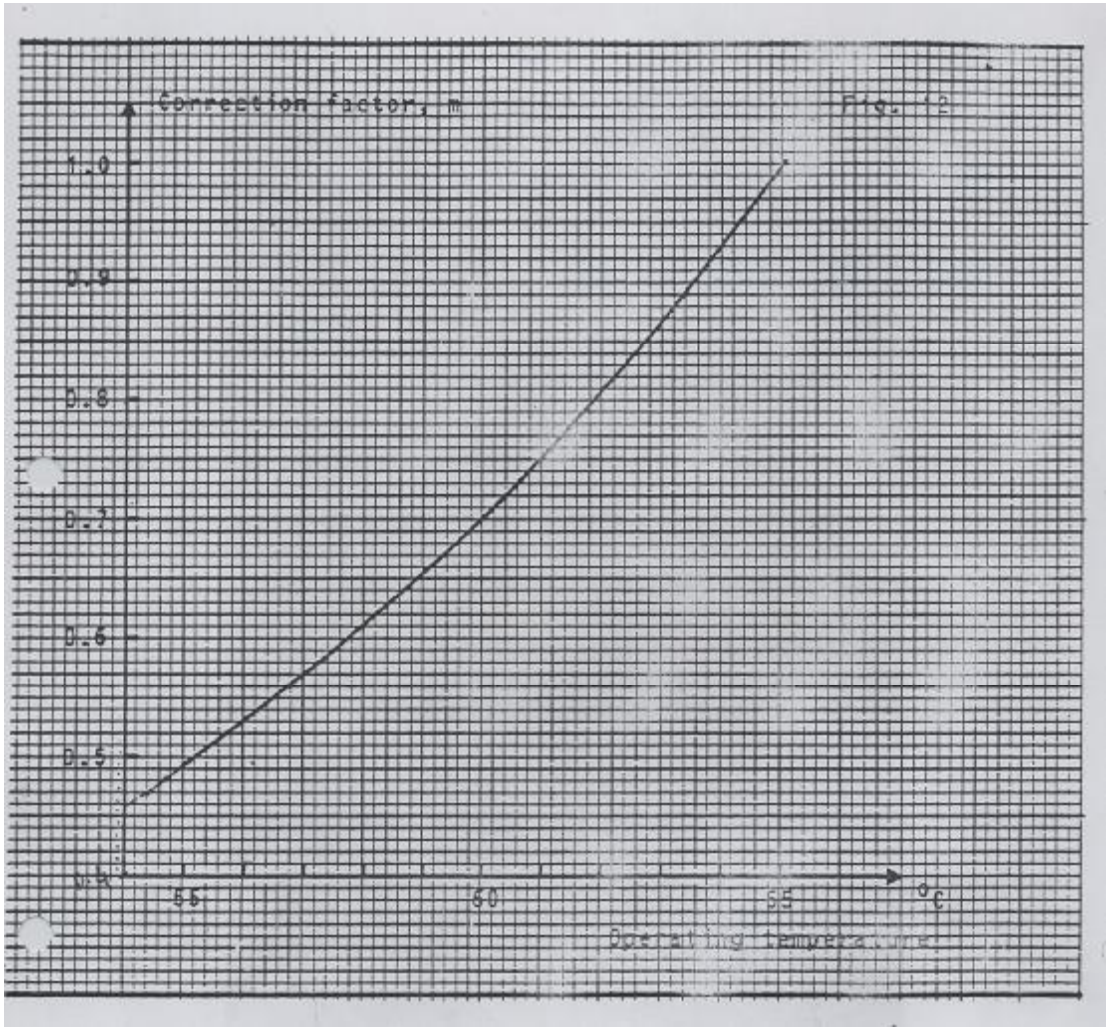
Şekil 3.1. İzomerizasyon kolonları D-95 şurubu besleme tankı



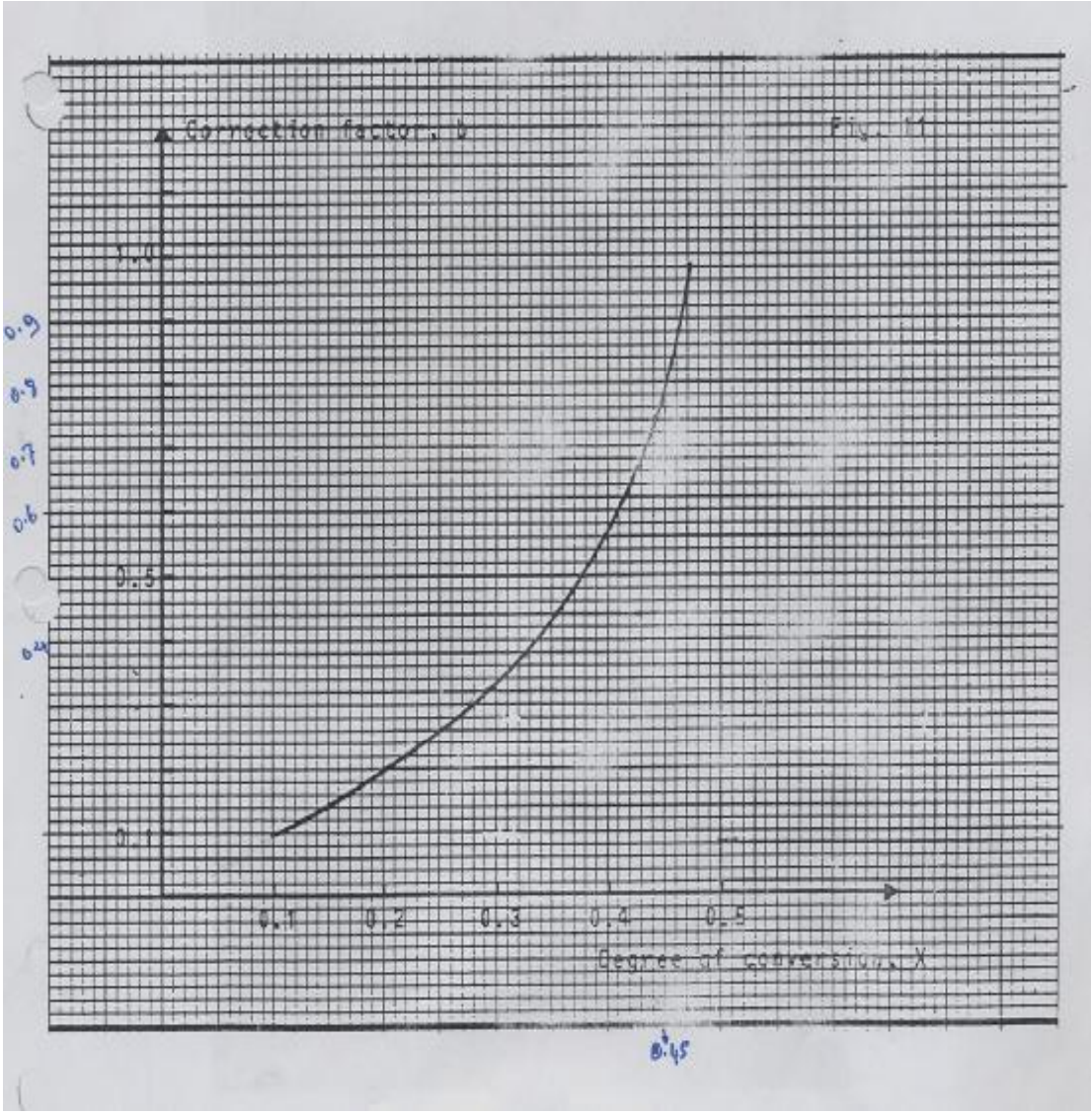
Şekil 3.2. İzomerizasyon kolonları

Reaktör çıkışından ve reaktörlerin orta bölümlerinden alınan şurup numuneleri birer kapta toplandı ve belirli zaman aralıklarında şeker spektrumları saptandı, yan ürünlerin oluşumlarının kontrolü için absorbanslarına ve pH'larına bakıldı. Alınan şeker spektrumu değerleri Novo laboratuvarları tarafından bildirilen aktivite eşitliğinde yerine konarak enzimin her numune için kinetiği hesaplandı. Eşitlikteki düzeltme faktörleri için Şekil 3.3. ve Şekil 3.4 kullanıldı. Bulunan günlük aktivite değerleri kullanılarak aktivite-zaman grafiği çizildi. Deney sürecinde cam kolonlardan 3 tanesinin kırılması sonucu H/D oranları 2,67; 1,71; 1,25 olan FBR'lar ile deneye devam edildi ve PBR için fabrika ölçeğinde üretime devam eden ve H/D oranı 3,75 olan izomerizasyon kolonundan veriler alındı. Enzimin başlangıç aktivitesinin yarısına gelindiği süre grafikten okunarak her iki reaktör türü için bulunan değerlerden enzimin o reaktörler

içindeki yarı ömrü "half-life"ı belirlendi. Ayrıca FBR reaktörlerin orta bölümlerinden (Şekil 3.2 veya Şekil 4.1'e bakınız) alınan numunelerin değerleri analiz edildi ve reaktör bölmesi hacminde fruktoz'a dönüşüm "reaktör hacmi-aktivite" ve "enzim miktarı-aktivite" grafiğine aktarıldı. Çalışma sonunda enzimin reaktör türleri için yarı ömürleri ve reaktör dizaynı için en uygun "yükseklik/çap" oranı bulundu. Reaktörler boyunca yapılan kinetik çalışmalar ile ilgili bulgular, ayrıca her iki reaktör türü ve üç değişik "yükseklik/çap" oranı için de renk ve yan ürün oluşumları karşılaştırıldı.



Şekil 3.3. İzomerizasyon kolonu çalışma sıcaklığı-düzeltme faktörü grafiği



Şekil 3.4. Fruktoza dönüşüm-düzeltme faktörü grafiği

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1 Sıkıştırılmış Yatak Reaktörle Yapılan Çalışmada Elde Edilen Bulgular

Sıkıştırılmış yatak reaktörle yapılan çalışmada H/D oranı 3,75 olarak seçilmiştir. Datalar günlük olarak alınmış ve enzim yarı ömrünü tamamlayana kadar devam edilmiştir. Aktivite hesaplamasında

$$A=((DSF*DP1)/W)/(a*(b_0-b_i)/m) \quad \text{.....denklem 4.1}$$

formülü kullanılmıştır.

Burada;

A= Enzim aktivitesi, IGIC/g enzim

DSF= Şurup katı madde akış hızı, kg /saat

DP1= Glikoz+Fruktoz, % w/w

(DP1 izomerizasyon sırasında değişmez)

w= Enzim miktarı, kg

a= Şurup katı madde için faktör (%50 km için 1,05)

$b_0 = X_{çıkış}$ için faktör (referans Ek.2)

$b_i = X_{giriş}$ için faktör (referans Ek.2)

m= Sıcaklık için faktör (referans Ek.3)

Burada reaktörün H/D oranı 3,75'dir. Enzimin bu reaktör için yarı-ömrü 122 gün ve prodüktivitesi 5527,9 kg şurup/kg enzim olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. H/D oranı 3,75 olan Sıkıştırılmış Yatak Reaktörde enzimin aktivitesi ve prodüktivitesi

GÜN	A	TP	GÜN	A	TP	GÜN	A	TP
1	214	56,4	51	224	2475,6	101	192	4681,2
2	273	121,0	52	224	2520,0	102	185	4721,5
3	238	169,3	53	211	2564,4	103	181	4761,8
4	238	217,7	54	256	2608,7	104	188	4802,1
5	254	266,1	55	191	2653,1	105	203	4838,4
6	250	314,5	56	233	2697,4	106	188	4878,7
7	276	366,9	57	256	2741,8	107	178	4919,0
8	271	415,3	58	246	2790,1	108	164	4959,4
9	304	463,7	59	267	2834,5	109	175	5003,7
10	287	512,1	60	238	2882,9	110	264	5048,1
11	313	564,5	61	246	2931,3	111	181	5092,4
12	289	616,9	62	238	2979,6	112	171	5132,7
13	308	669,3	63	246	3028,0	113	181	5177,1
14	287	729,8	64	267	3076,4	114	145	5213,4
15	287	790,3	65	187	3132,9	115	151	5249,7
16	273	846,7	66	238	3181,2	116	148	5286,0
17	259	903,2	67	169	3225,6	117	136	5326,3
18	172	959,6	68	218	3274,0	118	164	5366,6
19		959,6	69	230	3322,4	119	191	5410,9
20	212	1004,0	70	222	3370,8	120	174	5455,3
21	257	1048,3	71	232	3419,1	121	142	5491,6
22	254	1092,7	72	186	3467,5	122	148	5527,9
23	230	1137,0	73	213	3515,9	123		
24	250	1185,4	74	209	3564,3	124		
25	254	1233,8	75	213	3612,7	125		
26	261	1290,2	76	222	3661,1	126		
27	247	1338,6	77	209	3709,4	127		
28	269	1387,0	78	218	3757,8	128		
29	280	1439,4	79	198	3798,1	129		
30	248	1495,9	80	257	3838,5	130		
31	215	1548,3	81	222	3878,8	131		
32	286	1604,7	82	236	3919,1	132		
33	243	1661,2	83	188	3959,4	133		
34	243	1717,6	84	166	3999,7	134		
35	243	1774,1	85	192	4040,1	135		
36	212	1818,4	86	185	4080,4	136		
37	250	1862,8	87	198	4120,7	137		
38	248	1907,1	88	205	4161,0	138		

39	245	1955,5	89	198	4201,3	139		
40		1955,5	90	195	4241,7	140		
41	220	1999,9	91	203	4286,0	141		
42	182	2044,2	92	192	4326,3	142		
43	214	2100,7	93	191	4362,6	143		
44	255	2157,1	94	203	4407,0	144		
45	240	2205,5	95	151	4443,3	145		
46	232	2249,9	96	161	4483,6	146		
47	240	2294,2	97	196	4532,0	147		
48	254	2342,6	98	192	4572,3	148		
49	219	2382,9	99	219	4608,6	149		
50	236	2431,3	100	167	4640,8	150		

A: Aktivite (IGIC/g enzyme)
TP: Toplam Prodüktivite (kg katı madde şurup/kg enzyme)

4.1.2. Akışkan Yatak Reaktörlerin Farklı H/D Oranları İçin Elde Edilen Bulgular

H/D oranları 2,67; 1,71; 1,25 olan akışkan yatak reaktörler için denklem 4.1 kullanılarak elde edilen bulgular Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. H/D oranı 2,67 olan Akışkan Yatak Reaktörde enzimin aktivitesi ve prodüktivitesi

GÜN	A	TP	GÜN	A	TP	GÜN	A	TP
1	252	42,3	51	195	2439,7	101	210	4630,7
2	178	74,1	52	214	2485,3	102	210	4673,0
3	178	105,8	53	214	2530,8	103	210	4715,4
4	215	149,9	54	214	2576,4	104	210	4757,7
5	230	202,9	55	214	2622,0	105	169	4800,1
6	230	255,8	56	214	2667,5	106	169	4842,6
7	181	290,4	57	210	2712,3	107	169	4885,0
8	288	341,8	58	210	2757,0	108	169	4927,5
9	288	393,2	59	210	2801,8	109	179	4967,0
10	330	456,1	60	210	2846,5	110	179	5006,5

11	330	519,0	61	207	2888,9	111	179	5046,0
12	330	581,9	62	204	2934,0	112	179	5085,5
13	189	634,3	63	204	2979,2	113	187	5125,3
14	189	686,7	64	204	3024,4	114	187	5165,1
15	201	725,0	65	176	3068,7	115	187	5205,0
16	201	763,3	66	176	3113,1	116	179	5249,9
17	201	801,6	67	184	3155,4	117	179	5294,9
18	201	839,9	68	184	3197,7	118	179	5339,8
19	201	878,2	69	187	3239,1	119	179	5384,8
20	201	916,5	70	187	3280,4	120	184	5431,0
21	248	960,9	71	165	3321,9	121	184	5477,1
22	248	1005,2	72	165	3363,4	122	181	5518,9
23	197	1059,7	73	182	3405,5	123	181	5560,6
24	197	1114,1	74	182	3447,5	124	181	5602,3
25	197	1168,5	75	207	3489,2	125	181	5644,0
26	162	1203,0	76	207	3531,0	126	181	5685,8
27	234	1264,7	77	207	3572,7	127	184	5726,4
28	234	1326,4	78	217	3618,9	128	184	5767,0
29	114	1359,5	79	217	3665,0	129	184	5807,6
30	182	1412,5	80	217	3711,2	130	184	5848,3
31	182	1465,4	81	217	3757,4	131	184	5888,9
32	182	1518,3	82	210	3800,4	132	171	5928,4
33	239	1569,2	83	210	3843,5	133	171	5967,9
34	240	1620,2	84	210	3886,5	134	171	6007,4
35	240	1671,3	85	210	3929,5	135	171	6046,9
36	260	1722,7	86	193	3980,4	136	163	6087,9
37	260	1774,1	87	193	4031,3	137	163	6128,8
38	156	1819,7	88	193	4082,2	138	163	6169,7
39	156	1865,3	89	193	4133,2	139	177	6208,9
40	156	1910,8	90	178	4174,3	140	177	6248,1
41	156	1956,4	91	178	4215,4	141	177	6287,3
42	197	2008,2	92	178	4256,5	142	168	6324,5
43	197	2060,0	93	188	4296,7	143	144	6360,0
44	197	2111,8	94	188	4336,8	144		
45	197	2163,6	95	188	4376,9	145		
46	197	2215,4	96	188	4417,0	146		
47	195	2260,3	97	186	4459,8	147		
48	195	2305,1	98	186	4502,7	148		
49	195	2350,0	99	186	4545,5	149		
50	195	2394,9	100	186	4588,4	150		

A: Aktivite (IGIC/g enzyme)
TP: Toplam Prodüktivite (kg katı madde şurup/kg enzyme)

Çizelge 4.3. H/D oranı 1,71 olan Akışkan Yatak Reaktörde enzimin aktivitesi ve prodüktivitesi

GÜN	A	TP	GÜN	A	TP	GÜN	A	TP
1	254	48,4	51	161	2115,2	101	193	4301,5
2	164	80,1	52	161	2157,6	102	193	4344,1
3	164	111,9	53	161	2199,9	103	193	4386,8
4	207	156,0	54	161	2242,2	104	193	4429,4
5	215	212,7	55	190	2284,3	105	193	4472,0
6	215	269,4	56	190	2326,3	106	154	4516,8
7	166	304,9	57	190	2368,3	107	154	4561,5
8	280	362,3	58	189	2423,4	108	154	4606,3
9	280	419,8	59	189	2478,4	109	154	4651,1
10	241	462,7	60	184	2528,0	110	154	4695,8
11	241	505,7	61	184	2577,6	111	161	4738,2
12	241	548,6	62	184	2627,2	112	161	4780,7
13	170	598,0	63	184	2676,8	113	161	4823,1
14	170	647,4	64	157	2719,1	114	161	4865,6
15	177	685,1	65	157	2761,5	115	161	4908,0
16	177	722,8	66	157	2803,8	116	169	4953,6
17	233	767,2	67	146	2839,7	117	169	4999,1
18	233	811,7	68	146	2875,6	118	169	5044,7
19	157	856,1	69	145	2914,6	119	176	5083,6
20	157	900,6	70	145	2953,6	120	176	5122,5
21	226	944,4	71	145	2992,6	121	176	5161,4
22	226	988,3	72	185	3042,5	122	161	5201,9
23	226	1032,1	73	185	3092,4	123	161	5242,4
24	226	1076,0	74	185	3142,3	124	161	5283,0
25	226	1119,8	75	180	3182,2	125	161	5323,5
26	132	1153,1	76	180	3222,1	126	161	5364,0
27	132	1186,4	77	180	3262,0	127	135	5399,5
28	184	1222,6	78	180	3301,9	128	135	5435,0
29	154	1245,7	79	164	3345,2	129	135	5470,5
30	189	1274,5	80	164	3388,4	130	135	5505,9
31	189	1303,2	81	164	3431,7	131	135	5541,4
32	189	1331,9	82	164	3474,9	132	139	5576,3
33	200	1382,3	83	191	3517,2	133	139	5611,2
34	200	1432,7	84	191	3559,4	134	139	5646,1
35	200	1483,1	85	191	3601,6	135	162	5686,0
36	192	1533,7	86	191	3643,9	136	162	5725,9
37	192	1584,3	87	191	3686,1	137	162	5765,8
38	133	1617,7	88	155	3725,2	138	162	5805,7

39	133	1651,0	89	155	3764,3	139	142	5846,0
40	133	1684,4	90	155	3803,4	140	142	5886,4
41	133	1717,8	91	155	3842,5	141	142	5926,7
42	183	1754,0	92	162	3882,4	142	118	5961,1
43	183	1790,2	93	162	3922,2	143	118	5995,4
44	131	1823,1	94	162	3962,0	144		
45	131	1856,1	95	162	4001,8	145		
46	131	1889,0	96	190	4053,2	146		
47	158	1935,0	97	190	4104,6	147		
48	158	1981,0	98	190	4156,0	148		
49	158	2026,9	99	190	4207,4	149		
50	158	2072,9	100	190	4258,8	150		

A: Aktivite (IGIC/g enzyme)
TP: Toplam Prodüktivite (kg katı madde şurup/kg enzyme)

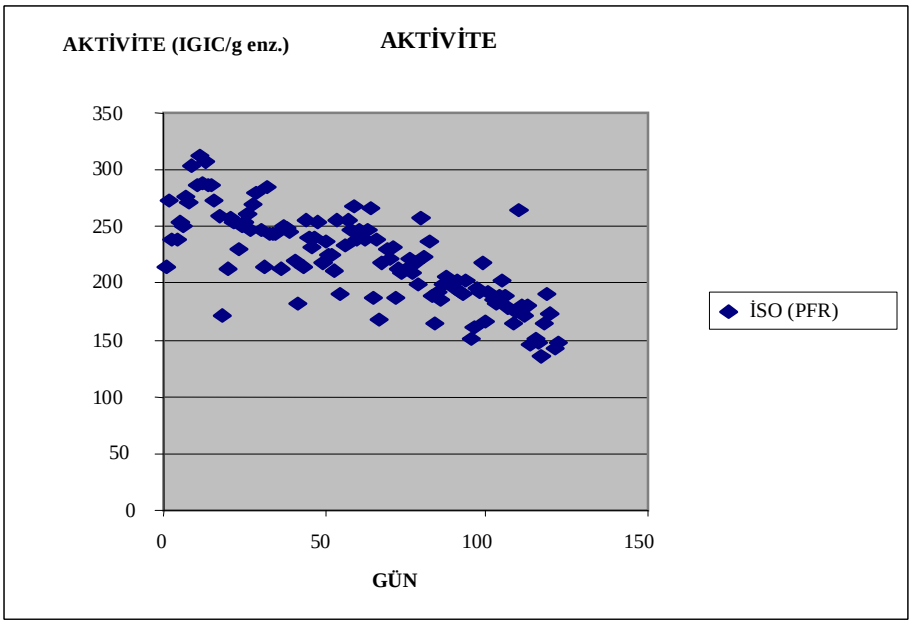
Çizelge 4.4. H/D oranı 1,25 olan Akışkan Yatak Reaktörde enzimin aktivitesi ve prodüktivitesi

GÜN	A	TP	GÜN	A	TP	GÜN	A	TP
1	199	42,3	51	151	2156,4	101	175	4040,7
2	120	74,1	52	151	2199,1	102	175	4081,1
3	120	105,8	53	157	2235,2	103	175	4121,5
4	182	153,7	54	157	2271,3	104	175	4161,9
5	195	210,4	55	157	2307,4	105	159	4201,1
6	195	267,1	56	157	2343,5	106	159	4240,3
7	169	301,7	57	157	2379,6	107	159	4279,6
8	275	359,1	58	157	2415,7	108	159	4318,8
9	275	416,6	59	157	2451,7	109	159	4358,0
10	275	475,1	60	140	2488,7	110	159	4397,2
11	275	533,5	61	140	2525,7	111	150	4437,7
12	275	592,0	62	140	2562,7	112	150	4478,2
13	195	641,0	63	140	2599,7	113	150	4518,7
14	195	690,0	64	140	2636,7	114	150	4559,3
15	146	727,5	65	149	2671,1	115	147	4596,2
16	146	765,0	66	149	2705,5	116	147	4633,1
17	146	802,5	67	149	2739,8	117	147	4669,9
18	146	840,0	68	149	2776,5	118	147	4706,8
19	224	877,4	69	125	2812,8	119	147	4743,7
20	157	913,7	70	125	2849,1	120	164	4781,5

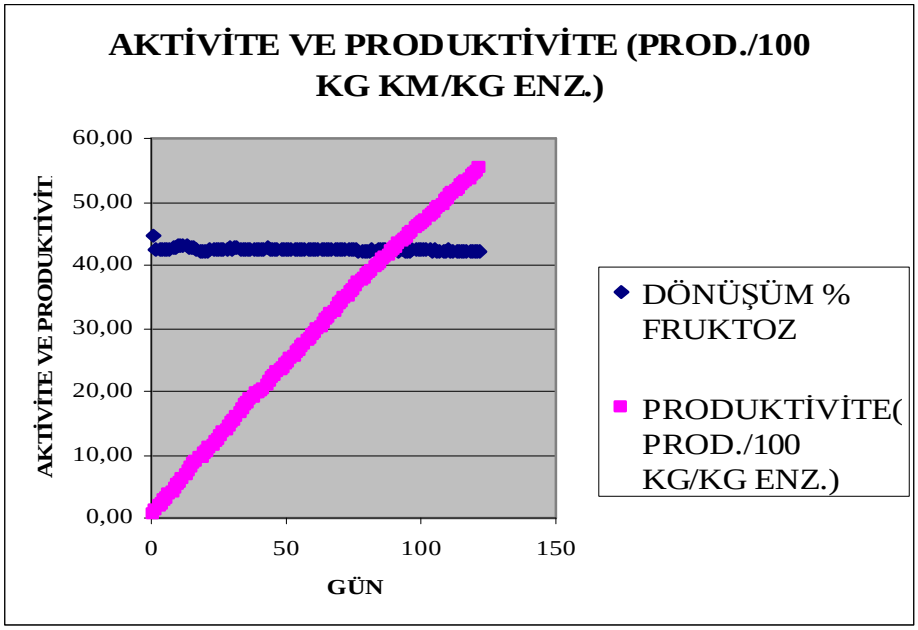
21	168	958,1	71	159	2889,2	121	164	4819,3
22	168	1002,4	72	159	2929,3	122	153	4860,6
23	162	1050,8	73	162	2966,7	123	153	4901,8
24	162	1099,2	74	162	3004,1	124	153	4943,0
25	162	1147,6	75	161	3041,2	125	153	4984,2
26	162	1196,0	76	161	3078,3	126	153	5025,5
27	219	1244,4	77	161	3115,4	127	143	5064,0
28	156	1274,6	78	161	3152,5	128	143	5102,5
29	111	1291,0	79	169	3191,5	129	143	5141,0
30	166	1319,8	80	169	3230,5	130	132	5179,5
31	166	1348,5	81	169	3269,5	131	132	5218,0
32	166	1377,2	82	169	3308,5	132	129	5255,6
33	185	1426,0	83	169	3347,6	133	129	5293,2
34	186	1474,9	84	160	3382,9	134	143	5330,8
35	186	1523,9	85	160	3418,3	135	142	5368,1
36	196	1573,2	86	160	3453,7	136	142	5405,4
37	196	1622,5	87	160	3489,1	137	142	5442,7
38	140	1658,5	88	160	3524,5	138	126	5479,4
39	140	1694,6	89	160	3566,5	139	126	5516,1
40	140	1730,7	90	160	3608,5	140	126	5552,8
41	140	1766,8	91	160	3650,6	141	128	5585,0
42	159	1802,0	92	158	3688,7	142	115	5614,0
43	159	1837,2	93	158	3726,8	143	115	5643,1
44	159	1872,3	94	158	3764,9	144		
45	159	1907,5	95	158	3803,0	145		
46	159	1942,7	96	149	3842,2	146		
47	151	1985,4	97	149	3881,4	147		
48	151	2028,2	98	149	3920,6	148		
49	151	2070,9	99	149	3959,8	149		
50	151	2113,7	100	175	4000,2	150		

A: Aktivite (IGIC/g enzyme)
TP: Toplam Prodüktivite (kg katı madde şurup/kg enzyme)

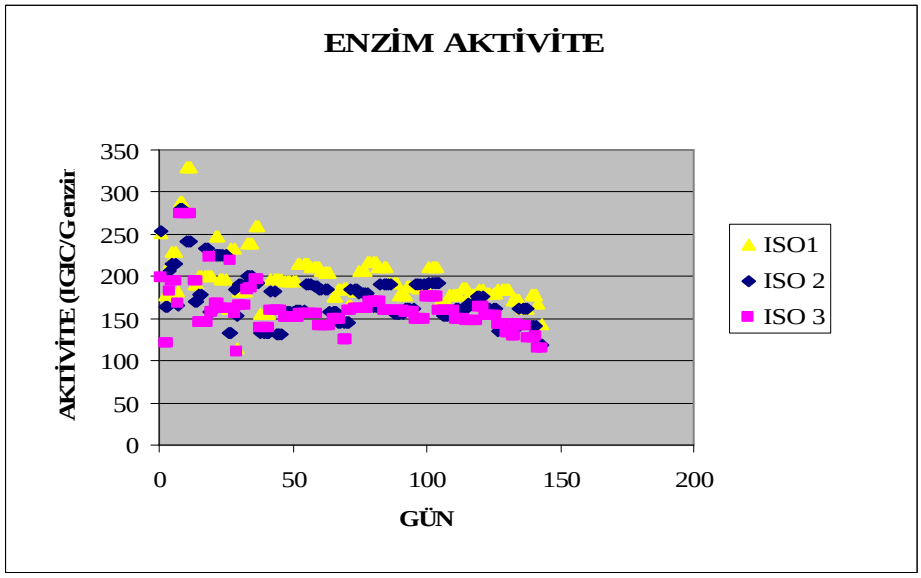
Akışkan yatak reaktörlerin 2,67;1,71;1,25 H/D oranları için yarı ömürleri 143 gün ve prodüktiviteleri sırasıyla 6360 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim, 5995 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim ve 5643 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim olarak bulunmuştur.



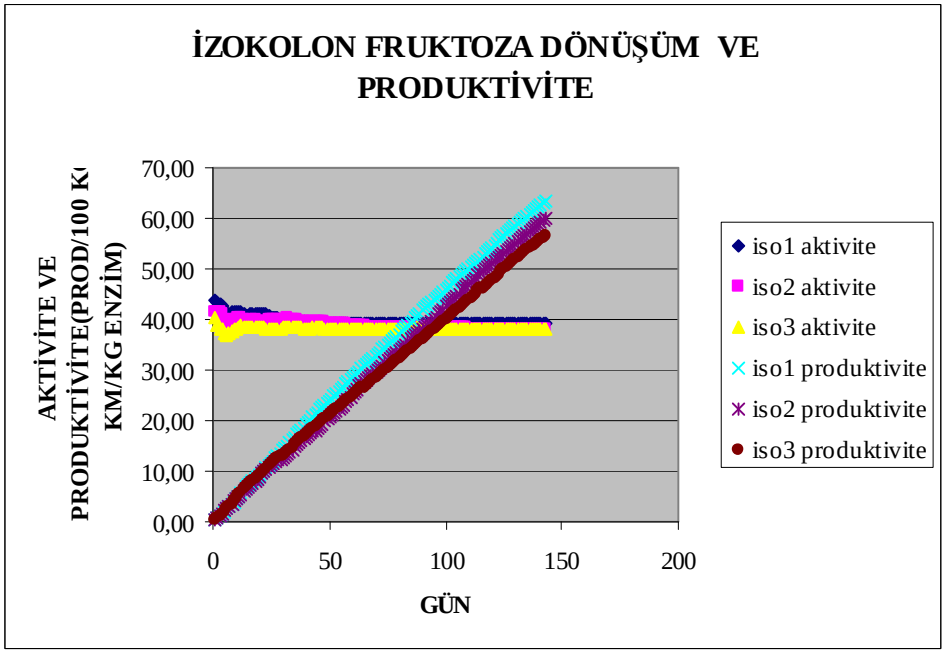
Şekil 4.1. Sıkıştırılmış yatak reaktör için aktivite-gün ilişkisi



Şekil 4.2. Sıkıştırılmış yatak reaktör için fruktoza dönüşüm ve prodüktivite-gün ilişkisi



Şekil 4.3. Akışkan yatak reaktörler için aktivite-gün ilişkisi (ISO1:H/D=2,67; ISO2:H/D=1,71; ISO3:H/D=1,25)



Şekil 4.4. Akışkan yatak reaktörler için fruktoza dönüşüm ve prodüktivite-gün ilişkisi (ISO1:H/D=2,67; ISO2:H/D=1,71; ISO3:H/D=1,25)

4.1.3. Akışkan Yatak Reaktörlerin Farklı H/D Oranları İçin Elde Edilen Aktivite-Hacim İlişkisi

H/D oranları 2,67; 1,71; 1,25 olan akışkan yatak reaktörler için denklem 4.1 kullanılarak elde edilen bulgular Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Reaktörler Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi 3 bölmeye ayrılmış ve her ilgili reaktör ve ilgili bölmedeki hacimde enzim aktivitesi hesaplanmıştır ve aşağıdaki tabloda değerler verilmiştir.

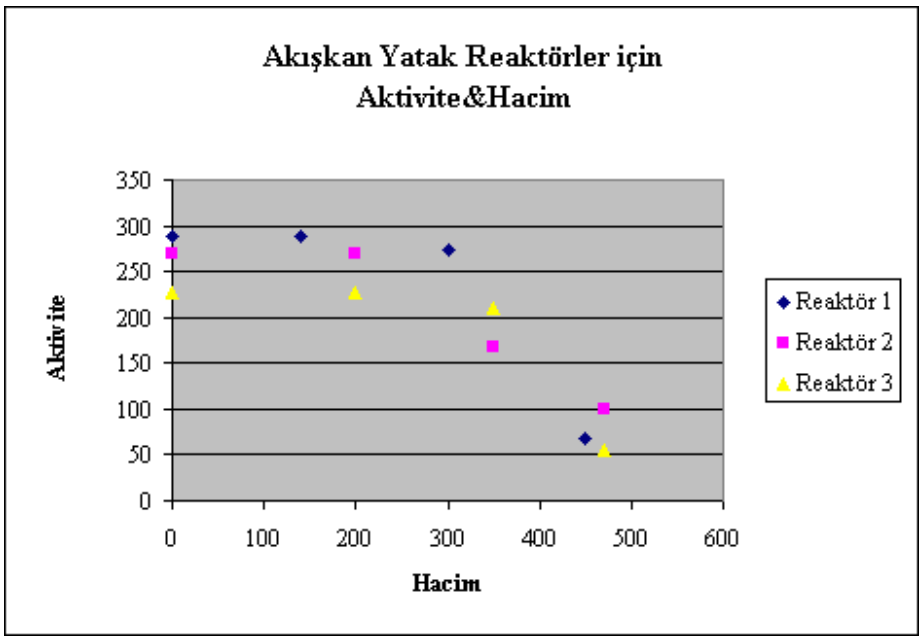


Şekil 4.5. Akışkan Yatak Reaktörlerin Bölmeleri

Çizelge 4.5. Farklı H/D Oranlarındaki Akışkan Yatak Reaktörlerin Aktivite-Hacim İlişkisi

V(Hacim) ml	Reaktör1 A	Reaktör2 A	Reaktör3 A
0	289	269	227
140	289		
200		269	227
300	274		
350		168	209
450	67		
470		100	56
480			

Reaktör1: H/D=2,67
Reaktör2: H/D=1,71
Reaktör3: H/D=1,25
V (Hacim) : ml
A: Aktivite (IGIC/g enzim)



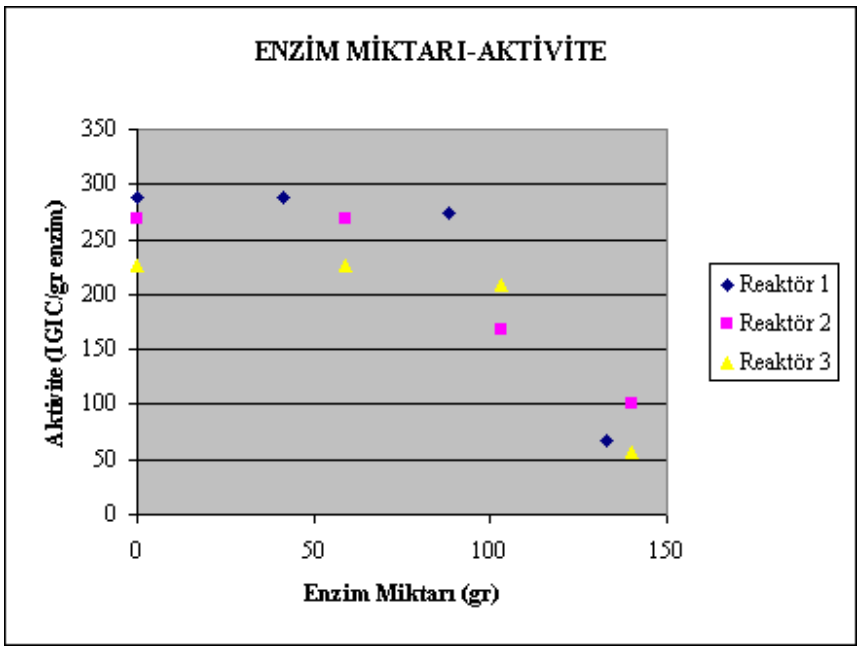
Reaktör1: H/D=2,67
Reaktör2: H/D=1,71
Reaktör3: H/D=1,25
Aktivite: IGIC/g enzim
Hacim: ml

Şekil 4.6. Farklı H/D Oranlarındaki Akışkan Yatak Reaktörlerde Aktivite-Hacim İlişkisi

Çizelge 4.6 Akışkan Yatak Reaktörlerde Aktivite-Enzim miktarı ilişkisi

Enzim Miktarı (gr)	Reaktör 1 A	Reaktör 2 A	Reaktör 3 A
0	289	269	227
41,3	289		
58,9		269	227
88,5	274		
103,1		168	209
132,7	67		
140		100	56

A : Aktivite
(IGIC/g enzim)



Şekil 4.7. Akışkan Yatak Reaktörlerde Aktivite-Enzim miktarı ilişkisi

Çizelge 4.7. Sıkıştırılmış ve Akışkan Yatak Reaktörler için besleme ve çıkış absorbans (282 nm) değerleri

Numune No	**PBR**		**Reaktör 1**		**Reaktör 2**		**Reaktör 3**	
	Giriş	**Çıkış**	**Giriş**	**Çıkış**	**Giriş**	**Çıkış**	**Giriş**	**Çıkış**
1	0,78	0,90	0,74	0,97	0,72	0,99	0,77	0,86
2	0,82	1,00	0,82	0,98	0,80	1,02	0,81	1,06
3	0,81	1,13	0,80	1,12	0,82	1,04	0,80	1,08
4	0,72	1,18	0,76	0,98	0,74	0,99	0,75	0,80
5	0,65	0,96	0,66	0,86	0,68	0,84	0,69	1,19
6	0,77	1,08	0,75	1,01	0,74	1,03	0,75	1,05
7	0,62	1,05	0,65	1,05	0,63	1,04	0,64	1,10
8	0,88	1,12	0,85	1,10	0,84	1,10	0,82	1,12
9	0,72	0,99	0,74	1,19	0,71	1,18	0,75	1,00
10	0,74	1,02	0,74	1,06	0,72	1,02	0,62	1,07
11	0,65	1,03	0,66	1,00	0,68	1,02	0,68	0,90
12	0,81	0,98	0,80	1,05	0,79	0,99	0,66	1,20
13	0,80	1,03	0,77	1,03	0,73	1,01	0,81	1,05
14	0,67	1,05	0,62	1,04	0,68	1,06	0,67	1,02
15	0,66	1,02	0,68	1,03	0,63	1,08	0,66	1,10
Ortalama	0,74	1,04	0,74	1,03	0,73	1,03	0,73	1,04

PBR : Sıkıştırılmış Yatak Reaktör H/D=3,75
Reaktör1: H/D=2,67
Reaktör2: H/D=1,71
Reaktör3: H/D=1,25

Çizelge 4.8. Sıkıştırılmış ve Akışkan Yatak Reaktörlerde % izo-fruktoz oluşumu

Numune No	PBR	Reaktör 1	Reaktör 2	Reaktör 3
1	0,27	0,28	0,28	0,29
2	0,28	0,31	0,29	0,27
3	0,32	0,26	0,30	0,29
4	0,29	0,27	0,28	0,28
5	0,31	0,29	0,28	0,28
6	0,32	0,31	0,31	0,29
7	0,30	0,32	0,28	0,30
8	0,29	0,29	0,29	0,31
9	0,31	0,28	0,31	0,31
10	0,27	0,28	0,28	0,28
11	0,31	0,32	0,31	0,27
12	0,32	0,31	0,32	0,28
13	0,29	0,29	0,31	0,31
14	0,28	0,28	0,28	0,29
15	0,27	0,28	0,32	0,31
Ortalama	0,30	0,29	0,30	0,29

PBR : Sıkıştırılmış Yatak Reaktör H/D=3,75
Reaktör1: H/D=2,67
Reaktör2: H/D=1,71
Reaktör3: H/D=1,25

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1.Sonuçlar

Bu çalışmada İmmobilize Glikoz İzomeraz Enziminin (IGI) farklı H/D oranındaki sıkıştırılmış yatak ve akışkan yatak reaktörlerindeki çalışma kinetikleri, yarı ömürleri ve prodüktiviteleri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. H/D oranı 3,75 olan sıkıştırılmış yatak reaktördeki glikoz izomeraz enzimi yarı ömrü 122 gün ve prodüktivitesi 5528 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim olarak bulunmuştur. Akışkan yatak reaktörlerin 2,67;1,71;1,25 H/D oranları için yarı ömürleri 143 gün ve prodüktiviteleri sırasıyla 6360, 5995 ve 5643 kg fruktoza dönüşen katı madde/kg enzim olarak bulunmuştur. Yarı ömürler sonunda sıkıştırılmış yatak reaktörün ortalama fruktoza dönüştürme yüzdesi %42,13 iken akışkan yatak reaktörleri için bu değer sırasıyla %39,24; %38,05; %37,90 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada sıkıştırılmış yatak reaktörler ve akışkan yatak reaktörlerin farklı H/D oranları için yan ürün oluşması açısından herhangi bir fark gözlenmemiştir. % 42 fruktoz şurubunda, izomerizasyon kolonu içinde renk oluşumu her kolon için 282 nm ultra-violet dalgaboyunda absorbans değeri 0,3 ölçülmüştür, izomerizasyon kolonları girişlerinde ve çıkışlarında absorbans değerleri sırasıyla 0,75 ve 1,05 okunmuştur. Kolonlarda izo-fruktoz oluşumu karşılaştırılmış ve her kolon için izo-fruktoz oluşum miktarı %0,30 olarak ölçülmüştür.

5.2.Öneriler

Yapılan bu çalışmada akışkan yatak reaktörler için H/D oranı büyüdükçe enzimin fruktoza dönüşümünün arttığı ve enzimin prodüktivetisinin yükseldiği gözlenmiştir.

Endüstriyel ölçeklerde akışkan yatak dizaynı yapılırken H/D oranı en az 3 olarak seçilmelidir. Bu seçim hem yüksek bir prodüktivite hem de daha yüksek bir enzim aktivitesi sağlayarak iyi bir fruktoza dönüşüm yüzdesi verecektir.

Akışkan yatak reaktörlerde kullanılacak enzimin çapının 20-40 μm olması tavsiye edilmektedir. Bu çap büyüklüğünün akışkan yatak reaktörde gerekli olan reaksiyon yüzey alanını sağlayacağı bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada kullanılan enzim çapı 300-1000 μm'dir. Denenen akışkan yatak reaktörlerde düşük fruktoza dönüşüm yüzdesi elde edilmiş olmasının bir nedeni de budur.

Akışkan yatak reaktör tasarlanırken düşük dönüşüm nedenlerinden biri olan geri-karışımdan sakınabilmek ya da en aza indirebilmek açısından reaktörün H/D oranı ve enzim çapı seçimi önemli etkenler olarak gözükmektedir.

Endüstriyel uygulamada reaktörleri eşit sayılarda belirli zaman aralıkları için PBR ve FBR olarak çalıştırmak şu an uygulama alanı bulmuş olan sıkıştırılmış yatak reaktörlerde karşılaşılan fiziksel problemleri ortadan kaldıracaktır. Böylece enzim daha uzun bir süre çalışabilecek ve daha yüksek bir prodüktivite sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

ASIF, M., ABASAEED A.E. 1998. Modeling of Glucose Isomerization in a Fluidized Bed Immobilized Enzyme Bireactor. Bioresource Technology, 64:229-235.

BLANCHARD, H. P. 1992. Technology of Corn Wet Milling. Elsevier Science Publishers B.V., The Netherlands

FAQIR, N.M., 1998. Optimization of Glucose Isomerase Reactor: Optimum Operating Temperature Mode. Bioprocess Engineering, 18: 389-396.

FAQIR, N.M., ABU-REESH, I.M. 1998. Optimum Temperature Operation Mode for Glucose Isomerase Reactor: Operating at Constant Glucose Conversion. Bioprocess Engineering, 19:11-17.

E.BAILEY, JAMES, F.OLLIS,DAVID, 1986. Biochemical Engineerin Fundamentals. Second Edition, printed in Singapore.

GEANKOPLIS, CHRISTIE, J. 1993. Transport Processes and Unit Operations. Third Edition, Prentice-Hall International Inc., New Jersey.

http://www.science.univr.it/. Immobilized Enzymes and Their Uses

MARANGONI, ALEJANDRO G. 2003. Enzyme Kinetics. A Modern Approach. John Wiley & Sons. Inc., Hoboken, New Jersey.

NOVO ENZYME INFORMATION 1985. Continuous Production of Fructose Syrup With Novo's Immobilized Glucose Isomerase, Sweetzyme Type Q, Denmark.

ROBERT, H.PERRY, DON W.GREEN, 1998. Perry's Chemical Engineers' Handbook. Seventh Edition, McGraw-Hill, printed in Australia.

WISEMAN, A. 1986. Handbook of Enzyme Biotechnology. 2nd Edition, John Wiley & Sons, Chichester, England.

ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Kozan/Adana'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Kozan/Adana'da tamamladım. 1991 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünde üniversite eğitimime başladım.Mezuniyetimden sonra çeşitli fabrikalarda üretim mühendisi olarak çalıştım. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladım. Halen bir fabrikada üretim mühendisi olarak çalışmaktayım ve eğitimimi sürdürmekteyim.