

Enzim Stabilizasyonu

Aysun Şener*, M. Ümit Ünal

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

* asener@cu.edu.tr

Özet

Üretim ve endüstriyel uygulamalar sırasında enzimlerin inaktive olmaları sonucu enzim kayıpları görülmektedir. Enzim inaktivasyonları, sıcaklık, ortam pH'sı, denatüre edici maddeler, oksijen, proteazların mevcudiyeti gibi birçok faktörün etkisi ile gerçekleşir. Bu nedenle enzimlerin inaktivasyona karşı stabilizasyonu endüstriyel uygulamalar için zorunludur. Stabilitenin artırılması enzim kayıplarını azaltarak, enzim preparatlarının işletmeye olan maliyetini düşürecektir.

Enzimlerin kullanılabilirliği depolama ve endüstriyel uygulamalar sırasındaki stabilitelere bağlıdır. Depolama stabilitesi veya raf ömrü enzimin imalatından kullanımına kadar geçen sürede aktivite kaybının en aza indirilmesi, enzimlerin endüstride kullanımı ile ilgili stabiliteyi ise işlem sırasında enzim aktivitesinin korunması olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde katkı maddeleri kullanımı, kimyasal modifikasyon ve protein mühendisliği enzim stabilizasyonunda sıkça kullanılan yöntemler olup immobilizasyon yöntemi dikkate değer bir stabilite sağlamasına rağmen, genel olarak biyokatalizörlerin kaybını önlemek veya biyoreaktör uygulamalarını geliştirmek için uygulanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Enzim, stabilizasyon

Giriş

Enzimler canlı hücreler tarafından oluşturulan ve kimyasal reaksiyonları spesifik olarak katalizleme yeteneğinde olan protein yapısındaki maddelerdir (1). Bazı reaksiyonları gerçekleştiren ve ribonükleik asit yapısında olan ribozimler dışında enzimlerin tamamı protein yapısındadır (2).

Enzimlerin biyoteknolojik uygulamaları için birçok öneriler yapılmasına rağmen bunlardan birkaç tanesi ticarileştirilebilmiştir. Günümüzde enzimler deterjan, süt, meyve suyu, tekstil endüstrilerinde, biracılıkta ve diğer içkilerin üretiminde kullanılmak üzere buldukları kaynaktan izole edilip saflaştırılırlar (7).

Enzim üretiminde bitkisel, hayvansal ve mikrobiyel kaynaklar kullanılmaktadır. Mikroorganizmalar enzim üretiminde çok sık başvurulan kaynaklardır (3, 4).

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

Ticari enzim üretimi izolasyon ve saflaştırma olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilir. Enzimler ilk aşamada bitki, hayvan veya mikroorganizma kaynağından izole edilmekte ve daha sonraki aşamalarda da saflaştırma yoluna gidilmektedir (5).

Enzimler izolasyon, saflaştırma ve endüstriyel uygulamalar sırasında inaktive edici koşullarla karşı karşıya kalmakta ve çok miktarda kayba uğramaktadır (6). Enzim inaktivasyonları sıcaklık, ortam pH'sı, denatüre edici maddeler, oksijen, proteazların mevcudiyeti gibi birçok faktörün etkisi ile gerçekleşir. Bu nedenle inaktivasyona karşı enzimlerin aktivitesini koruması yani enzimlerin stabilizasyonu onların endüstriyel uygulamaları için kaçınılmaz bir iştir. Stabilitenin artırılması enzim kayıplarını azaltacağı için oldukça pahalı olan enzim preparatlarının işletmeye olan maliyeti azalacaktır (6, 7).

Stabilizasyon Yöntemleri

Serbest enzimlerin stabilizasyonu için 5 ana yöntem mevcuttur (8). Bunlar:

- i) Doğal olarak yüksek stabiliteye sahip enzimleri üreten mikroorganizmaların aranması,
- ii) Stabilize edici maddelerin enzim preparatlarına ilavesi,
- iii) Enzim moleküllerinin kimyasal modifikasyonu,
- iv) Protein mühendisliği ve
- v) Enzimlerin immobilizasyonudur.

Çok yüksek ya da çok düşük sıcaklıklar, kuvvetli asidik ya da alkali koşullar, çok yüksek iyonik kudrete sahip tuzlu ortamlar gibi olağan dışı koşullarda yaşayabilen çok sayıda mikroorganizma vardır. Yüzlerce barlık basınçlarda yaşayabilen deniz mikroorganizmaları bulunmuştur. Bu mikroorganizmaların pek çoğunda özgün olarak stabilize olmuş proteinler bulunmuş ve karakterize edilmiştir. Dolayısıyla doğal olarak stabilize edilmiş proteinleri üreten mikroorganizmaları bulmak için zahmetli ve uzun zaman alan tarama işlemlerinin yapılması gerekir (7).

Diğer taraftan immobilizasyon yöntemi dikkate değer bir stabilite sağlamasına rağmen daha çok enzimlerin kaybını önlemek veya biyoreaktör uygulamalarını geliştirmek için kullanılmaktadır (9). Günümüzde endüstriyel uygulama alanı olan iki immobilize enzim vardır. Bunlar: a) Glikozun früktoza izomerizasyonunu katalizleyerek yüksek früktoz şurubu üretiminde kullanılan immobilize glikoz izomeraz, b) Penisilin G'den 6-aminopenisillanik asit üretiminde kullanılan immobilize penisilin asilaz. Bu enzimlerin immobilize formda kullanılmalarının nedeni onların stabilitelerini geliştirmek değil, enzimlerin tekrar tekrar kullanılmalarını sağlayarak işlem ve enzim maliyetini

düşürmek içindir. Dolayısıyla immobilizasyon endüstriyel enzimlerin stabilizasyonu için uygun bir yöntem olarak düşünülemez.

Çeşitli bileşiklerin enzim çözeltilerine ilavesiyle onların stabilizasyonu çok uzun zamandan beri bilinen bir yöntemdir. Kimyasal modifikasyon ve protein mühendisliği ise enzim molekülünde kimyasal değişiklikler yapan tekniklerdir ve bu değişikliklerle enzimin inaktivasyona karşı daha dayanıklı olması sağlanır. Kimyasal modifikasyon enzim molekülleriyle reaktif molekül arasındaki kimyasal reaksiyonla olduğundan sadece enzim molekülünün yüzeyinde olan moleküller modifikasyona uğrar. Protein mühendisliği ile enzim sentezinden sorumlu olan gende mutasyon yapıldığından moleküldeki değişiklik herhangi bir aminoasitte olabilir (7).

Kimyasal modifikasyon yöntemleri

- i) Bifonksiyonel reaktiflerle çapraz bağlama yolu ile stabilizasyon
- ii) Polar veya yüklü grupların ilavesi ile iyonik veya hidrojen bağlarının oluşması
- iii) Su ile istenmeyen hidrofobik etkileşimleri azaltmak için protein yüzeyinin hidrofilizasyonudur (8).

Protein mühendisliği stabilitesi arttırılmış enzimlerin ticari üretimi için kullanılan modern bir tekniktir. Bu yöntemle enzim sadece yüksek sıcaklıklara karşı değil aynı zamanda yüksek pH, okside edici bileşikler ve organik çözücülere karşı da dayanıklı hale gelir. En çok kullanılan yöntem termostabil enzim genlerinin klonlanmasıdır. Termofil mikroorganizmalar termostabil enzimlerin kaynağıdır. Ancak termofil mikroorganizmalardan enzim üretimi bu mikroorganizmaların genellikle patojen olması ve dolayısıyla güvenli olmamaları ayrıca yavaş büyümeleri gibi dezavantajları nedeniyle çok nadir yapılmaktadır. Bu nedenle termofil mikroorganizmalardan elde edilen termofilik genler, büyüme koşulları daha ılımlı ve daha güvenli olan mezofil mikroorganizmalara klonlanmaktadır (10).

Sonuç

Stabilizasyon yöntemleri enzimlerin üretim, endüstriyel uygulamalar ve depolama sırasında değişiklik göstermekte ve enzim yapısı, inaktivasyon koşulları gibi faktörlerden etkilenmektedir.

Tüm bu faktörler göz önünde bulundurularak enzimlerin stabilitesini arttırmada en etkili yöntemler katkı maddeleri kullanımı, kimyasal modifikasyon ve protein mühendisliği yöntemleri olup bunlardan en çok kullanılan yöntemler

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

kolay uygulanabilir olmaları nedeniyle katkı maddeleri kullanımı ve kimyasal modifikasyon yöntemidir.

Kaynaklar

1. Saldamlı İ. 1998. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 527 s, Ankara.
2. Ünal M. 2002. Enzimoloji Ders Notları. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi (Yayımlanmadı), 65s, Adana.
3. Wiseman A. 1985. Handbook of Enzyme Biotechnology. Ellis Harwood Limited, 456s, England.
4. Godfrey T, WEST S. 1996. Industrial Enzymology. Stockton Pres, 609 s, New York.
5. Aehle W. 2004. Enzymes in Industry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGa, 403 s, Germany.
6. Weijers SR, Riet KV. 1992. Enzyme Stability in Downstream Processing Part 1: Enzyme Inactivation, Stability and Stabilization. Biotechnology Adv, 10: 237-249.
7. Erarslan A. 2005. Enzim Stabilizasyonu Notları. Tübitak Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü, 41s, Kocaeli.
8. Fagain CO, KENNEDY R. 1991. Functionally-Stabilized Proteins a Review. Biotechnology Adv, 9: 351-409.
9. Fagain CO, 2003. Enzyme Stabilization-Recent Experimental Progress. Enzyme and Microbial Technology, 33:137-149.
10. Illanes A, 1999. Stability of Biocatalysts. Process Biotechnology.