

21.Yüzyılın Anahtar Teknolojisi: Beyaz Biyoteknoloji

(Key Technology of 21st Century: White Biotechnology)

Alper AKKAYA ve Nurdan PAZARLIOĞLU

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü Bornova-İZMİR 35100
nurdan.pazarlioglu@ege.edu.tr

ÖZET: Kimya, modern toplumda hemen her yönüyle temel bir rol oynamaktadır ve oynamaya da devam edecektir. Yararlı ürünleri muazzam bir düzenle bize sunmasına rağmen, kimyasal endüstri, çevreye zarar veren üretim prosesleri, toksik yan ürünler ve atıkların üretimi yanında, ürünlerin kullanım ömründen sonra kolayca geri dönüşebilir olması veya biyobozunurluğu açısından fosil kaynakların güvenilirliği ile ilgili konular nedeni ile pek çok sorunla da karşı karşıyadır. Hükümetlerin kimya endüstrilerinin yol açtığı kirliliğe karşı uyguladıkları cezai yaptırımlar da giderek artmaktadır. Böylelikle, sanayi, kimyasal üretimi daha çevre dostu yapmak için giderek artan bir baskı altına girmektedir (Hatti-Kaul et al., 2007). Biyoteknolojinin avantajlarından yararlanılması ile hükümetler, endüstriler ve sivil toplum kuruluşları stratejiler ve eylem planları geliştirmektedirler (Lorenz and Zinke, 2005). Biyoteknolojinin endüstriyel kullanımı olarak tanımlanabilecek beyaz biyoteknoloji, düşük enerji tüketimi ve yenilenebilir kaynakların kullanımı ile yeni ürünlerin ve proseslerin hedeflenmesi olarak ortaya çıkmıştır (Drepper et al., 2006). 21. yüzyılın anahtar teknolojisi olarak tanımlanan beyaz biyoteknolojinin petrole bağımlı ekonomiler için, sürdürülebilir biyokütle bazlı değer zincirleri ve yeni katma değeri yüksek ürünlerin ortaya koyulmasında hayati önem taşıyacağı açıktır (Lee and Jang, 2006). Son yıllarda genetik manipulasyon tekniklerindeki hızlı gelişmeler ile bir organizmadan diğerine genetik materyallerin transferi ve ticari öneme sahip yeni metabolitlerin üretiminin optimizasyonu için uygun organizmaların varlığı, biyoteknolojinin uygulamalarına yeni bir ivme katmıştır. Bu yazıda, beyaz biyoteknolojinin giderek artan yeri, rolü ve önemi vurgulanacak, yeni enzimler, metabolizma mühendisliği ve modelleme, biyokatalizatör fonksiyonu ve optimizasyonu, biyokatalitik proses dizaynı gibi çeşitli konulardaki biyoteknolojik gelişmelerin altı çizilmeye çalışılacaktır.

ABSTRACT: Chemistry, in almost every aspect of modern society, plays a fundamental role and will continue to play. Although it offers us a tremendous edit useful products, chemical industry, production processes that harm the environment, the production of toxic by-products and wastes, as well as life after the use of the products to be easily recyclable or biodegradability of fossil resources, in terms of reliability issues due to the many problems face. Governments apply punishments against pollution caused by chemical industries and it will increase. Thus, industry will fall under increasing pressure to make chemical manufacturing more environmentally-friendly (Hatti-Kaul et al., 2007). Governments, industries, and civil society organizations are developing strategies and action plans to taking advantage of biotechnology (Lorenz and Zinke, 2005). White biotechnology defines as the use of industrial biotechnology. White biotechnology, the use of renewable resources with low energy consumption and has emerged as the new products and processes targeting (Drepper et al., 2006). White biotechnology is defined as a key technology of 21st century for oil-dependent economies, sustainable biomass-based products of high added value and new value chains is of vital importance to be carried out (Lee and Jang, 2006). In recent years, rapid advances in techniques for genetic manipulation of genetic material from one organism to another with the transfer and commercial importance for the optimization of the production of new metabolites in the presence of appropriate organisms has added a new impetus to biotechnology applications. In this paper, white biotechnology is a growing place, highlighted role and importance. Developments on various biotechnological topics such as, new enzymes, metabolic engineering and modeling, and optimization of biocatalyst function, design of biocatalytic process, biotechnological process design, will try to explain.

GİRİŞ

İnsanlar, kimya endüstrisi gelişmeden önce ihtiyaçlarını çoğunlukla doğal kaynaklardan direk kullanarak gidermekteydiler. Ancak dünya nüfusunun artışıyla birlikte ihtiyaçlarda aynı oranda artmıştır. İhtiyaçların yanında, insanlar hayatlarını kolaylaştıracak ve konforlarını arttıracak materyallere de gereksinim duymaya başlamışlardır. Kimya endüstrisinin gelişimi de aynı süreçte başlamıştır. Özellikle 1850’li yıllarda nüfus artışıyla birlikte beslenme sorunları da ortaya çıkmıştır ve kimya bilimiyle bu ve bunun gibi sorunlara yanıt aranmaya başlanmıştır. Bu yıllardan itibaren çok hızlı gelişen kimya endüstrisi birçok sorunun üstesinden gelmiştir. En çarpıcı örneklerden birisi nüfus artışıyla ortaya çıkacak olan açlık sorununa yapay gübrelerin tarımda kullanımı ile aşılmış olması ve verimliliğinde tarım ilaçlarıyla arttırılarak çare bulunmuş olmasıdır. Diğer bir örnek ise eskiden pamuk gibi doğal kaynaklardan elde edilen giysilerin artık sentetik liflerle üretilebiliyor olmasıdır. Kimya endüstrisinin hızla gelişmesi insanların ihtiyaçlarını giderirken ve hayatlarını kolaylaştırırken aynı zamanda istenmeyen durumlara yol açmıştır. Üretim sonrası oluşan atıkların fazla oluşu, kimyasalların kullanımı sonrası atık suların kimyasal yükünün çok fazla olması ve yenilenemeyecek kaynakların tüketilerek azalması gibi sorunlar nedeniyle, bu sorunları aşacak yeni yaklaşımlar bulunmaya çalışılmıştır. Özellikle kimya sanayinin geliştiği ilk yıllarda atıkların kontrolü tam olarak sağlanamamaktaydı. İlerleyen yıllarda kimya sanayi kaynaklı kirliliklerin artmasıyla yasal düzenlemeler getirilmiştir. Bu düzenlemeler bir ölçüde başarılı olmasına rağmen, dünyamız kirlenmeye devam etmektedir. Petrol ürünleri gibi yenilenemez kaynakların kullanıldığı sektörlerde ise hammadde sorunu mutlaka bir gün ortaya çıkacak (Campbell, 1998) ve alternatif hammadde arayışı bu sektörlerde de başlayacaktır. Bu gibi sorunların çözümü için arayışlar başlamıştır ve bununla birlikte biyoteknoloji de gelişmeye başlamıştır. Biyoteknolojinin endüstriye kazandıracağı en önemli iki kazanç; yenilenebilir kaynakların kullanımına olanak sağlaması ve atık miktarının kimya endüstrisi ile karşılaştırıldığı da çok azalmasıdır (Stottmeister et al, 2005; Berkem, 1996).

Biyoteknoloji, disiplinler arası bir bilim dalıdır. Biyoteknolojinin gelişmesine fizik, kimya, biyokimya, genetik, fizyoloji, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji gibi disiplinlerin ortak buluşma noktasındadır (Kolankaya, 2000). Biyoteknoloji, hücre ve doku biyolojisi kültürü, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, genetik, fizyoloji ve biyokimya gibi doğa bilimleri yanında mühendislik ve bilgisayar mühendisliğinden yararlanarak, DNA teknolojisiyle bitki, hayvan ve mikroorganizmaları geliştirmek, doğal olarak var olmayan veya ihtiyacımız

kadar üretilmeyen yeni ve az bulunan maddeler (ürünleri) elde etmek için kullanılan teknolojilerin tümüdür. Zamanın ilerlemesiyle, biyoteknolojinin kullanım alanları genişlemiştir ve yeni farkındalıkları ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle de zamanla farklı şekillerde tanımlamalar yapılmıştır. Bunlar; 1981 yılında Avrupa Biyoteknoloji Federasyonu, EFB, biyoteknolojiyi “mikroorganizmaların ve kültüve edilmiş doku hücreleri ve hücre kısımlarının kapasitelerinden teknolojik uygulamalarda yararlanmak için biyokimya, mikrobiyoloji ve mühendislik bilimlerinin entegre kullanımı” olarak tanımlamıştır. 1989 yılında yine EFB, biyoteknolojiyi “doğa ve mühendislik bilimlerinin, mikroorganizmaların, hücrelerin, bunların parçalarının ve moleküler analoglarının ürün ve hizmet üretimi için entegrasyonu” olarak tanımlamıştır.

Biyoteknolojinin tıbbi, tarım ve hayvancılık, gıda, çevre ve endüstriyel biyoteknoloji olmak üzere beş temel alanı bulunmaktadır. Dünya ölçeğinde biyoteknolojik olarak üretilen ürünlerin dünya pazarlardaki payları; gıda sektörü (%77), antibiyotik (%12), ilaç-kit (%7), tarım (%3) sektörlerine aittir (Kolankaya, 2000). Görüldüğü gibi biyoteknolojideki gelişmeler, insan sağlığından tarıma, kimya mühendisliğinden çevre korumaya, gıda üretiminden enerji üretimine kadar yaşamın pek çok alanı bu teknolojinin kapsamına girmiştir. Bu doğrultuda biyoteknoloji de alt dallara ayrılmıştır. Alt dalları ise renk kodlarıyla tanımlanmaktadır (Şekil 1).

Renk	Biyoteknoloji Faaliyet Alanı
Kırmızı	Sağlık, medikal, tanı
Mavi	Su, sahil, deniz (Akuatik)
Sarı	Gıda, beslenme
Yeşil	Tarım ve çevre (biyobenzin, biyogübre,...)
Kahverengi	Sulama ve çöl
Beyaz	Gen teknolojisine dayalı biyo-endüstriler
Gri	Klasik fermentasyon ve biyoproses teknolojisi
Altın	Biyoinformatik, nanobiyoteknoloji
Mor	Patentler, yayınlara, fikri mülkiyet hakları
Siyah	Biyoterör, biyosuç

Şekil 1. Biyoteknolojide renk kodları

Geniş kullanım alanına sahip renk kodlarının bazıları aşağıda verilmiştir.

Yeşil Biyoteknoloji: Yeşil biyoteknoloji modern bitki üretiminin uygulama alanını kapsamaktadır. Burada biyoteknolojik yöntemlerle böceklerle, mantarlara, virüslere karşı direnç geliştiricilerle herbisidler üretilmektedir. Yeşil biyoteknolojinin en önemli alanlarından biri gen teknolojisidir. Gen teknolojisi, belirli genleri bir türden diğer bir tür

bitkiye aktarmayı, bu şekilde de direnç geliştirmeyi olanaklı kılmaktadır.

Mavi Biyoteknoloji: Genellikle okyanus ve su biyoteknolojisini ifade eder ve çeşitli okyanus canlılarının korunması ve türlerinin devamının sağlanması örnek olarak verilebilir.

Gri Biyoteknoloji: Çevre teknolojisi alanıyla ilgilenmektedir. Biyoteknoloji süreçleri burada toprağı arıtma, atık su temizleme, atık gaz ve kirli hava temizleme, çöp ve diğer atıkların değerlendirilmesi konularında kullanılmaktadır.

Kırmızı Biyoteknoloji: Kırmızı biyoteknoloji (tıp), biyoteknolojinin en önemli uygulama alanı olarak kabul edilmektedir. Biyoteknoloji işlemleri yeni ilaçların geliştirilmesinde (örneğin kanser ilaçları) giderek daha önemli bir rol oynamaktadır. Tanı koyma için de (DNA çipleri, biyosensörler) biyoteknoloji büyük önem taşımaktadır. Kırmızı biyoteknoloji Avusturya'da büyük bir ilgi görmekte, çok sayıda farklı branş için anahtar teknoloji ve büyüme motoru olduğu kabul edilmektedir.

Beyaz Biyoteknoloji: Endüstriyel biyoteknoloji olarak da bilinir (Soetaert and Vandamme, 2006) ve organizmaların çeşitli yararlı kimyasallar üretecek ya da çeşitli enzimler yolu ile zararlı ve kirletici kimyasalları yok edecek şekilde tasarlanması ve kullanılmasıdır. Beyaz biyoteknolojinin görevleri arasında örneğin alkol, vitaminler, aminoasitler, antibiyotikler veya enzimleri, kaynakları ve çevreyi koruyarak üretmek bulunmaktadır.

1. BİYOTEKNOLOJİNİN TEMEL UYGULAMA ALANLARI

1.1. Çevre Biyoteknolojisi

Doğal kaynakların kirlenme hızlarının artması, çevre sorunlarının çözümüne yönelik teknolojilerin önemini artırmıştır. Çevre biyoteknolojisi; sürdürülebilirliğin sağlanması için canlı organizmaların ve onlardan elde edilen ürünlerin, zararlı atıkların arıtımında ve çevre kirliliğinin önlenmesinde kullanılmasını kapsar (EFB, 1999). Çevre biyoteknolojisi uygulamaları arasında, doğal mikroorganizmalarla atıkların arıtımından da söz edilebilir. Parçalaması zor olan bazı atıkları arıtabilmek için genetik modifiye mikroorganizmaların kullanımı mümkün olmaktadır (Daini, 2000). Atıkların içindeki toksik maddeleri substrat olarak kullanabilen bakterilerden çevre biyoteknolojisinde yararlanılmaktadır. Bu tür bakterilere dayanan biyoremediasyon yöntemi iki biçimde uygulanabilir. Atıkların bulunduğu bölgeye gerekli nütrient transferi yapılarak, toprağın bakteri kompozisyonuna göre toprakta mevcut bulunan bakteriler harekete geçirilir ya da toprağa yeni bakteriler aktarılır. Bakteriler, zararlı

atıkları zararsız yan ürünlere dönüştürdükten sonra ya ölümler ya da sayıları normal popülasyon düzeyine gelir ve ekolojik dengenin bozulması engellenmiş olur. Çevresel biyoteknolojinin önemli uygulama alanlarından biri de atık suları yeniden kullanılabilme özelliği kazandırmasıdır. Çevresel koşulların kontrolü ve kirliliklerin belirlenmesinde kullanılan biyosensörler ise çevresel biyoteknolojinin bir başka uygulama alanıdır (Hambleton,1988; EFB, 1999; TÜSİAD, 2000).

1.2. Tekstil Biyoteknolojisi

Tarımsal hammaddenin sağladığı en önemli avantaj ürün miktarı arttıkça maliyetin ucuzlamasıdır. Biyoteknoloji sayesinde fosil yakıt ve petrol hammaddelerine alternatif bir kaynak, biyokütle kullanılabilir bir yere sahip olmuştur. Bundan dolayı petrol kaynaklı hammaddelere olan ilgi gün geçtikçe azalmaktadır. Ayrıca, bu ürünlere olan bağımlılık azaldıkça ithalat da azalarak sanayiye ve ekonomisinin kendine yeterli olmasına katkıda bulunmaktadır. Biyokütlenin kullanımına ilişkin çalışmaların başında: Fermentasyon ve çeşitli biyolojik proseslerle tekstil için yeni ipliklerin üretilmesi; enzimatik modifikasyonla biyomateryallerin veya tekstil ürünlerinin fiziksel ve/veya kimyasal özelliklerinin istenilen düzeye getirilmesi; biyoaktif bileşiklerin lif yüzeyine veya polimerik tekstil ürününe immobilizasyonu; biyo-kompozit elyaf sağlamlaştırması ve biyo-reçine gibi tamamen parçalanabilir materyal üretimi; biyomedikal, tekstil ve teknik uygulamalarda istenen şekilde kullanılmaya hazır biyo-temelli materyallerin üretimi gelmektedir.

Tekstil biyoteknolojisinde, enzimatik biyokatalistler, biyo-ağartma, biyo-apreleme, biyoyıkama veya taşlanmış yıkama ve sentetik elyaf modifikasyonlarında daha yaygın yer edinmektedirler. Biyoteknoloji temelli yeni doğal elyaf uygulama prosesleri, yakın zamanda kullanılmaya başlanmıştır. Bu alandaki öncelikli araştırma konuları şunlardır: Biyopolimerler ve biyokütlenin tekstilde yüzey modifikasyon ve kaplaması için yeni bir seçenek oluşturması; biyotemelli tekstil yardımcı maddeleri ve uygulamalarının (Avrupa Birliğinin yeni Entegre Kirlilik Önleme ve Kontrol Direktifi kapsamında) kullanımı ve tekstil üretim süreçlerinden kaynaklanan çevresel kirliliğin azaltılması; tekstil yüzeylerine multi enzim kompleksi veya enzim (veya protein) immobilizasyonu yapılması; yeni elyafların teknolojik uygulamalarının geliştirilmesi için diğer biyoproseslerin kullanılması.

Özellikle enzimlerin tekstil sektöründe kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır (Csizsar et al., 2006). Biyoağartma ve haşıl sökme işlemlerinde geleneksel yöntem halini almaya başlamıştır. Ayrıca enzimler

kullanılarak tekstil atık sularının giderimi üzerine kayda değer ilerlemeler alınmış ancak henüz yaygın kullanıma geçilememiş, araştırma seviyesinde birçok çalışma bulunmaktadır. Enzimlerin ve diğer biyomoleküllerin tekstil sektöründe kullanımı bu kadarla sınırlı kalmayacağı açıktır. Daha ekonomik ve çevre dostu üretimi vaadeden enzimlerle ileri düzeylerde üretimler gerçekleştirilecektir. Yapılan son araştırmalar içerisinde hidrofiliğin artırılması, kir tutma ve geç tutuşurluk özelliklerinin kazandırılması çalışmaları göze çarpmaktadır (Guebitz et al., 2006).

1.3. Tıbbi Biyoteknoloji

Biyoteknolojinin tıp dünyasına girişi çeşitli hastalıkların teşhis ve tedavisi için alternatif kit ve ilaçlar sağlayarak olmuştur. Biyoteknoloji, özellikle genetik hastalıklar ve kanserin tedavisinde ve kaynaklarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Biyoteknolojinin tıp alanındaki en çok kullanıldığı alan aşuların üretimidir. Ayrıca biyoteknoloji, insanların ve diğer organizmaların genetik yapısının belirlenmesine olanak sağlamaktadır. İleri teşhis yöntemleri geliştirilebildiği gibi hastalık sebepleri daha kolay belirlenebilmektedir. Genetik işaretleyicilerin kullanımı ile en uygun tedavi yöntemi seçilmektedir. Yeni ilaçların test edilmesi ve geliştirilmesinde kolaylık sağlamaktadır. Bir gendeki eksiklikten dolayı yaklaşık 4000 genetik bozukluk olduğu bilinmektedir. 1980'li yıllarda modern biyoteknoloji tıp dünyasına gen terapisi uygulamalarıyla girmiştir. 1990'larda gen terapisinin uygulama alanı sonradan ortaya çıkan hastalıkların tedavisi için kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde gen terapisi çevresel faktörlerin de dahil olduğu çok faktörlü ve birden çok gene bağlı hastalıkların tedavisinde de uygulanma potansiyeline sahiptir. Gen terapisinin kalıtsal olması veya olamaması uygulanan hücrelere göre farklılık gösterebilir. Eğer somatik hücrelere uygulanırsa kalıtsal özellik taşımaz ya da üreme hücrelerine uygulanırsa kalıtsal olması sağlanır. Fakat çeşitli sorunlar ortaya çıkmıştır. Bunlardan biri vektörlerin istenen geni etkin olarak taşıyamamasıdır. Diğerleri ise taşınan genin kalıcılığının çok uzun olmamasıdır. Bu alanda cevapsız sorular ve sorunlar olmasına karşın ilaç sektörü laboratuvarlarda üretilmiş organizmalara gen aktarımı yoluyla gen terapisini biyo-ilaçlar haline getirmiştir. Böylece biyoteknoloji insülin ve büyüme hormonu başta olmak üzere çeşitli proteinlerden üretilen ilaçların geliştirilmesinde ve üretiminde kullanılmaya başlanmıştır. Şeker hastalığı, hemofili, kan bozuklukları, büyüme bozuklukları ve sistik fibrosis gibi hastalıkların tedavileri biyoteknoloji ile daha da kolaylaştırılmıştır. Modern biyoteknoloji yöntemleri aşı üretiminde de avantajlar sağlamıştır. Biyoteknoloji aşı üretiminde yaşanan miktarla ilgili sorunu ortadan kaldırmış ve ikincil kaynakların kullanımına olanak sağlamıştır. Özellikle hepatit B

aşularının rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak üretimine başlanmıştır. Aynı zamanda tifo, sarılık gibi bulaşıcı hastalıklar için de biyoteknoloji kullanılarak aşular üretilmektedir. Biyoteknoloji mevcut teknolojilerle üretilmeyen aşuların üretimine olanak sağlamıştır. Ayrıca enfeksiyon yapan hastalık etmenleri önceden belirlenebilmektedir. Bu gelişmeler viral bulaşma riskinin azaltılmasını da beraberinde getirmiştir. İnsan genomunun biyoteknoloji metotları ile incelenebilmesi genetik hastalıkların ve kanserin önceden tahmin ve teşhis edilebilmesini böylece ön tedbirler ve erken tedavi yöntemleri ile tıbbi başarının artmasını sağlamıştır.

1.4. Tarımsal Biyoteknoloji

Tarımsal biyoteknoloji çalışmaları istenilen genlerin bulunması, karakterize edilmesi, izolasyonu ve hedef hücreye aktarılması aşamalarından oluşmaktadır. Bitkilere gen aktarımında temel aşamalar; geni taşıyan DNA parçasının bitki hücresinin kromozomlarına transferi ve sonrasında doku kültürü teknikleri ile transgenik bitkilerin elde edilmesidir. Biyoteknolojik teknikler içinde en çok bilineni hızlandırılmış partikül sisteminden yararlanılarak söz konusu genin hedef hücre dokuya süratle gönderilmesidir. Gen aktarımında yoğun olarak kullanılan diğer bir araç ise toprakta yaşayan *Agrobacterium tumefaciens* bakterisidir. Bu bakteri, bitkilerdeki yaralı bölgeleri enfekte etmektedir. Enfeksiyonla birlikte tümör oluşmakta ve gen transferi meydana gelmektedir (Özgen et al., 2005). Yüksek miktarda ve kalitede ürün elde etmek amacı ile geleneksel kültür çeşitlerinin veya bunların yabani akrabalarının genetik yapıları biyoteknolojik teknikler kullanılarak çok kısa bir sürede değiştirilebilmektedir. En çok üzerinde çalışılan pestisit ve herbisit dayanıklılık, besin kalitesinin yükseltilmesi, meyve olgunlaşma sürecinin değiştirilmesi, raf ve depolama ömrünün uzatılması ve aromanın artırılmasıdır (Miller, 1992; Wohl, 1998). En çok ekilen transgenik bitkiler soya, kanola, mısır, pamuk, patates, tütün ve domatestir. Genetik mühendisliği teknikleri uygulanarak soya, kanola, mısır ve pamuğa herbisit dayanıklılığı; mısır, pamuk ve patatese pestisit dayanıklılığı; tütün ve domatese virüs dayanıklılığı ve domatese geç olgunlaşma özellikleri kazandırılmıştır (Özgen vd., 2005).

1.5. Gıda Biyoteknolojisi

İnsanlar yüzyıllardır mikroorganizmaları gıda üretimlerinde kullanmaktadırlar. Mikroorganizmalar geçmişte bilmeden kullanılsalar da günümüzde fermente ürünler başta olmak üzere birçok gıda alanında kullanılmaktadırlar. Geçmişten günümüze mikroorganizmalarla üretilen gıda mamulleri temelde aynı prosesler kullanılarak üretilmekte, farklılık ise biyoteknolojinin getirdiği olanakların kullanılmasıyla

ortaya çıkmaktadır. Burada biyoteknoloji, verimliliğin artmasını sağlayan bir araçtır. Bununla birlikte biyoteknoloji kullanılarak yeni ürünler geliştirilmiş ve bunlar gıda endüstrisinde büyük payda üretilen ürünler haline gelmişlerdir (Mehta and Gair, 2000). Gıda sektöründe genetik modifikasyonun kullanımı, öğütme ve karıştırma gibi yöntemler ile üretilen (eriste, alkolsüz içecekler vb.) ve mikroorganizmalar kullanılarak biyoproseslerle elde edilen gıda ve içecekler (peynir, alkollü içecekler vb.) ile taze gıda ve içecekleri (sebzeler, etler, meyve suları vb.) kapsamaktadır (EFB, 1997).

Biyoteknolojinin gelişmesiyle enzimlerin gıda sektöründe bilinçli kullanımları hızla artmıştır. Gıda sektöründe enzim teknolojisi üç aşamadan geçtikten sonra kullanılmaktadır. Bunlar, enzimlerin üretimi, saflaştırılması, immobilizasyonu ve endüstriyel olarak kullanılmasıdır. Enzim teknolojisinin, peynir üretimindeki etkisi çok büyük olmuştur (Murray et al., 2000). Rennet veya kimosinin sütün pıhtılaşarak peynire dönüşmesini hızlandırıcı enzimler olduğu keşfedilmiştir. Rennet buzağının midesinden saflaştırılan bir enzimdir. Kaynağının hayvan kökenli olması nedeniyle maliyeti yüksektir. Büyük ölçekli üretime uygun değildir. Bu nedenle alternatif kaynak arayışına geçilmiştir ve aynı görevi görece mikrobiyal enzim kaynakları büyük ölçekte üretimler için keşfedilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Geleneksel yöntemle üretilen peynirin tadından farklı bir tada sahip olsa da bol miktarda üretilebilmesi, ucuz olması ve kalitesinin sabitlenebilmesi nedeniyle peynir yapımında kullanılabilir (EFB, 1997: 2). Enzim teknolojileri sadece geleneksel fermentasyon süreçlerinin üretim verimliliğini artırmakla kalmayıp yeni endüstriyel süreçlerin gelişmesine de yol açmıştır. Enzimler kullanılarak ilk büyük ölçekli endüstriyel gıda üretimi immobilize enzimlerin kullanıldığı fruktoz şurubu üretimidir. İçecek ve şekerleme endüstrisinde fruktoz şurubu tat oranının daha yüksek olması nedeniyle kullanılmaktadır (Mehta and Gair, 2000).

Genetiği değiştirilmiş ürünler günümüzde hala tartışma konusudur. Bazı ülkelerde rutin üretime geçmiştir (Mehta and Gair, 2000). Genetiği değiştirilmiş gıdaların güvenliği ile ilgili olarak doğrudan sağlık etkileri (toksikite), alerjik reaksiyonları tetikleme eğilimi, besleyici ya da toksik öğeler, beslenme üzerindeki etkileri, aktarılan genin stabilitesi, gen eklenmesinden kaynaklanan beklenmeyen etkiler konularında araştırmalar sürmektedir (Haslberger, 2003).

2. ENDÜSTRİYEL (BEYAZ) BİYOTEKNOLOJİ

Endüstriyel biyoteknoloji aynı zamanda beyaz biyoteknoloji olarak da isimlendirilir. Endüstriyel biyoteknolojinin ürünleri biyolojik temelli kimyasallar, malzemeler ve yakıtlardır. Bu ürünler yenilenebilir kaynaklar, yaşayan hücreler ve/veya enzimlerden kullanılarak üretilir. Geleneksel üretim yöntemleriyle karşılaştırıldığında sözü geçen kaynaklar kullanıldığı zaman minimum atık üretimi ve enerji kullanımıyla daha temiz prosesler ortaya çıkmaktadır (Maury et al., 2005). Beyaz biyoteknoloji, farmasötik ya da tarımsal biyoteknolojiden ayrılır. Farmasötik biyoteknoloji, sağlık sektörüyle sınırlandırılmışken, tarımsal biyoteknoloji tarım ve besin sektöründe kullanılır. Endüstriyel biyoteknoloji modern moleküler biyoloji tekniklerini, tekstil, kâğıt ve kimyasal ürünlerin üretimi gibi endüstriyel proseslerin çevresel faktörlerini azaltmak ve verimliliği arttırmak için kullanır. Örneğin endüstriyel biyoteknoloji şirketleri kimyasalları sentezlemek için biyokatalizörleri geliştirir. Özellikle enzimler üzerinde modifikasyonlar yaparak enzimlerin termostabilitesinin artırılması, pH stabilitesinin genişletilmesi, uzun operasyon zamanı kazandırılması, depolama ömrünün uzatılması gibi çalışmalar yaparak, narin yapılı enzimlerin endüstriyel prosesler için kullanımının olanaklı hale getirilmesi çalışmaları yapılmaktadır. Böylece biyoteknolojinin sayesinde istenilen enzimler ticari nitelikte üretilebilir. Sanayide kullanılan kimyasallar ve özel kimyasallar biyoteknolojik yöntemlerle üretilebilmektedir. Geleneksel kimyasal sentezler, yüksek enerji sarfiyatı gerektirir ve sıklıkla istenmeyen yan ürünleri oluşturur. Biyokatalizörlerin kullanılmasıyla benzer kimyasallar daha ekonomik ve çevreye daha az zarar vererek üretilebilmektedir (Bachmann, 2003).

Biyoteknoloji ile yırtılmaya ve yıpranmaya karşı daha dayanıklı kumaşlar, yıkandığında daha az kırışan giysiler üretilebilmektedir. Mısır gibi çeşitli tarımsal ürünler, kimyasalların üretimi için petrol endüstrisinde kullanılabilir. Mısır şekeri aside biyotransforme olabilir ve çeşitli ürünler için kullanılan kimyasallar bunların aracılığıyla üretilebilir. Tüketilen kimyasalların %30'u biyoteknolojik olarak üretilebilir. Nüfusun hızla

artmasının doğal sonucu gıda tüketiminin de artmasıdır. Bu soruna çözüm ise gıda ürünlerinin üretiminin artması olacaktır. Bu noktada biyoteknoloji insanlığa hizmet ederek, bu alanda kullanılmaktadır ve kullanılmaya da devam edilecektir. Biyoteknoloji, besin maddelerinin üretilmesinde olduğu kadar işlenmesi ve istenilen özellikte gıdalar elde edilmesi için kullanılmaktadır. Kaliteli bir ürün kaliteli hammaddelerin kullanımıyla üretilebilir. Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen ve soğuğa, sıcağa, kuraklığa ve fazla tuza dayanıklı bitkiler, hem üretim kaybını en aza indirecek hem de tüketicinin istediği kalitedeki gıdanın üretimi sağlanacaktır. Dünyamızda petrol miktarı gün geçtikçe azalmaktadır. Bu kaybın önüne biyoetanol gibi yakıtların mikroorganizmalarla üretimi ve kullanımıyla geçilebilir. Bunun için şeker kamışı ve mısır biyoetanol üretimine uygun bitkilerin kullanılmaya başlanmalıdır.

Hastalıklardan çok fazla etkilenmeyen, yedikleri yemlerden yüksek verimlilikte faydalanabilen ve çok hızlı gelişen hayvan türleri biyoteknolojik yöntemlerle geliştirilmiştir. Bu hayvanlara biyoteknolojik olarak geliştirilen aşilar yapılarak hastalıklara dayanıklı, biyoteknolojik olarak formüle edilmiş yemler verilerek daha hızlı gelişmeleri sağlanmıştır.

Üretim proseslerini kolaylaştıracak ve daha iyi hale getirecek, stabil enzimler ve biyoaktif bileşikler doğal kaynaklarından temin etme arayışı devam etmektedir. Bir çok üretimde, kimyasal uygulamalarda ekstrem sıcaklıklara ve/veya pH değerlerinde çalışmak gerekir. Bu zor şartlarda çalışabilecek mikroorganizmaların veya enzimlerin keşfiyle, kimyasal süreçten, biyoteknolojik sürece geçmek hem maliyet hem de çevre açısından faydalı olacağı gibi aynı zamanda proseslerin daha kolay yürümesi sağlanabilir. Bu konunun önü açıktır. Dünyadaki mikroorganizmaların %99'dan fazlası kültüre edilmemiş ve sınıflandırılmamıştır (Amann et al., 1995). Dolayısıyla metabolizmaları ve içerdikleri enzimler ve özellikleri de tam olarak bilinmemektedir. Biyoteknolojik proseslerin, olumlu özellikleri olduğu gibi olumsuz özellikleri de vardır. Ancak günümüzde kimyasal yöntemlere kıyasla biyoteknolojik yöntemler proseslerde kullanılmaktadır.

2.1. Biyoteknolojinin Üstünlükleri

Enzim, protein, antikor gibi karmaşık ve üç boyutlu katlanmaya sahip moleküller, kimyasal yöntemlerle üretilemez. Biyotransformasyonlardan daha yüksek verim alınır. Biyolojik sistemler genellikle düşük sıcaklıklarda ve nötr pH'larda çalışabilirler. Enzimler gibi biyokatalizörlerin seçicilikleri vardır. Sadece istenilen ürün sentezlettirilebilir. İzomerik bir bileşenin fazladan oluşması önlenemez.

2.2. Biyoteknolojinin Zayıf Yönleri

Özellikle mikroorganizmaların kullanıldığı proseslerde ürünü, mikroorganizmanın metabolizma ürünleri kirletebilir. Bu durumda saflaştırma yöntemlerine başvurulması gerekir. Bu da zaman ve maliyet kaybına yol açabilir. Mikroorganizmalarla çalışıldığı için büyük hacimde su kullanımı ve tüketimi gerekir. Bazı durumlarda biyolojik süreçler kimyasal süreçlerle karşılaştırıldığında daha yavaş olabilir.

2.3. Enzimler

Bazı durumlarda ürünün saflığının yüksek olması istenir. Bu gibi durumlarda endüstriyel biyoteknoloji şirketleri, kimyasal üretimlerde kullanmak amacıyla, biyolojik sistemlerden yararlanarak enzim gibi biyokatalizörleri ya da kimyasal maddeleri üretirler. Böylece direkt olarak biyokatalizörü kullanarak verimlilik artırıldığı gibi maliyette enzimlerin immobilizasyonu düşürülebilir. Sonuçta saflığı yüksek ürün eldesiyle ekstra saflaştırma yöntemlerini kullanmaya gerek kalmayabilir. İstenilen aktivitedeki enzimler, artık biyoteknolojik olarak üretilebilmektedir. Enzimlerin biyoteknolojideki önemini anlamak için iyi tanımak gerekir.

Enzimler, hücrelerde biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen protein yapısında moleküllerdir. Hücrelerde çok önemli metabolik görevleri olan enzimler çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere günlük ve ekonomik hayata girmiştir (Wiseman, 1987). Enzimlerle katalize edilen tepkimeye katılan kimyasal moleküllere substrat adı verilir. Bir enzim sadece kendi aktif bölgesinin üç boyutlu yapısına uygun substrat ile tepkimeye girebilir. Bu yüzden her enzim sadece belirli tip substrata etki eder. Buna enzimlerin spesifikliği denir (Erkaya vd., 2006).

Enzim terimi ilk defa Kühne tarafından 1878 yılında ortaya atılmıştır (Aehle, 2007). Enzimler yalnızca canlı hücreler tarafından sentezlenir. Bu enzimlerin bir kısmı hücre içinde kalır ve burada fonksiyon gösterir. Bu tip enzimlere intraselüler (hücre içi) enzimler denir. Bir kısım enzim ise hücre içinde sentezlendikten sonra hücre dışına salınır ve burada (hücrenin içinde yer aldığı ortamda) fonksiyon gösterir. Bunlara da ekstraselüler (hücre dışı) enzimler denir.

Polimer özellikteki maddelerin (nişasta, pektin, vb.) parçalanmasını katalizleyen enzimler iki gruba ayrılıp incelenebilmektedirler. Bunlardan eksoenzimler, polimerlerin uç kısmındaki bağları spesifik olarak parçalarken, endoenzimler molekül içi bağları seçerek parçalarlar (Telefoncu, 1997). İzoenzimler (izozimler), aynı organizma tarafından sentez edilen ve katitatif olarak aynı enzimatik aktiviteyi gösteren enzimlerdir. Bu nedenle de izoenzimler aynı reaksiyonları katalizlemektedirler. İzoenzimlere organizmalarda sık rastlanılmaktadır. Ribozimler ise, ribonükleik asitlerden oluşan ve spesifik olarak aynı ribonükleik

asit veya farklı ribonükleik asit ve deoksiribonükleik asitteki fosfodiester bağlarının yavaşça hidrolizini gerçekleştirirler ve protein yapısında değillerdir (Erkaya vd., 2006).

Katalitik RNA (ribozimler) moleküllerinin küçük bir grubu hariç bütün enzimler proteindirler. Bu nedenle enzimler, proteinlere ait tüm yapısal özellikleri gösterirler. Enzimler, diğer proteinler gibi 12'den 1000 kDa üzerine kadar değişen moleküler ağırlığa sahiptirler. Bazı enzimler aktivite için protein yapıyı oluşturan amino asitlerden başka kimyasal komponent içermezken, bazı enzimler ise kofaktör diye adlandırılan bir ek kimyasal komponent gerektirirler. Kofaktör ya Fe^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} gibi bir veya daha fazla inorganik iyon ya da koenzim denen organik ya da metaloorganik kompleks moleküldür. Kofaktör olarak işlev gören koenzimler, genellikle suda çözünen bir vitamin türevidir. Kofaktörü ile birlikte tam katalitik olarak aktif bir enzim, holoenzim olarak adlandırılır; holoenzimin bir protein kısmı bir de kofaktör kısmı vardır. Holoenzimin protein kısmı apoenzim veya apoprotein olarak adlandırılır. Holoenzimin kofaktör kısmı koenzim ise; koenzim enzime çok sıkı bağlanmış olabildiği gibi koenzim enzime gevşek olarak bağlanmış olabilir. Koenzimlerin enzim proteinine çok sıkı bir şekilde kovalent olarak bağlı olup enzim proteininden ayrılmayanları prostetik grup olarak adlandırılırlar. Koenzimlerin enzim proteinine gevşek bir şekilde nonkovalent olarak bağlı olup enzim proteininden ayrılabilenleri kosubstrat olarak adlandırılırlar.

1961 yılında Enzim Komisyonu tarafından yayınlanan rapora göre enzimler 6 sınıfa ayrılırlar. Bu rapora göre her enzimin 4 rakamlı bir numarası vardır ve bu numaraların aralarına nokta koyulur. Birinci numara sınıfını, ikinci numara alt sınıfını, üçüncü numara grubunu, dördüncü numara da kendine özgü sıra numarasını verir. Buna göre enzim sınıfları şunlardır (Aehle, 2007):

1. Oksidoredüktazlar: Redoks tepkimelerini katalizler. Dehidrogenazlar elektron kazandırıcı tepkimeleri, oksidazlar elektron kaybeden tepkimeleri katalizler. Redüktazlar substratı bir redüktör aracılığıyla indirgeyen enzimlerdir. Transhidrogenazlar bir molekülden diğerine hidrojen taşıyarak onu redüklerler. Hidroksilazlar substratlarına bir hidroksil ya da su molekülü katan enzimlere denir.

2. Transferazlar: Hidrojenin dışında bir atomun veya atom grubunun (metil, karboksil, glikozil, amino, fosfat grupları) bir molekülden diğerine aktarılmasını sağlarlar. Dekarboksilazlar karboksilik asitlerden CO_2 çıkmasını sağlarlar.

3. Hidrolazlar: Bir molekül su eklemek suretiyle ya da su molekülü aracılığıyla moleküllerin yıkılmasını sağlayan enzimlerdir. Ester, peptit, asitanhidrit ve

glikozidik bağlarına etki ederler. Esterazlar ester bağıny yıkan enzimlerdir (lipaz, ribonükleaz, fosfataz, pirofosfataz, glikozidaz).

4. Liyazlar: Su molekülü çıkarmadan molekülleri yıkan enzimlerdir.

5. İzomerazlar: Molekül içinde değişiklik yaparak onun uzayda dizilimini değiştiren enzimlerdir.

6. Ligazlar (Sentetazlar): Enerji kullanarak substrat moleküllerinin birbirine bağlanmasını katalizleyen enzimlerdir.

Endüstrinin hemen her alanında kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Bunun nedeni mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olmaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilebilmeleridir (Wiseman, 1987). Bu mikroorganizmalar yalnızca enzim üretme yeteneklerine göre değil mikroorganizmaların toksik ve patojen olmamasına göre de seçilmiştir. Bugün endüstride kullanılan birçok enzim mikrobiyal kökenli olduğu için endüstriyel enzimlerin kullanımında, mikroorganizma kullanımı artmıştır (Demain and Solomon, 1981).

Farklı ekolojik koşullarda yaşayan mikroorganizmalar termofilik, asidofilik, alkalifilik ve halofilik bakteriler şeklinde sınıflandırılmıştır. Buralarda yaşayan termoasidofilik ve alkalifilik bakterilerden elde edilen enzimler ekstrem pH ve sıcaklık koşullarına dayanıklı olduğu için endüstriyel alanda yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ticari öneme sahip olan enzimlerin çoğu, hidrolazlar şeklinde tanımlanmakta olup, mikrobiyal kökenlidir. Bu enzimlerin çoğu ekstrasellüler olarak bulunur ve yüksek moleküler ağırlığa sahip substratlarla görev yaparlar. Bugüne kadar 2000'den fazla enzim tanımlanmış ve bunlardan yaklaşık 100 tanesi ticari olarak kullanıma uygun bulunmuştur. Fakat günümüzde bunlardan az miktarda enzim endüstriyel amaçla üretilmektedir.

Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle biyoteknolojinin endüstriyel enzimler ile ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar daha da önem kazanmaktadır. Özellikle son yıllarda stratejik alan şeklinde değerlendirilen rekombinant DNA teknolojisinden yararlanılarak enzim üretimi büyük boyutlara ulaşmış ve kullanımı giderek yaygınlaşmıştır (Kıran et al., 2006). Bazı durumlarda enzim miktarının veya aktivitesinin yüksek olması yeterli gelmemektedir. Endüstriyel olarak kullanılacak enzimlerde bir takım özelliklerde istenmektedir. En temel olması gereken özellikler; enzim uzun ömürlü ve dayanıklı olmalıdır, aktivite göstereceği ortam, hücre içi şartlarından farklı şartlar olsa da verilen substratı kullanabilmelidir, endüstriyel

ortamda (ekstrem koşullarda) da iş görebilmelidir. Bu talepler, enzimlerin ihtiyacı karşılayacak şekilde değiştirilmelerini, düzenlenmesini gerektirir. Bu nedenle, enzimlerin özellikleri değiştirilmeye çalışılmaktadır. Bu özellikler;

- Kinetik sabitler
- Enzimin sıcaklık ve pH stabilitesi
- Enzimin susuz çözenlere karşı stabilitesi
- Substrat ve reaksiyon spesifikliği
- Kofaktör gereksinimi
- Optimum pH
- Proteaz direnci
- Allosterik regülasyon
- Moleküler ağırlığı ve altbirim yapısı

Bu değişikliklerin yapılması kimyasal modifikasyonlar ile sağlanabilir. Enzim veya gen mühendisliği de kullanılarak DNA düzeyinde mutasyonlarla da enzimlerin bir takım özellikleri değiştirilebilir. Özellikle gen füzyon teknolojisi ile bi ve polifonksiyonel enzimlerin hazırlanması için iki veya daha fazla enzimin yapısal genlerinin bir araya getirilmesini kapsar. Birinci genin 3' ucundaki translasyonel stop sinyali uzaklaştırılır ve ikinci genin start kodonuna yerleştirilir. Böylece birbirine kovalent olarak bağlı iki veya daha fazla farklı aktivite gösterebilen bir biyomolekül sentezlenmiş olur.

Endüstride kullanılan enzimlere örnek olarak; novamil, unlu mamullerin tazeliğini koruma; α -amilaz, beyaz şeker, maltodekstrinlerin ve karbohidrat tatlandırıcıların üretimi; lipazlar, selülozlar, proteazlar deterjanlarda; ligninaz, odunsu atıklardaki lignoselülozik yapıdaki selülozun hayvanların kullanmasını sağlamak ve endüstriyel organik substrat olarak kullanmak; amilaz, tekstil de haşıl sökme işleminde kullanılmaktadır.

Enzimleri yukarıda anlatılan faydalarının yanında aynı zamanda endüstriyel kullanımlar için geliştirilmiş formları da vardır. Burada enzimler bir destek materyaline bağlanır ve operasyonel kararlılığına bağlı olarak defalarca kullanılabilir. Serbest formda kullanılan enzimler her bir proses sonunda ürünle birlikte alınacağı için tekrar kullanılamaz. Ancak bir destek materyaline immobilize edilirse defalarca aynı enzimi kullanma olanağı olacaktır. Bu aynı zamanda kullanılan enzim miktarının azalmasına ve dolayısıyla da maliyette düşmeyi sağlamaktadır (Soetan, 2008). Üründe kirlenmeyeceği için ileri saflaştırma yöntemleriyle hem zaman hem de para kaybı önlenmiş olmaktadır. Endüstri için bu kadar fazla getirisi olan enzim immobilizasyonu aşağıda anlatılmıştır.

2.3.1. Enzim Immobilizasyonu

Enzimler, biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların canlılığa zarar vermeyecek ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan ve bunları regüle eden,

spesifik biyokatalizörlerdir (Drepper et al., 2006). Katalizledikleri reaksiyonlarda gösterdikleri etkinlik ve seçicilik, enzimlerden katalizör olarak yararlanma nedenlerinin başlıcalarıdır. Endüstriyel uygulamaların çoğu sulu çözeltilerde gerçekleştiğinden, katalizör olarak kullanılan serbest enzimin aktivitesini yitirmeden geri kazanılması olanak dışıdır. Serbest enzim, reaksiyon ortamından istendiği anda uzaklaştırılmadığından reaksiyonun kontrolü çok güçtür. Reaksiyonun istenilen anda durdurulması için ortama inhibitör katılabilir. Fakat serbest enzim tarafından kirlenmiş olan reaksiyon ürünlerine böylece yeni bir kirlilik unsuru eklenmiş olacaktır. Tüm bu faktörler endüstriyel proseslerde maliyeti çok arttırmaktadır. Ayrıca serbest enzimler sürekli üretim sistemlerine de uygulanamazlar. Enzimlerinin tekrar kullanımı fiyat avantajı açısından da önemlidir. Bu nedenle enzimler bir matriks veya mikrokapsülde tutuklanarak immobilize edilirler (Telefoncu, 1997).

İmmobilize enzimlerin serbest enzime üstünlükleri; reaksiyon sonunda ortamdan kolayca uzaklaştırılabilirler (süzme, santrifüjleme vb.) ve ürünlerin enzim tarafından kirlenmesi söz konusu değildir. Çevre koşullarına (pH, sıcaklık vb.) karşı daha dayanıklıdır. Birçok kez ve uzun süre kullanılabilirler. Sürekli işlemlere uygulanabilirler ve serbest enzimlere kıyasla daha kararlıdır. Ürün oluşumu kontrol altında tutulabilir. Birbirini izleyen çok adımlı reaksiyonlar için uygundur. Bazı durumlarda serbest enzimden daha yüksek aktivite gösterir. Enzimin kendi kendisini parçalaması (otoliz) olasılığı azalır (Murray et al., 2000). Mekanistik çalışmalar için uygundur. Otomatik işlemlere imkân verir. Endüstriyel boyutta önemli ekonomi sağlarlar (Monsan and Combes, 1988).

Gerçek anlamda ilk enzim immobilizasyon denemelerinin sonuçları 1950'li yıllarda birçok çalışma grubu tarafından aynı anda yayınlanmıştır. Daha sonra bu alandaki çalışmalar dünyanın her tarafından popülerite kazanmış olup enzimler değişik amaçlarla immobilize edilmiştir (Telefoncu, 1997).

2.3.2. İmmobilizasyon Yöntemleri

Bir enzimin immobilizasyonunda önemli olan bağlanma metodunun seçimidir. Bu bağlanmada, enzimin kimyasal doğasının değişimi veya enzimin bağlanma bölgesindeki reaktif grupların değişimi ile enzimin aktivite kaybetmesi önlenmelidir. Enzimin aktif merkez bölgesindeki gruplarla reaksiyondan kaçınılmalı veya bağlanma sırasında enzim aktif bölgesinin kolaylıkla uzaklaştırılabilecek koruyucu gruplar ile korunması gerekir. Bazı durumlarda koruyuculuk fonksiyonu substrat veya yarışmalı inhibitör tarafından yerine getirilebilir.

İmmobilize enzimin yüzeyi, enzim içi hidrojen bağlarının veya elektron geçiş komplekslerinin oluşumundan ve yapının muhafaza edilmesinden sorumludur. Bu bağlar enzimin titreşimini önler ve böylece termal stabilite yükselir. Yüzey ve enzimin mikro çevresinin yüklü oluşu enzimin optimum pH'dan 2 birim değişebilmesini sağlar. Enzimin etkili çalışabilmesinde pH bölgesinin geniş olması büyük yarar sağlar. İmmobilizasyon metodlarının sınıflandırılması etkileşimin ve kullanılan desteğin özellikleri esas alınarak yapılmıştır (Rosevear, 1987).

2.4. *Biyoinformatik*

Biyolojik bilimlerdeki gelişmeler sonucu yapılan araştırmalar ve çalışmalar neticesinde yüksek miktarda veri birikimi olmuştur. Bu verilerin çoğunu genomik bilgiler oluşturmaktadır. Yapılan araştırmaların sonuçları o kadar çok artmıştır ki büyük bir bilgi yükü oluşmuştur. Bu durumda bu kadar fazla bilginin nasıl kullanılacağı ve depolanacağı sorunu ortaya çıkmıştır. Burada biyoinformatik devreye girmektedir. Biyoinformatik, biyolojik bilgilerin yaratılması ve saklanması için veritabanlarının oluşturulmasıdır. Yani, biyolojik bilgiyi yönetme ve analiz etme bilimidir (Kaikabo and Kalshingi, 2007). Hızla büyüyen biyolojik veri dizisi nedeniyle biyoinformatik araçlar ve algoritmalar geliştirilmiştir. Biyoinformatik, biyolojiyi, moleküller (fiziksel kimya bilimi) ve büyük ölçekli moleküller ile ilgili bilgileri anlamak ve düzenlemek için uygulamalı bilgi teknikleri (bilgisayar bilimleri, matematik ve istatistik gibi disiplinlerden türetilen) açısından kavramsallaştırmaktadır. Biyoinformatik moleküler biyoloji için bilgi yönetim sistemidir ve çok sayıda pratik uygulamaları vardır (Gerstein et al. 2001). Sonuç olarak, biyoinformatik, biyolojik makromoleküller ile ilgili bilgileri anlamak ve organize etmek amacıyla kullanılan hesaplamalı tekniklerin bir uygulamasıdır. Modern moleküler biyoloji, tıbbi biyoloji ve genetik bilgi arşivlerinden faydalanıp, bilgisayar programlarını kullanarak sonuçlar çıkarılmakta ve bu sayede önemli tahminler yapılmaktadır. Biyoinformatik araçlar, araştırmalar, madencilik, biyolojik verinin analizi ve geri alınması, protein dizilerinin tanımlaması için bilgi üretir (Kaikabo and Kalshingi, 2007).

Günümüzde bilginin depolanması için kullanılan ve etkili erişime olanak sağlayan en geçerli yol veri tabanı programlarıdır. Veri tabanı, toplanan bilgileri işleyebilen, istenen sonuçları derleyip, toparlayabilen bilgisayar programıdır (Bayat, 2002). Biyoinformatikte temel bilişim teknolojilerinin kullanılmasındır (Luscombe et al., 2001).

Transkripsiyonun regülasyonu, hücrel aktivite, gelişimsel organizasyon, metabolik çevrimler veya hücrel iletişim gibi biyolojik sistemlerdeki sinyallerin

ve yolların etkileşimi insan beyni tarafından bir defada anlaşılacak veya çözümlenemeyecek kadar karmaşıktır. Bu bilgileri organize etmek, birbirleriyle ilişkilendirmek ve üzerinde çalışılacak sorun ile ilgili bilgiyi anlaşılabilir bir şekilde ortaya koyabilmek için daha fazla bilgisayar desteğine ihtiyaç duyulmaktadır. Biyoinformatiğin üzerinde durduğu en önemli nokta; karmaşık bilgilerin derlenmesi ve bir araya getirilmesi için modeller ve kavramlar ortaya koymaktır. Aynı zamanda bu bilgileri görselleştirerek anlaşılabilirliğinin artırılmasını sağlamaktır (Bayat, 2002; Jain, 2002). Örneğin protein dizi çalışmaları sonucu elde edilen bilgiler için bir veri bankası oluşturulmuştur. Bilim insanları tarafından elde edilen protein dizi analiz sonuçları, bu veri bankasına transfer edilebilmektedir (Gastgeiger et al., 2003). Bu tür çalışmalardan elde edilen veri birikimde aşırı artış meydana gelmiştir. Bu artış aynı zamanda biyoinformatiğin gelişmesine de olanak sağlamıştır. Biyoinformatikte edinilmiş veriler üzerinden çalışıldığı için maliyet açısından laboratuvar çalışmalarına kıyasla daha ekonomiktir. Biyoinformatik aracılığıyla spesifik hastalıklara karşı yeni ilaçların geliştirilebileceği düşünülmektedir (Gatto, 2003). Biyoinformatik çalışmalar temel bilimlerden gerçekleştiriyor görünse de ilerleyen yıllarda diğer bilim alanlarıyla da yakından bağlantı kuracaktır. Özellikle klinik bilişimle ilişkisinin çok artacağı öngörülmektedir (Cebeci, 2001; Çömlekçiöglü ve Bayraktaroğlu, 2001).

2.5. *Enzim Mühendisliği*

Enzimler protein yapısında biyomoleküllerdir. Bu nedenle enzim mühendisliği denildiğinde aynı zamanda protein mühendisliği de anlaşılmalıdır. Geniş anlamda enzim mühendisliği, katalitik etkinlik, optimum pH veya iyileştirilmiş stabilite gibi önceden belirlenmiş enzimatik özelliğe veya özelliklere sahip mutant proteinlerin yaratılması anlamına gelir. Enzim mühendisliği, moleküler biyoloji tekniklerinin kullanılması yolu ile enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının moleküler düzeyde anlaşılıp, genetik yapılarının değiştirilerek, istenilen yapı ve fonksiyona sahip yeni enzimlerin üretilmesi olarak tanımlanmaktadır. Enzimlerin optimizasyonu ve yeniden dizayn edilmesi için genel olarak iki farklı fakat birbirini tamamlayan strateji izlenmektedir. Rasyonel tasarım ve yönlendirilmiş evrim olarak isimlendirilen bu teknikler ayrı ayrı ya da birlikte kullanılarak endüstriyel öneme sahip proteaz, amilaz, lipaz, lakkaz ve selülaz gibi enzimlerin özelliklerini iyileştirilerek endüstriyel skalada üretilebilmektedirler. Rasyonel tasarımda, enzim yapısı ve fonksiyonu ile ilgili bilgiler kullanılarak amino asit değişiklikleri ve pozisyonları önceden belirlenir. Enzimin yapı ve fonksiyonu ile ilgili bilgi genellikle biyoinformatik çalışmalar sonucu ortaya çıkarılır. Yönlendirilmiş evrim

ise rastgele mutasyonlar veya rekombinasyon gibi doğal süreçlerin laboratuvarında taklit edilmesine dayanır. Yönlendirilmiş evrim, protein hakkında detaylı bilgi olmadan da enzim özelliklerinin değiştirilmesine olanak sağlaması açısından da avantajlıdır (Evrar, 2009). Mezofilik enzimlerin yukarıda da bahsedilen protein mühendisliği teknikleri ile termostabilitelelerinin artırılması, yeni termostabil enzimlerin elde edilmesinde alternatif bir yoldur.

Rasyonel tasarımda teorik modeller veya yapı-fonksiyon ile ilgili verilerden yararlanarak mutasyonlar veya protein dizileri önceden tasarlanmaktadır. Buna karşın yönlendirilmiş evrimde gende gerçekleştirilen rastgele mutasyonlar sonucu gen kütüphaneleri oluşturulmakta ve istenen özelliklere sahip varyantlar deneysel olarak seçilmektedir. Bu nedenle yönlendirilmiş evrim stratejisi uygulanırken iki önemli nokta dikkate alınmalıdır. Bunlardan birincisi istenen özelliklere sahip varyantların kütüphanelerden taranması veya seçilmesi için uygun yöntemlerin geliştirilmesidir (Dalby, 2007). İkincisi, kütüphane boyutunun büyüklüğü (varyant sayısı) ve mutasyon sıklığının optimizasyonudur.

Özellikle son 10 yılda, protein mühendisliğinde baş döndürücü hızda yaşanan gelişmeler, ilgili proses koşullarına uygun enzimlerin dizayn edilmesine olanak tanımaktadır.

2.6. Metabolizma Mühendisliği

Metabolizma mühendisliği, genel olarak kimyasal dönüşümler, enerji transdüksiyonu ve supramoleküler katlanma gibi hücreyel yolların daha iyi anlaşılması ve kullanılması için bir organizmada bulunan metabolik yolların amaca yönelik olarak değiştirilmesini hedeflemektedir (Lessard, 1996). Metabolizmanın yönlendirilmesi kavramı daha önce tartışılan bir konu olmasına rağmen, ilk kez 1991 yılında Bailey tarafından metabolizma mühendisliği kendi başına bir disiplin olarak ileri sürülmüştür. Bu görüş kısa sürede bilim insanları tarafından da benimsenmiştir. Bu multidisipliner alan, kaynağını kimya mühendisliği, hesaplamalı bilimler, biyokimya ve moleküler biyoloji gibi alanlardan almaktadır. Aslında, metabolizma mühendisliği, belirli bir hedefe ulaşmak için metabolik yollara tasarım ve analiz mühendislik ilkelerinin uygulanmasıdır. Burada hedef, antibiyotik, biyosentetik prekürsörler veya polimerlerin üretimi veya metabolik kapasitenin genişletilmesi gibi proseslerin verimliliğinin artırılmasıdır. Bu hedeflere ulaşmak için uygulanan daha önceki stratejiler deneme-yanılmaya dayalıdır.

Metabolizma mühendisliğinin devrimsel gelişimi rekombinant tekniklerinin gelişimiyle başlamıştır. Bu gelişme özellikle restriksiyon enzimlerinin keşfiyle olmuştur. Bu gelişmelerle birlikte plazmidlere belirli

bir DNA parçasının eklenebilmesi ve bu plazmidin konakçı hücreye transferi imkânı sağlanabilmiştir. Metabolizma mühendisliğinden önce biyoteknolojik üretim proseslerinin mühendisliği, doğal üreticilerin seçimi, üreticinin DNA'sında rastgele mutasyonlarla, optimize edilen ortamlarla veya besleme stratejileriyle üretimin artırılması sağlanmaktaydı. Ancak üretilen ürün birçok durumda sadece hücrenin ihtiyacı kadar üretmesiyle sonuçlanırdı. Çünkü hücreler regülasyon sistemlerini çalıştırarak ihtiyaçları olduğu kadarını üretirler. Böylece hayatyetlerini mümkün olduğunca uzatırlar. Bu durumda da endüstriyel boyutlarda üretilmek istenilen ürünler için çok fazla süre, girdi ve maliyet harcamak gerekir. Bu nedenlerle metabolizma mühendisliğini kullanılmalı ve geliştirilmelidir.

Metabolizma mühendisliği çalışmalarında ilk adım üzerinde çalışılacak problemin iyi tanımlanmasıdır. İkinci adım bu problemle ilgili moleküller ve yolların haritalandırılması yapılmalıdır. Ayrıca belirlenen, üzerinde çalışılacak yoldaki proteinler ve enzimler belirlenmelidir. Üçüncü adım üzerinde çalışılacak moleküllerde hangi derecede değişiklik yapılacağına karar verilmelidir. Sonraki adımda deney tasarlanarak küçük ölçekli deney yapılmalıdır. Deneylerde başarılı olunursa büyük ölçekli denemelere geçilir.

2.7. Biyosistem Mühendisliği

Tarımsal alandaki çalışmalarda veya bu alanda ortaya çıkan problemlerin çözümleri için sadece mühendislik bilimleri kullanılmaktaydı. Son yıllarda tarım ve mühendislikteki çalışmalar multidisipliner bir yaklaşım içine girmiştir ve tarım için en önemli unsur olan biyolojinin de, bu alanların içerisinde değerlendirilmesi zorunluluğu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte tarımsal üretim ve süreçleri, elektronik ve enformasyon disiplinlerinin aracılığıyla kontrol edilmesi daha kolay hale gelmiştir. Böylece bu disiplinlerde tarım ve mühendisliğin bir parçası haline gelmişlerdir (Bennedsen, 2004; Eriş, 2004). Biyolojik materyaller, teknolojinin gelişmesiyle birlikte bitkisel ve hayvansal üretimlerde kullanılmaya başlanmıştır. Burada beklenti tarımsal ürünlerin kalitesinin ve miktarının artırılmasıdır ve beklendiği gibi de olmuştur (Saraç et al., 2003). Bu görüş, mühendislik ve tarımın geniş anlamda tanımı içine de girmiştir. Aynı zamanda, tarımda yeni teknolojiler, bu görüşle birlikte kullanılmaya başlanmıştır. Tarımda hızlı teknoloji kullanılması, makineleşmenin artması, üründeki hasat sonrası işlemler, çevre teknolojisi ve sulu tarım vb. yeni oluşumların beklentisini getirmiştir. Bu gelişmeler göz önüne alındığında, mühendisliğin ve tarımsal yüksek öğretimin temelinden doğan ve gelişen yeni bir disiplin ortaya çıkmıştır. Bu yeni ve geniş alanı tanımlamak için yeni bir isim ve yapılanmaya gerek olduğu giderek

artan bir şekilde kabul görmüştür. Bu yeni disipline "Biyosistem Mühendisliği" tanımı yapılmıştır (Ülger and Gönülol, 2006)

Biyosistem mühendisliğinde amaç biyolojik kompleksliği anlamak ve bu bilgileri kullanarak biyolojik davranışı manipüle etmek ve/veya geliştirilmiş tüm proses tasarımı realize etmektir. Hücrenel bir prosesin anlaşılması ve biyoprosese tam anlamıyla aktarılması günümüzde hala tam anlamıyla gerçekleştirilmiş değildir. Özellikle ölçek büyütme ve performans üzerine hücrenel kütlelenin etkisi tam anlamıyla çözümlenmiş değildir. Bu sorunlar ancak multidisipliner yaklaşımla çözülebilir.

3. DEĞERLENDİRME

Beyaz biyoteknoloji, modern biyokimyasal ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak daha az atık üreten, daha az enerji tüketen, kimyasal proseslere alternatif biyolojik üretim prosesleri olarak tanımlanabilir. Beyaz biyoteknolojinin kullanıldığı yeni veya iyileştirilmiş proseslerin geliştirileceği açıktır. Böylece yenilenemez kaynaklara olan bağımlılıkta ortadan kalkacak ve hızlı, doğa dostu ve maliyeti düşük prosesler geliştirilebilecektir.

KAYNAKLAR

Aehle W. Enzymes in Industry, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, (2007) pp. 489.

Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation, *Microbiol Rev*, 59 (1995) 143–169.

Bachmann, R., Industrial Biotechnology – new value-creation opportunities. McKinsey & Co., presentation at the Bio-Conference, New York, 2003.

Bailey, JE. Towards a science of metabolic engineering. *Science*, 252 (1991) 1668-1674.

Bayat A. Science, medicine and the future: *Bioinformatics*. *BMJ*, p. 324 (2002) 1018-1022.

Bennedsen B. Defining the qualifications of the future agricultural engineering. Tarım ve Mühendislik Uluslararası Sempozyumu, Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara (2004).

Berkem AR. Kimya Tarihine Toplu Bir Bakış, Türkiye Kimya Derneği Yayınları: 12, İstanbul, 1996.

Campbell, C., The future of oil. *Energy Explor Exploit*, 16 (1998) 125–152.

Cebeci Z. Tarım ve Bilişim: Nereden Nereye? Tarımda Bilişim Teknolojileri 4. Sempozyumu Bildiri Kitabı, s:21-22, Kahramanmaraş (2001)

Csiszar E, Losoncz A, Koczka B, Szakacs G, Pomlenyi A. Degradation of lignin-containing

materials by xylanase in biopreparation of cotton. *Biotechnol Lett*, 28 (2006) 749-753.

Çömlekçioğlu U, Bayraktaroğlu E. Biyoloji ve Bilişim Teknolojileri, K.S.Ü. Fen ve Mühendislik Dergisi, Kahramanmaraş, 4 (2001).

Daini OA. Fundamentals of Genetic Engineering, Samrol Ventures and Printing Co., Ijebu-Igbo, Ogun State, Nigeria, (2000).

Dalby PA. Engineering enzymes for biocatalysis, *Recent Patents on Biotechnology*, 1 (2007) 1-9.

Demain AL, Solomon NA. Industrial Microbiology and the Advent of Genetic Engineering, a Scientific American Book, Freeman & Comp., San Francisco, (1981) 3-14.

Drepper T, Eggert T, Hummel W, Leggewie C, Martina Pohl, Rosenau F, Wilhelm S, Jaeger K-E. Novel biocatalysts for white biotechnology, *Biotechnol J*, 1 (2006) 777–786.

EFB, Environmental Biotechnology, European Federation of Biotechnology Task Group on Public Perceptions of Biotechnology, Briefing Paper No: 2, (1997).

EFB, Environmental Biotechnology, European Federation of Biotechnology Task Group on Public Perceptions of Biotechnology, Briefing Paper No: 4, (1999).

Eren Kıran, Ö., Çömlekçioğlu, U. ve Dostbil, N., Bazı mikrobiyal enzimler ve endüstrideki kullanım alanları, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, Kahramanmaraş, 9 (2006)12-19.

Eriş A. Değişik ülkelerdeki tarımsal yüksek öğretim örnekleri. Tarım ve Mühendislik Uluslararası Sempozyumu, Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara (2004).

Erkaya E, Çaylıkoca AB, Kalınyaprak F. Enzimatik Kataliz, Kimya Mühendisliği Uygulaması, Selçuk Üniversitesi, Konya , (2006) pp. 78.

Evran S. Rasyonel ve evolusyoner enzim dizaynı yolu ile iki ($\beta\alpha$)₈-barrel enziminin katalitik aktivitelerinin değiştirilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, p. 164 (2009).

Gastgeiger E, Gattiker A, Hoogland C, Ivanyi I, Apel RD, Bairoch A. ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic Acids Res*, 31 (2003) 3784-3788.

Gatto ML. The changing face of Bioinformatics, *Drug Discov Today*, 8 (2003) 375-376.

Gerstein M, Greenbaum D, Luscombe NM. What is bioinformatics? An introduction and overview, *Yearbook of Medical Informatics*, (2001) 83-99.

- Guebitz GM, Buchert J, Cavaco-Paulo A, Heine E. Advances in biotechnology for fibre processing. *Biotechnol Lett*, 28 (2006) 679–680.
- Hambleton P (1988). The impact of Biotechnology in Veterinary Healthcare: Perceptions and Realities, In: *Animal Clinical Biochemistry, The Future*. Ed. by Blackmore DJ, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 15-32.
- Haslberger AG. GM food: The risk-assessment of immune hypersensitivity reactions covers more than allergenicity, *Food, Agriculture & Environment*, 1 (2003) 42-45.
- Hatti-Kaul R, Törnvall U, Gustafsson L, Börjesson P. Industrial biotechnology for the production of bio-based chemicals – a cradle-to-grave perspective, *Trends Biotechnol*, 25 (2007) 119-124.
- Jain E. A practical Introduction to Bioinformatics, *Trends Biotechnol*, 20 (2002) 226-227.
- Kaikabo AA, Kalshingi HA. Concepts of bioinformatics and its applications in veterinary research and vaccines development, *Niger Vet J*, 28 (2007) 39-46.
- Kolankaya N. Biyoteknolojiye Bir Bakış: Dünya ve Türkiye, “Küreselleşme Sürecinde Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik” Sempozyum Bildirileri Kitabı, T.C. Çevre Bakanlığı, T.C. Tarım ve Köyüleri Bakanlığı ve Biyoteknoloji Derneği Ortak Yayını-Ankara. (2000) 1–6.
- Lee SY, Jang SH. Commentaries & Analyses-WHITE BIOTECHNOLOGY, *Asia Pacific Biotech News (APBN)*, 10 (2006) 559-563.
- Lessard P. Metabolic engineering, the concept coalesces. *Nat Biotechnol*, 14 (1996) 1654-1655.
- Lorenz P, Zinke H. White biotechnology: differences in US and EU approaches?, *Trends Biotechnol*, 23 (2005) 570-574.
- Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M. What is bioinformatics? An introduction and overview. *Yearbook of Medical Informatics*, p. 83-85 (2001).
- Mauray J, Asadollahi MA, Moller K, Clark A, Nielsen J *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 100 (2005) 19-51.
- Mehta MD, Gair JJ. Social, political, legal and ethical areas of inquiry in biotechnology and genetic engineering, *Technol Soc*, 23 (2001) 241-264.
- Miller SA. Novel foods: safety and nutrition, *Food Technol-Chicago*, 46 (1992) 114-118.
- Monsan P, Combes D. Enzyme stabilization by immobilization. *Methods Enzymol*, 137 (1988) 584-598.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Haper’s Biochemistry*, 25th Edition, McGraw-Hill, Health Profession Division, U.S.A., 2000.
- Özgen M, Ertunç F, Kınacı G, Yıldız M, Birsin M, Ulukan H, Emiroglu H, Koyuncu N, Sancak C. “Tarım teknolojilerinde yeni yaklaşımlar ve uygulamalar: bitki biyoteknolojisi”, *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi*, Ankara, (2005) 315-346.
- Rosevear A. Immobilization of enzymes. In: Rosevear A, Kennedy JF, Cabral JMS (Eds.), *Immobilised Enzymes and Cells*. IOP Publishing Ltd., Bristol, (1987) pp. 1-50.
- Saral A, Vatandaş M, Güner M, Türker U, Yenice T, Koç, C. Ziraat Mühendisliği Öğretiminde Sorunlar ve Çözüm Önerileri, *Tarımsal Mekanizasyon 21. Ulusal Kongresi Bildiri Kitabı*, (2003) S. 99-106, Konya.
- Soetaert W, Vandamme E. The impact of industrial biotechnology. *Biotechnol J*, 1 (2006) 756–769.
- Soetan KO. The dynamic and ubiquitous nature of biotechnology, *Afr J Biotechnol*, 7 (2008) 2768-2772.
- Stottmeister U, Aurich A, Wilde H, Andersch J, Schmidt S, Sicker D. White biotechnology for green chemistry: fermentative 2-oxocarboxylic acids as novel building blocks for subsequent chemical syntheses, *J Ind Microbiol Biotechnol*, 32 (2005) 651–664.
- Telefoncu A. İmmobilize Enzimler, 193-248, *Enzimoloji*, A. Telefoncu (Der.), *Biyokimya Yaz Okulu*, Aydın, (1997) pp. 446.
- TÜSİAD, Uluslararası Rekabet Stratejileri: Biyoteknoloji, TÜSİAD. Yayın No: 12/289, İstanbul, (2000).
- Ülger P, Gönülol E. Biyosistem Mühendisliği, *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 3 (2006) 315-321.
- Wiseman A. *Handbook of Enzymes Biotechnology*. Second Ed. Chapter 3. The Application of Enzymes in Industry, (1987) 274-373 p.
- Wohl JB. Consumers’ decision-making and risk perceptions regarding foods produced with biotechnology, *J Consum Policy*, 21 (1998) 387-404.