

BİYOTEKNOLOJİ

BİYOTEKNOLOJİ NEDİR?

- ☞ **Biyolojik araç, sistem ve süreçlerin üretim ve hizmet endüstrilerine uygulanması**
- ☞ **Endüstriyel uygulamalarda başarılı olabilmek için Biyokimya, Mikrobiyoloji ve Mühendislik bilimlerinin ortak kullanımı ile mikroorganizmaların, doku ve hücre kültürlerinin kapasitelerinin artırılması**
- ☞ **Çeşitli yararlı maddelerin üretilmesi için biyolojik özellikleri kullanan bir teknoloji olması**
- ☞ **Biyolojik araçlar tarafından üretilen materyallerin daha iyi ürün ve hizmet vermek üzere bilim ve mühendislik ilkelerinin uygulanması**
- ☞ **Biyoteknoloji sadece teknik ve süreçlerin toplamına verilen bir addır.**
- ☞ **Biyoteknoloji canlı organizmaları ve onların yapıtaşlarını tarım, gıda ve diğer endüstrilerde kullanan bir tekniktir.**

BİYOTEKNOLOJİNİN BAŞLICA UYGULAMA ALANLARI

- **Biyosüreç Teknolojisi**

- Alkollü içeceklerin üretimi
- Antibiyotik üretimi
- Memeli hücre kültürleri
- Yeni ürünlerin üretimi (Ör: Polisakkaritler)
- İlaç üretimi
- Organik çözücü üretimi (Ör:Aseton, butanol)
- Protein bakımından zenginleştirilmiş gıdaların üretimi
- Üretim kapasitesi artışı için fermentasyon tasarımı optimizasyonu

- **Enzim Teknolojisi**

- Özgün kimyasal reaksiyonlar için kullanımları
- Enzim immobilizasyonu (tutuklanması)
- Yarı sentetik penisilin üretiminde
- Nişasta ve sellüloz hidrolizinde
- Biyolojik analizler için sensörlerin oluşturulmasında

BİYOTEKNOLOJİNİN BAŞLICA UYGULAMA ALANLARI

➤ Atık Teknolojisi

- Atıkların yeniden kullanılabilmesi
- Atıklardan yeni ürünlerin üretilmesi (Ör: alkol)

➤ Çevre Teknolojisi

- Kirliliğin kontrolü
- Atık toksinlerin uzaklaştırılması
- Düşük dereceli madenlerden ve madencilik endüstrisi atıklarından metallerin geri kazanılması

➤ Yenilenebilen Kaynaklar Teknolojisi

- Kimyasal ham madde ve etanol, metan ve hidrojen üretimi için lignosellülozik materyalin yenilenebilen enerji kaynağı olarak kullanılması
- Bitki ve hayvan materyalinin tamamının kullanılması

BİYOTEKNOLOJİNİN BAŞLICA UYGULAMA ALANLARI

➤ Ziraat ve Hayvancılık

- Besin değeri yüksek, hastalığa dirençli, strese toleranslı yüksek kalitede ve verimde genetik mühendisliği ile geliştirilmiş bitkilerin oluşturulması
- Hayvancılıkta ürün artırımını sağlamak

➤ Sağlık

- Yeni ilaçların oluşturulması
- İlaçların sadece hastalıklı bölgeye ulaşmasının sağlanması
- Hastalık tanılarının geliştirilmesi
- Aşıların geliştirilmesi
- İnsan genomunun anlaşılması
- Gen tedavisi

BİYOTEKNOLOJİ İLE İLİŞKİLİ SEKTÖRLERİN SINIFLANDIRILMASI

➤ Terapötikler

- Hastalıkların kontrolünde ve tedavisinde kullanılan farmasötik ürünlerin üretimi
- Antibiyotik üretimi
- Aşı üretimi
- Gen tedavisi ile ilgili ürünlerin üretimi

➤ Tanı kitleri

- Gıda, çevre ve ziraatta kullanılan tanı ve saptama kitlerin üretimi

➤ Gıda

- Çeşitli gıda ürünleri, koruyucular, içecekler ve çeşitli katkı maddelerinin üretimi

- **Çevre**

- Arıtım, Zararlı maddelerin yararlı hale dönüşümü, enerji üretimini sağlayan şirketler

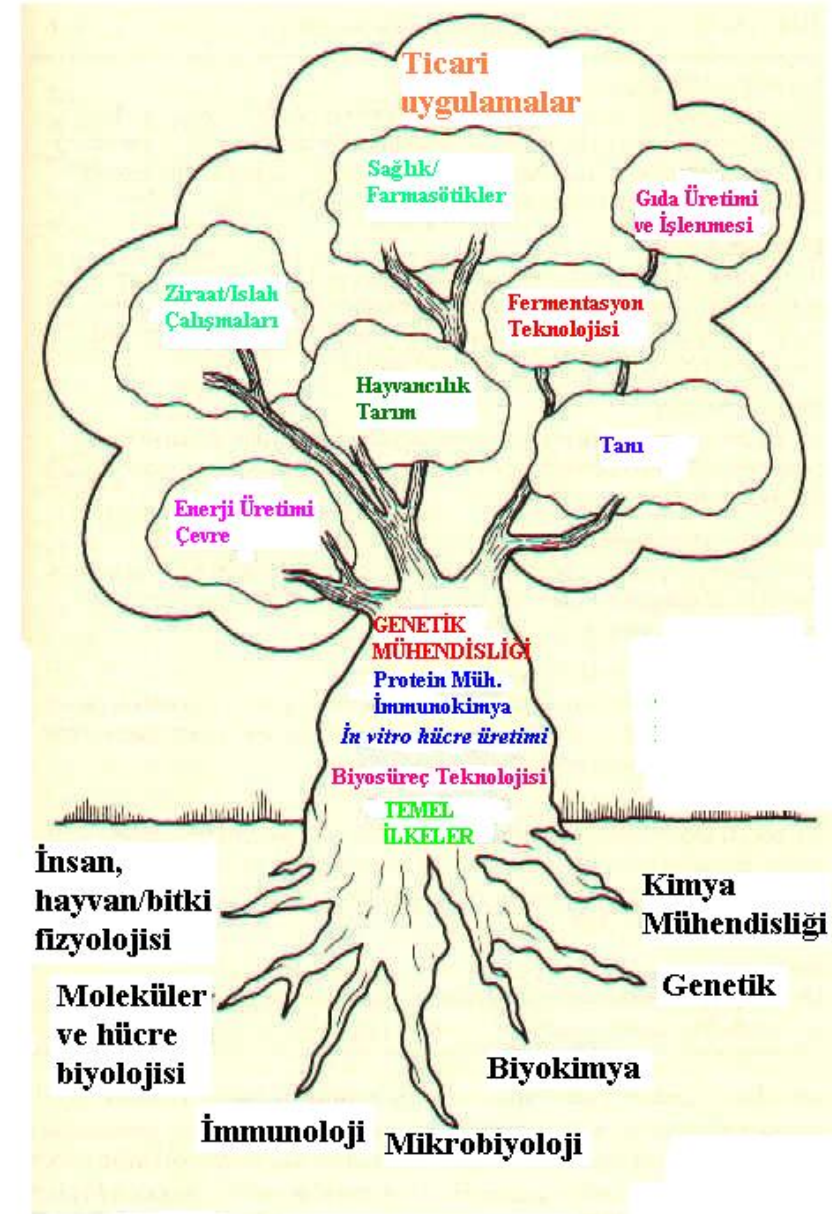
- **Kimyasal ara ürünler**

- Enzimler, DNA, RNA, özgün kimyasalları üreten şirketler

- **Teçhizat**

- Tüm makine donanımı, biyoreaktörler, "software" ve biyoteknolojiyi destekleyen tüm tüketim maddelerini üreten şirketler

- Biyoteknoloji konu olarak “**multidisipliner**” yani bağımsız pek çok bilim dalını birarada barındırır.
- Eğer biyoteknoloji çalışması yapanları bir liste altında toplamak gerekirse Biyokimyacılar, Mikrobiyologlar, Genetikçiler, Moleküler biyologlar, Hücre biyologları, Botanikçiler, Ziraat mühendisleri, Virologlar, Analitik kimyacılar, Biyokimya mühendisleri, Kimya mühendisleri, Kontrol mühendisleri, Elektronik mühendisleri ve Bilgisayar mühendisleri bu liste içerisinde sayılabilir.
- Ayrıca bu liste oluşturulan yeni bir tekniğin pazarlanmasında sorumlu olan ekonomistler, yöneticiler ve finans işi ilgili olan elemanlar ve yeni bir ürünün patent alınımından sorumlu hukukcular da katılarak genişletilebilir.



BİYOTEKNOLOJİ AĞACI

Biyoteknolojinin Tarihsel Evrimi

- İlk defa, 1919 yılında, **Karl Ereky** tarafından kullanılan Biyoteknoloji teriminin o zamanki tanımı, anlamı ve kapsamı, günümüze kadar gelişen modern tekniklerin bu alana uygulanması ile, önemli ölçüde değişikliklere uğramıştır.
- Karl Ereky, biyoteknolojiyi '**Biyoteknolojik Sistemler Yardımıyla Hammaddelerin Yeni Ürünlere Dönüştürüldüğü İşlemlerdir**' şeklinde tanımlamıştır.
- Bu tanım, o zamanki geleneksel biyoteknolojik uygulamalara çok benzemekte idi. Çünkü, o yıllarda biyoteknolojik sistemler herhangi bir değişikliğe uğratılmadan kullanılmaktaydı. Bunun başlıca nedeni, teknolojinin gelişmemiş olmasıydı.

- ❖ Son 25-30 yıl, biyoteknolojik gelişmelerin altın çağı olarak kabul edilmekte, biyoloji, kimya, fizik, biyokimya, mikrobiyoloji ve diğer bilim dallarındaki yeni buluşlarla bu yeni alan desteklenmiş ve insanoğlunun hayallerinin sınırladığı noktaya kadar adım adım gerçekleşmiştir.
- ❖ Ortaya konan her yeni buluş veya teknik, diğer bir uygulamaya, ileriye dönük olarak, büyük katkıda bulunmuş, onun temel ve itici gücünü oluşturmuş ve yeni ufukların açılmasına ve yeni problemlerin ortaya çıkmasını yol açmıştır.

- ❖ Dünyada giderek artan sayıda ülke, biyoteknolojik araştırmalarda ve buna bağlı olarak oluşturulan yeni ürünlerin kullanıma çıkarılmasında, bu yönden öncelik kazanarak biyoteknoloji pazarına hakim olmada birbirleriyle yarış haline girmiş bulunmaktadır.
- ❖ Bu alanda büyük aktivite gösteren birçok büyük firma kurulmuş ve çok büyük yatırım yapılmıştır. Kısa bir gelecekte biyoteknolojik ürünlerin, aynen mikroelektronik malzemeler gibi, gelişmiş ülkelerin ticarî bir silahı haline geleceği çok açıktır.

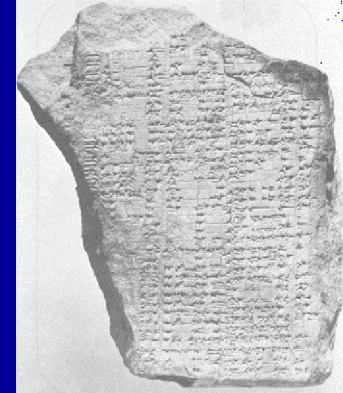
Biyoteknoloji tarihinde önemli bazı olaylar

- **MÖ 6000**

- Mayalar ilk kez Sümerler tarafından bira yapımında kullanıldılar

- **MÖ 4000**

Mısırlılar maya kullanarak
ekmek yapımını keşfettiler



- üzüm kültürü yapımı (Gürcistan),



- **1673**

- Anton van Leeuwenhoek (1632 - 1723), Protozoa ve bakterilerin fermentasyonda rol oynayabileceğini açıklayan ilk bilim adamı

- **1856**

- Louis Pasteur Louis Pasteur (1822 -1895) mikroorganizmaların fermentasyondan sorumlu olduklarını kesin bir şekilde tanımladı

- **1928**

- Alexander Fleming petri kaplarında bir parça küfle çevrelenmiş bölümde tüm bakterilerin öldüğünü keşfetti. Böylece penisilin dönemi başladı. Fakat 15 yıl sonra tıbbi kullanım için uygun duruma geldi.

- **1938**

- Proteinler ve DNA çeşitli laboratuvarlarda çalışılmaya başlandı. “Moleküler biyoloji” terimi gündeme girdi.

1941

Bir gen bir enzim hipotezi ortaya atıldı

- **1943**
- Rockefeller vakfı Meksika hükümeti ile işbirliği yaparak Meksika Tarım Programı başlatıldı. Bu yabancı yardımıyla yapılan ilk bitki ıslahı çalışması olarak biyoteknoloji tarihinde yerini aldı.
- **1953**
- Kortizon büyük ölçekte üretilen ilk ürün
- **1953 – 1976**
- DNA ile yapılan yaygın çalışmalar

- **1977 - Günümüz:**

- Genetik Mühendisliği çalışmalarının başlaması.

- Genentech Genentech, Inc., tarafından **somatostatin** (insan büyüme hormonu) bakteriye klonlandı.

- **1978**

- 1978'de Herbert Boyer San Francisco California Üniversitesi laboratuvarında rekombinant insulin genini *E. coli* içerisine aktarmayı başardı.

- **1980**
- **PATENT alınımına izin verilmesi**
- ABD yüksek Mahkemesinin petrol yiyen bakteri için patent vermesi
- Kary Mullis ve arkadaşları tarafından PCR yönteminin keşfedilmesi.
- **1982**
- Genetik mühendisliği ile geliştirilmiş insan insulinin bakteri tarafından üretilmesi
- **1985**
- Böcek, bakteri ve virüslere dirençli bitkilerin toprakta yetiştirilmesi çalışmaları
- **1986**
- İlk rekombinant aşı (sarılık, Hepatit B)
- **1988**
- İlk genetiği değiştirilmiş hayvan olarak meme kanseri çalışmalarında kullanılan fare için patent alınması
- **1990**
- İlk başarılı gen terapi çalışmasının yapılması
- **1994**
- İlk genetik mühendisliği ile geliştirilmiş domatesin dünya gıda örgütü tarafından kabulü

- **1996**
- Biyosensörlerin kullanılması
- **1997**
- Doly'nin yapılması
- **1998**
- Ebriyonik kök hücre üretimi
- **1999**
- Deli dana hastalığı için hızlı ve hassas tanı sisteminin geliştirilmesi
- **2001:**
- **200,000 çalışan, devlete ait \$30 milyar gelir, toplam 1450 şirket 350'si kamu şirketi**
- **1992: 80,000 çalışan, \$8.1 milyar devlete ait gelir. Yaklaşık aynı sayıda şirket**

- Tarihsel evrime göre biyoteknoloji üç temel döneme ayrılmaktadır. Bunlar da,
 - **1) Geleneksel Biyoteknoloji:** Karl Ereky'nin tanımladığı biyoteknoloji kapsamında, biyolojik sistemler (genellikle bakteri, maya, mantar) hiçbir modifikasyona uğramadan aynen kullanılmaktaydı. Aslında, bu tarihlere ait bilgi ve teknoloji de genetik düzeyde değişiklikler yapabilecek durumda değildi. Yaklaşık 20 yıl kadar devam eden bu dönemde biyolojik sistemler, ekmek, peynir, alkol, çeşitli alkollü içkiler, sirke, yoğurt gibi maddelerin üretilmesinde fazlaca kullanılmıştır. Bu nedenle de bu periyot, '**Fermantasyon teknolojisi**' ağırlıklı olup buna yönelik üretimi kapsamaktadır.

2) Ara Dönem: 1940-1975 yılları arasını kapsayan bu dönemde, biyolojik sistemlerin endüstride kullanım alanları genişletilmiş ve bazı küçük tekniklerin ilavesiyle de üretim geliştirilmiş ve artırılmıştır. Bu ara periyot içerisinde antibiyotik, enzim, protein, karbonhidrat, organik asitler, alkol vb. maddeler fazlaca üretilmiştir.

❖ Bu dönemde, geleneksel biyoteknoloji gibi biyoteknolojik sistemler ve özellikle de bunların genomlarında köklü değişiklikler yapılmadığı için, bugünkü anlamda kullanılan biyoteknolojik uygulamaları pek kapsamamaktadır. Bu nedenlerle de, bu ara periyot ta birincisi gibi fermantasyon teknolojisine dayanmaktadır.

3) Modern Biyoteknoloji: Gelişmiş ve modern tekniklerin biyolojik sistemlere uygulandığı bu dönem oldukça ileri bir karakter taşımaktadır.

- ✓ **Mutasyonlar veya Rekombinant DNA teknolojisi** yardımıyla oluşturulan yeni fenotipik karakter taşıyan **Mutantlar veya Transgenik organizmalar**, endüstride ve diğer alanlarda (mikrobiyoloji, biyoloji, biyokimya, insan ve hayvan sağlığı, hayvan ıslahı, ziraat, çevre vb.) çok fazla kullanılmaya başlanmıştır.
- ✓ Bu gelişmelere paralel olarak, biyoteknolojinin tanımında da değişiklikler yapılmıştır. 1982 yılında OECD'nin raporunda belirtilen tanıma göre biyoteknoloji '**Temel Bilimlerin ve Mühendislik İlkelerinin, Ham Maddelerin Biyolojik Araçlar Yardımı ile Ürünlere Dönüştürüldüğü Süreçlere Uygulandığı Bir Teknoloji**'dir şeklindedir.
- ✓ Bu tarif içine her ne kadar açık olarak belirtilmesede, genetik düzeydeki manipulasyonların da içinde bulunduğu '**Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA teknolojisi**' de yer almaktadır.

Modern Biyoteknoloji

- ✓ Bu teknikler yardımıyla organizmanın yaşamı için gerekli bütün bilgilerin toplandığı ve kodlandığı genom kitaplığının = bankalarının kurulması, oluşan bankalardan arzu edilen genin izolasyonunun ve nükleotid dizisinin saptanması ve bu dizilerde değişiklikler yapılması veya başka organizmalara aktarılması, gen regülasyonunun saptanması, hibrit hücreler elde edilmesi mümkündür.
- ✓ Bu teknikler yardımıyla biyoteknolojik aşular, proteinler, enzimler, antibiyotikler, hormonlar, sitokininler, monoklonal antikolar, teşhis koruma ve tedavi araştırmalarında kullanılan diagnostik maddelerin ve kimyasalların üretilmesi gerçekleştirilmektedir.
- ✓ Bu yöntemler ile, doğal koşulları altında ancak yüz binlerce yıl içinde meydana gelebilecek mutasyonları, in vitro olarak kısa sürede oluşturmak mümkün olmaktadır.

Neden böyle bir teknoloji (Rekombinant DNA Teknolojisi) gelişimine ihtiyaç duyulmuştur?

1) Genellikle bazı belli tipteki hücreleri büyük ölçekte üretmek güçtür. Örneğin memeli hücrelerini özellikle insan kaynaklı olanları üretmek oldukça zordur. Üremeleri yavaştır. Mikroorganizmaları üretebilmek için kullanılan basit yöntemler bu tip hücreler için kullanılamaz.

2) Doğal kaynakların kullanımı sınırlıdır.

3) Doğal kaynaklardan izole edilen bir ürünün kontaminasyon riski taşıması ör: Serumdan izole edilen bazı faktörlerin (faktör XII) hemofili hastaları için kullanılması bu faktörün izolasyonu sırasında sarılık veya AIDS gibi bazı hastalık etkenleri ile kontamine olması olasılığını ortaya çıkarır.

4) Maliyet

☞ Bu teknolojinin doğmasına bir başka nedende tamamen yeni bir ürünün üretilme isteğidir.

✦ Örneğin endüstride biyokatalizör olarak kullanılan enzimler sınırlı özelliklere sahiptir.

✦ Bu özellikler özel spesifite, katalitik aktivite ve stabildedir.

✦ Enzimi kodlayan gende yapılan modifikasyonlarla enzimin yapısı ve diğer özellikleri avantaj yönünde değiştirilerek konak organizmaya sokulur ve yeni bir **süper enzim** elde edilebilir.

← Ekonomik açıdan önemli bitkilerin de genomlarının değiştirilmesi biyoteknolojinin diğer bir önemli konusudur.

✦ Tahıllara atmosferden azotun fikse edilmesi özelliğinin kazandırılması sadece gübre kullanılmamasını sağlayan maliyet azalmasının yanısıra, gübre kullanımı ile kirlenen tarladan yağmur suları ile doğal su kaynaklarının kirlenmesi de önlenebilir.

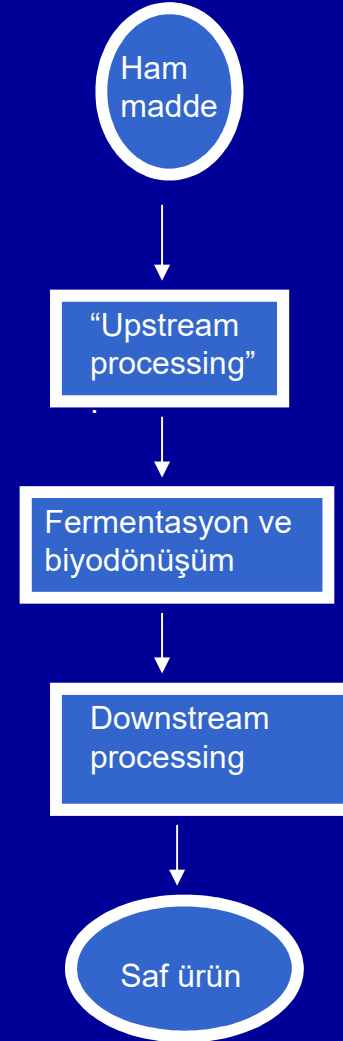
✦ Ancak uzun yıllardan beri yapılan bu çalışmalar azot fiksasyonunun regülasyon mekanizmasında çok sayıda genin etkili olması nedeniyle azot fiksasyonunun tahıllar tarafından yapılması henüz başarılammıştır.

✦ Bundan başka tohumlardaki depo proteinlerinin miktarları artırılabilir veya herbisitlere dirençli bitkiler geliştirilebilir. Ayrıca çeşitli hastalıklara dirençli, donmaya dayanıklı, raf ömrü uzatılmış bitkiler de geliştirilebilir.



Biyoteknolojinin Üretim Süreci

- Ticari değere sahip bir ürünün mikroorganizmalar kullanarak yapılan üretimi sırasında endüstriyel biyoteknoloji süreci genellikle 3 temel aşamaya ayrılır.
 - **“Upstream processing”**: Hedef mikroorganizma için besin kaynağı olarak kullanılacak ham maddenin hazırlanması
 - **Fermentasyon ve transformasyon**: Büyük bir reaktör (100 litreden büyük) içinde antibiyotik, amino asit, enzim gibi arzu edilen ürünün oluşumu (biyodönüşüm) ile sonuçlanan hedef mikroorganizmanın çoğalması
 - **“Downstream processing”**: Arzu edilen ürünün hücre kütlelerinden veya besi ortamından ayrılarak saflaştırılması



- Mikroorganizmalarla yapılan biyoteknolojik süreçlerin çoğu genel olarak;



şeklinde özetlenebilir.

Süreç mühendisliği **üretim işlemleri (fermentasyon)** ve bu işlemler sonucunda oluşan **ürünün geri kazanılması** ile ilgili yöntemlerin saptanması, geliştirilmesi ve optimize edilmesini içeren çalışmaları kapsar.

- Ürün hücre biyoması, hücrenin bir metaboliti ya da başlangıç materyalinin transformasyonu sonucu oluşan bir madde olabilir. Bazı durumlarda üretimde canlı organizma yerine mikroorganizmaların ürettikleri enzimler kullanılabilir. Bu durumda;



- şekilde bir eşitlik söz konusudur.

- Süreç geliştirilmesinden önce arzu edilen ürünün saptanması gerekir.
- Genelde yabancı suşlar bu ürünü az oluşturduklarından ürün saptama yöntemleri duyarlı olmalıdır.
- Süreç geliştirilmesinde çeşitli yöntemler kullanılabilir. Fakat üretimde amaç yalnız bir veya birkaç yöntemi kullanmaktır.

Üretim için gerekli olan substrat, toplam imalat fiyatının yaklaşık %50 sini kapsadığından mümkünse besiyeri ucuz ham madde içermeli fakat üretimin artırılması için gerekli olan spesifik katkı maddeleri unutulmamalıdır.



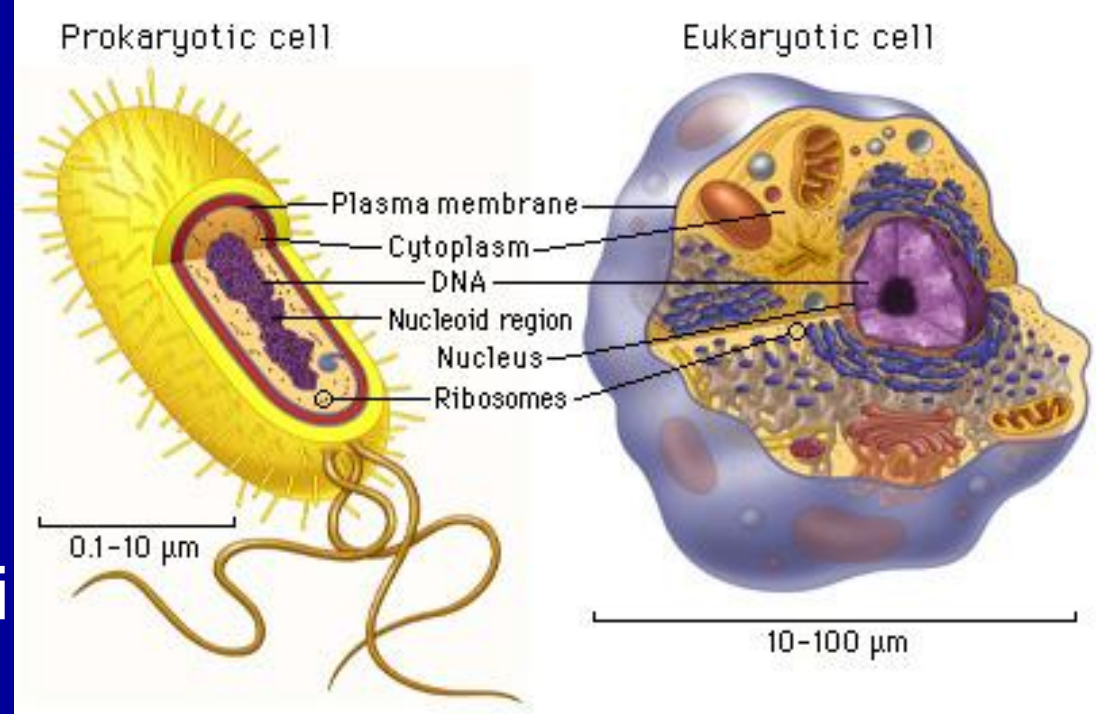
- Fermentasyon sonucunda oluşan **ürünün yüksek verimde geri kazanılması** diğer bir önemli konudur.
- Eğer ürün hücre biyokütlesi ("biomass") ise oluşan hücreler sürekli toplanır ve fermentasyon devam eder.
- Ürün hücre içinde kalabileceği gibi salgılama yeteneğinde olan hücreler tarafından da üreme ortamına salınabilir.
- Hücrenin parçalanması, ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri sonucunda minimum kayıp ile ürünün geri kazanılması sağlanır.

- Biyoteknolojik süreçlerin en son aşaması elde edilen ürünün kalite kontrolü yapıldıktan sonra paketlenmesi ve tüketiciye bozulmadan sunulmasıdır.

Biyoteknolojide Biyolojik Sistemler

Biyolojik Sistemler

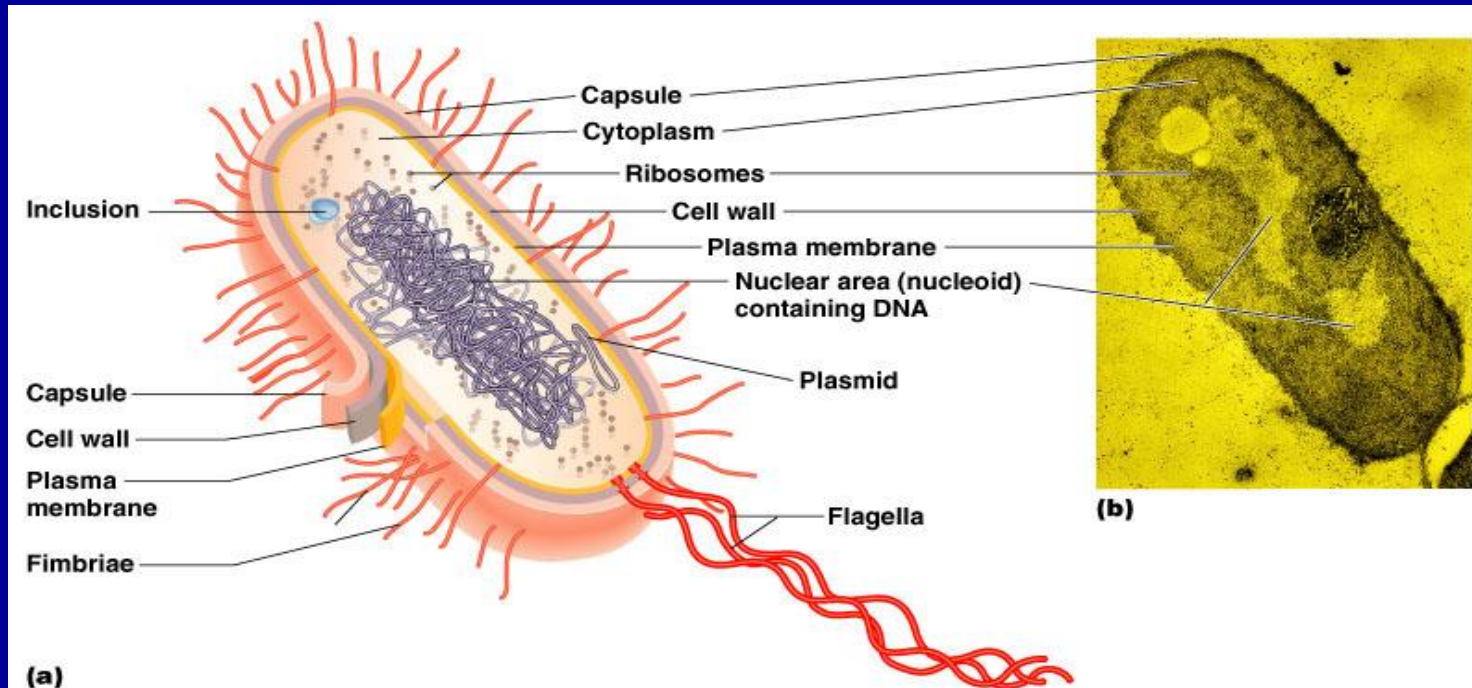
- Bakteri
- Mantar
- Böcek
- Bitki
- Memeli hücre hatları
- Böcek, bitki ve memeli virusları
- Çok hücreli organizmalar (bitki, balık, fare ve evcil hayvanlar)



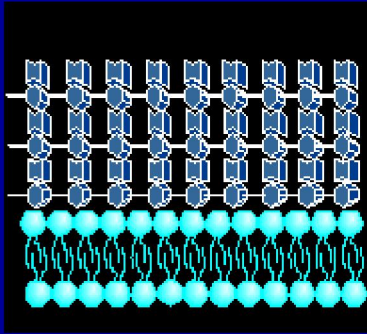
Prokaryotlar

➤ **Bakteriler** ve **Cyanobacteria** (mavi-yeşil bakteriler)

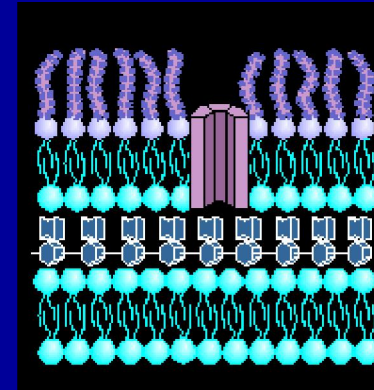
✦ **Bakteriler**, toprak, hava, su, hayvan ve bitki yüzeylerinde bulunurlar. Bazıları hastalık etkeni olmakla beraber çoğu zararsız ve organik atıkların geri dönüşümü sırasındaki yararlı etkileri ve birçok faydalı ürünü üretmeleri nedeniyle biyoteknolojide oldukça önemli bir yere sahiptirler.



- 1884 Christian Gram tarafından bulunan Gram boyama yöntemi ile bakteriler kabaca iki büyük gruba ayırabiliriz. Bakteriler iki farklı hücre duvarı yapısına sahiptir ve buna göre farklı şekilde boyanma özelliği gösterirler.



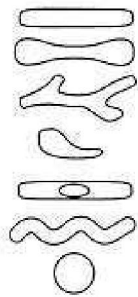
Gram (+)



Gram (-)

Bakteri morfolojileri

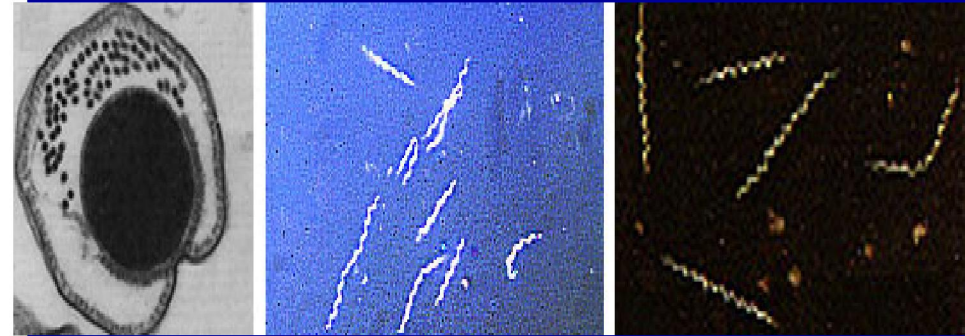
Bacterial Morphologies



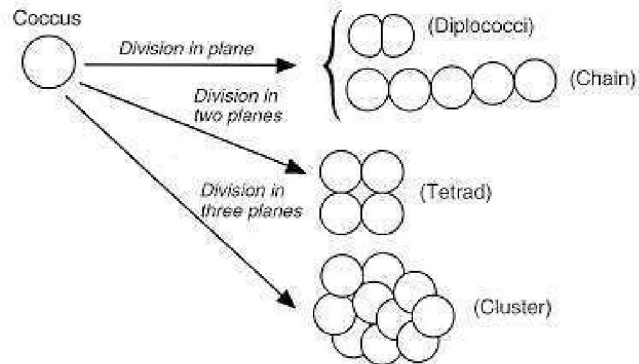
Straight rod
 Club-shaped rod
 Branching rod
 Comma forms
 Spore forming rod
 Spiral forms
 Coccus

Example

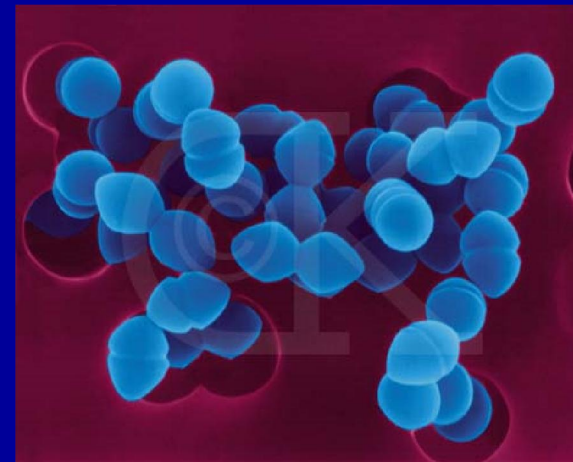
Escherichia
Corynebacterium
Actinomyces
Vibrio
Bacillus
Spirochaeta
Staphylococcus



Cell Arrangement



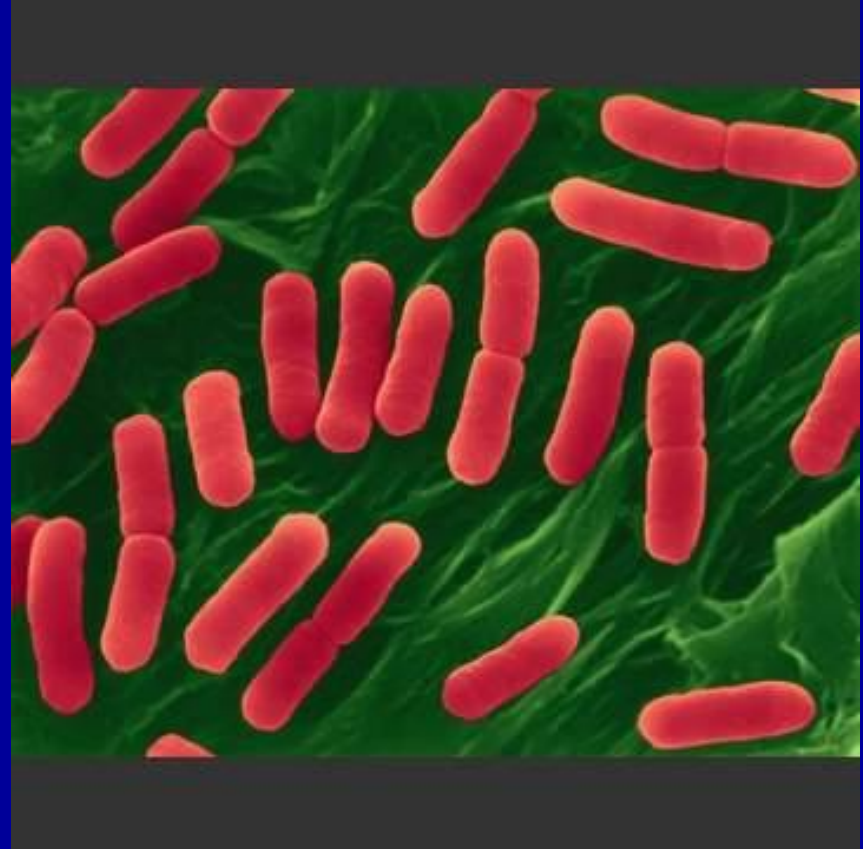
Neisseria
Streptococcus
Sarcina
Staphylococcus



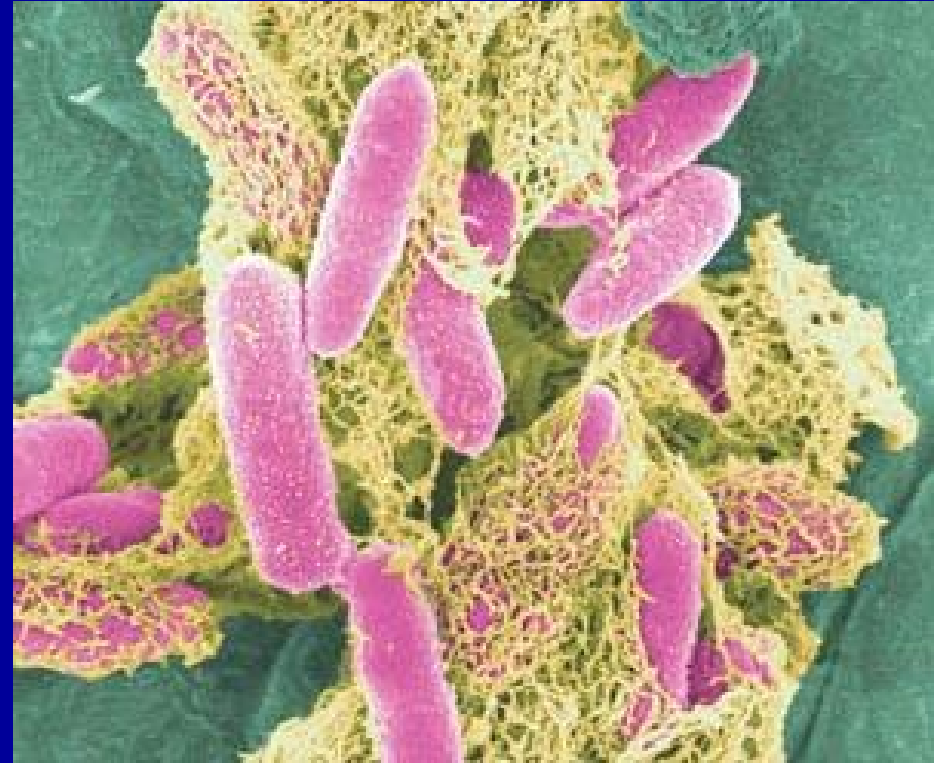
- Aynı genusa ait bazı türler endüstriyel açıdan faydalı özelliklere sahipken bazıları insanlar için zararlıdır. Örneğin *Bacillus* türleri toprakta yaşarlar ve aerop veya fakültatif anaerop metabolizmaya sahiptirler.
- *B. subtilis* endüstride kullanılan amilaz enziminin kaynağıdır.
- *B. thuringiensis* ise birçok bitki zararlısı böceğin patojenidir. Ve bu nedenle böceklere dirençli bitkilerin oluşturulmasında genetik mühendisliğinin önemli çalışma konularından birini oluşturur.
- *B. anthracis* ise insanlara patojen etkiye sahiptir ve şarbon hastalığının nedenidir.

Escherichia coli

- *Genetiği, moleküler biyolojisi, biyokimyası, fizyolojisi ve genel biyolojisi son 50 yılda yapılan çalışmalardan toplanan bilgilerle son derece iyi bilinen bir organizmadır.*
- *Gram (-), patojen olmayan, omak şeklinde, hareketli bir organizmadır.*
- *Doğal olarak insan barsağında bulunur, normal olarak toprak veya suda bulunmaz.*



- Çok basit besi ortamlarında kolaylıkla bölünerek çoğalabilir
- Generasyon süresi 37°C'da logaritmik fazda yaklaşık 22 dakikadır.
- Aerobik ve anaerobik olarak üreyebilir (rekombinant –heterolog-protein üretiminde aerobik üreme)
- Oksijen, üretimde en önemli sınırlayıcı faktördür.



Prokaryotik Biyolojik Sistemler

- *E.coli* dışındaki diğer prokaryotlar
- *Acremonium chrysogenum*
- *Bacillus brevis*
- *Basillus subtilis*, *Basillus thuringiensis*
- *Corynebacterium glutamicum*
- *Erwinia herbicola*
- *Peudomonas spp*
- *Rhizobium spp*
- *Streptomyces spp*
- *Trichoderma resei*
- *Xanthomonas campestris*
- *Zymomonas mobilis*

- Bu organizmalar iki grub altında toplanabilir
 - Özel bir fonksiyona sahip bir gen için konak olma
 - Ör: termofillerden izole edilen ve PCR teknolojisinde kullanılan ısıya dirençli DNA polimeraz enziminin *E.coli*'de klonlanması ve üretimin gerçekleşmesi

Belirli işleri çok daha etkin yapabilmek için genetik mühendisliği ile geliştirilme

Ör: Endüstriyel açıdan önemli amino asitlerin çok fazla üretilmesi için *Corynebacterium glutamicum*'un çeşitli türlerinin geliştirilmesi

Cyanobacteria (mavi-yeşil bakteriler)

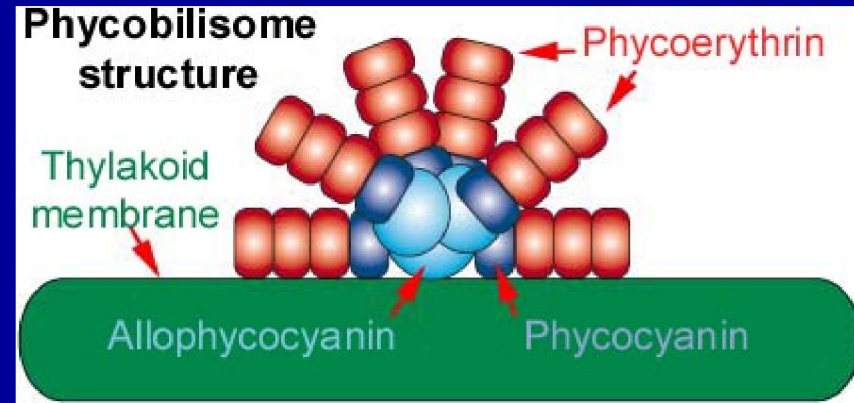
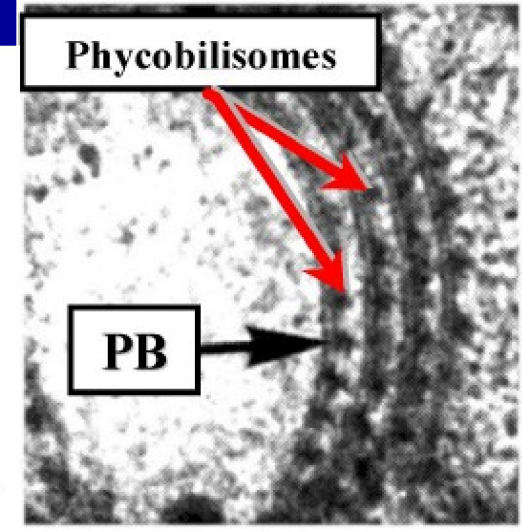
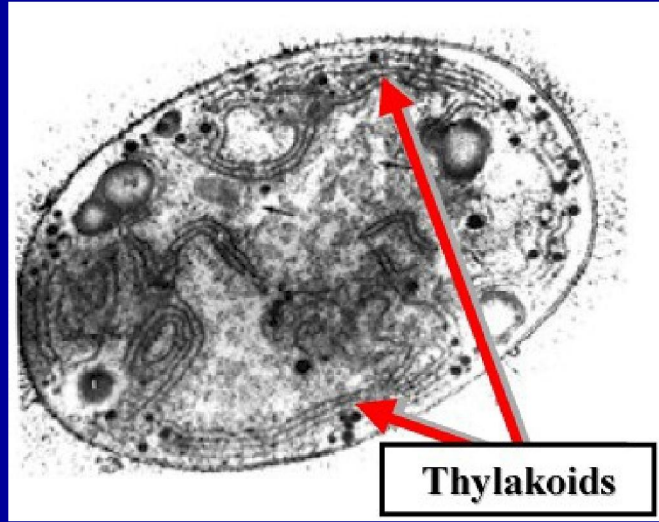
- Ör: *Anabaena cylindris*, *Nostok muskorum*, *Spirulina platensis*
 - Mavi-yeşil bakteriler prokaryotlar sınıfına dahil olup fotosentez özelliğine sahiptir.
 - İlk kez varlıkları fosillerde saptanmıştır. Dünya oluşumunda belki de ilk canlı organizmalardır.
 - Tatlı ve tuzlu suların yüzeylerinde bulunurlar. Karada ise ışığın ve nemin olduğu çamur ve kaya, tahta veya bazı canlı organizmaların yüzeylerinde bulunabilirler.
 - Koyu yeşilimsi-mavi pigmentlerinden dolayı bu isimle adlandırılırlar.



Anabaena filamentleri

Cyanobakterilerin yapısı

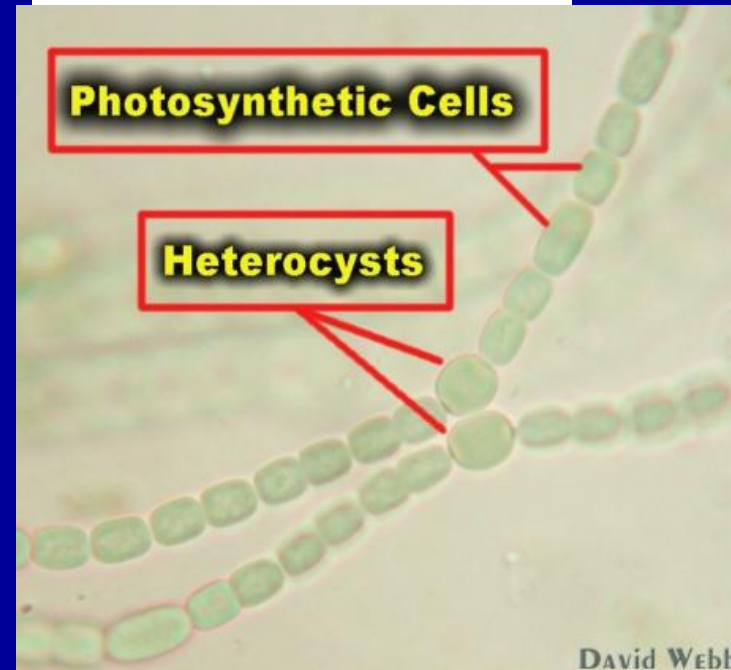
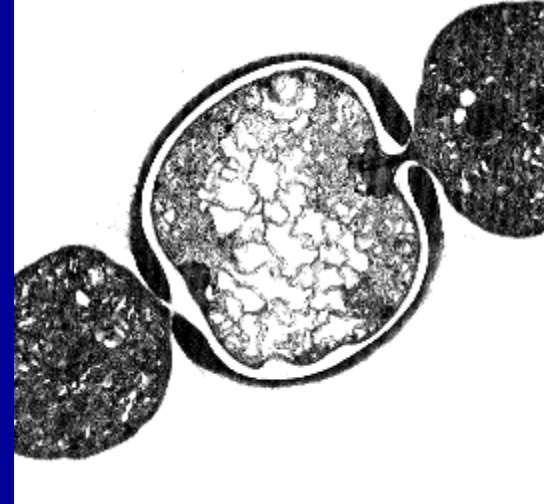
- Hücre duvarı yapı ve fonksiyon bakımından Gram(-) bakterilere benzer.
- Fotosentetikler. Klorofil ve karotenoid pigmentler "lamella" adı verilen hücre yüzeyi membranında, fikosiyanın ve fikoeritrin gibi pigmentlerde fikobilisomlarda bulunur.
- Fikobilisomlar tlakoid memmran yüzeyinde bulunurlar



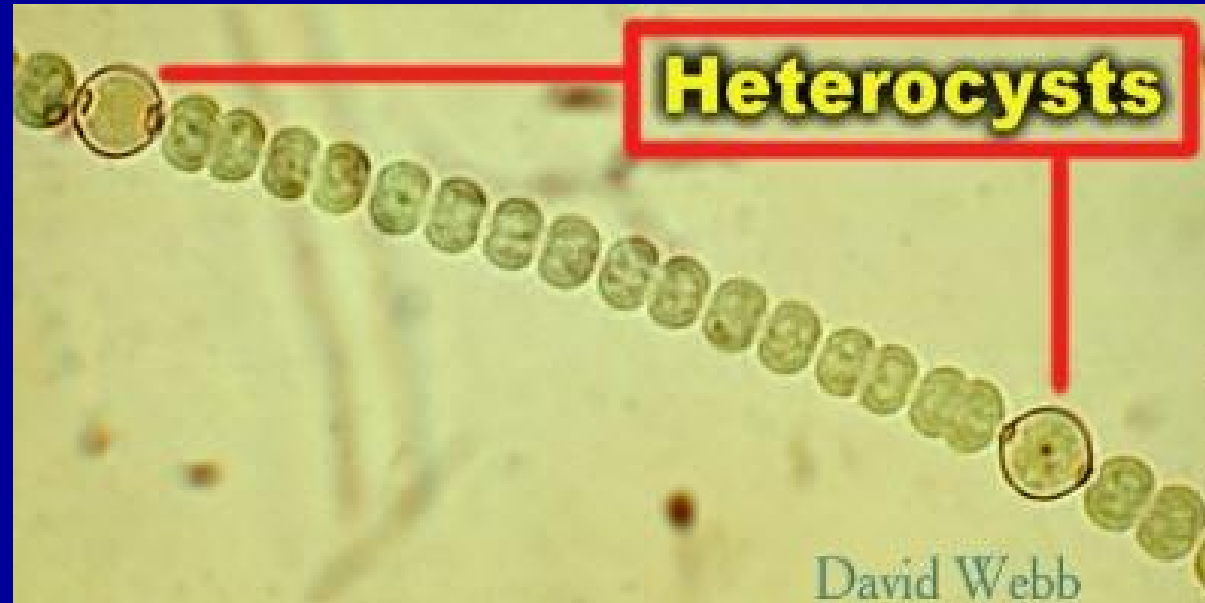
- **Fikosiyanin** Yeşil ışığı absorblar (615-620A).
- **Allofikosiyanin** Turuncu ışığı absorblar (650-670A)
- **Fikoeritrin** Yeşil ışığı absorblar (495-570)

Cyanobakterilerin yapısı

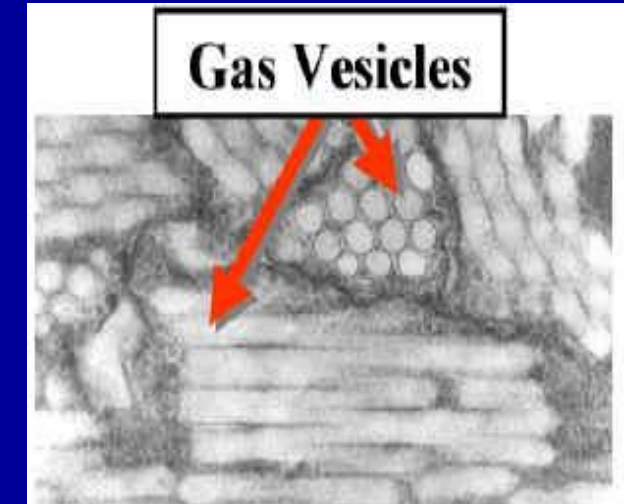
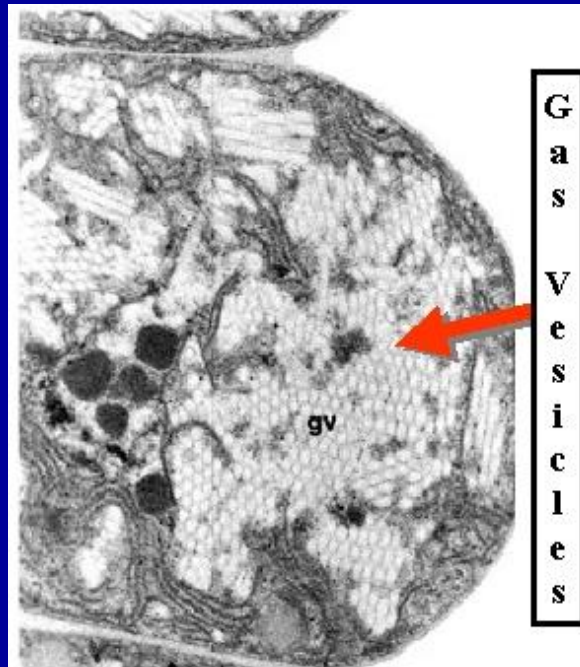
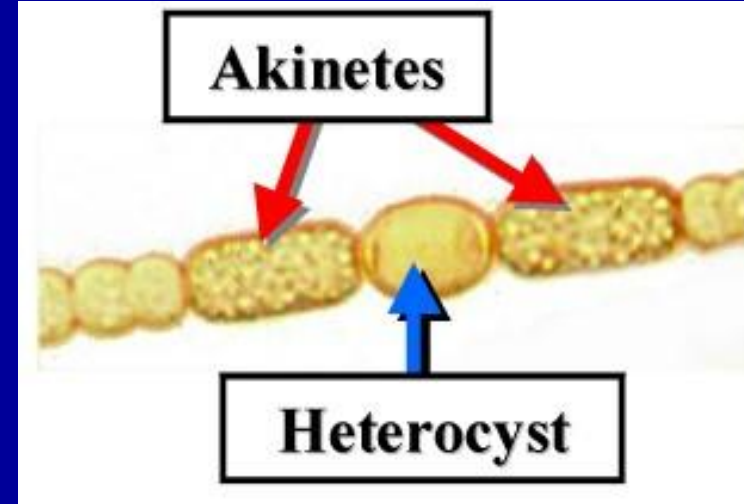
- **AZOT FİKSASYONU:** Sadece birkaç organizma atmosferik azotu amonyağa redüklemek yoluyla a.a. ve proteinleri üretmek üzere organik asitlere dönüştürülebilir.
- Azot fikse edebilen bakteriler gibi mavi-yeşil bakterilerde böyle bir yeteneğe sahiptir.
- Hücreler nitrogenaz enzimi ile bu reaksiyonu gerçekleştirirler. Bu enzim oksijen ile inaktive olur. Bu nedenle azot fikse eden hücrelerin içindeki koşullar anaerobik olmalıdır.
- Anabaena gibi bazı mavi-yeşil bakteriler azot fiksasyonundan sorumlu **heterosit** adı verilen özel kalın duvarlı hücrelere sahiptirler.



- Heterositler hücre duvarlarında bulunan özel bir por aracılığı ile vejetatif hücrelere bağlanırlar. Bu porlar ışık mikroskobu ile görülebilirler.
- Anabaena filamentleri şeker ve oksijen üreten fotosentetik hücrelerden oluşmuştur.



- Birçok filamentli mavi-yeşil bakteri akinet veya spor diyebileceğimiz olumsuz koşullarda devamlılıktan sorumlu olan hücreler oluştururlar. Bu hücreler heterosit hücreye yakın olan vejetatif hücreler tarafından oluşturulur. Hücre boyutunda artış olur ve büyük miktarlarda besin depolanır. Gas vakuelleri kaybolur. Bunun sonucunda akinetler suyun dibinde yıllarca canlılıklarını koruyabilirler. Koşullar uygun olduğunda tekrar hızla bölünerek çoğalırlar.

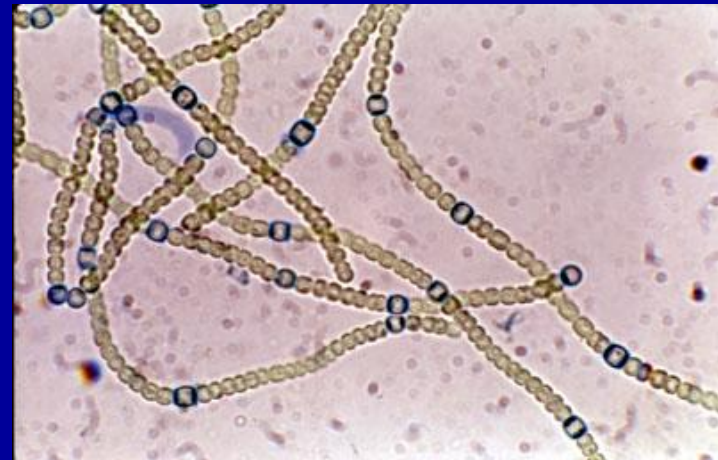
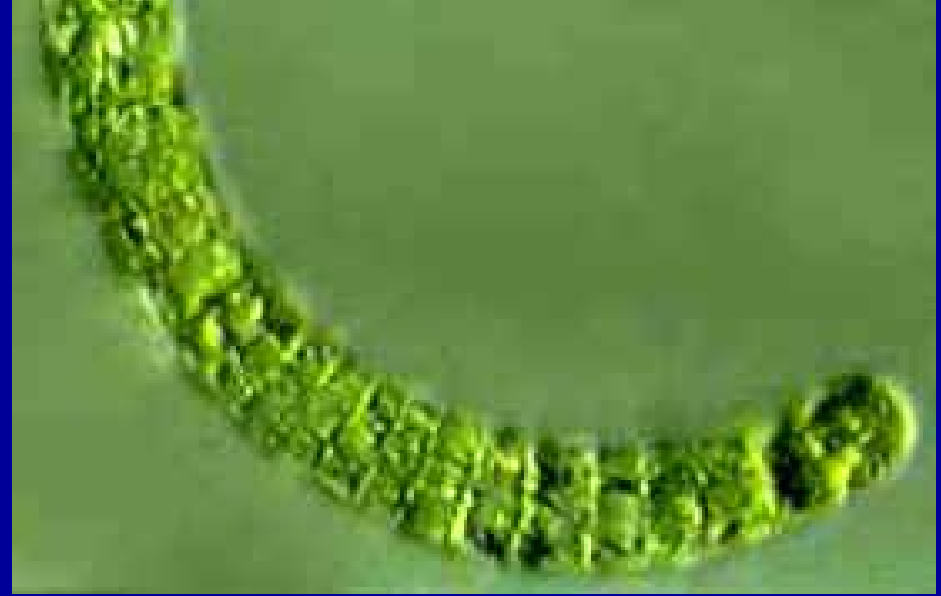


Mavi-yeşil bakterilerin biyoteknolojik önemi

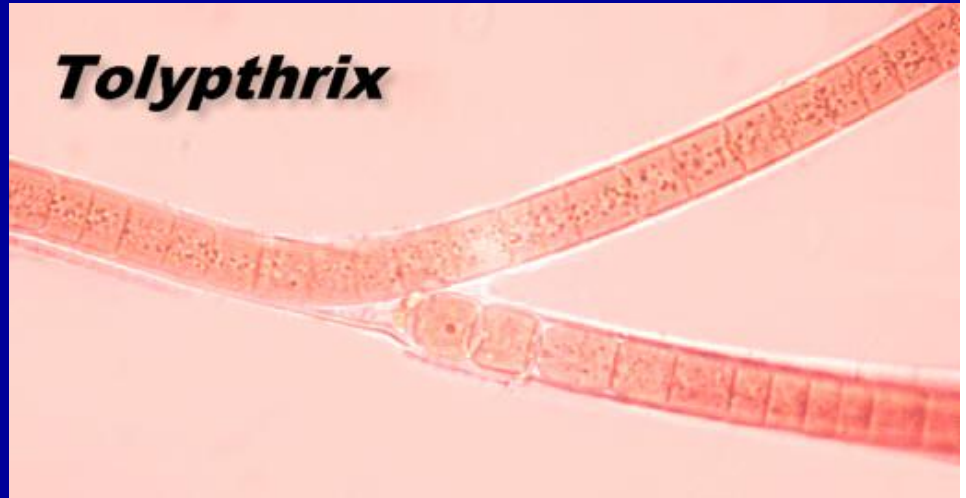
- M-Y bakteriler fotosentez yetenekleri, yüksek protein içerikleri ve basit besiyerlerinde hızlı çoğalmaları nedeniyle besin kaynağı olarak kullanım alanına sahiptir. Tek hücre proteini (THP) elde edilmesinde en çok denenen günümüzde insan ve hayvanların beslenmesinde geniş uygulama alanı olan mavi-yeşil bakteriler, diğer mikroorganizmalardan farklı olarak yeterli miktarda karbondioksit, belirli derecede aydınlatma, geniş üretim ortamı gibi özel koşullara gereksinim gösterirler.

Spirulina

- *Spirulina platensis*: Afrika ve güney Amerika'da ki sığ göllerde doğal olarak bulunur. Binlerce yıldan beri yöredeki insanlar tarafından toplanan bu algler kurutulduktan sonra besin kaynağı olarak çoğunlukla sos şeklinde veya çorba içinde kullanılmaktadır.
- *Nostoc* ise Peru ve Güney doğu Asya 'da besin maddesi olarak kullanılan bir diğer M-Y bakteridir.



GÜBRE OLARAK: Mavi-yeşil bakterilerin azot fiksasyon özelliği saptandıktan sonra kurutulmuş *Tolypthrix tenuis* pirinç tarlasına serildiğinde azot fiksasyonunda ve verimde artış gözlenmiştir. M-Y bakterilerin Hindistan da pirinç tarlalarında gübre olarak kullanımıyla toprağın havalandırılması sonucunda su geçişi ve toprağın sıcaklığının daha homojen olması sağlanmaktadır. Azot fiksasyonu için M-Y bakterilerin *Rhizobium*'ların yerini almasının bazı avantajları vardır. Mavi-Yeşil bakteriler havadaki azotu amonyuma redüklerken fotosentez metabolik yolunu kullanırlar. Yani bir bitki ile simbiyotik bir yaşam ve enerji kaynağı olarak herhangi bir organik molekül ilavesi gerekmez. Tarımda azot fikse eden M-Y bakteriler organik gübre olarak kullanılabilir. Çin, Hindistan, Filipinler gibi pirinç tüketimi fazla olan bölgelerde büyük oranlarda ürerler. Pirincin büyüme sezonunun başında eğer suya M-Y bakterilerin başlangıç kültürleri ekilirse pirinç veriminde %15-20 oranında artış olduğu bildirilmektedir.



Mavi-yeşil bakterilerin biyoteknolojik önemi

- Araştırmalar Mavi-Yeşil bakterilerin güneş enerjisi dönüşüm sisteminde yer alması için devam etmektedir. *Anabaena cylindrica* heterocystleri vejetatif hücrelerde fotosentez yoluyla oluşturdukları oksijeni dışarı verirler. Azot yokluğunda ise heterositlerde nitrogenaz enzimi katalizörlüğünde elektronlar H⁺ iyonuna transfer edilerek Hidrojen gazı açığa çıkarılır. **Oksijen ve Hidrojen her ikisi de endüstride ihtiyaç duyulan gazlardır.**

BİYOLOJİK OLARAK AKTİF MOLEKÜLLERİN ÜRETİMİ:

- Mavi-Yeşil bakteriler antibiyotiklerin ve diğer biyolojik olarak aktif moleküllerin ticari boyutlardaki üretimi için büyük bir potansiyel oluştururlar. Çünkü Mavi-Yeşil bakteriler heterotroftur. Bu özellikleri de onların fermentasyon koşullarında üretilmelerine olanak sağlar. Henüz araştırma aşamasında olan *Anacystis nidulans* ile yapılan rekombinant DNA teknolojisi çalışmalarıyla nadir bileşiklerin üretiminde kullanımları amaçlanmaktadır.

Sonuç olarak :

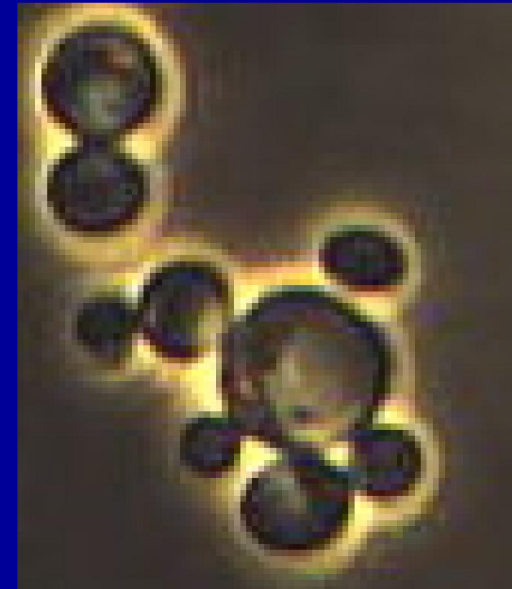
- Fermentör koşullarında üreyebilirler, uzun süreli fizyolojik stabiliteye, basit besin gereksinimine, köpük oluşturmama özelliğine sahiptirler. Diğer alglerden farklı olarak azot fiksasyonu yapabilme farklılığına sahiptirler. Optimum sıcaklık 35oC dir. Karanlıkta veya gün ışığında heterotrofik olarak ürerler.

Biyoteknolojide Biyolojik Sistemler

Mayalar

Maya

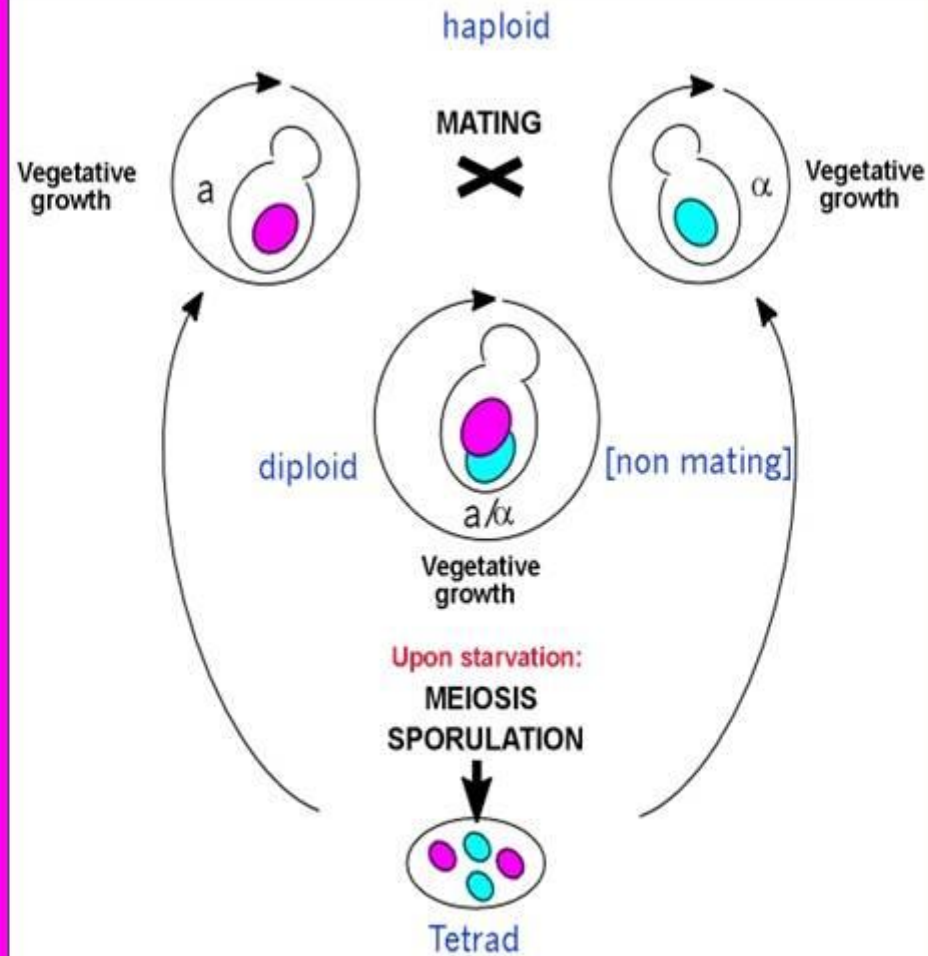
- **Mayalar;**
 - tek hücreli
 - Ökaryotik
 - Tomurcuklanarak veya bölünerek eşeysiz



farklı eşem tipine sahip hücreleriyle eşeyli olarak çoğalabilirler



CELL TYPES AND GROWTH



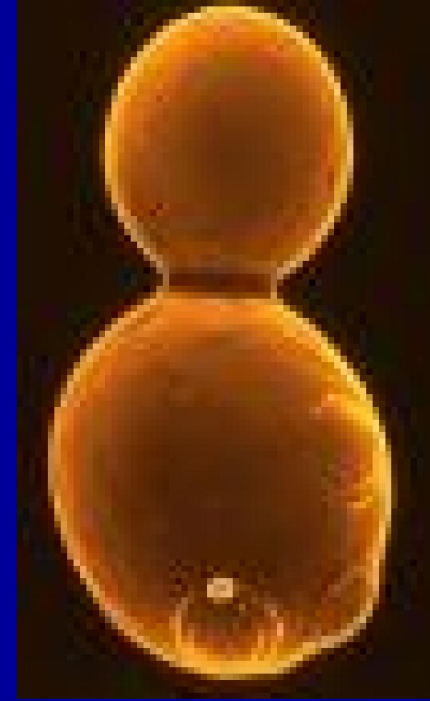
Each cell type corresponds to a particularly differentiated status regulated through mating type and environmental factors

- Mayaların tanımlanması maya biyoteknolojisi için oldukça önemlidir.
- Örneğin endüstriyel süreçlerde yabancı ve kültüre edilmiş mayalar arasındaki farkı gösterebilmek esastır.
- Bira üretiminde üründe istenmeyen aroma oluşumuna neden olan yabancı ırkın karışması veya ekmek mayası üretiminde şeker transport yeteneği daha fazla olan *Candida utilis* mayasının karışması ekmek mayası üretiminde kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesini engelleyecektir

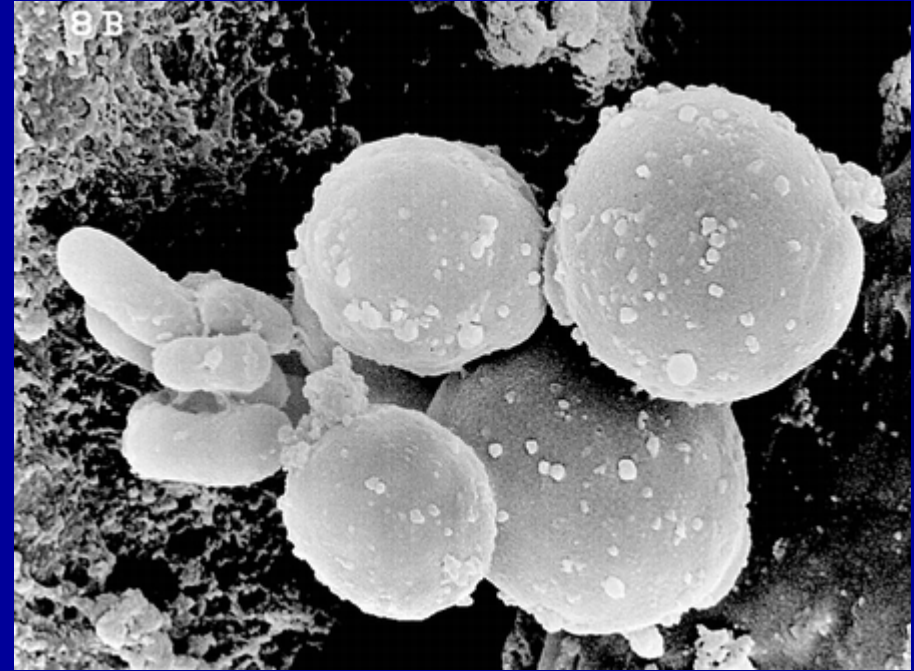
- Maya genuslarının ayırımında fizyolojik testlerle birlikte morfolojik testler de kullanılır.
- Günümüzde 700 civarında maya türü tanımlanmıştır.
- Fakat bu sayı maya çeşitliliğinde sadece çok küçük bir bölümü temsil etmektedir.
- Tanımlanmamış maya genus ve tür sayısı çok daha fazladır.

- Maya biyologları için maya çeşitliliğini tanımlamak kadar diğer önemli bir nokta özellikle biyoteknolojik öneme sahip türleri belirleyip saklamak ve koruyabilmektir.
- Moleküler biyoloji tekniklerinin yaklaşımıyla türler daha hızlı ve kolay bir şekilde karakterize edilebilmektedir.
- Günümüzde 6 mayanın genom projesi tamamlanmış ve işlevsel genomik çalışmaları ile genlerin işlevlerinin belirlenmesine devam edilmektedir.

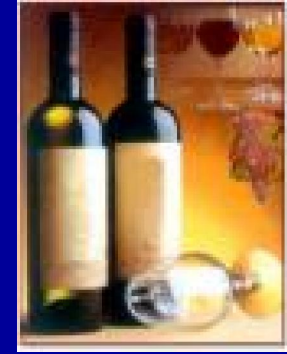
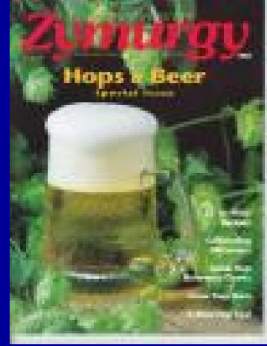
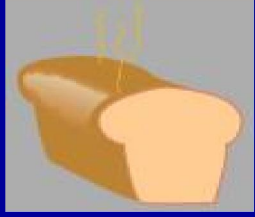
- Maya hücreleri klorofil içermez ve zorunlu olarak kemoorganotroftirler.
- Üremek için organik karbona gerek duyarlar.
- Karbon metabolizmaları çok çeşitlidir. Örneğin basit şekerleri, polioller, organik ve yağ asitleri alifatik alkoller, hidrokarbonlar ve çeşitli heterosiklik ve polimerik bileşikleri karbon kaynağı olarak kullanabilirler.
- Bu özellikleri nedeniyle farklı habitatlar için özelleşmiş türler kolaylıkla saptanabilir.



- Mayalar toprak, hava ve sudan izole edilebilirler. Bazı mayalar ekstrem ortamlarda örneğin ozmofilik mayalar şeker bakımından zengin ortamlarda yaşayabilirler. Bu tür mayalar genellikle gıda bozucu olarak bilinir. Bunun dışında fırsatçı patojen olarak bazı maya türleride örneğin *Candida albicans* pek çok infeksiyondan sorumludur.



- Mayalar insanlar için;
- ekonomik,
- sosyal ve
- sağlık açısından oldukça önemli en eski evcilleştirilmiş organizmalardır.
- Alkollü içeceklerin üretiminde, ekmeek yapımında hamurun kabarması için binlerce yıl öncesinden beri kullanılmaktadırlar. Gerçekte bira yapımı belkide dünyanın ilk biyoteknolojisini temsil etmektedir.



- Günümüzde mayalar geleneksel gıda fermentasyonunun dışında çok çeşitli alanlarda da kullanılmaktadır.
- Özellikle genetik mühendisliğiyle geliştirilmiş mayalar hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılan pek çok farmasötik ajanın üretilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.



BIOTECHNOLOGIES INVOLVING YEAST

FOOD/CHEMICAL TECHNOLOGIES

Savoury flavors, enzymes, baking, pigments, food acidulants, chemical reductions

FERMENTATION INDUSTRIES

Brewing, bioethanol, novel processes and fermentation products

BIOLOGICAL RESEARCH

Cell biology, genetics, molecular biology, biochemistry

YEAST BIOTECHNOLOGY

BIOMEDICAL RESEARCH

Cancer, AIDS, drug metabolism, genotoxicity screens, human genetic disorders

HEALTH-CARE INDUSTRIES

Pharmaceuticals, vaccines, probiotics, hormones, blood factors

ENVIRONMENTAL TECHNOLOGIES

Bioremediation, waste utilization, crop protection, biosorption of metals

Biyoteknolojik Öneme Sahip Bazı Mayalar

- *Axula adenivorans* • Nitrat ve aminleri asimile eder, 45 C üzerinde üreyebilir, pek çok hidrolaz salgılayabilir.
- *Candida* türleri
 - *C.albicans* hidrokarbonlardan aminopenisillanik asit ve B6 vitamin üretimi, *C.boydii* NAD, FAD metil ketonlar ve sitrik asit üretimi, *C.famata* riboflavin, *C.maltosa* biyokütle proteini için yağ asiti ve alkan kullanımı, *C.tropicalis* triptofan, *C.pelliculosa* selülozik materyalden biyokütle proteini, *C.utilis*, pek çok ürün eldesi, ksilozda üreyebilme, klonlama teknolojisinde kullanım, *C.shehatae* ksiloz fermentasyonu

Biyoteknolojik Öneme Sahip Bazı Mayalar

- *Hansenula polymorpha*
 - *Kluyveromyces marxianus* ve *K.lactis*
 - *Pachysolen tannophilus*
- Heterolog gen anlatımı için kullanılabilen metilotrofik maya
 - Laktoz ve polyfruktosani fermente eder. Doğal kakao fermentasyonu. Pek çok enzim için kaynak olabilir, klonlama teknolojisinde kullanılabilir.
 - Bitki lignoselülozik hidrolizatlarından kaynaklı pentoz şekerlerinin fermentasyonu

Biyoteknolojik Öneme Sahip Bazı Mayalar

- *Phaffia rhodozyma* ve *Pichia* türleri
 - Gıda boyası olan astaksantin pigment üretimi.
P.guilliermondii riboflavin sentezi ve hidrokarbonlardan biomas protein eldesi.
P.methanolica etanol biosensörü olarak kullanılan alkol oksidaz üretimi.
P.pastoris metanolden biomas protein eldesi, heterolog gen anlatımı ve insan terapötik proteinlerini üretebilen metilotrofik maya
- *Rhodospiridium toruloides*
 - Fenilketanüri tedavisinde kullanılan PAL enzim kaynağı

Biyoteknolojik Öneme Sahip Bazı Mayalar

- *Saccharomyces* türleri • ***S.cerevisiae*** klasik gıda fermentasyonu. Bira, şarap, ekmek, rom, cin yapımı. Yakıt, alkol, gliserol, invertaz ve hayvan besini kaynağı. Rekombinant DNA teknolojisiyle sayısız protein üretimi.
- *Saccharomycopsis* türleri
- ***S.fibuligera*** amilolitik maya.
- *Schizosaccharomyce pombe*
- Geleneksel Afrika alkollü bira yapımı. Şarapların deasidifikasyonu. Yüksek etanol ozmotik tolerans.. Biyokütle protein eldesi, heterolog gen anlatımı ve mutagenez testlerinde kullanım.

- *Schwanniomyces türleri*
- *Trichosporon cutaneum*
- *Yarrowia lipolytica*
- *Zygosaccharomyces rouxii*
- ***S.castellii*** ve ***S.occidentalis*** amilolitik mayalar. Nişastanın ve inülinin etanole çevrimi ve heterolog gen anlatımında kullanılabilirler.
- Fenol varlığına ilişkin bisensor olarak kullanılır.
- Lipid ve hidrokarbonlardan biomas protein eldesi. Sitrik asit ve hücre dışı enzim üretimi.
- Japon soya sosu karakteristik aromasını vermede kullanılan halofilik ve ozmotolerant maya türü.

- Endüstriyel mayaların çoğu özellikle fermente içeceklerin üretiminde kullanılanlar genetik bakımından karmaşıktırlar ve stabil bir haploidi göstermezler.
- Örneğin bira yapımında kullanılan *Saccharomyces* türleri poliploid veya anöpliod (diploid-heptaploid) ırklardır. Bu nedenle geliştirilmelerinde eşeyli üreme özelliklerinden yararlanılamaz.

- Bunun yerine klasik bira tadını veren organoleptik özellikleri iyi olan karakteristik fermentasyon yapan ırklardan doğal seçimle en iyi olan seçilir.
- Bunun dışında endüstriyel mayaların geliştirilmesinde şüphesiz genetik mühendisliğinin önemi oldukça fazladır.

- Rekombinant DNA teknolojisi ile geliştirilen rekombinant mayalar tarafından üretilen biyolojik olarak aktif rekombinant proteinlerin veriminin artırılmasında iki önemli yaklaşım vardır:
 - moleküler genetik tekniklerin kullanımı
 - fermentasyon teknolojisi.

Gıda Tüzüğüne Uygun, Genetik Olarak Değiştirilmiş Mayalar

Maya

- Ekmek Mayası

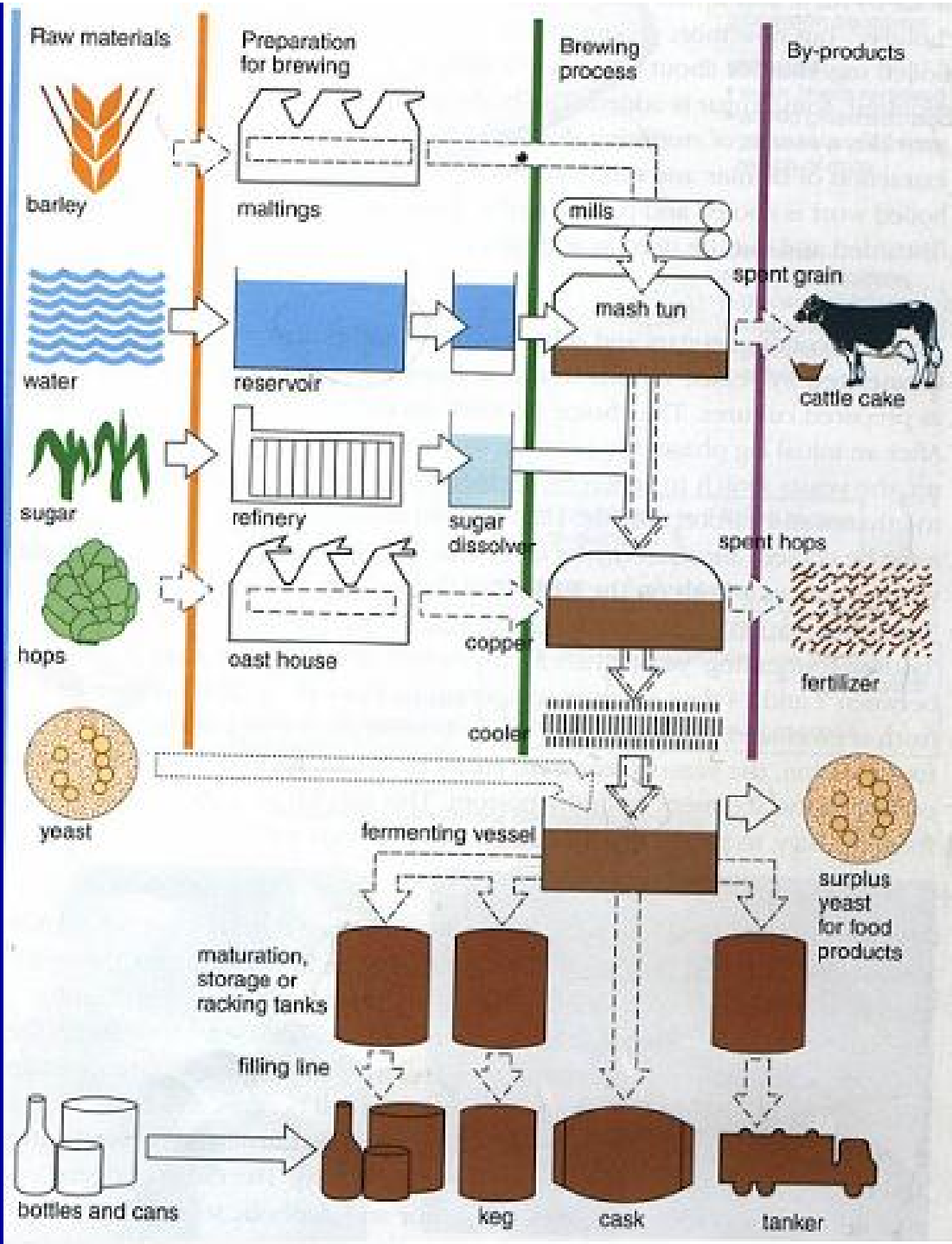
- Bira Mayası

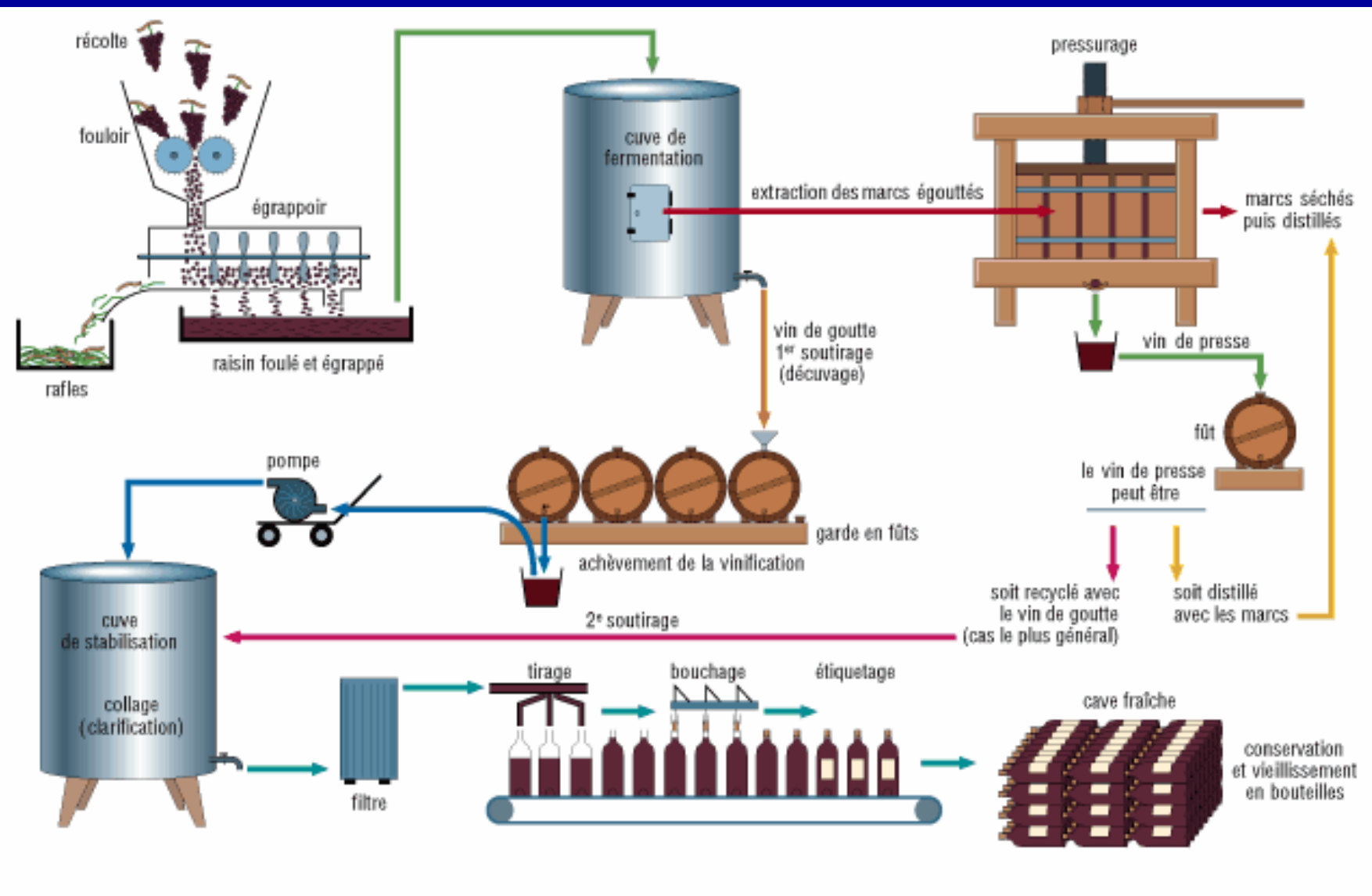
Tanımlama

- Glukoz baskısından kaçınmak ve hamurlaşmayı önlemek için maltoz kullanım genleri değiştirilmiş.
- Maltodekstrinleri kısmi olarak parçalayan STA2 genini içeren plazmidi taşır.

Alkollü içeceklerin üretiminde mayalar

- Alkollü içeceklerin üretimi tarih olarak çok eskidir. Günümüzde maya fermentasyonu pek çok ülkenin ekonomisi için oldukça önemlidir.
- Bira üretimi bilinen en eski biyoteknolojik süreçtir. Bira dışında şarap distillenmiş içecekler "cider", "sake" ve çeşitli likörler





Bazı alkollü İçeceklerin Üretim Özeti

	Bira	Viski	Şarap	Likör ve diğer içkiler
Hammadde	Arpa, yardımcı maddeler	Arpa, buğday vb.	Üzüm	Arpa, mısır, melas, üzüm vb.
Ön uygulama	Malt oluşturma, ezme	Malt oluşturma, ezme	Parçalama, yumuşatma	Substrata bağlı olarak değişir
Fermentas yon	<i>S.cerevisiae</i> , <i>S.carlsbergen sis</i>	<i>S.cerevisiae</i>	<i>S.cerevisiae</i>	<i>S.cerevisiae</i> , <i>K.marxianus</i>
Damıtma	Hayır	Evet	Hayır	Evet
Olgunlaşma	Haftalarca	Yıllarca	Yıllarca	Değişken
Son alkol oranı (% v/v)	3-6	40-45	8-12	35-45

Biyookol üretimi

- Etanolün yenilenebilir kaynaklardan mayalar kullanarak üretilmesi tüm dünyanın ilgisini çeken konulardan biridir.
- İlk üretim 1930'larda başlamıştır fakat petrol fiyatları düşürölünce teknoloji bırakılmıştır.
- 1970'deki petrol krizi ile birlikte yeniden gündeme gelmiştir.
- Brazilya şeker kamışını ve melası substrat olarak kullanarak ürettiği petrolü yakıt amaçlı kullanmaktadır. Brazilya'da otomobillerin çoğu alkol veya alkol+benzin karışımı (**gasohol**) ile çalışmaktadır.

- Genetik mühendisliği ile geliştirilmiş mayaların lignoselülozik (odunsu) atıkları substrat olarak kullanarak etanol üretmeleri yönünde yoğun çalışmalar yapılmaktadır.
- Etanol dışında mayaların ürettiği diğer biyoalkoller
 - gliserol (alkollü içecekler için aroma katıcı, nitrogliserin türevli patlatıcılar yapımında),
 - ksilitol (şeker yerine diyabetik ürünlerin yapımında),
 - sorbitol, arabinitol (düşük şeker içerikli gıdaların yapımında; ilaçların kaplanmasında yenilebilir kaplama maddesi olarak)

Lignoselülozik Materyallerden Etanol Üretimi



Yakıt Amaçlı Etanol Üreten Mayalarda İstlenen Özellikler

Genel Özellik

Örnekler

Fermentasyon

Hızlı fermentasyon, yüksek oranda etanol üretimi. Yüksek etanol toleransı. Fermentasyon için optimum yüksek sıcaklık ve düşük pH. Substratların etkin kullanımı. Küçük ölçekte fermentasyon metabolitleri. (Gliserol, esterler vb.)

Üreme

Hızlı maya üretimi. Yüksek oranda canlılığı sürdürme. Çeşitli etkenlere karşı tolerans. (Yüksek şeker ve toksik kimyasallar) Genetik kararlılık. Bakteri kontaminasyonuna direnç. Fermentasyon sırasında en az ısı üretimi.

Maya biyokütlesi türevli ürünler

- Ekmek mayası olarak *S.cerevisiae* yılda milyonlarca ton üretilmektedir.
- Bunun dışında;
 - hayvan yemlerine katkı olarak tek hücre proteini şeklinde,
 - biyosorbent olarak ağır metal temizliğinde,
 - gıda renklendirilmesinde pigmentli mayalar,
 - insan ve hayvanlar için probiyotik olarak (büyüme faktörü/biyofarmasötik amaçlı) maya biyokütlesi kullanılmaktadır.

Maya Biyokütlesinin Endüstriyel Kullanımları

	Maya Ürün Tipi	Kullanım Örnekleri
Tüm Hücre Ürünleri	Sıkıştırılmış Ekmek Mayası /Aktif Kuru Maya	Ekmek,bira,şarap ve damıtma
	Maya Kremi	Ekmek ve damıtma
	Tek Hücre Proteini	Hayvan besini
	Büyüme Faktörü	İnsan ve hayvan probiyotigi
	Reaktant mayalar	Organik kimyada kullanılan biyokatalistler
	Biosorbent mayaları	Ağır metal arıtımı
	Mineral mayaları	Besinsel iz element kaynağı
	Kozmetik mayaları	Deri solunum faktörü
	Boyar madde mayaları	Gıda boyaları
	Biyolojik kontrol mayaları	Ziraatte antifungal ajan
Kirlilik kontrolü mayaları	BOD indirgeyicileri	
Özütlenmiş Hücre Ürünleri	Maya özütleri	Besin kullanımı ve mikrobiyolojik besiyeri
	Maya RNA türevleri	Aroma kuvvetlendiricileri ve farmasötik kullanım
	Hücre maya duvarı	Yiyecek ve farmasötik kullanım
	Maya-B vitamini kompleksleri	Kapsüller ve besinsel destek tabletleri
	Maya enzimleri	Yiyeceklerde invertaz ve laktaz kullanımı
	Rekombinant mayalar	Terapötik proteinler

S.cerevisiae Dışındaki Maya Biyokütlesinin Biyoteknolojik Kullanımı

Maya

Biyomas Kullanımı

Kluyveromyces marxianus ve
K.lactis

Hayvan besini. Laktaz kaynağı

C.utilis

Tek Hücre Proteini

Phaffia rhodozyma

Karoten pigmenti

Saccharomyces boulardii

Bioterapötik ajan

Pichia pastoris ve *H. Polymoroha*

THP ve metanolden rek
proteinler

Yarrowia lipolytica ve *C.
paraffinica*

Alkanlardan Tek Hücre Proteini
eldesi

Rhodotorula glutinis, *Lipomyces
lipofer*, *Cryptococcus curvatus*
ve *Candida* türleri

Ucuz karbon kaynaklarından Tek
Hücre Yağı Eldesi

Tüm Hücre Maya Kitesinin Yeni Kullanım Alanları

Uygulama

Yorum

Çiftlik Hayvanları Üreme Faktörü

Gevişgetirenlerde hayvan büyümesini ve süt verimini arttırmak için işkembe bölgesini stabilize eden *S.cerevisiae* kullanılır. Mayalar işkembede oksijensiz ortam sağlayarak oksidatif hasarı engeller. İşkembedeki yararlı bakterilerin üremesini, malik asit gibi maddeleri üreterek sağlarlar.

Biyoterapötik ajan

S.cerevisia anti akne ajanı ve menstrüasyon öncesi ağrı gideriminde, *S.boilardii* bazı ince barsak hastalıklarına karşı koruyucu ajan olarak ve anti *Candida* ajanı olarak da kullanılır.

Kimyasal Reaktant

Organik kimyacılar

S.cerevisiae'yi bazı kimyasal maddelerin modifiye edilmesinde kullanırlar. Bu reaksiyonların bazıları endüstride rutin kullanım alanı bulmuştur.

Besin pigmenti

Phaffia rhodozyma bazı deniz mahsüllerinde renklendirici olarak kullanılan pigmentler üretir.

Biyokontrol ajanı

S.cerevisiae tahıl ürünlerinde fitoalleksin elisitörü olarak kullanılır. Birkaç maya türü fungal meyve hastalıklarının biyokontrolünde kullanılır.

Biyoremediyasyon ajanları

Bazı mayalar endüstriyel atıklardan Ag, U, Co, Cu, Cd gibi ağır metalleri temizler. Organik atıklardan karbon ve nitrojenleri uzaklaştırır. Herbisit gibi zararlı toksikleri etkisizleştirir.

Biyosensör

S.cerevisiae ortam kirliliği test etmede biyosensör olarak kullanılabilir.

Biyoelektriksel yakıt hücresi

Elektron üreten maya destekli yakıt hücreleri ve maya temelli yarı iletkenler

Maya Kökenli Enzimlerin Kullanımı

Substrat	Enzim	Uygulamalar
Nişasta glukoamilaz	α -Amilaz, glukoamilaz	Nişasta atıklarının dönüşümüyle bioetanol ve biomas üretimi. Düşük karbohidratlı bira yapımı.
Sukroz	İnvertaz	Maya invertazının tekstil endüstrisinde sukroz hidrolizinde kullanımı.Çikolata yapımında inert şeker eldesi
İnülin	İnülinaz	<i>Kluyveromyces</i> türleri, etanol ve yüksek fruktozlu şurupların eldesinde, polifruktan ve levanların hidrolizinde etkili inülinaz enzim kaynağıdır.

Laktoz

Laktaz

Kluyveromyces türleri sütteki laktozun parçalanmasında ve günlük atıklardan etanol ve biyomas protein eldesinde kullanılan laktaz kaynağıdır. Laktaz yiyecek işlemede de kullanılır. *Kluyveromyces*'teki ilgili genler *S.cerevisiae*'de klonlanmıştır.

Yağlar

Lipaz

Hazım kolaylaştırıcı, tat modifiye edici eldesinde ve yağların esterifikasyonunda trigliseritlerden serbest yağ asidi ve gliserol sağlanmasında lipazların kullanımı.

Selüloz

Yarı selüloz

Selülaz vb.

Sellobioz'un fermentesinde bazı mantarlar, ksilanların parçalanmasında bazı mayalar kullanılır. Kimi genler *S.cerevisiae*'de klonlanmıştır ve yenilenebilir biokütleden bioetanol üretiminde kullanılmaktadır.

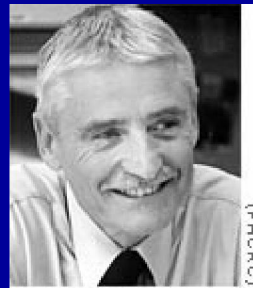
Mayaların Biyomedikal Alanlarda Kullanımı

- onkoloji,
 - farmakoloji,
 - toksikjoloji,
 - viroloji
 - insan genetik hastalıkları
- için model organizma olmaları çok önemlidir.

2001 Nobel Tıp ve Fizyoloji Ödülü

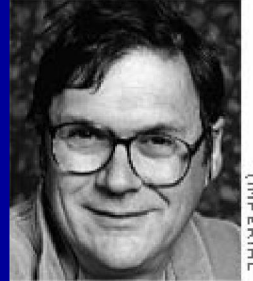
Maya hücre bölünmesinin kontrolü ve kanser

- Leland H. Hartwell



(PHOTO)

- R. Timothy Hunt

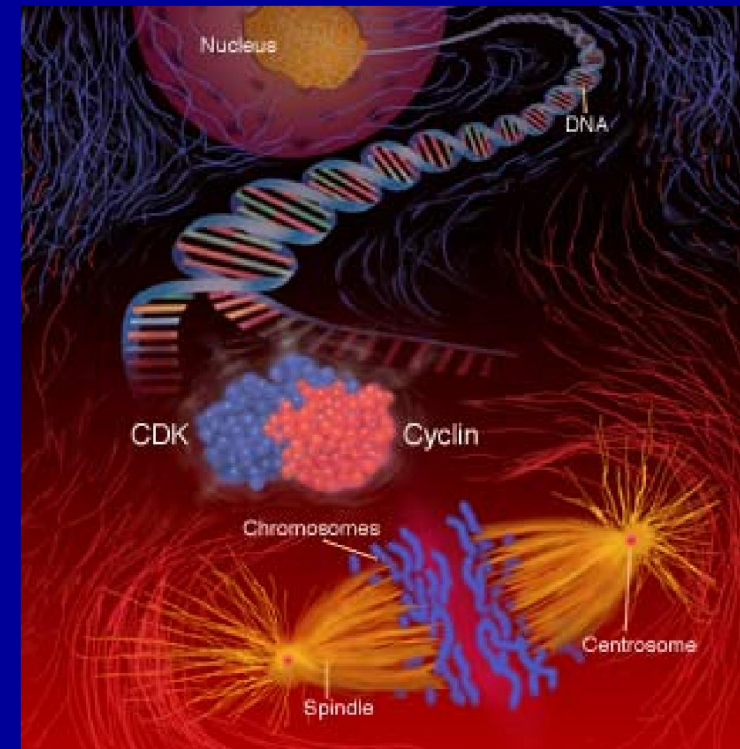


(IMPERIAL CANCER RESEARCH FUND)

- Paul M. Nurse



(IMPERIAL CANCER RESEARCH FUND)



Mayalara Klonlanmış Bazı Terapötik Protein Örnekleri

DNA Kaynağı	Gen Ürünü Örnekleri
Prokaryotik	Tetanoz toksin fragment C;
Viral	Herpes, Hepatit, Onkogenik vb. bazı virüslerden yüzey antijeni ve enzim kodlayan genler.
Protozoal	Malarya antijeni
Hayvan	Sülükten hirudin, engerekten ekhistatin, tavşan α -globin, siğir ve fare interlökini vb.
İnsan	İnsülin, paratiroid hormon, somatostatin, büyüme hormonu, işlevsel antijenler ve IgE faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, tümör nekroz ve sinir büyüme faktörleri, interferonlar, hemoglobin, faktör 8 ve 11, albumin, fibrinojen, Superoksit dismutaz, α -amilaz, gastrik lipaz vb..

- Maya genomik ve proteomik çalışmalarının tamamlanmasıyla pek çok insan genetik hastalığının tanısının konması ve tedavisi yakın bir gelecekte gerçekleşecektir.

Maya Endüstrisinde “killer”Öldürücü Faktörler

- Endüstriyel mayaların bazılarında virusa benzeyen çift iplikli RNA'lar tarafından sentezlenen toksik bir molekül (proteinaceous), bu moleküle sahip olmayan mayalar için öldürücü etki gösterir.
- Bu faktörlerin varlığı özellikle biracılık endüstrisinde çok büyük sıkıntılara neden olmuştur.
- Öldürücü maya suşları bira oluşumunu tamamen durdurmakta ve biraya kötü bir tat kazandırmaktadırlar.
- Fermentasyon sektöründe steril olmayan tip açık fermantasyon yapıldığı için arzu edilmeyen maya türleri sisteme girebilmekte fermentasyon verimini ve ürün kalitesini bozmaktadır.
- Özellikle killer plazmid taşıyan maya türlerinin sisteme girmesi durumunda killer toksinine hassas başlangıç kültürü zarar görmekte, önemli ölçüde verim kaybına ve ürün kalitesinin düşmesine neden olabilmektedir.

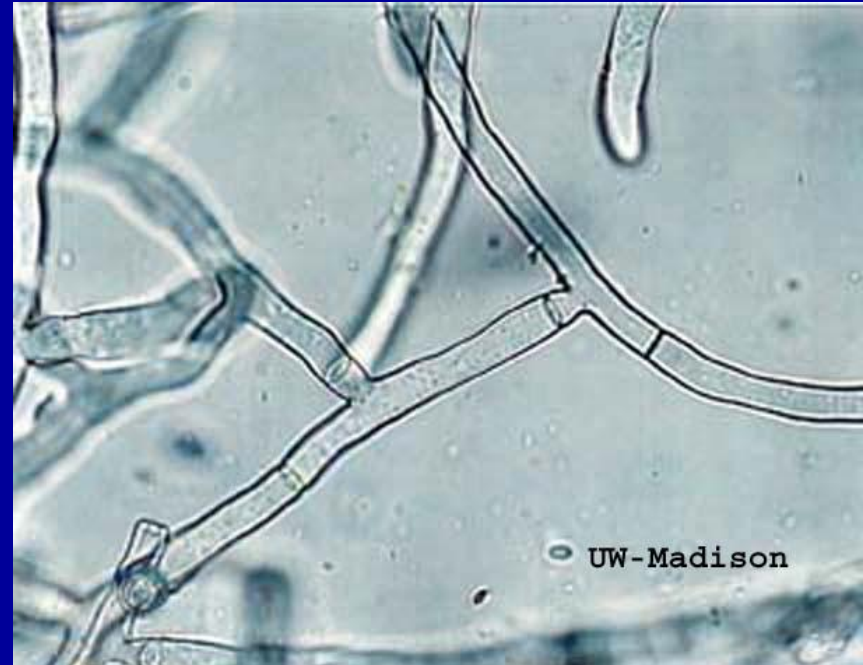
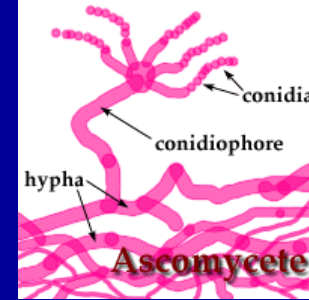
- Bu problemin en mantıklı çözümü ise yabancı organizmaların toksinlerine bağışıklık kazanmış bir maya türü oluşturmaktır.
- Arzu edilmeyen maya türleri tarafından oluşabilecek bir kontaminasyonu önlemek amacıyla moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak killer plazmid içeren bir ekmek mayası kültürü geliştirmek mümkündür.

Küfler

- Küfler hifli mantarlardır. Birçok organizma ve gıda maddesi (ekmek, meyve, sebze.. vb) üzerinde oluşturdukları pamuk görüntüsündeki doku nedeniyle mayalardan çok daha önce keşfedilmişlerdir.
- Küfler, endüstride bir çok ürünün eldesinde, atıklardan değerli ürünlerin oluşturulmasında kullanılan farklılaşma göstermeyen ve klorofil içermeyen mikroorganizmalardır. Doğada ve toprakta yaygın olarak bulunan küflerden endüstriyel mikrobiyoloji alanında önem taşıyanlar mikroskobik olanlardır.
- Küflerin üredikleri ortama proteaz, lipaz, karbonanhidrazlar gibi litik enzimleri salgılamaları ve küflerin ürettikleri çeşitli metabolitlerin birçok alanda kullanılabilir olması bu organizmaların endüstrideki önemini oldukça artırmaktadır.
- Ayrıca insan, hayvan ve bitkiler için patojen olan türleride bulunmaktadır.

Küflerin Biyolojisi

- Bir küf, protoplazma iplikleri veya uzantıları olan hiflerden ve sporelerden oluşur.
- Hiflerin yaptığı yumağı **misel** adı verilir. Hifler, bölmeli hifler ve bölmesiz hifler olarak ikiye ayrılır.
- Bölmeli hifler bölmeler ile hücrelere ayrılırlar ve her hücrede bir veya iki hücre çekirdeği bulunur.



- Bölmesiz hiflere **sönotitik hif** adı da verilir.
- Bölme içermezler ve çok çekirdeklidirler.
- Üreme hifleri genellikle koloninin yüzeyinde bulunan ve üreyen hücreleri veya sporları taşıyan hiflerdir.
- Hifsel üreme ortamın besin koşulları ile yakından ilgilidir.
- Beslenme hifleri ise koloniye besin sağlayan hiflerdir. Beslenme hifleri sayesinde hücrenin bulunduğu noktadan uzakta olan substratlara ulaşmaları sağlanır.

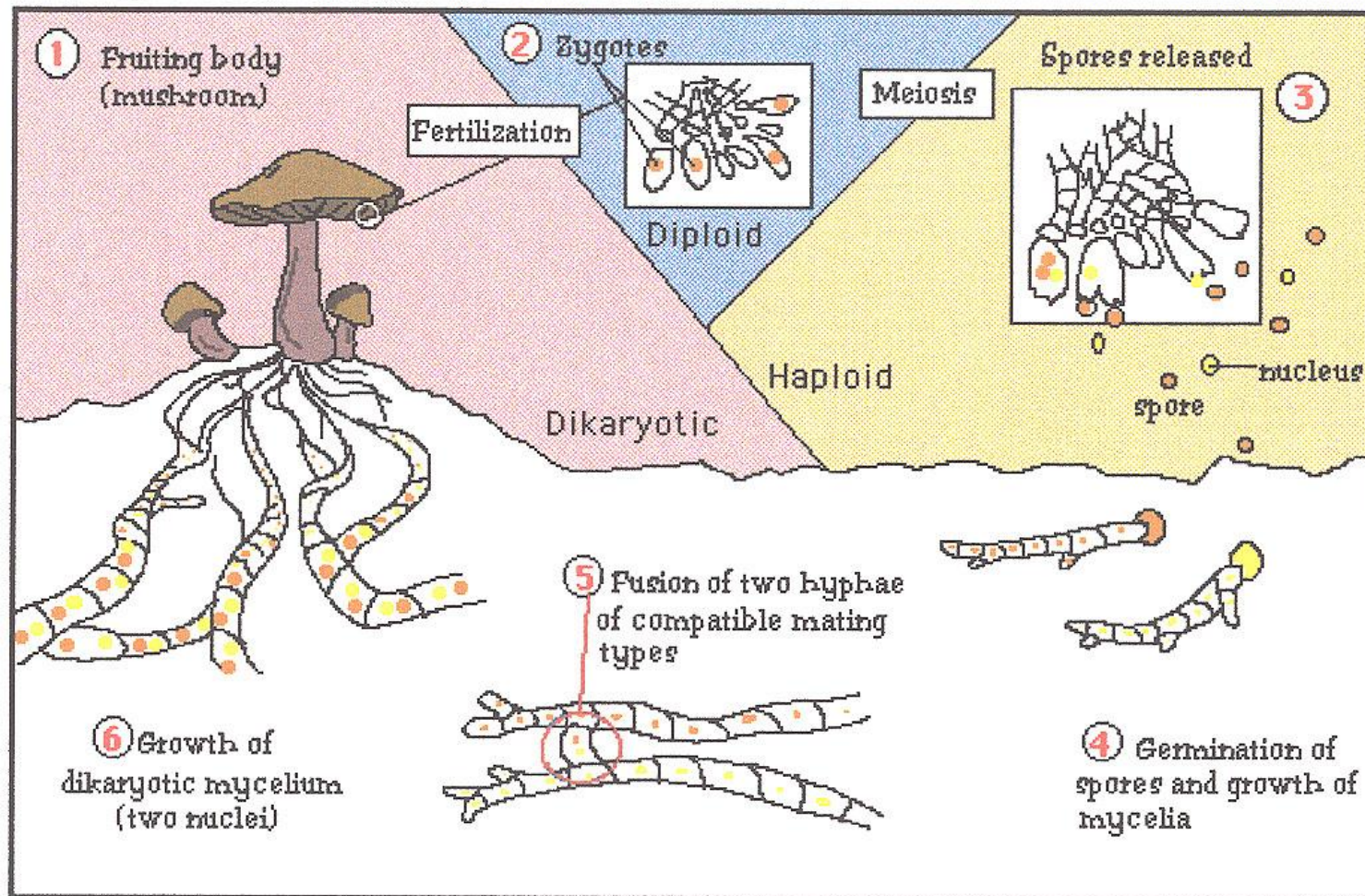
- Küflerin hücre duvarı glukan, kitosan ve kitin gibi farklı glukoz polimerlerinden yapılabilir.
- Birkaç örnekte hücre duvarının sadece kitinden oluştuğu bilinmektedir. Aynı zamanda hücre duvarı % 80 – 90 polisakkarit polimerleri de içerir. Geri kalan büyük bir kısmı ise protein ve lipidlerden oluşur.
- Hifler uç hücrelerin gelişmesi sonucu apikal büyüme ile veya bölmeli hiflerde olduğu gibi apikal büyüme ve hifin herhangi bir bölümündeki hücrelerin bölünmesiyle gelişir ve uzarlar.

KÜFLERİN YAŞAM ÇEVİRİMİ

- Çok hücreli küflerin yaşam çevrimi eşeyli veya eşeysiz sporlarla olabilir. Çeşitli cins ve türlerde farklı detaylara sahip olmakla beraber genel özellikleri bakımından benzerlik gösterilir.
- Bazı eşeysiz sporlar, **sporangiofor** adı verilen özel bir hif uzantısının ucunda bulunan **sporangium** denilen kapalı bir yapı içinde oluşurlar.
- Bazıları ise **konidiofor** adı verilen özel hiflerden oluşarak **konidium** adını alır. Diğer eşeysiz spor biçimi ise **klamidospor**'dur. Klamidospor genellikle vegetatif hücreden gelişir, kalın duvarlıdır ve uygunsuz koşullara dayanıklıdır.
- Eşeysiz üremede rüzgarla dağıla konidialar, miselyumun oluşturduğu konidioforların uçlarında meydana gelir. Konidiaların çimlenmesiyle vejetatif üreme devam eder.

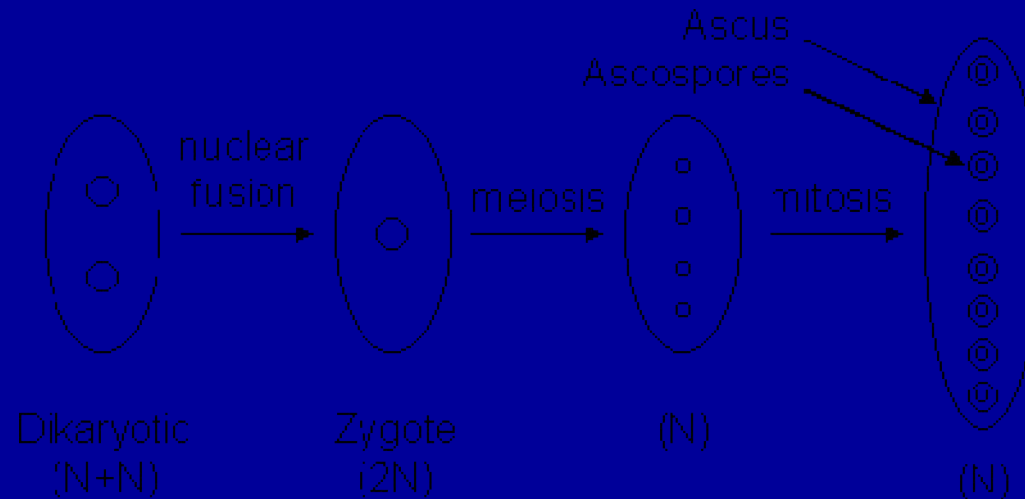
Küflerde eşeyli üreme

Fungal Life Cycle

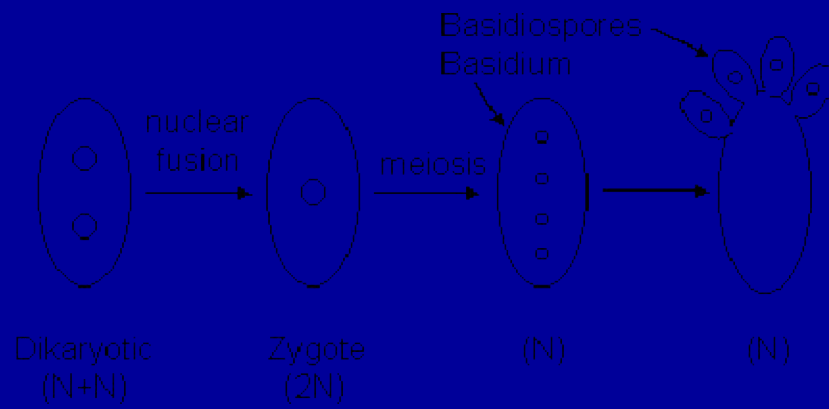


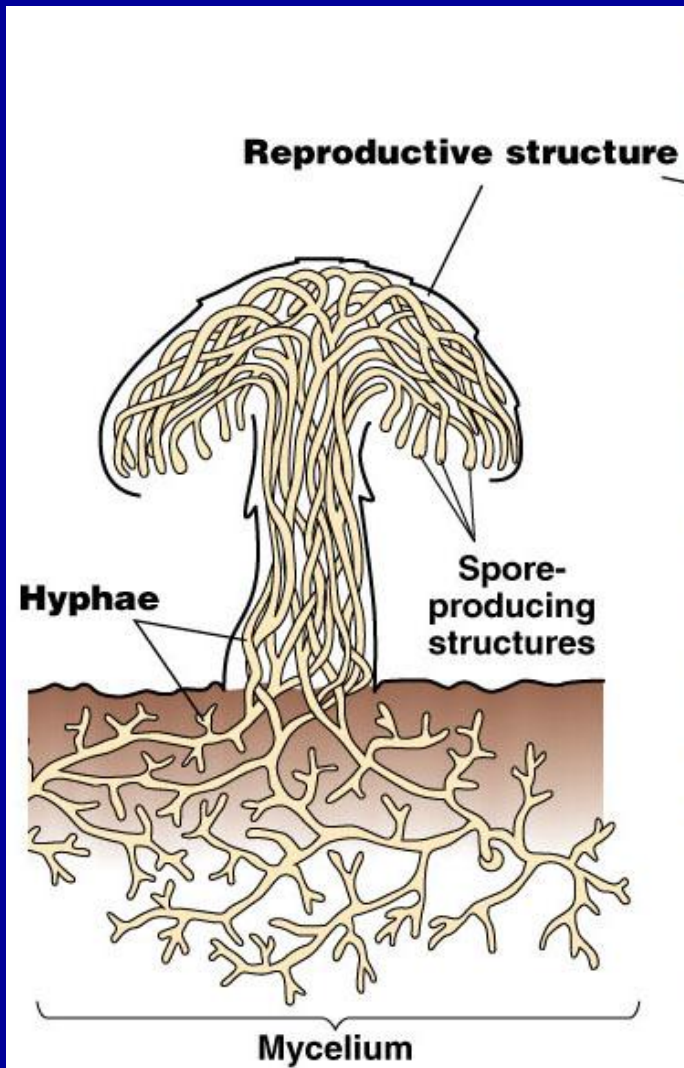
Endüstriyel Önemi Olan Küflerin Sınıflandırılması

- *Ascomycetes* : Mayalarda olduğu gibi sporlarını askus keseleri içerisinde oluştururlar. Bununla beraber filamentli mantarlarda askuslar kompleks bir yapı olan ascocarp içinde oluşurlar.

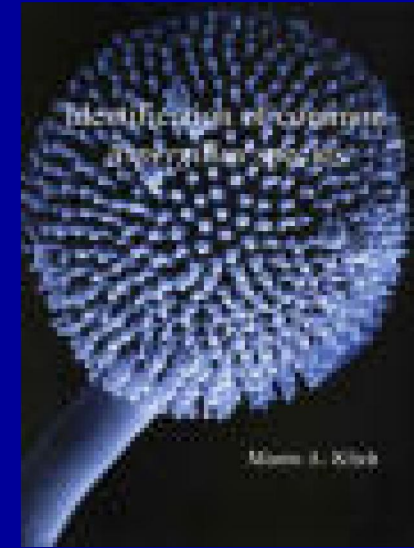
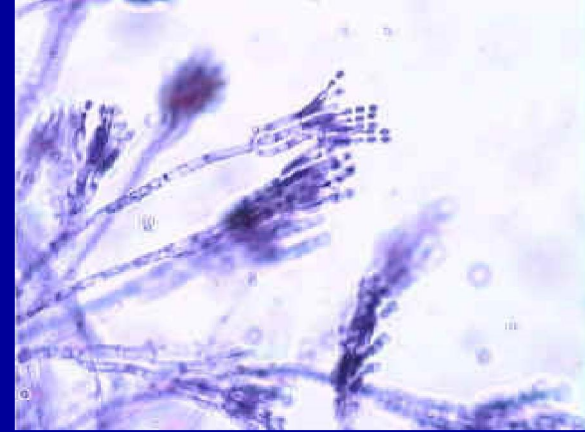


- *Basidiomycetes* grubu küfleri eşeyli sporları basidia, basidiocarp içinde geliştirirler. Hücre çeperleri glukan ve kitinden oluşur. *Agaricus* türleri insanlar için endüstriyel mantar tüketimine cevap vermek üzere üretilir.





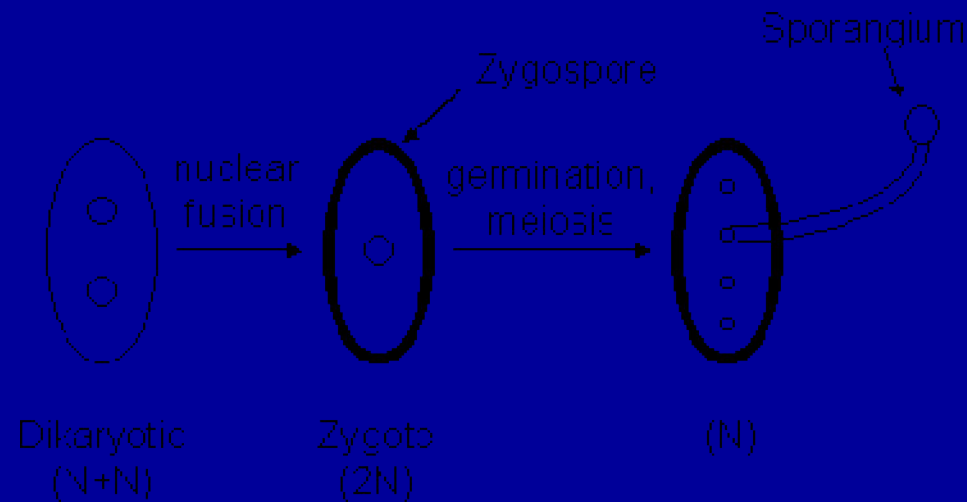
- *Deuteromycotina*: Bu gruptaki küflerde eşeyli üreme yoktur. Sadece konidia olarak bilinen eşeysiz üreme yapılarıyla ürerler. Hücre çeperleri gluklan ve kitinden oluşur. Bu gruba giren en önemli endüstriyel küfler *Aspergillus* ve *Penicillium*'dur.



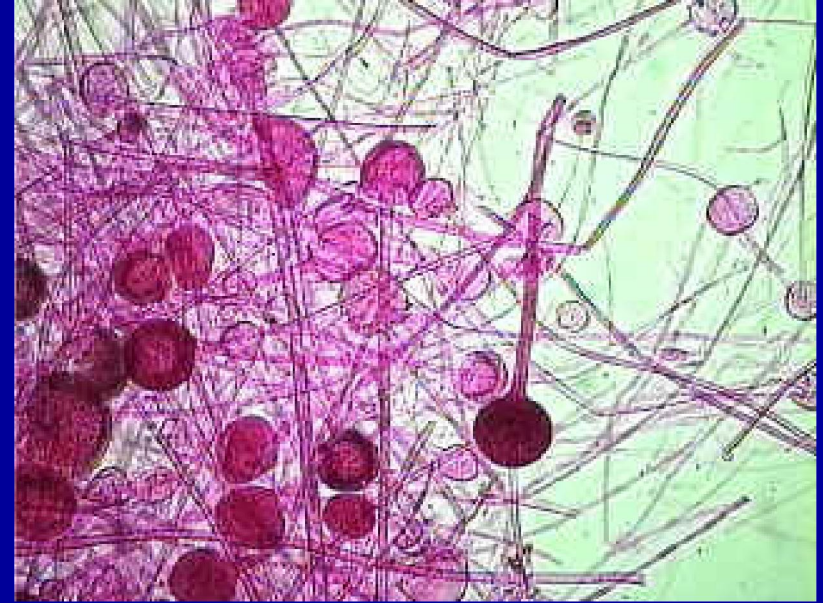
- *A. niger* sitrik ve glukonik asit üretimde kullanılır.
- *A. oryzae* pirinç ve soya ürünlerinin fermentasyonunda (besin endüstrisinde) , proteolitik ve amilolitik enzimlerin üretilmesinde kullanılır.
- Bazı türleri ise bitkilere örneğin pamuğa patojen etkiye sahiptir. Fındık veya fıstık üzerinde üreyen *A. flavus* insan ve kümes hayvanlarında karaciğer kanserini indükleyen etkiye sahip B1 – mikotoksin'ini üretirler.
- Mitotoksinler genelde küçük molekül ağırlıklı, insan ve hayvanlara karşı toksik olan küflere ait metaboliklerdir.

- Endüstriyel küflerden en çok üzerinde çalışılan *Penicillum* türleridir.
- Her çeşit organik materyal üzerinde üreyebilen sporları havada sporofit olarak bulunur.
- *P.griseofulvum* griseofulvin üretiminde kullanılır. Bu madde deri ve tırnaktaki mantar tedavisinde kullanılır.
- Griseofulvine duyarlı mantarlarda antibiyotik, mikrotubullerdeki tubulinin oluşumuyla ilgili proteine bağlanarak mitozda kromozomların ayrılmasını ve hifsel üremeyi durdurur.
- *Penicillum*'un diğer türlerinin birçoğu besin endüstrisinde önemlidir. Örneğin *P. camemberti*, *P.roqueforti* isimleriyle anılan peynirlerin yapılmasında kullanılır.

- Zygomycetes: Sporocarp içerisinde aseksüel (eşeysiz), hareketsiz spora sahiptir. Hücre duvarı kitosan (glukozaminin çok az yada hiç asetillenmemiş polimeridir) ve kitinden oluşur.



- Bu grubun endüstriyel küfleri *Mucor* ve *Rhizopus*' tur. *Rhizopus migricans* sitrik asit üretiminde kullanılır. *Mucor* ise daha önce anlatıldığı gibi peynir yapımında kullanılan rennin üretiminde kullanılmaktadır. *Mucor pussillus* ve *Mucor miehei*'den izole edilen asit proteazlar süt proteini kazeindeki peptid bağına parçalayarak kazinin çökmesine neden olur.



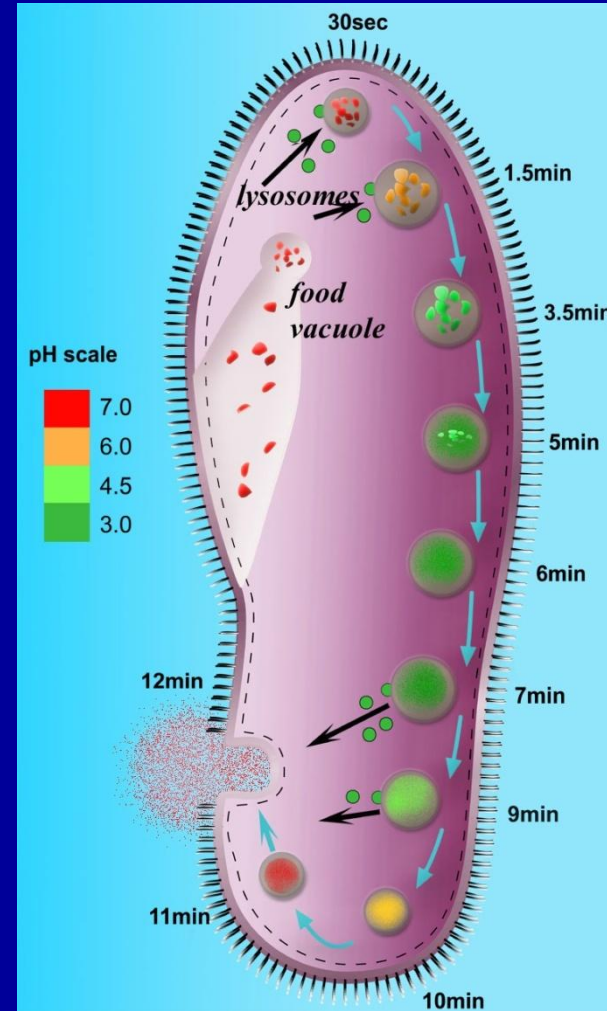
- Normal doğal koşullar altında mantarlar eşeysiz olarak çoğalırlar. Eşeyli üreme ise sadece uygun şartlar altında nadiren olabilir. Küflerin endüstriyel üretimi ise özel olarak tasarımı yapılmış sadece misel oluşumuna izin veren yatay tanklarda yapılır.

Küflerin ürettiği endüstriyel ürünlerden bazıları

- Antibiyotikler
- Sitrik asit
- Çeşitli peynirler ; Rokfor, camembert, brie peynirleri gibi
- Sake (Japon içkisi)
- Soya fasulyesi sosu ve diğer bazı soslar
- Çeşitli enzimler ; Amilaz, Glukoaminaz, Sellulaz, Pektinaz, Proteaz, Mikrobiyal rennet gibi

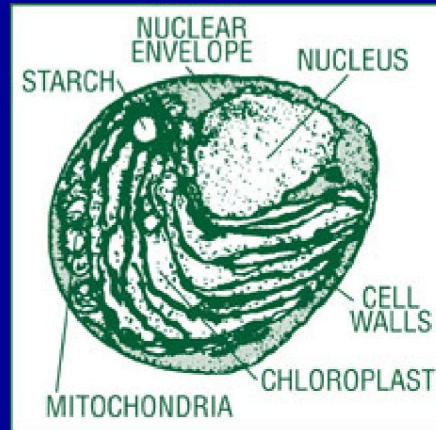
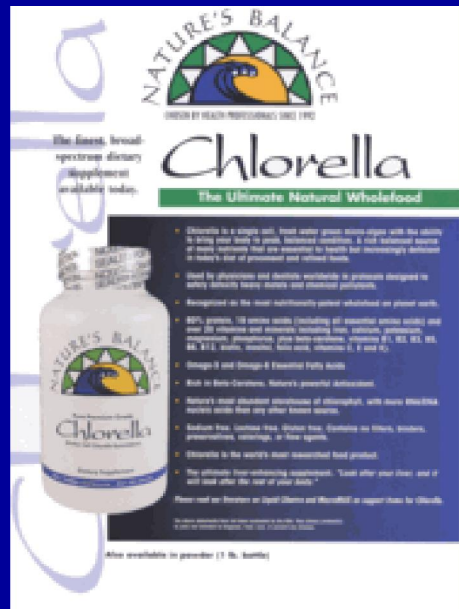
Protist

- Protistler (protozoa) nemin bulunduğu yerlerde, tuzlu ve tatlı sularda ve toprakta bulunurlar.
- Simbiyotik ve parazit türlerinin yanı sıra serbest yaşayan türlerde bulunmaktadır.
- Bazıları ototrofik, diğer bazıları saprofit, bir grup ise heterotroftir.
- Besin maddelerinin sindirimi sitoplazmadaki besin vakuelleri içinde olmaktadır.
- Gaz değişimi hücre zarından difüzyon yoluyla olmaktadır.
- Hücre metabolizmasının sonucu oluşan atıklar hücreden difüzyonla atılır.



Biyoteknolojik önemleri

- Siliatların bir çoğu saprofittir. Ve organik atıkların geri dönüşümünde oldukça büyük öneme sahiptir.
- *Paramecium* ve *Chlorella*



- Protistlerin bazı türleri vitamin özellik B12 ve E vitaminlerini üretir ve üreme ortamına salgırlar.
- Sahip oldukları pigmentleri ise endüstride bir çok kullanım alanı mevcuttur. Ör: Karotenoidler yiyeceklerin renklendirilmesinde yumurta sarısının veya somon balığının renginin artırılmasında yemlere katkı maddesi olarak ilave edilir.
- *Chlorella* ve *Dunaliella*
- Phytol (Fitol) bir başka potansiyel endüstriyel üründür.
- Vitamin A, β Karoten vit E ve K sentezinin öncül maddeleri olarak kullanılabilir.



- Protisler amino asit üretiminde de önemli bir role sahiptir. Aminoasitler ise besin endüstrisinin en önemli katkı maddelerinden birini oluşturur.
- Ayrıca çok önemli karbonhidrat kaynağıdırlar. Besin kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra mikrobiyal transformasyonlar için örneğin etanol ve metan üretimi için kaynak oluştururlar.

- Alglerin polisakkarit üretimi bir başka önemli üretim alanını oluşturur.
- Bazı alg- polisakkaritlerinin potansiyel anti-kanser aktivitesi olduğu da bilinmektedir.
- Polisakkaritler yoğunlaştırıcı ajanlar olarak kullanılır. Polisakkaritin ticari üretiminde *Porphyridium cruentum* fazla miktarda ekstrasellüler polisakkarit üretme özelliği ile kullanılır.

Ökaryotik Hücre kültürleri

- Böcek, memeli ve bitki hücre kültürleri için ayrıntıda farklı ama temelde aynı yaklaşımlar ve yöntemler kullanılır.
- Öncelikle küçük bir doku parçası organizmadan ayrılır.
- Hücreleri birarada tutan hücre dışı matriksin enzimler kullanılarak parçalanmasıyla hücreler serbest duruma getirilir.
- Bitki hücreleri için hücre duvarını parçalamak için ek bir enzim daha kullanılır.
- In vitro hücre bölünmesini engelleyen hücre dışı matriksten uzaklaşan hücreler amino asitler, antibiyotikler, vitaminler, tuzlar, glukoz ve üreme faktörleri içeren karmaşık bir besi yeri üzerine yerleştirilir.

- Bu koşullar altında hücreler kültür kabının yüzeyini tek tabaka şeklinde kaplayıncaya kadar bölünürler.
- Bu noktada hücre bölünmesi hücre örnekleri toplanmadan, seyreltilmeden ve yeni bir kültür kabının içinde yeni bir kültür kabına aktarılmadıkça durur.

- Genellikle başlangıç (primer) hayvan hücre kültürleri aktarılır ve 50-100 generasyon hücreler bölünme yeteneğini kaybeymeden ve ölmeden korunabilir.
- Primer hücre kültürünün hücreleri orjinal hücre tipinin bazı özelliklerini korur.
- Bu nedenle çeşitli dokuların biyokimyasal özelliklerini çalışmak mümkün olmaktadır.
- Sıklıkla primer hücre kültürlerinin pasajı sırasında hücrelerin bazıları hücre kültüründe çoğalmayı kolaylaştıran genetik değişiklikler geçirebilir
- Avantaj yönündeki bu seçiciliğe sahip hücreler in vitro üreyerek belli hücre hatlarının oluşmasına neden olur. Kurulan hücre hatları küçük ölçekte virusları korumak ve klonlanmış DNA tarafından üretilen proteinin saptanmasında, büyük ölçekte ise aşuların ve klonlanmış genlerin kodladığı proteinlerin üretiminde kullanılır.

Memeli Hücre Kültürleri

- Bazı memeli proteinlerinin yabancı bir organizma içerisinde üretilmesi mümkün değildir.
- Diğer bilimsel ve ekonomik nedenlerle bu proteinlerin üretiminde **Memeli Hücre Kültürleri** kullanılmaktadır. Ör: Monoklonal antikolar
- **Neden:** Çünkü monoklonal antikoların transkripsiyon ve translasyon düzeylerindeki sentez ve regülasyonlar oldukça karmaşıktır. Bu tür proteinler gelecekte tedavi ve analitik uygulamalardaki önemlerinden dolayı oldukça geniş çalışmalara konu olacaklardır.

Bitki Doku Ve Hücre Kültürleri

- Bitki biyoteknolojinin en önemli çalışma konularının başında gelmektedir.
- Bitkiler besin kaynağı olmalarının yanısıra oldukça önemli hammaddelerden biridir.
- Brezilya'da arabaların ~%90'ı benzin ve şeker kamışından fermentasyonla elde edilmiş alkol karışımı (gasahol) ile çalışmaktadır.
- Bitkiler değerli ilaçların aktif maddelerini sağlamaları açısından da önemli kaynaklardır.
- Böyle değerli maddelerin bitkilerden elde edilmesi ise ülkenin iklim koşullarına, politikasına ve pazarlama ekonomisine bağlıdır. Bu nedenle, bitki hücre kültürü bilimi (bazıları sanat olarak da ifade etmektedir) ortaya çıkmış ve geliştirilmiştir.
- Bitki hücrelerinin kültüre edilebilmesi ve büyük ölçeklerde üretilmesi gerek biyokütle eldesi açısından gerekse arzu edilen değerli ürünün bu kültürlerden izole edilmesi bakımından üzerinde en fazla çalışılan konuların başında gelmektedir.
- Bu değerli ürünlerin çoğu hücrenin durağan fazında üretilen sekonder metabolitlerdir. Bu teknoloji ilk doğuşunda değerli ürünlerin elde edilmesi için ekonomik değildi fakat teknolojinin gelişimi ile birlikte yüksek hacimde düşük fiyatla ürün elde edebilmek mümkün olmuştur.

GELENEKSEL BİYOTEKNOLOJİ



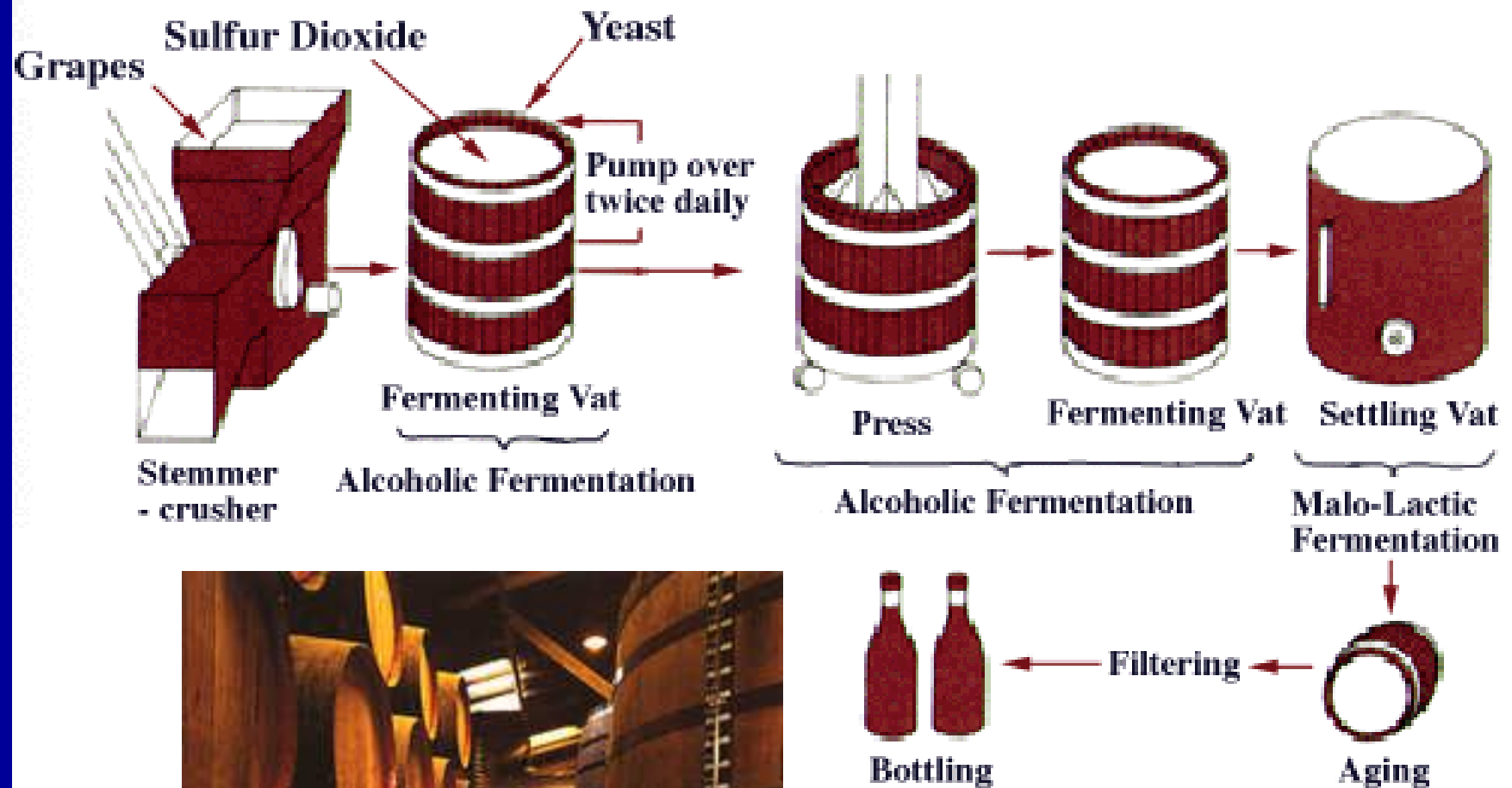
Şarap Yapımı

- Şarap üzümün dış tabakasında bulunan yabancı mayalar kullanılarak yıllar öncesinden beri yapılmaktadır.
- Farklı maya ırkları şarabın o bölgeye ait karakteristik tad ve aromasını vermek üzere o coğrafik alan için özel olarak seçilir.
- Günümüzde çoğu modern şarap üreticileri kendi özgün maya ırklarını özelliklerine göre seçimini yaparak kültürleyip saklarlar.

- Toplanan üzümler şıra haline getirmek üzere parçalanır.
- Geleneksel olarak üzümler ön işlemden geçirilmez. Sadece Kalifornia'da süfür dioksit etkisinde bırakılarak yabancı mayalar öldürülür.
- Üzümün dış tabakasında bulunan yabancı mayalar şıradaki şekerin fermentasyonunu sağlar.
- *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. Bu değişimi gerçekleştiren baskın olan mayadır.
- Fermentasyon günlerce sürer.
- Kırmızı ve beyaz üzümlerden elde edilen şıralar kırmızı ve beyaz şarapları oluşturur.

- Kırmızı şaraplar üzümün dış kabuğu ile birlikte fermente edilir.
- Şekerler etanol ve karbon dioksit'e dönüştürülürken etanol kabuktaki pigmentleri çözünür duruma getirir ve kırmızı şarap oluşur.
- Beyaz şarap için dış kabuk uzaklaştırılır.

- Pek çok şarap özellikle kırmızı şaraplar ilk yılda **malo-laktik** fermentasyon adı verilen ikinci bir fermentasyon daha geçirir.
- Bu süreç üzümde var olan malik asiti üzümün asiditesini azaltmak üzere laktik asit ve karbon dioksite dönüştürür.
- Bu fermentasyon *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactibacillus* gibi çeşitli laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilir.
- Şampanta tipi şaraplar ikinci bir fermentasyon geçirir.
- Şeker eklenir ve karbon dioksit karbonat üretilip şarabı kabarcıklı yapar.
- Tatlı şarap yapımında ise üzümler toplanmadan önce *Botrytis cinerea* küfü ile infekte edilir.
- Bu işlem su kaybına şeker içeriğinin artışına neden olur.
- Bu tür üzümlerden elde edilen şıra çok daha tatlıdır ve glukozu fermente eden fakat fruktozu bırakan glukofilik mayalar tarafından fermentasyona uğratılır.



Bira Yapımı

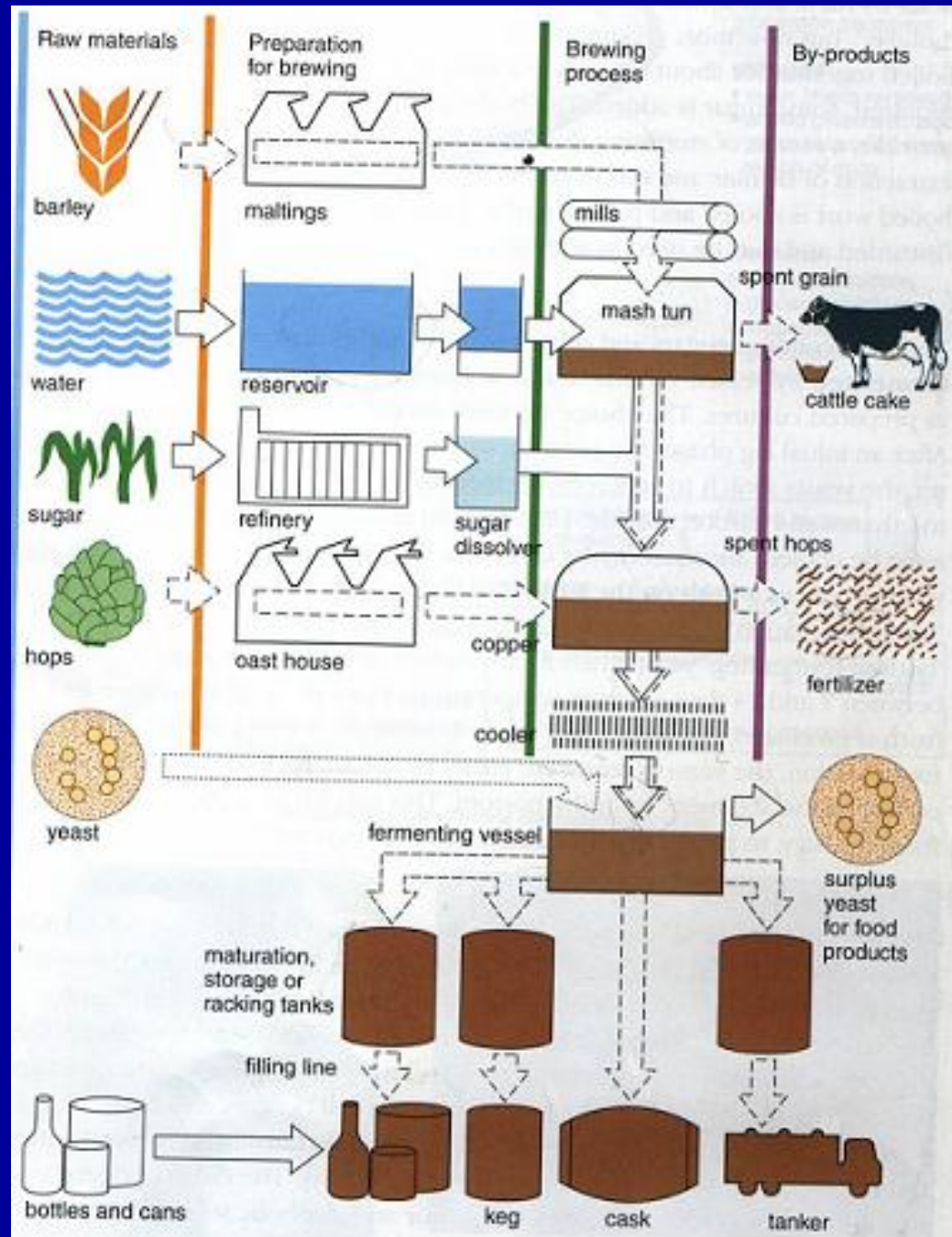
- Bira malt haline getirilmiş (çimlendirilmiş) arpadan yapılır
- Malt yapmak için arpa taneleri su içerisinde 2-3 gün bekletilir daha sonra süzülür
- 13-17 °C 10 gün bekletilir. Bu işlem depo nişastanın maltoza dönüşmesi için gerekli olan amilazın üretilmesiyle çimlenmeyi başlatır.
- Sıcaklığın 40-70 °C'ye çıkarılmasıyla enzimler denature edilir ve çimlenme durdurulur.
- Tanelerin kavrulma sıcaklığına göre farklı renk ve tadı malt oluşur bunun sonucunda da farklı renk ve tadı bira oluşur
- Taneler silindirler arasından geçirilerek parçalanır.
- 62-68 °C de su eklenip 2 saat bekletilir. Bu işlem şekerin malttan ayrılıp çözülmesine yardımcı olur
- Sıvı büyük bir kaba aktarılır (atık taneler hayvan yemi olarak satılır) ve biranı karakteristik tadını veren şerbetçi otu (*Humulus lupulus*) eklenir



- Az miktar şeker eklenerek birkaç saat kaynatılır şerbetçi oyundan ayrıldıktan sonra fermentasyon için uygun sıcaklığa getirilir
- Fermentasyon tankına *Saccharomyces cerevisiae* ve *S. calshbergensis* ilavesiyle fermentasyon başlatılır.
- 20 °C de 5 gün süren fermentasyon sonucunda (etanol ve karbon dioksit oluşumu) mayalar uzaklaştırılır ve **Marmamite** olarak adlandırılan maya özütü olarak besin endüstrisinde kullanılır.

- Olgunlaşma sürecinden (haftalar bazen aylar) sonra bira santrifüj edilerek atıklardan uzaklaştırılır ve uygun şişeleme işlemlerinden sonra satışa sunulur







Arpa taneleri

- Malt oluşumu için
- taneleri ıslatma
- Ezme işlemi
- şerbetçi otu

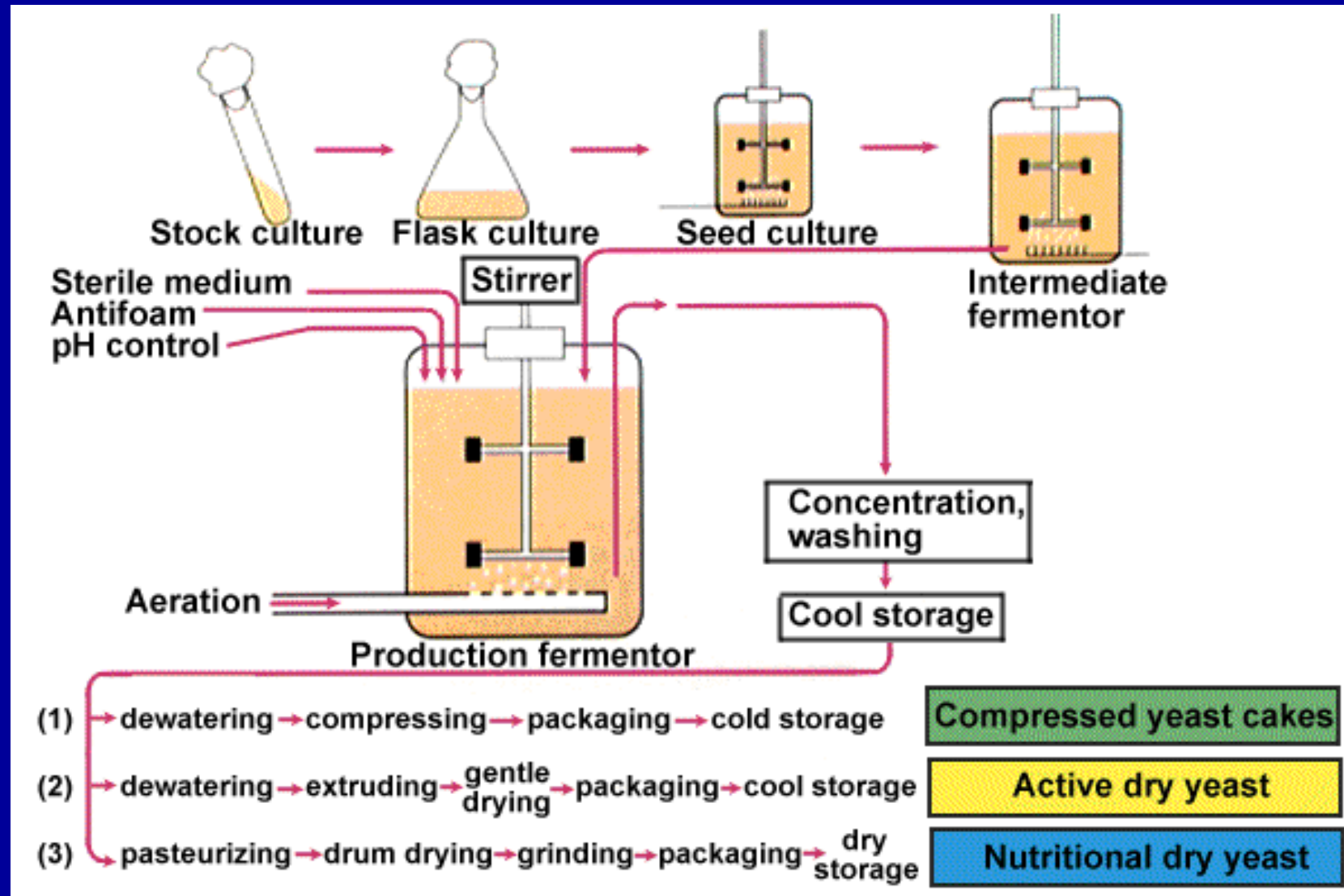




EKMEK YAPIMI

- Günümüzde ekmek yapımında çeşitli tahıllardan elde edilen unlar kullanılmaktadır.
- İşlem un, su, tuz ve maya karışımını kapsar (bazen şeker ilavesi de gerekebilir)
- Undaki enzimler (amilazlar) nişastayı maltoza ve glukozaya hidroliz ederler.
- Mayalar şekerleri etanol ve karbon dioksit'e dönüştürürler
- Karbon dioksit ekmeğin kabarmasını sağlar
- Ekmeğin yapısını undaki proteinlerin özellikleri belirler.
- Genel olarak gluten olarak adlandırılan proteinlerin toplamı kaliteli ekmek için %10-14 bisküvi yapımı için %10'dan az olmalıdır.

Ekmek Mayası Üretimi



Yoğurt Yapımı

- Yoğurt yapımında süt,yarı süt tozu veya tamamen süt tozu kullanılabilir.
- Süt öncelikle patojen mikroorganizmalar için kontrol edilir.
- Süt 85-95 °C de 15-30dk ısıtılır.
- Ön işlemleri ve ısıtılması tamamlanan ve 43-45 °C ye soğutulan süte %2-3 oranında yoğurt bakterileri eklenir.
- Aynı ısıda yoğurtlaşma kaplarında bir süre beklenir.
- Yoğurt bakterileri ortaklaşa olarak sütteki laktozu parçalarlar ve laktozdan laktik asit oluşturarak süütün ekşiliğini artırırılar asiditenin artmasıyla sütteki kalsiyum kazeinat kolloidal durumunu koruyamaz çözünerek jel haline geçer ki buna **yoğurtlaşma** denir.



Yoğurt Yapımı

- **Kullanılan mikroorganizmalar:**
- Fakültatif anaerop *Lactobacillus* hücreleri Gram(+) çomaktırlar. Kompleks üreme faktörlerine gereksinim duyarlar. Asite karşı tolerans gösterirler. Fermentasyon süresince düşen pH'ya karşı bakteriler üremeye devam ederler. Bu özellikleri onlara ortamda seçici olmalarını sağlar.
- *Lactobacillus* dışında laktik asit üretiminde kullanılan bir diğer cins *Streptococcus*'tur. *Streptococcus* Gram(+) ve kok morfolojisine sahiptir.
- Yoğurt yapımında her iki tip bakteride kullanılmaktadır. *Lactobacillus* proteinleri parçalayıp peptitleri açığa çıkarır. Bu sonuç *Streptococcus thermophilus* un üremesini indükler. *Streptococcus* ürerken methanoik asit üretir. Bu da *Lactobacillus*'un üremesini indüklemektedir. Her ikiside çok az oranda alkol üretmektedir.

- Yoğurt istenen kıvamı kazanınca soğutularak ılık ortamda çalışan bakterilerin aktiviteleri önlenir .
- Bu işlem ne kadar çabuk olursa asitlik gelişmesi az olacaktır.
- Soğutma süresinde de asiditenin artması göz önüne alınarak inkübasyon süresi kısa tutulmalıdır.
- Son yıllarda üretimi yapılan "Bio yoğurt" ise daha tatlı ve kremesi tatlıdır. Üretiminde bu iki grup bakteriye ilaveten *L.acidophilus* da oluşan asidik tadı uzaklaştırmak için kullanılır.

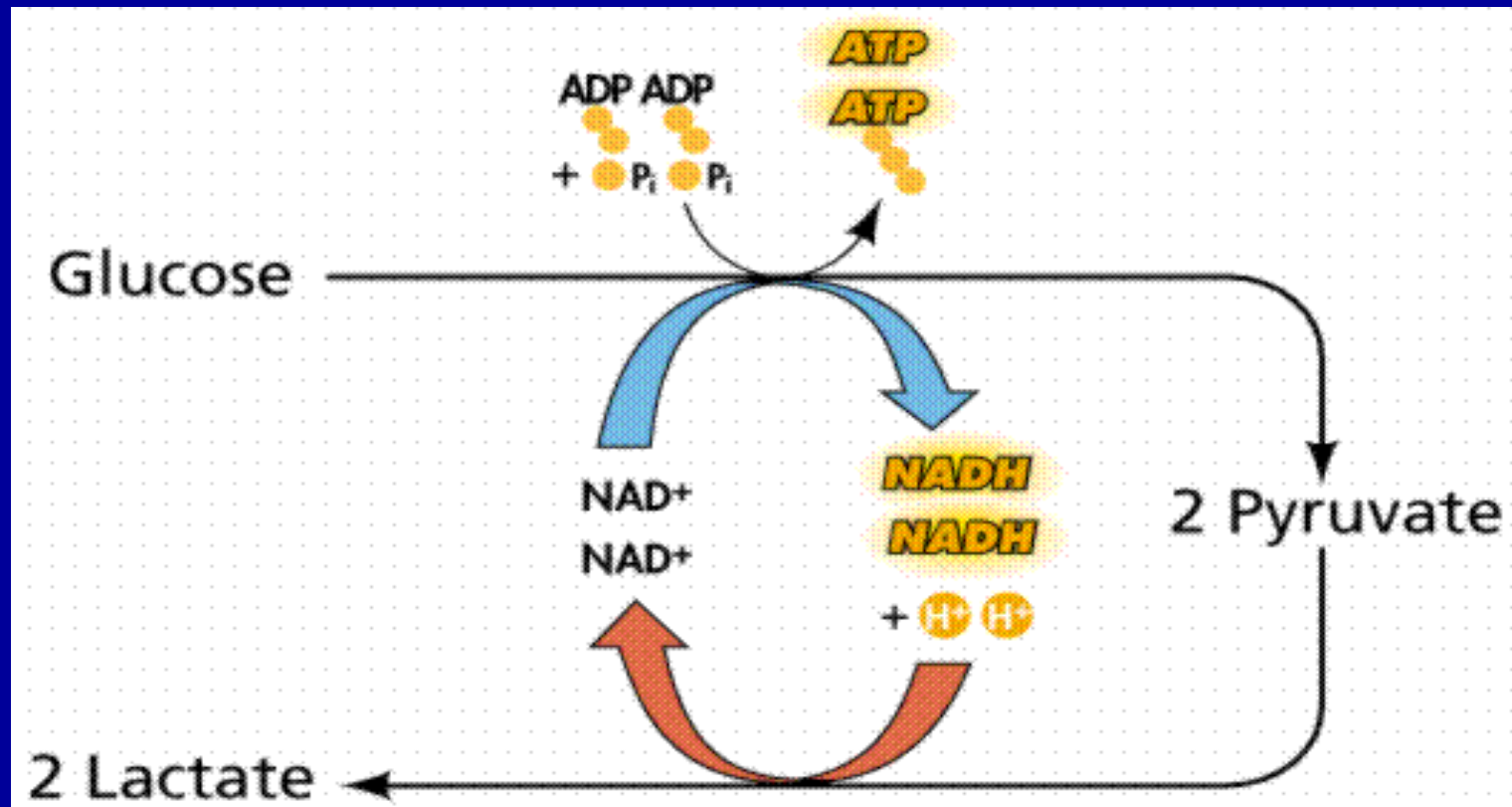
- **Probiyotik yoğurt:** Probiyotik kültürler bağırsak yüzeyine tutunarak çoğalır ve bağırsak florasının dengelenmesine yardımcı olur. *Lactobacillus johnsonii* probiyotik özelliklerinden dolayı yoğurt yapımında kullanılmaktadır.

- Laktik asit ayrıca ilk mikrobiyal ürün olarak üretilen organik asitlerden biridir.
- Ekşi ve kokusuz bir maddedir.
- Su, alkol ve eterle kolaylıkla karışabilir.
- Kloroformda çözünmez.
- Erime noktası düşüktür.
- İyi çözücü özelliklerine sahip zayıf bir asittir.
- Kolaylıkla polimerleşebilir.
- Bu özellikleri nedeniyle geniş bir kullanım alanı vardır.

- Besin maddelerinin korunması amacıyla asidite sağlar.
- Kalsiyum laktat pasta yapımında kabartma tozu olarak, bakır laktat ise elektro kaplama işlerinde geniş olarak kullanılmaktadır.

- İki tip laktik asit bakterisi bilinmektedir.
Heterofermentatif ve **Homofermentatif**.
- **Heterofermentatif** organizmalar çok sayıda yan ürün oluşturdukları için endüstriyel boyutlarda ki üretimler için uygun değildir.
- **Homofermentatif** organizmalar ise çok az istenmeyen yan ürün oluşturan buna karşılık laktik asit üretimi fazla olan organizmalardır.

- Teoride bir glukoz molekülü başına iki molekül laktik asit ve iki molekül ATP oluşur.
- Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazdan NAD^+ redüksiyonu ve laktat dehidrogenazla püvrat redüksiyonundan geçen NADH oksidasyonu sonucu laktik asit oluşur



- Endüstriyel laktik asit üretimi için en çok kullanılan mikroorganizma *Lactobacillus delbrueckii* olup özellikle mısır glukozu içeren ortamların fermentasyonunda kullanılır.
- *L. bulgaris* karbon kaynağı olarak laktozu fermente eder ve peynir altı suyunda laktat üretiminde kullanılır.
- *L. petosus* pentozları kullanabilmekte olup süfit atık sıvısından laktik asit üretiminde elverişlidir

Peynir Yapımı

- Peynir sütteki proteinin çökmesiyle yapılan en eski süt ürünlerinden biridir.
- Sütün kaynağına, olgunlaşmada ve ileri aşamalarda kullanılan yerel yöntemlere bağlı olarak farklı tat, renk ve yapıda yüzlerce farklı peynir çeşidi bulunmaktadır.
- Peynir yapımının ilk aşamaları yoğurt yapımına benzer.
 - Sütteki proteinin koagülasyonu (süt kesiği)
 - Peynir altı suyunun uzaklaştırılması
 - Olgunlaşma

- Süt 72 °C de 15 saniye ısıtılır
- Hızla 31 °C' e soğutulur ve peynir tankına geçirilir
- Laktik asit bakterileri (Streptococcus lactis, S. cremoris ya da özel bir tada özgü bir tür) eklenir
- Laktozun laktik asite dönüşümü süt proteinlerinin koagülasyonu
- Daha ileri düzeyde süt kesiğinin oluşumu için kimozin (%90) ve pepsin (%10) enzimlerinin karışımı olan rennet eklenebilir.
- 45 dakika sonra süt kesiği sıvısından (peynir altı suyu) uzaklaştırılır
- Çeşitli olgunlaşma işlemleri



- Evaporasyon: Süttem suyun uzaklaştırılması



Kontrol odası



- Peynir tankına bakteri kültürü eklenir, renklenme gerçekleşir ve süt kesigi oluşur





- Süt keşiği ve peynir altı suyu süzme tablalarına geçirilir.
- Peynir altı suyu ayrılırkarıştırma işlemiyle süt kesiklerinin boyutlarının aynı olması sağlanır Bu aşamada tuz eklenir.

Sirke Yapımı



- Meyve suları ve meyve ezmelerinden asetik asit şeklinde sirke üretimi çok uzun yıllardan beri yapılmaktadır.
- Romalılar devrinde sulandırılmış sirke ferahlatıcı içecek olarak kullanılırdı. Şarap fiçilerinin ağzının açık bırakılmasıyla sirke oluşturulurdu. Daha sonraları tekniklerin geliştirilmesiyle sirke üretimi artırıldı.

- Şekerli meyvelerden sirke yapımında birbirinden tamamıyla farklı iki fermentasyon işlemi yer alır.
 - 1.Alkol fermentasyonu
 - 2.Asetik asit fermentasyonu
- Önce meyve ve üzüm şiralarında şeker alkole döndürülür. Bunu sağlayan mayalardır. Sonra oluşan bu alkol sirke bakterileri asetik asite dönüştürülür.

- **Maya**



-

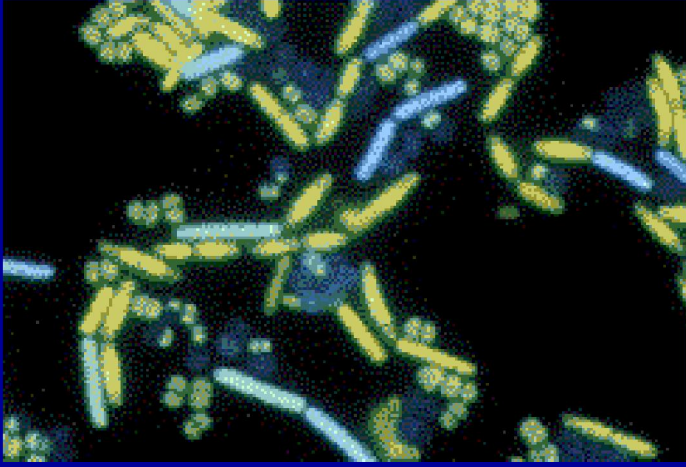
Sirke Bakterileri



Cabernet Ahududu



- Asetik asit fermentasyonu başlamadan alkol fermentasyonu bitmiş olmalıdır.
- Sirke bakterileri havanın oksijeni yardımıyla alkolü okside ederek asetik aside çevirir.
- Kimyasal bakımdan asetik asit fermentasyonu bir oksidasyon (dehidrogenasyon) olayıdır.
- Asetik asit üretimi bir çok fermentatif bakteri tarafından yapılmakla beraber ticari olarak üretimde özel bir grup bakteri "asetik asit bakterileri" kullanılmaktadır.



- Asetik asit bakterileri iki grup altında toplanabilir.
 - Glucanobacterler
 - Asetobakterler
- Asetik asit bakterileri Gram(-) genelde çomak fakat değişen morfolojiye sahip asite toleranslı, aerop kirpikli bakterilerdir.
- *A. pasteurianus*, *A. aceti* ve *A. peroxidans* sirke yapımında kullanılan türlerdir. OT:25-30 ve pH:5.4-6.3. kemoheterotroflardır.
- Etanolün dışında gliserol ve laktat da karbon kaynağı olarak kullanılabilir.

- **Asetik asit Biyosentezi** : İlk oksidasyon aşamasında etanol alkol dehidrogenaz enzimine özgün NAD ve NADP'nin redüklenmesi ile aset aldehite oksitlenir. İkinci oksidasyon ise aset aldehit dehidrogenaz ile asit aldehit hidratın asetik asite oksidasyonudur. Sonuçta 1 mol etanolden 1 mol asetik asit oluşur.

- Glukanobakterler etanolü sadece asetik asite oksitlerken (tamamlanmamış oksidasyon) Acetobakterler etanolü önce asetik asite daha sonra da oksijen varlığında CO₂ ve H₂O indirgerler.
- Sirke üretiminde bu durum asit niceliğini azaltacağından pratikte önem taşır.
- Glukanobakterler ayrıca glukozu glukonik asite oksitleyebilirler. Glukonik asitte ilaç endüstrisinde kullanılan kalsiyum glukonatın yapımında kullanılır. Doğal sulara sodyum glukonat ilavesi ile de tuz çökmesi önlenmektedir.

Tek Hücre Proteini

Mikroorganizmalar ucuz ve atık materyal üzerinde üretilir, saflaştırılır ve hayvan veya insanlar için besin kaynağı olarak kullanılabilirler.

- Eğer bu besin protein kaynağı olarak üretilirse tek hücre proteini (THP) olarak adlandırılır.
- Pek çok mikroorganizma, **algler**, **mavi-yeşil bakteriler**, **mantarlar** ve **bakteriler** tek hücre protein kaynağı olarak kullanılabilir.

THP Üretimi için Kullanılan Substratlar

- Peynir endüstrisi atığı olan protein ve laktoz bakımından zengin olan peynir altı suyu
- Bazı mayalar bu atık üzerinde protein ve bazı vitaminler bakımından zengin içeriğe sahip olarak üreyebilirler ve kedi maması katkısı olarak kullanılır.
- Şeker işleme endüstrisi atığı olan melas üzerinde mayalar kolaylıkla üreyebilir
- Kağıt endüstrisinin atığı olan sülfid sıvısı şeker bakımından zayıftır ve bazı küfler bu atık üzerinde üreyebilir.
- Petrol endüstrisinin atığı olan alkanlar mayalar için substrat olabilir Alkanlar üzerinde üreyen mayalar hayvan yemi olarak kullanılır.



- İnsanlar için tüketime en uygun olan THP satışta bulunan “*Quorn*” mikoproteindir.
- Mikoprotein filamentli küf olan *Fusarium graminearum*'dan elde edilir.
- Karbon kaynağı olarak glukoz şurubu azot kaynağı olarak amonyum kullanılır

- Mısır veya buğday nişastası glukoz kaynağı olarak, kolin ise hifin büyümesini indüklemek için kullanılmaktadır. Ayrıca biotin de eklenir.
- 30 °C de pH 6 da sürekli kültürde üreme gerçekleştirilir.



- Mikroorganizmaların hızlı üremesi yüksek RNA içeriğine neden olur.
- Yüksek düzeydeki RNA içeriği insan ve hayvanlar tarafından tüketimde uygun değildir.
- İnsanlarda fazla miktardaki nukleik asit ürik asite dönüştürülür.
- Ürik asit böbrekler tarafından atılamaz ve ürik asit kristalleri şeklinde eklemlerde birikir (Gut hastalığı)

- Normal üretim sonunda RNA içeriği %10 civarındadır ve hala tüketim için fazladır.
- Isı şoku ve ribonukleaz etkisiyle RNA içeriği %2 ye düşürülür.
- Miselyum toplanır 18 °C de uzun süreler saklanabilir.
- Tadı etin tadına benzer ve çeşitli hazır et ürünleri içine eklenir.