

# İMMOBİLİZE ENZİMLER VE BESİN ENDÜSTRİSİNDE KULLANILMASI

## IMMOBILIZED ENZYMES AND THEIR USE IN FOOD INDUSTRY

Selma ATEŞ

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Ankara

**ÖZET:** İmmobilize biyokatalizörler (enzimler, canlı ve cansız mikroorganizmalar) son yıllarda gittikçe artan bir ilgi toplamışlardır. İmmobilize enzimlerin avantajları:

1. Enzimlerin kararlılığı artar ve birçok kez kullanma olanağı ortaya çıkar, 2. Reaksiyon ortamında dağılmadığı için ürünlerin saflığı ve kalitesi artar, 3. Sürekli reaktör sistemlerinde kullanılır.

**SUMMARY:** Immobilized biocatalysts (enzymes, living and nonliving microorganisms) have recently gained considerable attraction. The advantages of the immobilized enzymes can be stated as follows.

1) The stability of the enzyme increases and can be used several times, 2) The purity and the quality of the product increases because the enzyme can be easily separated, 3) It is used in continuous reactor systems.

### GİRİŞ

Enzimler, besin endüstrisinde çok önemli materyal olmalarına karşın maliyetleri yüksektir. Enzimlerin ekonomik açıdan kullanılabilirliğini sağlamak amacıyla immobilizasyon teknikleri geliştirilmiştir. İmmobilize enzim katı veya yarı katı halde olduğundan ürün çözeltisinden kolaylıkla ayrılır ve tekrar kullanılır ayrıca enzimi çözünür halde kullanırken yapılan çöktürme ve süzme gibi işlemlere gerek kalmaz. "İmmobilizasyon" tutuklanmış enzim moleküllerinin sürekli bir işlemde kullanılmasıdır (ZABORSKY, 1973).

Enzim moleküllerinin tutuklanma işlemi:

1. Enzimin "suda çözünmeyen" polimerlere kovalent olarak bağlanması.

2. "Suda çözünmeyen" organik veya anorganik desteklerde adsorpsiyonu.

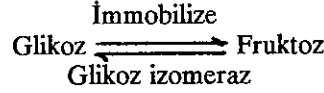
3. "Suda çözünmeyen" jel matrisler veya yarı geçirgen mikro kapsüller içinde tutulması suretiyle yapılmaktadır. Her durumda enzimin yerleşmesi için "suda çözünmeyen" bir materyal gereklidir. Beher veya küçük bir şişedeki enzim de immobilize enzim olarak düşünülebilir fakat sürekli bir işlemde kullanılamaz. İmmobilizasyon işleminde amaç bir yandan reaksiyona giren madde eklenirken öte yandan sürekli olarak ürün alınmasıdır.

İmmobilizasyon için kullanılan metodlar sistematik olarak sınıflandırılabilir ve bu metodlar Çizelge 1. de görülmektedir. (CARR ve BOWERS, 1980). Kimyasal metodlarda enzim ve suda çözünmeyen taşıyıcı arasında en azından bir kovalent bağ vardır. Kimyasal metodlar genellikle tersinmezdir, orijinal enzim yeniden kazanılamaz veya rejenere edilemez. Fiziksel metodlarda ise kovalent bağlar oluşmaz; fiziksel güçler (elektrostatik etkileşim, iyonik bağların oluşumu gibi ...) sözkonusudur. Fiziksel metodlar tersinirdir. Hibrid metodlar ise fiziksel ve kimyasal metodların karışımıdır.

#### Çizelge 1. İmmobilize-Enzim Metodlarının Sınıflandırılması

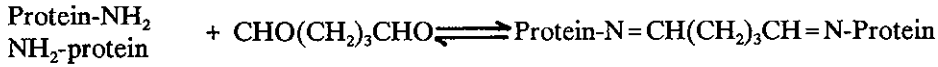
<u>Fiziksel Metodlar</u>
Suda çözünmeyen matris üzerinde enzimin adsorplanması
Suda çözünmeyen polimer kafes içinde enzimin tutuklanması
Yarı geçirgen mikrokapsül içinde enzimin tutuklanması
<u>Kimyasal Metodlar</u>
Suda çözünmeyen matris türevine enzimin bağlanması
Enzim moleküllerinin molekül içine çapraz bağlanması
<u>Hibrid Metodlar</u>

İmmobilize glikoz izomeraz yardımıyla glikozdan iki kat daha tatlı fruktoz elde edilmesi besin endüstrisinde çok kullanılan bir işlemdir. Bu işlem şu basamaklardan geçerek yapılır: %33'lük mısır nişastası hamuru bakteriyel  $\alpha$ -amilaz ile (pH6, T 80-110°C arasında tutularak) sıvılaştırılır. Sıcak sulu hamur 60°C'a soğutulur ve gliko amilaz ile pH 4-4,5 arasında tutularak glikoz elde edilir. Böylece %96-97 oranında nişasta glikoza dönüştürülür. Glikoz şurubu içeren tanka immobilize glikoz izomeraz eklenir. Sonuçta %42 fruktoz ve %51 glikoz içeren şurup elde edilir.



Denge, reaksiyon sıcaklığı artırılarak daha fazla fruktoz oluşumuna kaydırılabilir. Bir diğer metod ise şurubu konsantre ederek glikozun kristallenmesine izin vermektir. Böylece sıvı %70 fruktoz içeren hale gelir, kristallenerek ayrılan glikoz ise tekrar izomerleşme işlemine sokulur. Elde edilen yüksek fruktozlu mısır şurubu sakkarozu eşdeğer olarak besin endüstrisinde kola gibi içeceklerde, tatlılarda, şekerlemelerde kullanılır. A.B.D.'inde yüksek fruktozlu mısır şurubu üreten pekçok şirket vardır ve yaklaşık üretim yılda 1,5 milyon tondur.

İmmobilize glikoz izomeraz elde etmek için en çok kullanılan yöntem, çapraz bağlayan madde glutaraldehit ile hücre proteinlerinin schiff-bazı oluşturmaktır.



Peynir oluşumunda kullanılan enzim renindir. Renin memeden kesilmemiş büyük baş hayvanların midelerinden elde edilmektedir. Son yıllarda bu enzim yetersiz gelmektedir ve sütün pıhtılaştırılması işleminde immobilize proteazların kullanılması konusunda çalışmalar vardır. Ancak proteaz kullanıldığında en önemli problem oligopeptidlerin acı tadının oluşmasıdır; zira kullanılan immobilize proteaz renin kadar spesifik değildir, işlem uzun sürer. Pıhtılaşma işlemi iki adımdır: birisi enzimatik adım, diğeri enzimatik olmayan adımdır. Bu adımların ikisinin de hızları sıcaklığa bağlıdır, ancak enzimik adımın sıcaklığa bağlılığı enzimik olmayan adımdan azdır. Bu nedenle süt öncelikle düşük sıcaklıkta immobilize enzimle etkileştirilir, sonra sütü buradan alıp sıcaklığı artırarak ayrı bir adımla pıhtılaşmasını sağlamak mümkündür. Böylece renin yerine diğer proteaz enzimleri kullanmak mümkün olmuştur. İmmobilize bakteri proteazlarının ticari amaçla kullanımı iki nedenden dolayı gelişmemiştir. Birincisi ekonomik olmamasıdır; ikincisi birçok bakteriyel proteazın A.B.D.'de GRAS tarafından (Generally Regarded As Safe) yasak listeye alınmış olmasıdır (HERBERT, 1983).

İmmobilize pektolitik enzimler besin endüstrisinde kullanılmaktadırlar. Meyve sularında bulunan pektin meyve suyunu viskoz ve bulanık hale getirir; immobilize pektolitik enzimler pektini parçalayarak meyve suyunun daha kolay süzülmesine yardımcı olmak amacıyla kullanılırlar. İmmobilize naringinaz greylfurt suyundaki acılığı gidermek amacıyla kullanılır (LAZANO ve MANJON 1988).

İmmobilize karbohidrazlar ise  $\alpha$ -amilaz, glukoamilaz,  $\beta$ -amilaz, invertaz,  $\alpha$ -galaktosidaz gibi enzimlerdir. Nişastayı hidrolize eden enzimlerin (amilazlar) immobilize şeklinde ticari kullanımları başarılı değildir; bunun nedeni doğal şeklinin, maliyetinin ucuz olması, kullanım kolaylığı ve endüstriyel şartlarda uzun süre kalabilmesidir. Diğer iki karbohidraz: invertaz ve  $\alpha$ -galaktosidaz, herikisi de düşük molekül ağırlıklı karbohidratların parçalanmasını katalize ederler. İvertaz çok yaygın olarak sakkarozun glikoz ve fruktoza hidrolizinde kullanılır ancak; invertazın immobilize şekli de doğal enzimin maliyetinin az olması nedeniyle arzulanmaz.  $\alpha$ -Galaktosidaz şeker pancarı melasındaki rafinoz içeriğini azaltarak sakkarozun kristallenmesine yardımcı olur. Karbohidrazlar içinde immobilize şeklinde ticari olarak kullanılan tek enzim  $\alpha$ -galaktosidazdır.

İmmobilize laktaz teknolojisi büyük boyutlarda gelişmiştir ve çok kullanılmaktadır. Laktaz sütte, peynir suyunda bulunan laktozun glikoz ve galaktoza dönüşümü için kullanılır. Bu işlemin avantajları:

1. Glikoz laktozdan daha kolay fermente edilebilir.
2. Glikoz ve galaktoz laktozdan iki kat daha tatlıdır.
3. İnsanların çoğu laktoz içeren ürünleri sindiremez.

Besin endüstrisinde özellikle pastörize ürünlerde immobilize glikoz oksidaz katalaz enzim sistemi kullanılması çalışmaları sürmektedir (PITCHER, 1980).

## KAYNAKLAR

- CARR, P.W., BOWERS, L.D. 1980. Immobilized Enzymes in Analytical and clinical chem. (Wiley and Sons New-York)  
 HERBERT, O. 1983. Food Technology 37(10): 66-96  
 LEUENBERGER, H.G.W. 1990. Biotransformation. Pure and Appl. Chem. 82(4): 753-768.  
 LOZANO, P., MANJON, A. 1988. Process Biochem. 23: 75-78.  
 PITCHER, W.H. 1980. Immobilized Enzymes for Food Processing (CRC Press).  
 ZABORSKY, O.R. 1973. Immobilized enzymes (CRC Press).