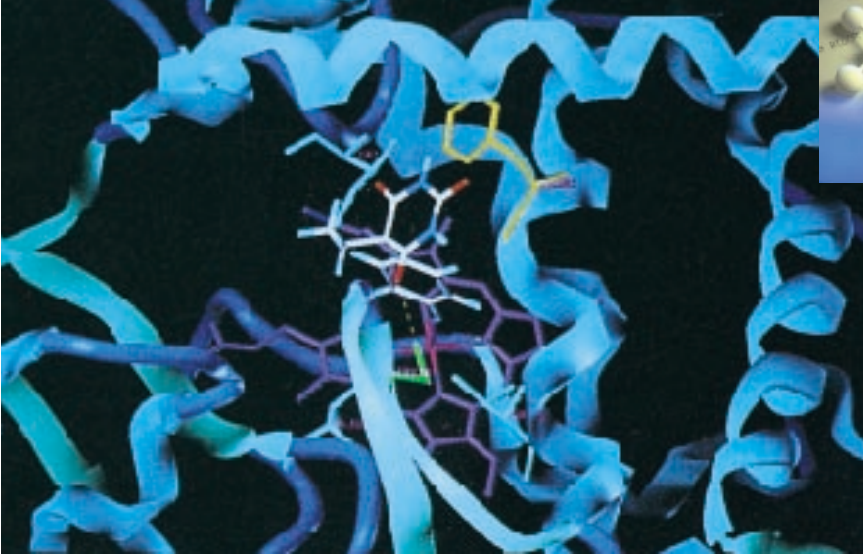


Enzim Teknolojisi



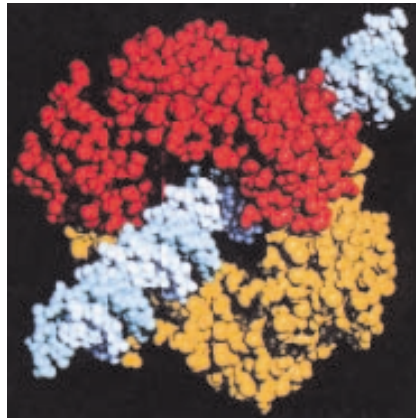
Enzimler, kıvrılıp, bükülmüş amino asit zincirlerinden oluşan, büyük ve karmaşık proteinlerdir. Bitkilerden, mikroskopik tek hücreli mikroorganizmalara değin, bütün canlıların hücrelerinde bulunurlar. Yani farkında olmasak bile bütün yaşamımız boyunca enzimlerle iç içeyiz; hücrelerimiz, içinde yaşadığımız çevre, ve günümüzde kullandığımız endüstriyel ürünlerde bile enzimler var. Peki ne işe yarar bu enzimler?

ENZİMLER, canlı için yamsamsal önemi olan pek çok fonksiyonun kontrolünde rol alırken, bir yandan da organizmada hemen hemen bütün kimyasal tepkimelere katılarak, oluşumlarını inanılmaz boyutlarda hızlandırır. İşlem sonunda, tepkimeye girdikleri ilk hallerinde tepkimeden çıkarlar. Bu nedenle, her enzim bir biyokatalizördür. Başka bir deyişle, enerji açısından normal koşullarda hiç gerçekleşmeyecek ya da çok yavaş gerçekleşebilecek kimyasal tepkimelere katılarak, kendileri bir değişikliğe uğramadan, bu tepkimelerin çok hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlarlar. Kuramsal olarak bir enzim belli bir tepkimeye girip, bir değişikliğe uğramadan çıktığı için, sürekli olarak aynı türden tepkimelere katılabilir. Ancak gerçekte durum böyle değildir, çünkü enzimlerin de bir ömrü vardır.

Enzimlerin birer protein olduğunu ve bu nedenle de amino asit denen temel yapı taşlarından oluştuklarını söylemiştik. Peki, bir enzimin hangi amino asitlerden oluşacağını ne belirliyor? Diyelim ki enzimin yapıldığı amino asitleri biliyoruz. İş bununla bitmiyor. 100 amino asitten oluşan bir proteini düşünün. Doğada 20 çeşit amino asit bulunduğuna göre bunlardan 100^7 ü, 100^{20} farklı şekilde doğrusal olarak sı-

ralanabilir. Ancak bu dizilimlerden yalnızca biri işlevsel enzimi oluşturacaktır. O zaman, bu diziyi belirleyen şey nedir? Her iki sorunun da cevabı aynı: Genler. İster hücenin yapısında görev alacak olsun, isterse enzim aktivitesi gösterecek olsun bütün proteinler, genler tarafından kodlanır. Genlerde 4 nükleotitik alfabeyle yazılan bilgiler, hücre içinde ribozomlarda okunarak, 20 amino asitlik alfabeyle yazılan protein bilgisine çevrilir. Oluşan proteinler de, taşıdıkları bu bilgiler ışığında görevlerini yerine getirirler.

Artık elimizde genler tarafından belirlendiği biçimde oluşturulmuş en az bir amino zinciri var. Nasıl oluyor da böyle bir molekül, kimyasal tepkimelere katılıp onları milyonlarca kez hız-



DNA molekülü (mavi) etrafına sarılmış bakteriyel DNA polimeraz enzimi

landırabiliyor? Bu sorunun cevabı da amino asitlerin kimyasal yapısında gizli. Amino asitler bir tane karbon atomuna (C) bağlanmış bir amino grubu (NH_2), bir hidrojen (-H), bir karboksil grubu ($-\text{COOH}$) ve bir de değişken yan gruptan (-R) oluşurlar. Yirmi amino asitin hepsi de bu temel yapıya sahiptir. Onları farklı yapan tek şey, taşıdıkları yan grupların büyüklük, şekil, elektrik yükü, suya duyulan ilgi ve aktiflik açısından farklı olmalarıdır. İşte enzimi oluşturan bu amino asitler birbirleriyle etkileşerek, zincirin kıvrılıp bükülmesine ve sonuçta da üç boyutlu bir yapı kazanmasına neden olurlar. Ayrıca, bu yapıdaki bazı amino asitlerin taşıdıkları yan gruplar, enzimin üç boyutlu yapısında bir bölgede toplanarak "aktif bölge" denen bir alan oluştururlar. İşte enzimlerin tepkimeleri kataliz etme ve çok seçici olmalarının sırrı bu bölgedir. Bölgenin oluşturduğu boşluk şekli o kadar özeldir ki, sadece o enzimin katalize edeceği tepkimeye girecek madde, başka bir deyişle enzimin substratı, bu boşluğa girebilir. Bir kez enzimin içine girdikten sonra, substratla enzimin bu aktif bölgesinde bulunan kimyasal gruplar arasında kimyasal etkileşimler meydana gelir. Sonuçta substrat, "geçiş durumu yapısı" denen ve normalde çok kararsız olan bir yapıya dönüşür. Daha sonra bu yapı ya ürünü oluşturacaktır, ya da

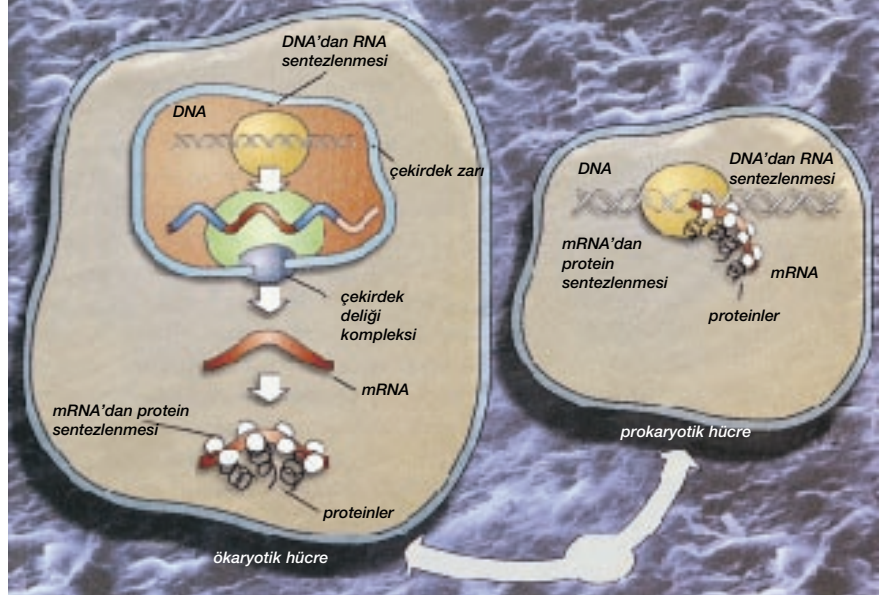
substrata geri dönecektir. İşte enzimin aktif bölgesinde oluşan bağlar, bu kararsız yapıyı kararlı kılmaya yarar ve böylece, ürünün oluşması için enzime daha fazla zaman tanınmış olur. Normalde kimyasal tepkimenin oluşması için bu geçiş durumu yapısının oluşması, bunun içinse aktivasyon enerjisi denen bir miktar enerjinin sağlanması gerekir. Katıldıkları tepkimelerde enzimler, aktif bölgelerinin üç boyutlu özel şekilleri sayesinde, bu geçiş durumunun oluşumunu kolaylaştırır ve dolayısıyla gerekli enerjiyi azaltırlar. Böylece tepkimeyi cazip hale getirip, tepkimenin daha az enerjiyle daha çabuk gerçekleşmesini sağlarlar.

Enzimleri, biyolojik sistemlerde olduğu kadar, endüstriyel uygulamalar için de gitgide cazip kılan özelliklere değinelim biraz da. Asitler, bazlar ya da metal oksitler gibi inorganik katalistlerin tersine enzimler, son derece seçicidir. Başka bir deyişle, her enzim tek bir madde, ya da birbiriyle çok yakın ilişkili olan bir grup madde üzerinde etkilidir. Bazı durumlarda bu seçicilik öyle boyutlardadır ki, enzim maddenin yalnızca belli bağlarını seçer tepkime için. Enzimlerin bu seçicilikleri sayesinde, endüstriyel uygulamalarda, istenilen ürün çok büyük miktarlarda ve saf olarak üretilirken, işlem sonucunda oluşabilecek istenmeyen maddeler de en az düzeye indirilmiş olur.

Enzimlerin başka bir özelliği de son derece verimli çalışmalarındadır. Örneğin, karaciğer ve kırmızı kan hücrelerinde bol miktarda bulunan katalaz enzimi o kadar etkindir ki, bir enzim molekülü bir dakika içinde 5 000 000 hidrojenperoksit (H_2O_2) molekülünü su (H_2O) ve oksijene (O_2) parçalayabilir.

Endüstride enzimler, yenilenebilen hammaddelerin işlenmesinde kullanılıyor. Örneğin meyvalar, tahıl, süt, yağlar, et, pamuk, deri, ve odun bunlardan bazıları. Bütün bu hammaddeler ve bunların enzimler kullanılarak işlenmesi sonucunda oluşan atıklar hem zehirsiz oluyor, hem de gübre olarak değerlendirilebiliyor.

Enzimlerin endüstri için önemli olan başka bir özelliği ise ılımlı şartlar altında çalışıyor olmaları. Canlılarda çalıştıkları için, atmosferik basınç altında ve çok uç olmayan sıcaklık ve asidite- deki ortamlarda etkinler. Enzimlerin

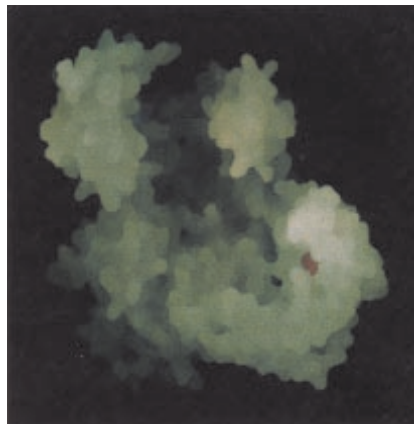


İlkel ya da gelişmiş bütün hücrelerde enzimler, DNA tarafından kodlanır.

çoğu 30° ile 70 °C arasında ve nötr pH değerlerinde (yaklaşık pH7) optimum aktivitelerini gösterirler. Bazı teknik uygulamalar için yüksek sıcaklıklarda çalışabilecek enzimler tasarlanmış. Bu durumda enzimlerin kullanıldığı işlemler hem enerji tasarrufu sağlıyor, hem de sıcaklık, basınç ve korozyona dayanıklı malzemelere gereksinim duyulmasını engelliyor.

Sonuç olarak verimlilikleri, seçicilikleri, ılımlı şartlar altında çalışabilmeleri, ve biyolojik olarak parçalanabiliyor olmaları nedeniyle enzimler, pek çok endüstri alanı için çok uygun bir seçenek oluşturuyor.

Enzimler için iyi bir örnek düşünüyorsanız, bunu uzaklarda aramaya gerek yok; sadece birkaç lokma birşey yemeniz yeterli. Siz lokmanızı çiğnerken bir enziminiz çalışmaya başladı bile: Alfa-amilaz. Bu enzim nişastayı par-

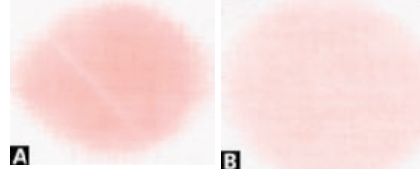


RNA virüslerinde bulunan reverse transkriptaz enzimi

çalayarak basit şekerlere dönüştürüyor. Besin midenize ulaştığında, özel salgı bezleri asitli mide sıvısını salgılamaya başlıyor. Bu sıvının önemli bir elemanı "pepsin" denen bir enzim. Bu, proteinleri parçalayan ve midedeki gibi çok asitli ortamlarda çalışmayı seven bir enzim. Ağzınızda bir miktar parçalanmış olan besin onikiparmak bağırsağına geçiyor. Pankreastan buraya salgılanan bir sıvı, ortamın asiditesini değiştiriyor. Bu sıvının içinde bulunan enzimlerden biri nişastayı en basit şekere çevirirken, bir başkası da proteinleri parçalayarak amino asitlere dönüştürüyor. Bu aşamaya kadar yağlara birşey olmamıştı. Ama şimdi pankreasta yapılan bir enzim, lipaz, yağları sindirecek. Yemek yedikten yaklaşık yedi saat sonra besin onikiparmak bağırsağından ince bağırsağına geçer ve burada enzimler tarafından açığa çıkarılmış besinler emilir ve kana geçer. İşte sindirim enzimlerinin görevi bitmiştir. Bu enzimler yediğiniz besini vücut tarafından kullanılabilir minicik besin maddeleri haline getirdiler ve bunlar emilip kana karıştı. Sonra bu besinler yaşlanan hücreleri yenilemekte ve enerji üretiminde kullanılacaklar. Burada yalnızca sindirimde rol alan bazı enzimlerden bahsettik; ama, tek bir hayvan hücresinde bile gerçekte 1 000 – 4 000 farklı enzim bulunuyor ve bunların her biri özel bir kimyasal tepkimede görev yapıyor. Yani diyebiliriz ki, eğer enzimler olmasaydı, yaşamsal fonksiyonlar yerine getirilemezdi.

Doğal Enzimler ve Endüstriyel Enzimler

Endüstriyel değeri olan enzimler dünyada çeşitli firmalar tarafından üretiliyor. Ancak bunlarda kaynak, bitki ya da hayvanlar değil; toprak mikroorganizmaları. Endüstriyel enzimlerin hemen hepsi bu kaynaktan elde ediliyor. Mikroorganizmalar bakteri, küf ya da mantar olabiliyor. Yeni bir enzim bulmak için araştırmalar dünyanın pek çok farklı bölgesinden toplanan mikroorganizmalar incelenerek başlıyor. Bir tek mikroorganizma 1000'den fazla farklı enzim çeşidine sahip. İstenilen işi yapan enzimi üreten en uygun organizma bulunana değin yoğun laboratuvar çalışmaları yürütülüyor. Uygun organizma bulunduğu iş bitmiyor. Bu organizma genetik olarak değiştirilerek,



Dünya genelinde tüm deterjanların içinde çalışması amaçlanan yağ sökücü bir enzimin, Avrupa deterjanlarına katıldığında gösterdiği etki. Polyester / pamuk karışımı bir kumaşta oluşan boya lekесinin (A), bu enzimi içeren deterjanla 30°C'de bir kez yıkanması sonrasındaki hali (B).

istenilen enzimi çok daha fazla miktarda üretmesi sağlanıyor. Daha sonra bu organizma, devasa fermantörlerde büyütülerek, istenilen enzime kavuşuluyor. Fermantasyon sonucu oluşan atıklar da gübre olarak değerlendirilebiliyor. Doğada ihtiyacımız olabilecek her türlü enzim var gibi görünüyor. Bunlar bulunup, çok miktarda üretilebilirse insanlığın yararına olabilecek pek çok işlem için kullanılabilir.

Enzimlerin Kullanıldığı Endüstri Alanları

Deterjanlar

Enzimlerin sıkça kullanıldığı bir alan, evde kullanılan çamaşır deterjanlarının yapımı. Pek çok insan enzimlerin sadece deterjan yapımında kullanıldığını zannediyor. Çünkü enzimlerin 1960'lı yıllardan beri en sık kullanıldığı alan deterjanlar. Ayrıca tüketiciler bu enzimli ürünü doğrudan kullanan kişi konumundalar; oysa diğer sektörlerde tüketici enzimle karşılaşmıyor; enzim, ürünün oluşumundaki ara basamaklardan birinde kullanılıyor.

Çamaşır deterjanlarında kullanılan enzimlerin başında proteazlar geliyor. Bu enzimler protein lekelerini çıkarıyor. Örneğin çim, kan, yumurta ve ter lekeleri bu enzim tarafından temizlenebiliyor. Bu organik, leke yapıcı maddeler, giysinin lifleri arasına sıkıca ya-

Enzim Teknolojisinin Tarihi

İddialara göre bugünkü modern enzim teknolojisi 1874'de Danimarka'lı kimyager Christian Hansen'in, kurutulmuş siğir midelerinden 'renet' enzimini tuz ekstraksiyonu ile elde etmesiyle başladı. Bu preparat, endüstriyel amaçla üretilmiş ve görece saf olan ilk enzim preparatı olarak görünüyordu. Aslında bu önemli buluşa, daha önceden yapılmış uzun evrimsel işlemler sonucu ulaşılmış. Enzimler, ya enzim açısından zengin sebzeler olarak, ya da ekmek ve bira yapımı gibi çeşitli amaçlarla kullanılan mikroorganizmalar olarak, insanoğlu tarafından yüzyıllar boyunca kullanılmış. Hatta enzimlerin antik çağlarda peynir yapımında kullanıldığına ilişkin ipuçları da var. İ.Ö. 800 yılı civarında yazılmış olan ünlü İlyada ve Odessi epik şiirinden, oğlak ya da koyun midelerinin, ki bunlarda da siğir midesinde bulunan enzimin aynısı bulunuyor, peynir yapımında kullanıldığı anlaşılıyor.

Enzimlerin işlevleri anlaşılmış ve tarih boyunca kullanılmışlarsa da, bunların gerçek özelliklerinin anlaşılması yakın geçmişte olmuştur. Enzimatik işlemler, özellikle de fermantasyon, ondokuzuncu yüzyılın en gözde ilgi alanıydı ve bu dönemde çok değerli buluşlar yapıldı. Özellikle önemli olan bir deney, 1833'de Payen ve Persoz tarafından yapılan ve çimlendirilmiş arpadan (malt) bir enzim kompleksinin saflaştırılması olmuştur. Tıpkı maltın kendisi gibi, jelatinleşmiş nişastayı şekere, özellikle de maltoza, çeviren bu madde "diyastaz" olarak adlandırılmış. Bu terim Fransızca konuşulan ülkelerde bütün enzim izolatları için hâlâ kullanılıyor. Bundan sonra diyastaz ve bunun gibi aktivitesi olan maddelere "ferment" denildi. Daha sonraki yıllarda fermantasyon teknolojisi alanında gelişmeler devam etti. Özellikle Schwann, Liebig, Pasteur ve Kühne'nin bu gelişime büyük katkıları oldu. Liebig ve Pasteur'un fermantasyon üzerindeki tartışmaları işleri iyice kızdırdı.

Leibeg'e göre fermantasyon yaygın, kimyasal bir işlemdi ve maya, parçalanma sırasında daima bulunan cansız bir maddeydi. Öte yandan Pasteur, canlı organizmalar olmadan fermantasyonun olmayacağını söylüyordu. Günümüzde anlaşıldı ki, ikisinin de iddiası tam olarak doğru değil. Bu tartışma en sonunda 1897'de, her iki bilgin de hayatını kaybettikten sonra, çözüme kavuştu: Buchner kardeşler mayadan elde edilen ve hücreden ayrıştırılan



bir ekstrenin, tıpkı canlı maya hücreleri gibi, glükozu karbondioksit ve etanole çevirdiğini göstermişlerdi. Başka bir deyişle, fermantasyon işlemi mayanın kendisi tarafından değil, mayanın içinde bulunan maddeler tarafından gerçekleştiriliyordu.

1876'da Kühne, canlı organizmalardan elde edilen bu fermentlere "enzim" denilmesini önerdi. Bu kelime "mayanın içinde" anlamına geliyor. Yunancada "en" "içinde" ve "zyme" de "maya" ya da "hamur mayası" anlamına geliyor. Belki Kühne de Buchner kardeşlerin vardığı sonuca varmıştı; ama bu iddiasını ispatlayacak deneysel verileri sunamadı.

Bu yüzyılın başlarında enzim teknolojisi Avrupa dışında da yavaş yavaş geliyordu. Uzakdoğuda yüz yıllık bir gelenek hakimdi. Bazı yiyeceklerin, soya bazı tatlandırıcıların ve bazı içkilerin yapımında, "koji" denen bir küf mantarı kullanılıyordu (hâlâ da kullanılıyor). Koji, buharda tutulmuş pirincin içine bir küf mantarı karışımının katılmasıyla hazırlanıyor. Bu karışımın içeriğiyse nesilden nesile aktarılıyor. Bu işlem, Japon bilim adamı Takamine'nin küf kaynaklı amilaz enziminin endüstriyel boyutlarda üretimi için bir fermantasyon işlemi geliştirmesine kaynak oldu. İşlem, nemlendirilmiş pirinç ya da buğdayın üzerinde *Aspergillus oryzae*'nin üretilmesini içeriyor. Elde edilen ürün "Takadiastaz" olarak adlandırılıyor ve günümüzde de sindirime yardım etmek amacıyla kullanılıyor. Takamine tarafından önerilen fermantasyon tekniği, "yüzey kültürü" ya da "yarı-katı kültür", bazı enzimlerin üretilmesi amacıyla halen kullanılıyor. Ancak günümüzde bu yöntem yerine daha çok "submerged culture" yöntemi kullanılıyor. Bu yöntemde fermantasyon, enzimin kullanacağı hammaddenin bulunduğu ve karıştırıldığı kapalı bir tankta geçiyor.

Takamine'nin yeni fermantasyon yöntemini geliştirdiği sıralarda, enzimlerin kullanımlarıyla ilgili yeni bir alan ortaya çıktı: Haşılama (desizing). Haşılama, dokuma işlemi sırasında ipliklerin kıvrılıp kırılmasını önlemek için güçlendirici olarak kullanılan nişasta pastasının kumaştan arındırılması işlemidir. Daha önceleri kumaşlar, asit, baz ya da oksitleyici ajanlarla işlenir, ya da günlerce suya yatırılır ve böylece ortamda doğal olarak bulunan mikroorganizmalar nişastayı parçalardı. Ancak, her ikisi de kontrol edilmesi zor yöntemlerdi ve bazen malzeme hasar görüyor ya da rengini kaybediyordu. İşte bu yüzden, aynı amaçla malattan çıkarılan enzimlerin kullanılması büyük bir adım sayıldı. Daha sonra bu amaçla bakteri kaynaklı amilaz kullanıldı. Bakteri amilazı ilk olarak 1917'de Boidin

pışma eğilimindedir. Proteinler, bir çeşit tutkal gibi iş görüp, normal deterjanların diğer kir ve lekeleri de çıkarmasını engelliyorlar.

Enzimsiz deterjanların protein lekelerini çıkarma konusundaki yetersizlikleri, daha sonraki beyazlatma ve kurutma işlemleri sırasında oluşacak oksitlenme ve parçalanma nedeniyle, lekelerin kalıcı hâle gelmesine yol açar. Örneğin kan lekesi, eğer beyazlatma yapmadan önce çıkarılamamışsa pas rengi bir leke bırakır.

Peki deterjanlardaki proteaz enzimi ne işe yarıyor? Bu enzimler proteinleri parçalayarak daha kolay çözülebilen küçük polipeptidlere ya da serbest amino asitlere dönüştürüyorlar. Deterjandaki diğer maddeler ve enzimin ortak çalışması sonucunda, inatçı lekeler kumaşın lifleri arasından sökülüyor.

Deterjanlarda proteazların yanında sıkça kullanılan bir başka enzimse "lipaz". Her ne kadar protein lekeleri pro-



Pasifik Okyanusu'nun diplerindeki balina iskeletlerinde yaşayan bakterilerin ürettiği enzimlerden, soğuk suda bile etkili olabilecek deterjanlar üretilmesi düşünülüyor

teazlar tarafından kolayca yok edilebilse de, yağ lekeleri, özellikle pamuk ve polyester karışımı kumaşlarda, çıkarılması daha zor lekeler. Bir de dünya genelinde çamaşır yıkama sıcaklığının düşürülmesi yönünde bir eğilim olması, işleri biraz daha zorlaştırıyor. Ancak, 1988'de genetik mühendisliği kullanılarak üretilen bir enzim olan "lipolaz" bu konuya bir çözüm getirmiş oldu. Bu

enzim, yaka ve kollardaki lekelerle, ruj, kızartma yağları, tereyağı, sos lekelerini çıkartmakta başarılı görülüyor.

Amilaz da yine deterjanlarda kullanılan enzimlerden biri. Bu enzim de nişastalı, örneğin patates, makarna, ve çikolata gibi maddelerin neden olduğu lekeleri temizliyor.

Şu ana kadar verdiğimiz örneklerde sadece lekeleri temizlemek amacıyla kullanılan enzimlerden bahsettik. Oysa deterjan sektöründe enzimler, kumaşları daha parlak ve yumuşak yapmak için de kullanılıyor. İşte "sellülaz" bu enzimlere bir örnek. Normalde pamuklu ya da pamukla karışık kumaşlardan yapılan giysiler, bir kaç kez yıkandıktan sonra mat ve tüylenmiş bir görüntüye bürünürler. Bunun nedeni, kumaşın dokusundaki liflerden koparak oluşan mikrofibril denilen mikroliflerdir. Bu durumda, kumaşın üzerine düşen ışık yansıtıldığında, gözümüzde daha donuk bir renk imajı bırakır. Öte

ve Effront tarafından kullanılmıştı; ancak II. Dünya Savaşı'nın sonuna kadar bu enzimi büyük miktarlarda üretmek mümkün olmamıştı.

Enzimlerin endüstriyel kullanım alanlarının gelişmesine bir katkı da, I. Dünya Savaşı'ndan önce, Alman kimya ve endüstri kodamanlarından Otto Röhm'den geldi. Diğer işleri yanında Röhm, hayvan postu ve derilerin tabaklanmadan önce hazırlanmalarını içeren çalışmalar yapıyordu. Uyguladığı bu işlemlerle, derinin sağlamlığı için gerekmeyen bazı proteinler temizleniyordu. Eğer işlem yapılmazsa deri, pek çok ürün için gerekli olan yumuşaklık ve esnekliği kazanamıyordu. Yapılan işlemlerle, derinin kalitesi de kontrol edilebiliyordu; örneğin, ayakkabı için kullanılacak deriye bu işlem çok az yapılırken, yumuşaklığın istendiği eldiven gibi ürünler için işlem daha çok yapılıyordu.

Geleneksel olarak bu işlem için köpek ve domuz dışkı gerekiyor. Bu, kötü kokulu ve pis bir işti. Röhm'ün teorisine göre, dışkıları etkilerini gösteriyorlardı, çünkü bunlar hayvanın sindirim enzimlerinden bir miktar içeriyorlardı. Eğer durum böyleyse, bu işlem için doğrudan pankreastan elde edilecek enzimler kullanılabilirdi. Bu enzimler üretilmeye çalışıldı ve beklenen etki görüldü. Doğal olarak Röhm de bu sonucunu, kuramının doğruluğunun ispatı olarak algıladı. Ama daha sonraki deneyler gösterdi ki, işi gerçekleştiren pankreas enzimleri değil, bağırsaklarda yaşayan bakterilerin enzimleriydi.

Bunun yanında Röhm, enzimlerin endüstri için ne kadar değerli olduklarını gösteren başka araştırmalar da yaptı. Ne var ki yaptığı çalışmalar 50 yıl sonrasına değin hakettiği değeri göremeyecekti. Röhm, protein lekesi olan giysilerin, içinde enzim bulunan deterjanla yıkılarak temizlenmesi yöntemini buldu ve bu işi gerçekleştiren ilk enzimli deterjanı üretmeyi başardı. 1913'te Röhm'ün firması, deterjanlara az miktarda enzim katılması yöntemi için patent aldı. Bu deterjan 1960'lı yıllara kadar "Burn-

nus" adı altında satıldı. Kullanılan enzim pankreastan elde edilen pankreatin preparatıydı ve içerdiği enzim de "tripsin"di. Ancak Burnus, beklendiği kadar etkili hiç gösteremedi; çünkü suda çözüldüğünde enzim, oluşan alkali, yani bazık, ortamda yeterince etkili olamıyordu. Burnus'un bileşiminde ana madde olarak çamaşır sodası, yani sodyum karbonat, bulunuyordu. Sodanın yaptığı iş çok önemliydi; çünkü soda, suyu yumuşatarak kirlerin daha kolay çözümlenmesini sağlıyordu. Ancak sodanın varlığında da tripsin yeterince iyi çalışmıyordu.

İki Dünya Savaşı arasında, enzim teknolojisi alanında, yavaş da olsa, ilerleme kaydedildi.



Bitki ve hayvan hammaddelerinden enzim ayrıştırılması yöntemleri geliştirildi. Aynı zamanda ayrıştırılan enzimlerin saflaştırılması alanında da gelişmeler oldu. Enzimlerin kullanılabilmesi yeni endüstri alanları keşfedildi: Ekmek ve meyva suyu endüstrileri.

Mikrobiyal enzimlerin elde edilmesi için katı ya da sıvı ortamlarda yapılan yüzey kültürleri kullanılıyordu. Ancak bunlar hem çok emek hem de çok zaman gerektiriyordu. Öte yandan, yapılan araştırmalar dikkat çekiciydi. Willstätter ve arkadaşlarının 1920 - 1928 yılları arasında yaptıkları araştırmalar, bu teknolojiyi bir adım daha ileriye taşıdı. Çalışmalarında, bir enzimi çok saf bir biçimde elde etmeyi başar-

dılar. Hemen hemen aynı zamanlarda (1926'da) Amerika'lı biyokimyacı James B. Sumner, üreaz denen bir enzimi kristal formda elde etmeyi başardı. Dört yıl sonra da, yine Amerika'lı bir biyokimyacı olan John H. Northrop, pepsin ve tripsin enzimlerini kristal formda elde etti.

Endüstriyel fermantasyon yöntemlerinin geliştirilmesi düşüncesi, penisilinin keşfedilmesiyle filizlendi. Aslında penisilin 1928 yılından beri ihmal edilmişti. Savaşın başlamasından kısa bir süre sonra penisiline duyulan ilgi inanılmaz olacak ölçüde arttı, ve araştırmacılar penisilini endüstriyel boyutlarda üretebilecekleri yöntemler aramak zorunda kaldılar. Bir süre sonra ticari üretimi başarılı; ama, üretim için yüzey kültürü yöntemi kullanıldığı için çok büyük miktarlarda bir üretim sağlanamamıştı. Sıvı kültür (Submerged) yönteminin geliştirilmesi yönelik çalışmalar savaş boyunca devam etti ve savaşın sonuna iyice hız kazandı. Böylece artık penisilin çok miktarlarda ve ekonomik yollarla üretilmeye başlandı. Bu yöntemin geliştirilmesi sadece penisilin üretimine değil, enzim üretimine de büyük katkı sağladı. 1950'lerde bu yöntem kullanılarak Novo'nun laboratuvarlarında, tekstil endüstrisinde kullanılmak üzere, bakteriyel amilaz üretilmeye başlandı.

1959'da deterjan endüstrisinde önemli bir gelişme yaşandı. İsviçre'li kimyager Dr. Jaag, Bio40 adı verilen ve tripsin yerine bakteriyel proteaz içeren bir ürün geliştirdi. Her ne kadar bu yeni ürün tripsinden daha iyi çalışıyor olsa da, yine de ideal bir ürün değildi. Daha sonra 1962'de bütün ihtiyaçlara cevap veren yeni bir ürün geliştirildi. Bu alkali proteazı, deterjanın içinde bulunan diğer maddelerden pek etkilenmiyordu ve istenilen sıcaklıkta çalışabiliyordu.

Enzimlerin endüstriyel amaçla kullanılmaları 1965'ten sonra iyice yaygınlaştı. Artık günümüzde pek çok alanda enzimlerden yararlanılıyor.

yandan bu mikrofibriller, sellüloz enzimi tarafından parçalanabilir. Böylece kumaş yine eski pürüzsüz yüzeyine kavuşacağından, giysi de ilk zamanlarındaki gibi canlı bir görüntüye sahip olur. Kumaşın mikrofibrillerden arındırılması, başka yararlar da sağlar: Kumaş yumuşaklık kazanır. Ayrıca, mikrofibril ağının içine hapsolmuş kir parçacıkları da birlikte kumaştan atılmış olur.

Son günlerde bulaşık makineleri için de enzim içeren deterjanlar geliştiriliyor. Ancak, kuru, toz deterjanlarla karşılaştırıldığında, sıvı deterjanlarda enzimlerin kararlılığını korumak çok daha güç. Avrupa ve Amerika'da kullanılan sıradan bulaşık makinası deterjanlarında eskiden metasilikat ve klorlu beyazlatıcılar bulunurken, son günlerde Avrupada metasilikat yerine disilikat kullanılmaya başlanmış, bu da deterjanın asiditesinin artmasına neden olmuştur. Ayrıca çevresel kaygılarla klorlu beyazlatıcılar deterjanlardan çıkarıldı. Hem pH'nın düşmesi, hem de klorlu beyazlatıcıların olmayışı, deterjanın temizleme gücünü önemli ölçüde azaltacağı için, bunların yerine deterjana enzim katılması denenmiş, ve protein ve nişasta artıklarının temizlenmesinde eskisinden çok daha iyi sonuçlar alınmıştır.

Tekstil

Enzimlerin kullanımının arttığı başka önemli bir pazar da tekstil endüstrisi. Örneğin, pamuk ya da pamuk karışımı içerecek kumaşların dokunması söz konusu olduğunda, dokumayı oluşturacak uzunlamasına iplikler, yapışkan bir maddeyle kaplanıyor. Bu işleme haşillama deniyor. En çok kullanılan haşillama maddesiye nişasta ya da nişasta türevleri. İşlemin amacı, dokuma sırasında iplerin kopmasını engellemek. Ancak dokuma işlemi bittikten sonra, kumaşın beyazlatma, boyama ya da baskı gibi diğer işlemlere girebilmesi için, kumaşın nişastadan arındırılması gerekiyor.

Bu işlem, güçlü kimyasal maddeler, örneğin asitler, bazlar ya da oksitleyici maddeler, kullanılarak yapılabilir. Ancak artık günümüzde bu işlem için,



çok verimli ve seçici şekilde nişastayı parçalayan enzimler kullanılıyor. Amilaz denen bu enzimler sayesinde, kumaşa zarar verilmenden tüm nişastadan kurtulunabiliyor. Amilazın, bu işlemde kullanılacak diğer maddelere bir üstünlüğü de, enzimin çevre için zararsız oluşu, böylece işlem sonucu oluşan atık sular çevreye daha uyumlu.

Tekstilde kullanılan enzimlerin sunduğu bir başka olanak da "biyoparlatma". Adından da anlaşılacağı gibi, bu işlem sonucunda kumaşlar yumuşak ve parlak bir görünüm kazanıyor. Bu işlemde, ipliğin yüzeyinde oluşan tüyler, yani fibriller, ortadan kaldırılıyor. Eğer bu yapılmazsa, sonuçta dokunan kumaş çekici olmayan bir görüntü veriyor.

Pamuk gibi doğal kumaşlar, boyanmadan önce ağartılırlar. Bu işlem içinse oldukça etkili bir kimyasal madde olan hidrojenperoksit kullanılır. İşlem bittikten sonra kumaştan tümüyle çıkarılmamışsa, kumaşta kalan hidrojenperoksit, boyama işlemini olumsuz yönde



etkiliyor. Normalde bunun için indirgeyici başka kimyasal maddeler kullanılıyordu. Şimdi yeni bir seçenek var: Katalaz enzimi. Bu enzimin çok az bir miktarı, hidrojenperoksiti su ve oksijene çevirmeye yetiyor. Diğer yöntemle karşılaştırıldığında, hem daha az su kullanılıyor, hem de oluşan atık su daha temiz oluyor.

Nişasta ve Şeker Endüstrisi

19. yüzyılın başlarında Alman kimyacı Kirchhoff nişastayı asidin içinde kaynatınca, çoğunlukla glükozdan oluşan tatlı bir maddeye dönüştüğünü bulmuştu. Krichhoff'un asıl amacı, Napoleon savaşları nedeniyle Avrupa'ya gelemeyen şeker kamışının yerine geçebilecek bir şey bulmaktı. Yaptığı bu buluş, şeker eksikliğine tam bir çözüm olamadı; çünkü glükoz, şeker kamışının 2/3'ü kadar tatlıydı ve bu yöntemle çok miktarda glükoz elde edilemiyordu.

O zamanlarda beri, asit, nişastayı parçalayıp glükoz elde etmek için bir yöntem olarak kullanıldı. Ancak bu tekniğin bazı dezavantajları vardı: İstenmeyen yan ürünlerin oluşumu, kötü esneklik, ve 140-150°C sıcaklık ve asite dayanıklı araç-gereçlerin bulunması. Son otuz yıl içinde, yeni enzimler bulunmaya başlandıkça, bu asit yönteminin yerini almaya başladı.

Şeker kamışının içinde bulunan bir madde de nişastadır. Şekerkamışı ezildiğinde, ortaya çıkan bir miktar nişasta da suya geçer ve diğer işlemler boyunca da orada kalır. Şeker kamışı suyunda doğal olarak bulunan bazı enzimler bu nişastanın bir miktarını parçalasa da, eğer karışan nişasta miktarı çok fazlaysa, bu da şeker kristallendirildiğinde, ham şekerin içinde kalır. Şeker biraz daha saflaştırılmak istendiğindeyse, bu nişasta daha büyük sorunlar yaratır. Bu nedenle, şekerin içinde kalmış olan nişastayı parçalamak için, şeker kamışı ezilip suyu çıkarılırken, içine enzim eklenmesi artık neredeyse rutin bir iş haline gelmiştir.

Eğer şeker kamışları yüksek sıcaklık ve yüksek nemli ortamlarda bekletilmişse, içinde bakteri üremesi sonucu



"dekstran" denen başka polisakaritler de oluşabilir. Dekstranın şekerin işlenmesi sırasında pek çok etkisi olur. Hammaddenin temizlenmesi yeterince verimli olmaz, filtrasyonda sorunlar olur ve şekerin kristallenmesi engellenir. Bu sorunlar, işlemlerin uygun bir basamağında, dekstranı parçalayan enzimler kullanılarak çözülebilir.

Hayvan Yemi Endüstrisi

Hayvan yemleri çoğunlukla bitkisel olup, tahıl ve sebze proteinleri içerirler. Ancak bunlar, tek mideli hayvanlar tarafından tam olarak sindirilemez. Ancak, ortama uygun enzimler katıldığında, besinlerin kullanılabilirliği ve sindirimi daha kolay olur. Böylece hayvanlar bu yemlerden daha çok besin elde ederler, dışkılarında daha az azot ve fosfat bulunur. Doğrudan hayvanın besininin içine eklenecek olan enzimler, hayvanda normal olarak bulunan sindirim enzimlerine yardımcı rolü üstlenirler.

Alkol Endüstrisi

Nişasta içeren hammaddeleri mayalayarak alkollü içki yapımı yüz yıllardır uygulanan bir yöntem. Değişen şey kullanılan hammadde. Kuzey Amerika'da viski yapmak için mısır ve çavdar kullanılırken, İngiltere'de arpa kullanılıyor. İskandinav ülkelerinde patates ve daha ender olarak da tahıldan mayalı içkiler üretilirken, Uzakdoğu'da pirinçten sakı yapılıyor. Hammaddesi ne olursa olsun, hepsinin de yapısında nişasta bulunuyor. Nişastadan mayalama yoluyla alkol üretilebilmesi için, öncelikle bunun yapıtaşı ve mayanın da kullanacağı madde olan glükosa çevrilmesi gerekli. Bu işlem ise enzimler tarafından gerçekleştiriliyor.

Eskiden enzimler, ortama çimlendirilmiş arpa (malt) eklenerek sağlanı-

yordu. Oysa 1960'lı yıllardan sonra gerçekleşen dramatik değişiklikler sonucu pek çok ülke, artık malt yerine endüstriyel enzimler kullanmaya başladılar. Bu durumda, 100 kg malt kullanmak yerine bir kaç litre enzim yeterli oluyor. Alkol üretiminde endüstriyel enzimler kullanılmasının sağladığı bir yarar da, ürünlerin hep aynı kalitede elde edilebilmesi. Oysa malt kullanıldığında, her işlemde kullanılan malt farklı bir kalitede olacağından, ürün kalitesi de her defasında farklı.

Enzimler, yalnızca alkollü içki değil, yakıt olarak kullanılacak alkol üretiminde de kullanılıyor.

Şarap ve Meyve Suyu Endüstrisi

Besin değeri yüksek ve endüstri için önemli olan bütün meyvelerin yapısında, bitkinin hücre duvarlarını bir arada tutmaya yarayan "pektin" denen bir madde bulunur. Olgunlaşmamış meyvelerde pektin, çözünmeyen bir formda bulunur ve buna protopektin denir. İşte meyvelerin sertliğinden bu madde sorumludur. Meyve olgunlaşmaya başladıkça, protopektin yavaş yavaş parçalanarak daha çözünen bir hal alır. Bunun sonucunda da meyve yumuşamaya başlar. Bu aşamada meyve suyu elde edilirse, çözünebilir forma geçen

pektin de bu suya karışır ve meyve suyunun yoğunluğunu artırır, iyi bir ürün alınmasını engeller. Meyve suyunun rengi bulanık olur, ayrıca süzme işleminde de zorluklar oluşur.

Bu durum karşısında preslenmeden önce ortama pektinaz denen bir enzim katılır. Bu sayede, meyveden daha fazla su elde edilir. Bu enzim bütün pektinleri parçalar. Böylece pektinden kaynaklanan problemlerden kurtulmuş olur, daha berrak ve kolay işlenebilir meyve suları elde edilir. Bu işlem günümüzde böğürtlen, üzüm, elma ve şeftali için pek çok ülkede uygulanmaktadır.

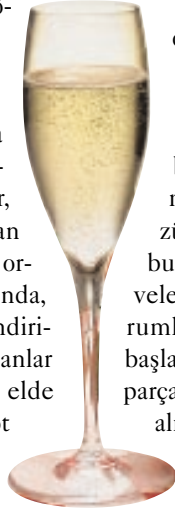
Meyve suyu endüstrisinde başka enzimler de kullanılıyor. Özellikle elma suyu üretiminde karşılaşılan sorunlar, özel enzimler yardımıyla çözülebiliyor. Elma

suyu, içinde dikkate değer miktarda nişasta içeren meyve sularından biri. Eğer berrak meyve suyu elde edilmek isteniyorsa, nişastanın parçalanması gerekiyor. İşte bu işlem için de enzimlerden yararlanılıyor.

Şarapçılıkta da enzimlerden yararlanılıyor. Burada kullanılan enzimler, meyve suyu elde etmek için kullanılanlardan daha farklı. Şarap yapımında, hem en iyi kaliteyi elde etmek, hem de istenilen etkiyi sağlamak için çok özel bir enzim aktivitesine ihtiyaç var.

Meyve suyu üretiminde kullanılan enzimler, işleri bittikten sonra, inaktif hale getirilirler. Bunun için örneğin pastörizasyon kullanılabilir. Şarap yapımında böyle bir sıcaklık uygulaması yapılamaz. Bu durumda da enzim aktivitesini biraz daha uzun süre korur. Ancak, bu durum da depolama sırasında şarabın kalitesini bozabilir. Günümüzde bütün bu zorlukları yenebilecek karakterde enzimler üretiliyor.

Şarap yapımında bir amaç, mümkün olduğunca çok tat maddesini ayırtırmak. Kırmızı şarap yapımında renk tutturmak da çok önemli. Şarapçılıkta karşılaşılan bir başka problemse, *Botrytis cinerea* denen mantarın enfekte ettiği üzümlerden yapılan şarabın sü-



zülmesi ve berraklaştırılması. Bu mantar, üzümde beta-glükosan denen yüksek ağırlıkta glükoz kümelerinin oluşmasına neden olur ve bunlar şaraba da geçer. Bu büyük moleküller, berraklaştırma işlemini engellediği gibi, süzme işlemi sırasında filtreleri de tıkar. Ancak ortama beta-glükosan enzimi eklendiğinde, bu moleküller parçalanır ve sorun çözümlür.

Kâğıt Endüstrisi

Yakın zamana değin enzimlerin kâğıt endüstrisinde kullanılmasına teknik ve finansal açıdan sıcak bakılmıyordu. Çünkü uygun enzimler henüz tam olarak geliştirilememişti. Ancak günümüzde piyasaya sunulan yeni enzimler, bu endüstri için, özellikle de çevrecilik açısından, önemli olanaklar sunuyor. Kâğıt endüstrisinde daha az klor kullanılması ve atıkların daha iyi işlenmesi konusundaki baskıların artması, bu alanda enzimlerin kullanılması seçeneğini daha cazip hale getiriyor. Bu alanda henüz ilk yıllarını yaşayan enzimler, bu halleriyle bile klor kullanımını, ve dolayısıyla da oluşan klorlu organik atıkların miktarını, eskiye göre üç kez azaltmış durumda. Gelecekte, geliştirilen enzimlerin bu klorlu maddelerin yerini tamamen alacağı düşünülüyor.

Deri Endüstrisi

Enzimlerin endüstride en eski kullanım alanlarından biri de post ve derilerin işlenmesi. Post ve derinin kollajen lifleri arasında protein ve yağlar bulunur. Tabaklanmadan önce, içlerindeki protein ve yağlardan mümkün olduğunca temizlenmelidir.

Kaliteli bir deri elde edebilmek için, kireçleme ve tüyleri temizleme işleminden önce derilerin iyice ıslatılması gerekir. Ancak bazı durumlarda bu ıslatma işlemi hem çok zor, hem de zaman kaybettirici olabilir. İşte bu gibi durumlarda, deriyi oluşturan liflerin arasını kapatan proteinler proteaz enzimiyle temizlenerek, derinin suyu çok daha rahat ve çabuk emmesi sağlanır.

Deri işlenmesinde bir başka işlem de, derilerin kıllardan arındırılmasıdır. Sıradan yöntemlerde bu amaçla kireç ve sodyum sülfat kullanılır. Bunlar kılları eritir ve lif yapısı açılır. Günümüzde bu işlem için enzimler de kullanılıyor artık. Enzim destekli tüyden arındırma işlemi sonucunda, çok daha temiz ve yumuşak bir deri yüzeyi elde edilebiliyor. Ayrıca, eski yöntemdekinin tersine, tüyler erimiyor; işlem sonunda bir filtre kullanılarak ortamdan çıkarılıyor. Böylece doğaya verilecek zarar önem-



Üretilecek malzemenin cinsine göre deriler günümüzde, enzimlerin kullanıldığı yöntemlerle çok daha kısa sürede ve verimli bir biçimde yumuşatılıyor.

li boyutlarda azaltılmış oluyor.

Lipaz enzimi de dericilikte kullanılan enzimlerden biri. Bu enzim, yalnızca derinin yüzeyindeki değil, içindeki yağları da temizleyerek, deriyi tabaklama ve boyama gibi işlemler için daha uygun hale getiriyor.

Deriler işlenirken uygulanan önemli bir işlem de deriye esneklik kazandırılması. Bu amaçla bazı proteinler parçalanıp, deriden uzaklaştırılıyor. Deriye ne derecede esneklik kazandırılacağıysa, derinin kullanılacağı alana göre değişiyor. Günümüzde bu iş için bakterilerden elde edilen proteaz ve tripsin enzimleri kullanılıyor.

Enzim Teknolojisinin Geleceği

Gen teknolojisinin daha iyi anlaşılması sayesinde geçtiğimiz on yıl içinde biyoteknolojide çok büyük aşamalar kaydedildi. Bunun da enzim

teknolojisi üstünde çok etkisi oldu. Genetik mühendisliği teknikleri enzim üreticilerine, kaynağı ne olursa olsun hemen

her enzimin çok büyük miktarlarda üretilebilmesi olanağını sundu. Genetik kodun anlaşılmasıyla protein mühendisliği gelişti. Bu yöntemde, enzimin çok saf kristalleri elde edilir. Daha sonra enzimi oluşturan her bir atomun konumu, X-ışını kristalografisiyle belirlenerek, enzimin üç boyutlu yapısı anlaşılır. Enzimle ilgili bu bilgiler ve bir de enzimi oluşturan amino asitlerin dizilimiyle ilgili bilgiler bilgisayara yüklenir. Moleküler modelleme yapabilen ve herhangi bir amino asitte meydana gelebilecek bir değişikliğin enzimin şeklini nasıl değiştirebileceğinin tahmin edilebildiği bu programlar sayesinde, enzim performansının nasıl artırılacağı ya da tamamen yeni bir karakterin verilip verilemeyeceği önceden tahmin edilebilir. Enzimlerin, araştırmacıları çokça ilgilendiren karakterleri, substrat seçicilikleri, pH ve sıcaklık istekleri ve zaman içinde stabilitelelerinin korunmasıdır. Protein mühendisliği yoluyla iyileştirilmiş enzimler piyasalara girmeye başladı bile.

Protein mühendisliğinin yanında, geçtiğimiz birkaç yıl içinde gelişen bir başka teknik de endüstriyel enzimlerin yönlendirilmiş evrimi. Bu teknikle enzimlere, endüstri ve tıp alanındaki uygulamalar için gerekli karakterler, laboratuvar ortamında evrim süreci taklit edilerek kazandırılmaya çalışılıyor.

Bütün bu tekniklerin varlığı sayesinde, enzim teknolojisi günümüzde gelişiminin heyecan verici bir dönemini yaşıyor. Enzim teknolojisinin pek çok endüstri alanında, verimlilik ve çevrecilik açısından iyi bir alternatif oluşturduğu ve yakın bir gelecekte kimyasal endüstri işlemlerinin yerini alacağı düşünülüyor.

Armağan Koçer Sağıroğlu

Danışman: Engin U. Akkaya
Doç. Dr., ODTÜ Kimya Bölümü

Kaynaklar:
Lodish H., ve arkadaşları, Molecular Cell Biology, W.H. Freeman and Company, 1995
www.enzkey.com
enzymes.novo.dk/enzymes
"Directed Evolution of industrial Enzymes" Dannert C. S., Arnold, F.H., Trends in Biotechnology, Vol. 17:135 – 136, 1999.

www.maps-enzymes.com/history.htm
www.dyadic-group.com
www.biotimes.com



Biyolojik atıkların temizlenmesinde de enzimlerden yararlanılması düşünülüyor.