

Biyoteknolojik Tekniklerle Mikrobiyal Vitamin Üretimi

Ülküye Dudu Gül^{1*} 

ÖZET

İnsan sağlığı için son derece önemli olan vitaminlerin metabolizmada çok çeşitli işlevleri bulunmaktadır. Vitaminler özellikle metabolik yollarda rol alan biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesi için gerekli enzimlerin yapısına katılırlar. Bu önemli rolleri nedeniyle vitaminler farklı işlevlere sahip organların fonksiyonlarını gerçekleştirmede katkı sağlayan bileşiklerdir. İnsan sağlığı için bu denli önemli bileşiklerin üretimi önem arz etmektedir. Ekonomik değeri yüksek biyoteknolojik ürünler arasında yer alan vitaminlerin kullanımı gıda katkı maddesi, terapötik ve medikal ajan olarak kullanılmalarının yanı sıra kozmetik ürün üretimi gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu derleme çalışmasında ekonomik değeri yüksek vitaminlerin önemi ve bu vitaminlerin biyoteknolojik olarak mikroorganizmalar kullanılarak üretim teknikleri incelenmiştir.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

03 Ocak 2020

Kabul

27 Şubat 2020

ANAHTAR KELİMELER

Biyoteknoloji,
Mikroorganizma,
Vitamin Üretimi

Production of Microbial Vitamins by Biotechnological Techniques

ABSTRACT

Vitamins, which are very important for human health, have various functions in metabolism. Vitamins are particularly involved in the structure of enzymes necessary for the biochemical reactions taking place in the metabolic pathways. Because of these important roles, vitamins are compounds that contribute to the functioning of organs with different functions. The production of such important compounds is important for human health. Among the biotechnological products with high economic value, vitamins have a wide range of applications such as food additives, therapeutic and medical agents as well as cosmetic products. In this review, the importance of vitamins with high economic value and the production techniques of these vitamins by using microorganisms via the biotechnological techniques were investigated.

ARTICLE HISTORY

Received

03 January 2020

Accepted

27 February 2020

KEY WORDS

Biotechnology,
Microorganism,
Vitamin Production

Giriş

Dünyada Canlıların metabolik faaliyetlerini sürdürebilmeleri için karbonhidratlar, proteinler ve yağlar gibi temel besin maddelerinin yanı sıra vitaminler ve mineraller de gereklidir[1]. Vitaminler canlıların gelişmesine yardımcı olmak, çeşitli makromoleküllerin metabolik reaksiyonlarında görev almak ve sinir sisteminde çeşitli fonksiyonlara sahip olmak gibi görevleri üstlenmişlerdir. Vitaminlerin vücuttaki

¹ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik, Türkiye

görevleri ayrıntılı bir şekilde tablo 1'de özetlenmiştir. Bu önemli görevlerinden dolayı insanlar dahil tüm canlıların sağlıklı beslenebilmeleri için vitaminlere gereksinimleri vardır.

Tablo 1 Vitaminlerin vücuttaki fonksiyonları [2]

| Vitamin | Görevi |
|------------------------------|---|
| Vitamin A | Retinada fotoreseptör mekanizması, epitelium bütünlüğü, lizozom kararlılığı, glikoprotein sentezi |
| Vitamin D | Kalsiyum ve fosfor absorpsiyon, kemik mineralizasyonu ve maturasyonu |
| Vitamin K | Protrombin fonksiyonu, normal kan koagülasyonu |
| Vitamin C (Askorbik Asit) | Osteoid dokular için esansiyel, kollajen oluşumu, vasküler fonksiyonlar, doku solunumu ve yara iyileşmesi |
| Vitamin B1 (Thiamin) | Karbonhidrat metabolizması, santral ve periferik sinir fonksiyonu, miyokard fonksiyonu |
| Vitamin B2 (Riboflavin) | Enerji ve protein metabolizmasının birçok yerinde, mukoz membranların bütünlüğü |
| Vitamin B3 (Niasin) | Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarında, Karbonhidrat metabolizmasında |
| Vitamin B5 (Pantotenik Asit) | Koenzim A yapısında, açıl transferaz kofaktörü |
| Vitamin B6 | Nitrojen metabolizmasının birçok yerinde, transaminasyon, porfirin ve hem sentezi, triptofanın niasine çevrilmesi |
| Biyotin | Oksaloasetik asit karboksilasyonu ve dekarboksilasyonu, aminoasit ve yağ asidi metabolizması |
| Vitamin B12 | Eritrosit maturasyonu, nöral fonksiyonlar, DNA sentezi, metionin ve asetat sentezi |

Vitaminler memeliler tarafından sentezlenemeyen hayati açıdan önemli mikrobisimler olarak tanımlanırlar. Çoğu vitamin canlıların metabolizması için gereklidir ve vücutta sentezlenemedikleri için dışarıdan temin edilmeleri gereklidir. Doğada vitaminlerin sentezlenmesi ise bitkisel ve mikrobiyal metabolik faaliyetlerle gerçekleşmektedir. Endüstriyel olarak üretilen vitaminler çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olduğu için ticari açıdan önemli bileşiklerdir[3]. Global vitamin ve takviye endüstrisi tarafından yapılan araştırma sonuçlarına göre vitamin ve diğer takviyelerin küresel piyasası 68 milyar dolar civarındadır[4]. Bu yüksek kazançtan dolayı vitaminlerin endüstriyel

üretimi günümüz piyasasında önem kazanmıştır. Bu çalışmada ekonomik değere sahip olan vitaminlerin mikrobiyolojik üretimi üzerine yayınlanmış makaleler taranmış olup, bu konu ile ilgili bilgiler derlenmiştir.

Biyoteknolojik Vitamin Üretimi

Endüstriyel olarak üretilen birçok vitamin gıda, farmasötik ve kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Günümüzde bir kısım vitamin kimyasal yollarla üretilirken, diğer kısım da özütlenme yoluyla üretilmektedir. Bu üretim işlemleri yüksek enerji gereksinmelerinin yanı sıra fazla miktarda atık oluşumuna da neden olmaktadır. Vitamin üretim işlemlerine ilgi özellikle besin katkı maddelerinin güvenliği nedeniyle artmıştır. Bu nedenle son zamanlarda biyoteknolojik üretim işlemleri üzerine yoğunlaşma olmuştur. Vitaminlerin biyoteknolojik üretim işlemleri hızlı bir şekilde gerçekleştiği için kimyasal üretim işlemlerine göre tercih edilmektedir. Tablo 2’de literatürde bulunan biyoteknolojik yollarla üretilen vitaminlere örnekler verilmiştir.

Tablo 2 Literatürde bulunan biyoteknolojik yollarla üretilen vitaminlere örnekler

| Vitamin | Kullanılan Mikroorganizma/Enzim | Yöntem | Kaynak |
|----------------------------|---|---|------------|
| E vitamini | <i>Euglena gracilis (alg)</i> | Glikoz kullanılarak fermantasyonla üretim | [5] |
| K vitamini | <i>Bacillus subtilis</i> | Soya özütü kullanılarak fermantasyonla üretim | [6] |
| C vitamini (Askorbik asit) | 2,5-diketo-D-glukonik asit redüktaz <i>Cynobacterium sp.</i> | 2-keto-L-gulonik asitin fermantasyon işlevi ile L-askorbik asitin kimyasal dönüşümü esnasında | [7] [8] |
| Biyotin | <i>Serratia marcescens</i> (fermantasyon) <i>Bacillus sphaericus</i> (Çoklu enzim sistemi) | Genetik olarak modifiye bakteri ile glikozdan fermantasyonla üretim Mutant bakterinin biyotin biyosentezi yapan enzim sistemi kullanılarak diaminopimelik asitten dönüşümle üretim | [9] |
| Riboflavin | <i>Eremothecium ashbyii</i> , <i>Ashbya gossypii</i> , <i>Bacillus sp.</i> | Glikozdan fermantasyonla üretim | [10] |
| Vitamin B ₁₂ | <i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>Pseudomonas</i> | Glikozdan fermantasyonla üretim | [11] |

Vitaminlerin Mikrobiyolojik Üretim Süreci

Vitamin ve vitamin benzeri bileşiklerin dünya marketindeki değeri 2007 yılında yaklaşık 2.3 milyar dolar olarak rapor edilmiştir. Genel olarak üretilen vitaminlerin çoğunluğu yaklaşık %50 oranında hayvan beslenmesinde kullanılmakla birlikte bu oranı %22 ve %17 ile sırasıyla besin desteğinde ve gıda endüstrilerinde kullanımı takip etmektedir. Kozmetik ürünlerin üretiminde ise %11 oranında üretilen vitaminler kullanılmaktadır. Artan dünya nüfusu ile birlikte özellikle besinlerde destekleyici vitaminlere ilgi de artmıştır. Bunlara ilaveten vitamin takviyeli besinlerin sağlık üzerine olumlu etkileri ile ilgili raporlar da vitamin üretimine ilgiyi arttırmıştır.

Yılda birkaç milyar dolarlık piyasaya sahip vitaminlerin çoğunluğu canlıların beslenmesi için ticari olarak üretilmektedir[12]. Mikroorganizmalar tarafından ticari olarak üretilen vitaminler; Vitamin B12 (siyanokobalamin), vitamin C (L-askorbik asit), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B5 (pantotenik asit) ve biyotin'dir[13]. Mikroorganizmalar tarafından üretilen vitaminler ve bu vitaminleri üreten mikroorganizmalar tablo 3'de verilmiştir.

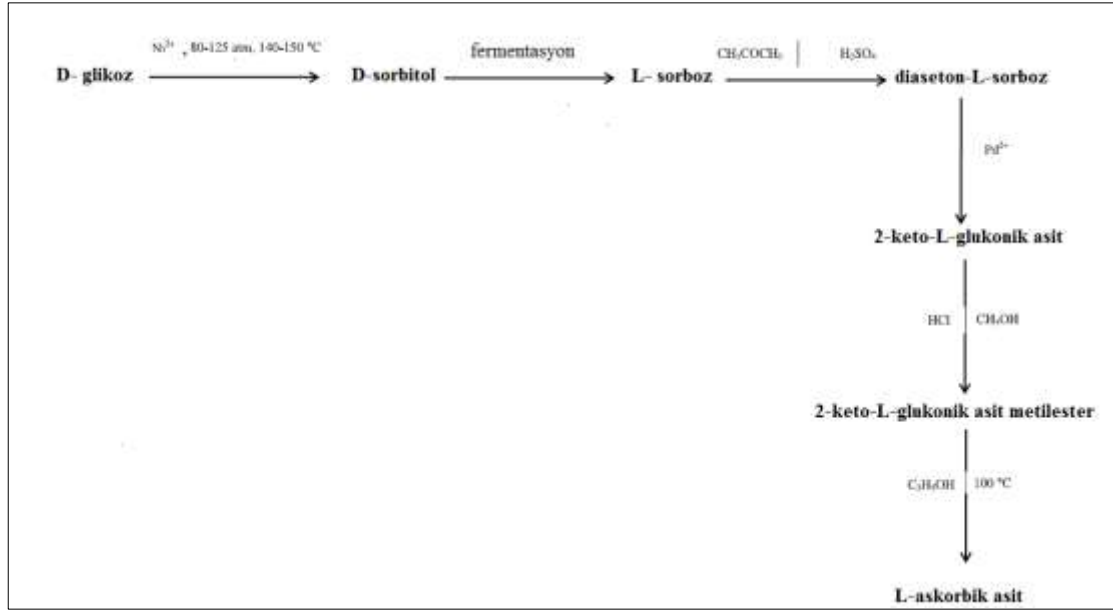
Tablo 3 Mikroorganizmalar tarafından üretilen vitaminler ve üreten mikroorganizmalar

| Vitamin | Mikroorganizma | Referans |
|--------------------------|---|----------|
| Riboflavin (B2 vitamini) | <i>Emmenthodium ashbyii</i> | [14] |
| | <i>Ashbya gossypii</i> | [15] |
| B12 vitamini | <i>Pseudomonas denitrificans</i> | [16] |
| | <i>Propionibacterium freudenreichii</i> | [17] |
| C vitamini | <i>Cryptococcus terreus</i> | [18] |
| | | [19] |
| | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | [20] |
| Vitamin B6 | <i>Propionibacterium shermanii</i> | [21] |
| | <i>E.coli</i> | [22] |

Mikrobiyolojik Yollarla Üretilen Vitaminler

C vitamini (L-askorbik asit) üretimi

İnsanlar kadar hayvan beslenmesinde de önemli yere sahip vitaminlerden biri olan C vitamini antioksidan olarak rol oynar ve yılda 100000 tonluk küresel üretim potansiyeline sahiptir[3]. L-askorbik asit esansiyel bir besin içeriği olduğu için insanlarda farklı fiziksel fonksiyonlar için gereklidir[23]. C vitamini eksikliği bu vitaminin kollajenin translasyon öncesi modifikasyonu esnasında gerçekleşen rolündeki eksiklikten kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. L-askorbik asitin en önemli fonksiyonu ise dokuları oksidatif ürünlerin zarar verici etkisinden korumasıdır[24]. Bu nedenle L-askorbik asit gıda endüstrisinde vitamin olarak kullanımının yanı sıra antioksidan olarak da kullanılmaktadır. Bu antioksidan fonksiyonundan dolayı L-askorbik asit hem gıda takviyecisi hem de farmasötik ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca kollajen üretimini uyardığı için kozmetik ürünlerde katkı maddesi olarak da yaygın olarak kullanılmaktadır[25]. C vitamini biyosentezinde rol alan biyokimyasal reaksiyonları içeren işlev Reichstein Süreci (Şekil 1) olarak tanımlanmıştır. Endüstriyel olarak C vitamini üretiminde kullanılan bu süreç adını bu süreci bulan kişiden almıştır. Kimyasal C vitamini süreci; bu sürecin kimyasal yollarla gerçekleşmesi esnasında birçok basamağında yüksek sıcaklık ve/veya basınç gerekliliği olduğu için oldukça fazla enerji gerektiren bir üretim sürecidir. Bunlara ilaveten, bu süreçte birçok kimyasalın transformasyonu için aseton, sülfürik asit ve sodyum hidroksit gibi bileşiklere, inorganik ve organik çözücülere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenlerden dolayı ciddi bir atık kontrol maliyeti ile sonuçlanan bu üretim süreci çevresel kontrol açısından takip gerektirmektedir. Bu ekonomik faktörler L-askorbik asitin mikrobiyal biyotransformasyonla üretimine ilgiyi arttırmaktadır[26; 27]. Son zamanlardaki fermantasyon süreçlerindeki inovatif ilerlemeler ile biyokimya ve rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmeler biyoteknolojik yollarla L-askorbik asit üretimine olanak sağlamaktadır[28]. Şekil 1'de görüldüğü üzere Reichstein süreci 6 kimyasal adımdan oluşan bir fermantasyon olayıdır. Bir biyodönüşüm reaksiyonunu faydalı hale getiren Reichstein süreci *Gluconobacter oxydans* tarafından D-sorbitolün L-sorboza okside edilmesi reaksiyonu ile başlamaktadır. Bu reaksiyon sonunda yüksek sorbitol konsantrasyonuna dirençli olarak seçilen mutant *G. oxydans* kullanımıyla 200 g/l D-sorbitol 200g/l L-sorboza dönüşmektedir. Reaksiyon dizini tamamlandığında D-glikozdan L-askorbik asit sentezlenmektedir.



Şekil 1 Reichstein süreci ile L-askorbik asit (C vitamini) üretimi

B12 vitamininin üretimi

B12 vitamini insan metabolizmasında metiyonin sentaz ve R-metilmalonil-CoA mutaz enzimlerinin aktivitesinde görev almaktadır ve günlük yaklaşık 1 mg alınması zorunludur. Bu nedenle yıllık ticari olarak 10 tondan fazla Vitamin B12 üretimi farklı bakteri türleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Vitamin B12 terimi yaygın olarak kobalamin grubu bileşikleri tanımlamak için kullanılmaktadır. Doğal formları adenoilkobalamin, metilkobalamin ve hidroksikobalaminidir. Vitamin B12 olarak tanımlanan siyanokobalamin ise doğada bulunmayan ve endüstriyel olarak üretilen kararlı bir kobalamin formudur[29]. Vitamin B12 çoğunlukla fermantasyon işlemi ile elde edilmekte olup, dünya genelinde talebi karşılayabilmek için birçok farmasötik şirketi tarafından üretilmektedir. Merck 1952'de *Pseudomonas denitrificans* kullanarak vitamin B12 üretmeye başlamıştır ve daha sonraları mikrobiyal tarama ve genetik modifikasyonlarla orjinal toprak izolatına göre 30 kat daha verimli üretim yapabilen kültürleri geliştirmiştir[30]. Son yüzyılda verimli bir şekilde vitamin B12 üreten birçok bakteri türü bulunmuştur. Tablo 4'de vitamin B12 üreten çeşitli mikroorganizma türleri listelenmiştir. Vitamin B12 biyosentezinin basamakları *P. denitrificans*, *Salmonella typhimurium* ve *Propionibacterium freudenreichii* türlerinde karakterize edilmiştir. Tipik bir bakteri genomunun yaklaşık %1'lik kısmını oluşturacak 30'dan fazla geninin denovo kobalamin sentezinde rol aldığı bildirilmiştir[31]. Doğada Vitamin B12 için 2

farklı biyosentez rotası bulunmaktadır. Bu rotalardan biricisi; *P. denitrificans* gibi organizmalarda bulunan aerobik veya çoğunlukla oksijen bağımlı yollar, ikincisi ise *Propionibacterium shermanii*, *S. typhimurium* ve *Bacillus megaterium* gibi organizmalarda bulunan anaerobik yani oksijen bağımsız yollarıdır.

Tablo 4. Vitamin B12 üreten çeşitli mikroorganizma türleri ve üretim miktarları

| Mikroorganizma Türü | Vitamin B12 Üretimi (mg/L) |
|---|-----------------------------------|
| <i>Propionibacterium freudenreichii</i> | 206 |
| <i>Rhodopseudomonas protamicus</i> | 135 |
| <i>Propionibacterium shermanii</i> | 60 |
| <i>Pseudomonas denitrificans</i> | 60 |
| <i>Nocardia rugosa</i> | 18 |
| <i>Rhizobium cobalaminogenum</i> | 16,5 |
| <i>Micromonospora sp.</i> | 11,5 |
| <i>Streptomyces olivaceus</i> | 6 |
| <i>Nocardia gardneri</i> | 4,5 |
| <i>Butyribacterium methylotrophicum</i> | 3,6 |
| <i>Pseudomonas sp.</i> | 3,2 |
| <i>Arthrobacter hyalinus</i> | 1,1 |

B2 (Riboflavin) vitamininin üretimi

Riboflavin (B₂ vitamini) insan ve hayvan beslenmesinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Riboflavin eksikliğinde insanlarda saç dökülmesi, görme bozukluğu ve büyüme yetersizliğinin yanı sıra bu vitaminin iltihaplanma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu vitaminin migren[32] ve sıtma[33] gibi hastalıkların tedavisinde başarılı olduğu tespit edilmiştir. Bu vitamin ticari olarak kimyasal sentez, fermantasyon veya hem kimyasal hem de fermantasyonun kombinasyonu ile üretilmektedir. Son yıllarda fermantasyonla üretim tek bir adımda sağlanabildiği ve bu nedenle de önemli ölçüde maliyeti düşürdüğü için yaygın olarak tercih edilmektedir. Diğer taraftan kimyasal üretim süreçleri hem çok aşamalı hem de çok fazla maliyetlidir. BASF, Roche, ADM/Aventis, Hubei Guangji gibi üreticilerin çoğu kimyasal sentez yerine fermentatif üretimi tercih etmektedir[34]. *Clostridium sp.* gibi bakteri türleri ve *Candida sp.* gibi maya türleri iyi üreticiler arasında yer almasına karşın, birbiri ile yakın ilişkili Askomyset mantar ailesine dahil olan *Eremothecium ashbyii* and *Ashbya gossypii* türleri

en iyi riboflavin üreticileridir[35]. Demir iyonları *Clostridium sp.* ve *Candida sp.* gibi düşük ve orta derecedeki üreticilerde riboflavin üretimini inhibe etmektedir. Diğer taraftan *Eremothecium ashbyii* ve *Ashbya gossypii* türleri ise demirin bu etkisini baskılama yeteneğinde oldukları için en iyi riboflavin üreticileri olarak kabul edilirler[19].

Ashbya gossypii türü kullanılarak fermantasyonla riboflavin üretimi için melas[36], palm yağı[37], mısır likörü[38], peyniraltı suyu[39] gibi farklı karbon kaynakları denenmiştir. *Ashbya gossypii* tarafından peynir altı suyu, kepek, glisin, pepton, sükroz, maya özütü ve soya fasulyesi gibi farklı maddeler bulunan ortamlarda üretilen riboflavin miktarları sırasıyla; 389.5, 120, 87.5, 78.3, 68.4, 23.2 ve 17.5 mg/L'dir.

Bacillus subtilis türü kullanılarak fermantasyonla riboflavin üretiminde klasik genetik ve rekombinant DNA teknolojisi kullanılmıştır. Klonlama ve DNA nükleotidi sekanslaması göstermiştir ki, riboflavin biyosentezi için gerekli enzimlerin 4.3 kb'lık tek bir operon olarak görev yapan gen organizasyonu tarafından kodlanmaktadır. Riboflavin üreticisi olan *B. subtilis* suşu Perkins ve ark. (1999)[40] tarafından geliştirilmiştir.

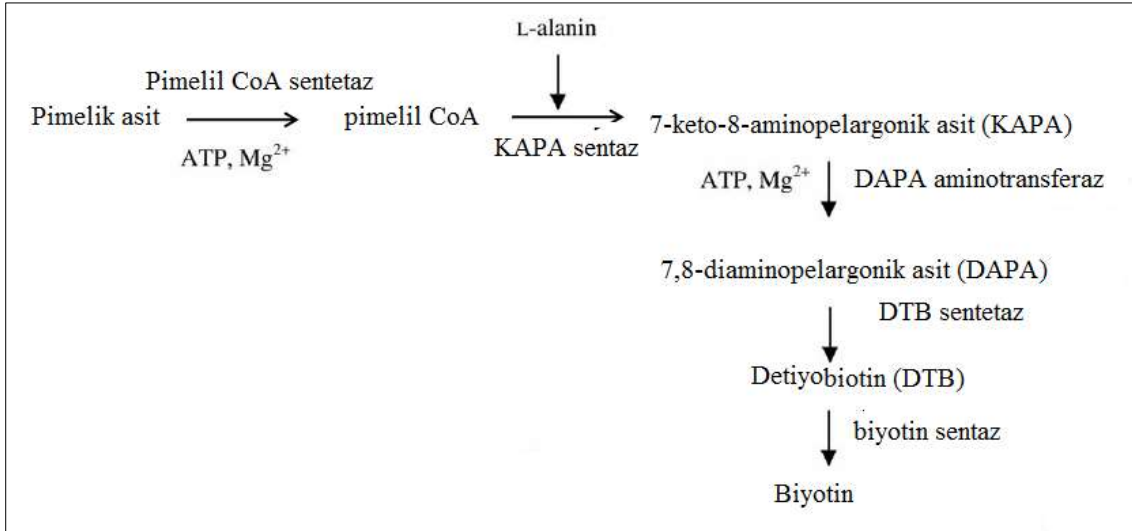
Corynebacterium ammoniagenes türü kullanılarak fermantasyonla riboflavin üretiminde ise rekombinant DNA teknikleri kullanılarak metabolizma mühendisliği temelli çalışmalarla geliştirilen *C. ammoniagenes* türleri kullanılmıştır. Biyosentetik genlerin ekspresyonunu arttırmak için *C. ammoniagenes*'deki promotor aktiviteye sahip DNA parçası izole edilmiştir. Son ürün inhibisyonunun enkilenmeyen en iyi modifiye riboflavin üreticisi 5 litrelik kavanoz fermentörde 72 saat sonrasında 15.3 g/L riboflavin üretmiştir[41].

Lactococcus lactis türü kullanılarak fermantasyonla riboflavin üretiminde ise [42] hem mutajenez hem de metabolik mühendislik tekniklerini kullanarak riboflavin ve folatı en verimli şekilde üretebilen *Lactococcus lactis* suşu geliştirmiştir.

Biyotin vitamininin üretimi

Biyotin (H vitamini) prokaryotik ve ökaryotiklerin metabolizmasındaki merkezi yollarda rol alan en etkileyici kofaktörlerden biridir. İnsanlar ve hayvanlar günlük 100 mikrogram biyotine ihtiyaç duyarken, bitkiler ve mantarlar kendi kofaktörlerini sentezleyebilme özelliğine sahiptir. Biyotin yıllık 10- 30 ton market payına sahiptir ve birçok besin ve kozmetik ürününün içine eklenmektedir. Satışa sunulan biyotin büyük bir çoğunluğu kimyasal olarak sentezlenmektedir. Ancak, kimyasal sentez yüksek

miktarda çevre kirliliğine yol açtığı için son dönem biyoteknolojik çalışmalar biyotin üreten mikroorganizmaların geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Düşük üretim maliyeti nedeniyle biyotinin fermentatif üretimine ilgi fazladır. Biyotinin biyosentetik yolağı *Escherichia coli*[43], *Bacillus sphaericus*[44], *Bacillus subtilis*[45] ve *Sphingomonas sp.*[46] gibi farklı mikroorganizmalarda rapor edilmiştir. *B. sphaericus* detiyobiyotini (+)-biyotine dönüştürebilmesine rağmen, biyotin üretiminde sadece son



basamak olan detiyobiyotinin (DTB) enzimatik olarak biyotine dönüşümü tam olarak çözülebilmiş değildir. Pimeli-CoA'dan biyotin sentezinde rol alan metabolik yolak en iyi *E. coli* ile yapılan çalışmalar sonucunda anlaşılmıştır. Biyotin üretimindeki yolakta oluşan üç ara ürün; 7-keto-8-aminopelargonik asit (KAPA), 7,8-diaminopelargonik asit (DAPA) and DTB'dir. Biyotinin biyosentetik yolağı Şekil 2'de gösterilmiştir. Biyotin sentezindeki en büyük sorun biyotinin sentezde rol alan tüm enzimler üzerindeki baskılayıcı etkisinden kaynaklanmaktadır. Biyotin sentezi için modifiye mikroorganizmaların kullanımı üzerine çalışmalar bugün hala devam etmektedir.

Şekil 2 Biyotin sentez yolağı

Sonuç ve Öneriler

Son birkaç yılda yapılan çalışmalarla vitamin öncüsü, biyopigment, antioksidan gibi çeşitli sağlık alanında kullanılan ürünlerin biyosentez yolları; bakteriler (*Escherichia coli*, *Serratia sp.*, *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Gluconobacter sp.*, *Sinorhizobium sp.*, *Agrobacterium sp.*, *Hiphomicrobium sp.*, *Propionibacterium sp.*, *Rhodobacter sp.*, *Rhodococcus sp.*), mayalar (*Saccharomyces sp.*, *Candida sp.*, *Xanthophyllomyces sp.*, *Yarrowia sp.*), mantarlar (*Blakeslea sp.*, *Ashbya sp.*,

Mortierella sp., *Mucor sp.*, *Monascus sp.*) ve yeşil mikroalgler (*Dunaliella sp.*, *Euglena sp.*, *Haematococcus sp.*) gibi birçok mikroorganizmada ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir[47- 51]. Öte yandan, bu yeni keşfedilen biyosentez yollarının ve metabolik düzenlemelerin kompleks olmasından dolayı bazı vitaminlerin, biyopigmentlerin ve çeşitli sağlık ürünlerinin istenilen yüksek düzeylerde mikrobiyal üretimi konusunda güçlükler çekilmektedir. Bu tür güçlükler nedeniyle günümüzde önemli bir sağlık biyoteknolojisi ürünü olan gama-aminobütirik asit (GABA) üretiminde çok daha yüksek verimli üretim olan tek adımda gerçekleşen doğrudan glikoz fermantasyonu süreci yerine halen iki aşamalı işlemde üretim süreci kullanılmaktadır[52]. Özellikle de endüstriyel düzeyde vitamin ve sağlık ürünleri üretimi konusunda ciddi zorluklar bulunmaktadır. Örneğin ileri düzeyde genetik olarak modifiye edilmiş *Bacillus subtilis* suşu ile B₁ ve B₉ vitaminlerinin üretiminde maliyeti yüksek öncül ara bileşiklere ihtiyaç duyulmasının yanı sıra bu vitaminlerin üretim miktarı da ticari boyuttaki üretime göre oldukça düşüktür. Öte yandan son zamanlarda karışık kültür kullanılarak fermantasyonla büyük ölçekte C vitamini üretimi başarılı bir şekilde yapılabilmektedir. Ayrıca, günümüzde temel olarak anaerobik bakteri ve arkelerden oluşan barsak mikrobiyotasının da konakçıları için vitamin tedarikçileri olduğu bilinmektedir, ancak bu konuda yeterince araştırma literatürde bulunmamaktadır[53]. Bu mikroorganizmalar endüstriyel boyutta vitamin ve çeşitli sağlık ürünlerinin üretimi açısından yeni genlerin kaynağı olarak kullanılabilirler. Bu bağlamda endüstriyel boyuttaki üretim için istenilen verimde vitaminlerin, biyopigmentlerin ve antioksidanların üretimi için genetik ve biyoteknolojik yöntemlerle modifiye edilen bakteri, maya, mantar veya mikroalg kültürlerinin geliştirilmesi mümkün olabilecektir. Yüksek verimle üretim üzerine yapılan tarama metodolojileri incelendiğinde endüstriyel mikrobiyal suşların moleküler genetikleri, mikrobiyolojik sistemlerde metabolik mühendislik ve modelleme ile ilgili bilimsel çalışmalarındaki atılımlarla birlikte enzim ve hücre mühendisliğindeki gelişmelerin de endüstriyel boyutta vitamin ve vitamin benzeri bileşiklerin üretimine olanak sağladığı görülmüştür. Bunun en çarpıcı örneği *Ashbya gossypii* suşu kullanılarak fermantasyonla B₂ vitamini üretimidir. Bu örnekte metabolik mühendislik, karşılaştırmalı genom ve transkriptom analizleri, genomik metabolik yaklaşımların kombinasyonu ile birlikte klasik mutajenez teknikleri ile geliştirilen suşlar endüstriyel verimliliği yüksek oranda vitamin üretimi

yapmak için kullanılmıştır[54; 56]. Geliştirilen bu suşla yapılan yüksek verimli ve başarılı üretim neticesinde endüstriyel düzeyde kimyasal işlevlerle B₂ vitamini üretimini yerine günümüzde mikrobiyal fermantasyona dayalı üretim işlevinin kullanımı tercih edilmektedir. Kimyasal üretim süreci yerine biyoteknolojik üretim sürecinin uygulanması ile üretim ve çevre koruma maliyetinin %43 oranında azaldığı tespit edilmiştir[52]. Buna ilaveten, biyoteknolojik üretimle CO₂ emisyon oranının da %30 oranında azaldığı saptanmıştır. Sonuç olarak çok aşamalı kimyasal işleme kıyasla tek ana adımla gerçekleşen fermantasyonla üretim maliyetinde hem tasarruf edilmiş hem de üretimde çevre dostu bir yöntem kullanılmıştır[57]. Ayrıca, yönlendirilmiş evrim ve rasyonel protein deseni hesaplama araçlarının kullanımı ile yeni enzimlerin yaratılması ve bu enzimlerin vitamin öncüleri gibi kimyasal bileşiklerin biyosentezle üretimi alanında kullanım potansiyelin yaygınlaşması da önem kazanmıştır. Günümüzde mikrobiyal enzimler ve hücrelerle asimetric biyokataliz kullanılarak yüksek verim ve enantiyo-seçiciliğe sahip vitamin öncüleri de dahil olmak üzere çok çeşitli kiral ürünlerin üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Bugün artık organik sentezle üretim yapan biyokataliz yöntemi ile üretilen biyokimyasallar kimyasal olarak üretilen ürünlere alternatif olarak tercih edilmektedir. Çeşitli endüstrilerde yeni kültür teknikleri, hızlı örnekleme ve biyosensör metodolojileri ile biyoreaktör tasarımlarındaki gelişmelerin hepsi birden endüstriyel mikrobiyoloji ve biyoteknoloji temelli üretim işlemlerine olan ilginin artmasına katkıda bulunmaktadır. Hücre biyokimyası, metabolik düzenleme ve hücre biyolojisi alanlarındaki bilgilerin eksikliği nedeniyle tasarım tabanlı endüstriyel mikrobiyal suş mühendisliği teknolojilerinin gelişmesinde engeller söz konusudur. Biyoloji ve sentetik mikrobiyoloji teknolojilerindeki gelişmelerin bu bilgi boşluğunu doldurma da katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Özellikle bu alanlardaki gelişmelerin birada kullanımı ile endüstriyel olarak mikrobiyal temelli vitaminler ve diğer sağlık ürünlerinin yüksek verimle üretimine olanak sağlayacak uygun mikrobiyal suşların üretilebilecektir.

Gelecekte sentetik biyolojideki gelişmeler yüksek verimde vitamin ve diğer sağlık ürünlerini üretebilen üretici suşların inşasına olanak sağlaması beklenmektedir. Özellikle de vitamin üretiminde mikrobiyal süreçlerin kimyasal üretim süreçlerine göre avantajları oldukça fazladır. Kimyasal süreçlerle üretilen ürünler daha çok rasemik karışımlar iken, fermantasyon ya da biyodönüşüm reaksiyonları ile üretilen ürünler

istenilen form olan enantiyomerik bileşikler şeklindedir. Buna ilaveten biyokimya ve DNA teknolojilerindeki gelişmeler biyoteknolojik vitamin üretimi ile ilgili çok çeşitli seçenekler sunmaktadır. Genel olarak biyoteknolojik süreçler ve ürünlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri vitaminler gibi maddelerin bu süreçlerle üretimine yönelik ilgiyi arttırmaktadır. Bunlara ilaveten biyoteknolojik üretimlerde maliyetin düşürülmesi ile yüksek pazar payına sahip ürünlerin hem ekonomik hem de çevre dostu yöntemlerle üretiminin sağlanabilmesi öngörülmektedir.

Kaynaklar

1. Kavak, M., E. Şeker, ve M. Dörücü, Balıklarda Beslenme Hastalıkları. Int. J. Pure Appl. Sci.,2016. 2(1): p.1- 12.
2. Aydın, A., Vitamin ve Mineraller. İ.Ü. Cerrahpafla Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sağlam Çocuk izlemi Sempozyum Dizisi No: 35 Ekim 2003: p. 93-97.
3. Shimizu, S., Vitamins and Related Compounds: Microbial Production. Sakayu Shimizu Kyoto, Japan Published Online: 7 May 2008
4. Reporterlink 2019: <http://www.reportlinker.com/ci02037/Vitamin-and-Supplement.html>
5. Ünver Alçay, A., K. Bostan, E. Dinçel, ve C. Varlık, Alglerin İnsan Gıdası Olarak Kullanımı. Aydın Gastronomy, 2017. 1 (1): p.47-59.
6. Sato, T., et al., Production of menaquinone (vitamin K2)-7 by *Bacillus subtilis*. J. Biosci. Bioeng., 2010. p. 9116–20.
7. Hancock, R.D., ve R. Viola., Biotechnological approaches for L-ascorbic acid production. Trends Biotechnol, 2002. 20: p. 299–305.
8. Gökpınar, Ş., et al., Algal Antioksidanlar. E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 2006. 23(1/1): p. 85-89.
9. Gloeckler, R., I. et al., Cloning and characterization of the *Bacillus sphaericus* genes controlling the bioconversion of pimelate into dethiobiotin. Gene, 1990. 87: p.63–70.
10. Horiuchi, J., and K., Hiraga, Industrial application of fuzzy control to large-scale recombinant vitamin B2 production. J. Biosci. Bioeng., 1999. 87: p.365–371.
11. Marwaha, S.S., R.P., Sethi, and J.F. Kennedy, Role of amino acids, betaine and choline in Vitamin B12 biosynthesis by strains of *Propionibacterium*. Enzyme Microb. Technol., 1983. 5: 454–456.
12. Demir, A., Seyis, F., ve Kurt, O., Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar: I. Bitkiler. OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 2006. 21(2): p.249-260.
13. El-Mansi, E.M.T. Fermentation Microbiology and Biotechnology, Second Edition. Taylor & Francis, 2006.
14. V. Pujari et al., New and emerging prophylactic agents of migraine. CNS Drugs, 2002. 16: p.611–634.
15. Kato, T., and E.Y. Park., Riboflavin production by *Ashbya gossypii*. Biotechnology Letters, 2011. 34(4): p.611-618.
16. Xia, W. et al., Industrial vitamin B12 production by *Pseudomonas denitrificans* using maltose syrup and corn steep liquor as the cost-effective fermentation substrates.Bioprocess Biosyst. Eng., 2015. 38(6): p.1065-73.
17. Deptula, P., et al., Food-Like Growth Conditions Support Production of Active Vitamin B12 by *Propionibacterium freudenreichii* 2067 without DMBI, the Lower Ligand Base, or Cobalt Supplementation. Front. Microbiol., 2017. 8: p.368.

18. Survase, S.A., et al., Production of Vitamins. Food Technol. Biotechnol., 2006. 44(3): p.381–396.
19. Izah, S.C., E.B., Enaregha, and J.O., Epidi, Vitamin content of *Saccharomyces cerevisiae* biomass cultured in cassava wastewater. MOJ Toxicol. 2019. 5(1): p.42–45.
20. Branduardi, P., et al., Biosynthesis of vitamin C by yeast leads to increased stress resistance. PloS One, 2007. 2(10): p.e1092.
21. Gardner, N., and C.P. Champagne. Production of *Propionibacterium shermanii* biomass and vitamin B12 on spent media. Journal of Applied Microbiology, 2005. 99(5): p.1236-1245.
22. Drewke, C., and E., Leistner. Biosynthesis of vitamin B6 and structurally related derivatives. Vitamins and Hormones, 2001. 61: p.121-155.
23. Padh, H., Cellular functions of ascorbic acid. Biochem. Cell Biol., 1990. 68: p.1166–1173.
24. Padh, H., Vitamin C: Newer insight into its biochemical functions. Nutr. Rev., 1991. 49: p.65–70.
25. Chauhan, A.S., R.S. Ramteke, and W.E. Eipeson, Properties of ascorbic acid and its applications in food processing: A critical appraisal. J. Food Sci. Technol., 1998. 35: p.381–392.
26. Smitha, M.S., S., Singh, and R., Singh, Microbial bio transformation: a process for chemical alterations. J Bacteriol Mycol Open Access, 2017. 4(2): p. 47-51.
27. Vandamme, E.J., Production of vitamins, coenzymes, and related biochemicals by biotechnological process. J. Chem. Technol. Biotechnol., 1992. 53: p.313–327.
28. Hancock, R.D. and R., Viola, The use of microorganisms for L-ascorbic acid production: Current status and future perspectives. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2001. 56: p.567–576.
29. Combs, G.F. and Jr. James P. McClung, The Vitamins (Fifth Edition), Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Elsevier, 2017.
30. Erdöl, Ş., Önemli Bir Halk Sağlığı Problemi: Vitamin B12 Eksikliği. JCP, 2017.15(2): 30-36.
31. Roth, J.R., et al., Characterization of the cobalamin (vitamin B12) biosynthetic genes of *Salmonella typhimurium*. J. Bacteriol., 1993. 175: 3303–3316.
32. Krymchantowski, A.V., M.E. Bigal, and P.F. Moreira, New and emerging prophylactic agents of migraine. CNS Drugs, 2002. 16: p.611–634.
33. Akompong, T., N. Ghorri, and K. Halder, *In vitro* activity of riboflavin against the human malaria parasite *Plasmodium falciperum*. Antimicrob. Agents Chemother., 2000. 44: p.88–96.
34. Horiuchi, J., and K. Hiraga, Industrial application of fuzzy control to large-scale recombinant vitamin B2 production. J.Biosci. Bioeng., 1999. 87: p.365–371.
35. Stahmann, K.P., et al., Formation and degradation of lipid bodies found in the riboflavin producing fungus *Ashbya gossypii*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1994. 42: p.121–127.
36. Pujari, V., and T.S., Chandra, Statistical optimization of medium components for enhanced riboflavin production by a UV- -mutant of *Eremothecium ashbyii*. Process Biochem., 2000. 36: p.31–37.
37. Park, E.Y., A., Kato, and H., Ming, Utilization of waste activated bleaching earth containing palm oil in riboflavin production by *Ashbya gossypii*. J. Am. Oil. Chem. Soc., 2004. 81: p.57–62.
38. Ledesma-Amaro, R., et al., Metabolic engineering of riboflavin production in *Ashbya gossypii* through pathway optimization. 2015. Microb Cell Fact, 14: p.163.
39. Ertürk, E., O., Erkmén, and M.D., Oner, Effect of various supplements on riboflavin production by *Ashbya gossypii* in whey. Turk. J. Eng. Environ. Sci., 1998. 22: p.371–376.
40. Perkins, J.B., et al., Genetic engineering of *Bacillus subtilis* for the commercial production of riboflavin. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 1999. 22: p.8–18.
41. Koizumi, S., et al., Production of riboflavin by metabolically engineered *Corynebacterium ammoniagenes*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2000. 53: p.674–679.
42. Sybesma, W., et al., Increased production of folate by metabolic engineering of *Lactococcus lactis*. Applied and Environmental, 2003. Microbiology, 69: p.3069-3076.

43. Baker, D.F., and A.M., Cambell, Use of the bio-lac fusion strains to study regulation of biyotin biosynthesis in *E. coli*. *J. Bacteriol.*, 1980. 143: p.789–800.
44. Oshiro, T., et al., Enzymatic conversion of dethiobiyotin to biyotin in cell free extracts of a. *Bacillus sphaericus* bioB transformant. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1994. 58: p.1738–1741.
45. Bower, S. et al., Cloning, sequencing and characterization of the *Bacillus subtilis* biyotin biosynthetic operon. *J. Bacteriol.*, 1996. 178: p.4122–4130.
46. Saito, I. et al., Comparison of biyotin production by recombinant *Sphingomonas* sp. under various agitation conditions. *Biochem. Eng. J.*, 2000. 5: p.129–136.
47. Laudert, D., and H.P. Hohmann, Application of enzymes and microbes for the industrial production of vitamins and vitamin–like compounds. In *Comprehensive Biotechnology*, 2nd edn, Moo-Young, M. (ed).Amsterdam: Elsevier B.V., 2011. 3: p. 583–602.
48. Borowitzka, M.A., High value products from microalgae -their development and commercialization. *J. Appl. Phycol.*, 2013. 25: p. 743–756.
49. Ledesma-Amaro, R., et al., Microbial production of Vitamins. In *Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes and Nutraceuticals*, McNeil, B., Archer, D., Giavasis, I., and Harvey, L. (eds.). Oxford: Woodhead Publishing, 2013. 246: p. 571–594.
50. Bellou, S., et al., Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. *Biotechnol. Adv.*, 2014. 32: p. 1476–1493.
51. Vandamme, E.J., and J.L. Revuelta, *Industrial Biotechnology of Vitamins, Biopigments and Antioxidants*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2016. pp. 560.
52. Revuelta, J.L. et al., Microbial biotechnology for the synthesis of (pro) vitamins, biopigments and antioxidants: challenges and opportunities. *Microbial Biotechnology*, 2016. 9: p. 564–567.
53. Le Blanc, J.G., et al., Bacteria as vitamin suppliers to their hosts: a gut microbiota perspective. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2013. 24: p. 160–168.
54. Karos, M., et al., A genome-wide transcription analysis of a fungal riboflavin overproducer. *J. Biotechnol.*, 2004. 113: p. 69–76.
55. Ledesma-Amaro, R., et al., Genome scale metabolic modeling of the riboflavin overproducer *Ashbya gossypii*. *Biotechnol. Bioeng.*, 2014. 111: p. 1191–1199.
56. Ledesma-Amaro, R., et al., Metabolic engineering of riboflavin production in *Ashbya gossypii* through pathway optimization. *Microb. Cell. Fact.* 2015. 14: p. 163.
57. Wenda, S., et al., Industrial biotechnology—the future of green chemistry. *Green Chem.*, 2011. 13: p. 3007–3047.