

Bazı Fungal Kaynaklardan Laktaz Enzimi Eldesi¹

Işıl Seyis², Nilüfer Aksöz³

Özet

Bu çalışmada, verimli yeni bir alternatif fungal kaynaktan laktaz üretimi amaçlandı. İncelenen funguslar arasında *Trichoderma viride* ATCC 32098'ün en yüksek laktaz üreticisi olduğu saptandı ve yüksek enzim üretimi için bazı kültürel parametreler optimize edildi. Üretim ortamındaki karbon ve ilave azot kaynaklarının laktaz aktivitesine etkisi incelendiğinde laktoz ile $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 'ün uygun olduğu saptandı. En yüksek enzim aktivitesi için fizyolojik koşullar incelendiğinde % 0,5 ONPG içeren pH değeri 5 olan enzim inkübasyon ortamında, 50-65 °C'de 30 dakika inkübasyonun uygun olduğu görüldü. Bazı atıklar laktaz üretimi için karbon ve azot kaynakları olarak denendi. Peynir altı suyu ile kaba buğday kepeğinin üretim ortamında ayrı ayrı kullanımının laktaz üretimi için daha uygun olduğu ve pamuk yaprak küspesinin azot kaynağı olarak maya-özütü ve pepton yerine alternatif olarak kullanılabileceği saptandı. Üretilen laktaz enziminin pH ve sıcaklık kararlılığı incelendi ve enzimin 50, 60 ve 70 °C'lerdeki kararlılığı da saptandı. Laktazın kısmi saflaştırımı, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işlemleri ile gerçekleştirildi. Galaktoz ve glukozun yanı sıra reaksiyon ortamında bulunan çeşitli kimyasalların ve metal iyonlarının laktaz aktivitesine olan etkisi belirlendi. Ürettiğimiz laktaz enzimi kalsiyum aljinata immobilize edildi ve immobilize enzim için reaksiyon ortamının uygun koşulları belirlendi. Sonuç olarak, serbest enzimden farklı olarak %0,75 ONPG konsantrasyonu ve 240 dakika inkübasyon süresinin uygun olduğu görüldü. Ayrıca, immobilize enzimin pH ve sıcaklık kararlılığı incelendi ve bu enzimin 50, 60 ve 70 °C'lerdeki kararlılığı saptandı. Çalışmamızın son aşamasında ise laktaz enziminin laktoz hidrolizi incelendi ve laktoz örneğinde % 98,08, peynir altı suyunda % 97,98 ve sütte ise % 89,54 olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: Laktaz, (3-galaktosidaz, laktoz, *Trichoderma*.

¹ Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Prof. Dr. Nilüfer Aksöz danışmanlığı altında Işıl Seyis tarafından yapılmış ve 25 Mart 2003 tarihinde tamamlanmış olan aynı isimi doktora tezinin özetidir.

² Öğretim Görevlisi, ³ Prof. Dr., Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Beytepe Ankara. Yazışmalardan sorumlu yazarın E posta adresi: naksoz@hacettepe.edu.tr