

BİYOLOJİ ALANINDA TEORİK VE UYGULAMALI AKADEMİK ÇALIŞMALAR

EDİTÖR

Prof. Dr. Şifa TÜRKÖĞLU



Publishing House

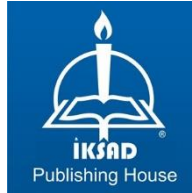
BİYOLOJİ ALANINDA TEORİK VE UYGULAMALI AKADEMİK ÇALIŞMALAR

EDİTÖR

Prof. Dr. Şifa TÜRKÖĞLU

YAZARLAR

Prof. Dr. Ahmet ÇARHAN
Prof. Dr. Aytunç ATEŞ
Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK PALA
Prof. Dr. Hüseyin PEKER
Prof. Dr. Nurgül AY
Prof. Dr. Memnune ŞENGÜL
Prof. Dr. Serap KIRMIZI
Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN
Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN
Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ
Doç. Dr. Hatice ULUSOY
Doç. Dr. Dilek ÖZTAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Alper SOLMAZ
Dr. Öğr. Üyesi Gül GÖRMEZ
Dr. Öğr. Üyesi Melek ZOR
Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK
Öğr. Gör. Dr. Arzu İMECE
Öğr. Gör. Dr. Dilek KANAN
Öğr. Gör. Dr. Talip TURNA
Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ
Serkan USLUCA



Copyright © 2022 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or transmitted in any form or by any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical methods, without the prior written permission of the publisher, except in the case of brief quotations embodied in critical reviews and certain other noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic Development and Social Researches Publications®

(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)

TURKEY TR: +90 342 606 06 75

USA: +1 631 685 0 853

E mail: iksadyayinevi@gmail.com

www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.

Iksad Publications – 2022©

ISBN: 78-625-6380-86-8

Cover Design: İbrahim KAYA

December / 2022

Ankara / Turkey

Size = 16x24 cm

Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluğu da yazarlara aittir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

Prof. Dr. Şifa TÜRKÖĞLU.....1

BÖLÜM 1

ATATÜRK BARAJ GÖLÜ'NDE YAŞAYAN İSTİLACI BALIKLARIN ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ3

BÖLÜM 2

ATIKSU ARITIMINDA MİKROAGLERİN ROLÜ VE ELDE EDİLEN BİYOKÜTLENİN BİYOPYAKIT OLMA POTANSİYELİ

Dr. Öğr. Üyesi Alper SOLMAZ, Öğr. Gör. Dr. Talip TURNA..... 11

BÖLÜM 3

BİYOÇEŞİTLİLİĞİNİN KORUNMASINDA TOHUM BANKASININ ROLÜ

Prof. Dr. Serap KIRMIZI29

BÖLÜM 4

BİYOTERÖRİZM TEHDİTİ

*Serkan USLUCA, Doç. Dr. Dilek ÖZTAŞ, Prof. Dr. Ahmet ÇARHAN
Prof. Dr. Aytunç ATEŞ*41

BÖLÜM 5

EKOSİSTEM BİTKİ ÖRTÜSÜNDE KUŞEKMEĞİ (*Polygonum arenastrum*) BİTKİSİ EKSTRAKT OLARAK KULLANIMI VE AHSAP MALZEMENİN ELASTİKLİK MODÜL DEĞİŞİMİ

*Doç. Dr. Hatice ULUSOY, Prof. Dr. Hüseyin PEKER
Prof. Dr. Nurgül AY*.....51

BÖLÜM 6
EKOSİSTEMDE SIĞLA ODUNU YAPRAĞININ EKSTRAKT
OLARAK KULLANIMI VE AHŞABIN BASINÇ DİRENCİ
DEĞİŞİMİNE ETKİLERİ

Doç. Dr. Hatice ULUSOY , Prof. Dr. Hüseyin PEKER59

BÖLÜM 7
EKSOZOMLARIN BİYOLOJİSİ, FONKSİYONLARI,
TEŞHİS VE TEDAVİDE KULLANIMLARI

Öğr. Gör. Dr. Dilek KAAN67

BÖLÜM 8
FARMOSOTİK ATIKLARIN SUCUL EKOSİSTEME ETKİLERİ

Öğr. Gör. Dr. Talip TURNA, Dr. Öğr. Üyesi Alper SOLMAZ.....79

BÖLÜM 9
GIDA KATKI MADDESİ OLARAK KULLANILAN BAZI
ENZİMLER VE KULLANIM ALANLARI I

Öğr. Gör. Dr. Arzu İMECE , Prof.Dr. Memnune ŞENGÜL ,
Dr. Öğrt. Üyesi Melek ZOR93

BÖLÜM 10
GIDA KATKI MADDESİ OLARAK KULLANILAN BAZI
ENZİMLER VE KULLANIM ALANLARI II

Öğr. Gör. Dr. Arzu İMECE , Prof.Dr. Memnune ŞENGÜL ,
Dr. Öğrt. Üyesi Melek ZOR131

BÖLÜM 11
HÜCRE ÖLÜM ŞEKİLLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Gül GÖRMEZ171

BÖLÜM 12
KUDRET NARI (*Momordica charantia* L.)
VE KULLANIMI

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN
Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN185

BÖLÜM 13
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOMLAR

Öğr. Gör. Dr. Dilek KAAN201

BÖLÜM 14
MİKORİZA YARDIMCI BAKTERİLER

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK PALA215

BÖLÜM 15
MOLEKÜLER TÜR TANIMLAMASINDA BİR ARAÇ OLARAK
DNA BARKODLAMA

Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK233

BÖLÜM 16
ÖNEMLİ BİR FLAVONOİD: NARİNGİN

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN
Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN263

ÖNSÖZ

Biyoloji bilimi üzerinde yaşadığımız dünyayı tüm canlı ve cansız sistemle birlikte bir bütün olarak inceleyen bir bilim dalıdır. Bilimde meydana gelen ilerlemeler sonucunda biyoloji bilimi bugün tıp, tarım, kimya, biyoteknoloji, mühendislik vb. birçok alanla işbirliği halinde bulunan multidisipliner bir alan haline de gelmiştir. Bu nedenle bu kitapta biyolojinin farklı alanlarına sahip konulara yer verilmiştir. Böylece sadece biyoloji alanında değil diğer başka alanlarda da çalışmalar yapan bilim insanlarına ve biyolojiye ilgi duyan herkese yönelik bir kitap olması amaçlanmıştır. Kitaba katkıda bulunan tüm değerli bilim insanlarımıza, kitabın basımına hazırlanmasında rol oynayan yayınevi çalışanlarına teşekkür eder, tüm bilim dünyasına faydalı olmasını dilerim.

Prof. Dr. Şifa TÜRKÖĞLU

BÖLÜM 1

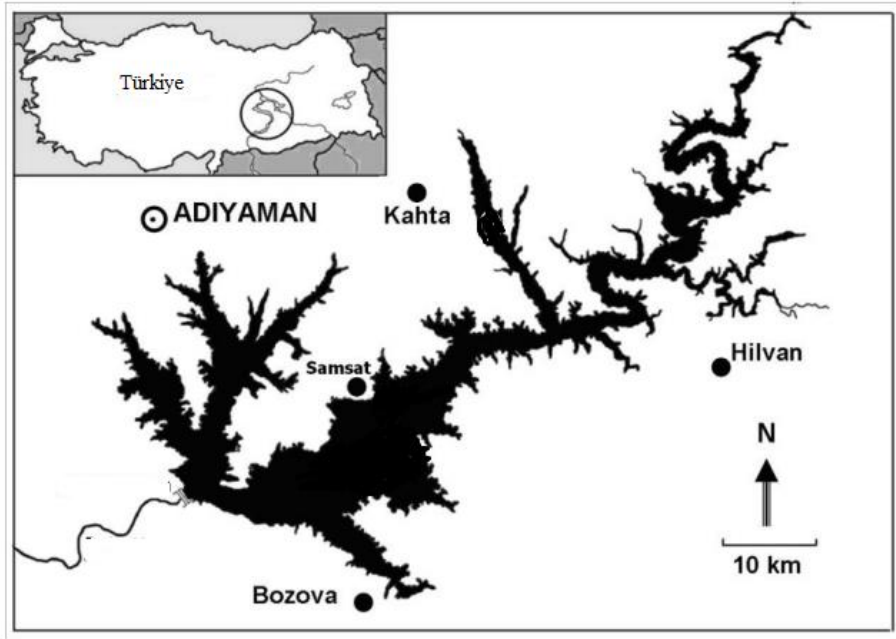
ATATÜRK BARAJ GÖLÜ'NDE YAŞAYAN İSTİLACI BALIKLARIN ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ¹

¹ Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 63100, Şanlıurfa, Türkiye. E mail: aprmksz@gmail.com; ORCID: 0000-0003-0321-8198.

GİRİŞ

Fırat Nehri üzerinde inşa edilen Atatürk Baraj Gölü (Şekil 1), Türkiye'nin en büyük, dünyanın ise en önemli barajlarından biri olup, sahip olduğu geniş rezervuar sayesinde yerel balık türlerini barındırdığı için özel bir öneme sahiptir (Bayhan, 2021). Bu baraj gölü, balıkçılık faaliyetleri bakımından değerlendirildiğinde büyük bir potansiyele sahiptir (Oymak ve ark., 2009). Bu nedenle bu baraj gölünde yaşayan balıkların izlenmesi, biyoçeşitliliğin korunması ve popülasyonların devamlılığı sağlanmalıdır. Fakat doğal popülasyonların aşırı avlanmaya maruz kalması, habitatların değişmesi, üreme alanlarının tahrip edilmesi ve istilacı (invasive) türlerin birey sayılarının hızla çoğalması gibi çevresel faktörler doğal ve ekonomik öneme sahip türlerin popülasyonlarını etkilemekte bu türlerin geleceği için büyük risk oluşturmaktadır.



Şekil 1. Atatürk Baraj Gölü Haritası (Oymak ve ark., 2011'den düzenlenerek)

Son yıllarda Atatürk Baraj Gölü ve Fırat Nehri'nde yapılan araştırmalar, balık türlerinin sayısının arttığını ortaya koymaktadır. Bu artışta, yeni tür veya alt tür kayıtlarının sayısının artmasında katkı sağlamaktadır. Ayrıca bunun yanında göl içerisinde doğal ve yerli olmayan türlerin de olduğu göz ardı edilmemelidir. Kayıtlara geçen istilacı türler arasında *Carassius*

gibelio (Bloch, 1782) ve *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), türleri yer almaktadır. Bir ekosistemde doğal olarak yer almayan, değişik yollarla dışarıdan gelen yeni türlere istilacı türler denir (Polat ve ark., 2011). Dünya çapında ticaret, gıda ve diğer ekonomik nedenlerden dolayı çeşitli canlı türlerinin farklı bölgelere dağılmasının önündeki coğrafi engeller, insan faaliyetleri tarafından giderek daha fazla yıkılmakta (Su ve ark., 2016), kasıtlı veya kasıtsız olarak (Minchin ve ark., 2013) kendi bölgelerinden nispeten yeni bölgelere taşınmaktadır. Birçok ülkede balık biyoçeşitliliği önemli ölçüde egzotik balıkların piyasaya sürülmesi nedeniyle tehdit altındadır (Çiçek ve ark., 2022). Bu nedenle, istilacı türlerin girişinin iyi anlaşılması, tatlı su ekosistemlerinin yönetimi ve korunması için önemlidir (Castaldelli ve ark., 2013). *C. gibelio* ve *C. auratus* türleri de istilacı özelliğe sahip türler olup son yıllarda Atatürk Baraj Gölü'nde birey sayılarının hızla arttığı gözlemlenmiştir.

İSTILACI BALIK TÜRLERİ ve ÖZELLİKLERİ

Gümüşi sazan olarak da bilinen *C. gibelio* türü, çoğu zaman sazan gibi göletlerde ve baraj göllerinde başarılı popülasyonlar oluşturabildiği bilinmektedir (Ekmekçi ve ark., 2013). Bu nedenle birçok bölgede bu türe ait popülasyonlarının birey artışı ve dominant duruma geçtiği rapor edilmekte olup özellikle son yıllarda sucul biyologların büyük ilgisini çekmiştir (Perdikaris ve ark., 2012). Bu tür, lentik ve lotik habitatlarda yayılış gösteren omnivor bir tür olup (Szczerbowski, 2001; Zhu ve ark., 2004; Yılmaz ve ark., 2007), 30.000 ila 400.000 yumurta üretebilme yeteneğine de sahiptir (Szczerbowski, 2001). Bu tür özellikle 1980'li yıllardan itibaren bazı Avrupa ülkelerinde olduğu gibi Türkiye iç sularında da problem oluşturmaya başlamıştır (Yerli ve ark., 2014).

Türkçe adı Japon Havuz Balığı olan *C. auratus* türünün ana vatanı Çin olup, Japonya'da da yaygın olarak bulunmakla birlikte günümüzde dünyanın hemen her yerine görülmüş ve yaygınlaştırılmıştır (Doğaç ve ark., 2016; Aktop, 2017). Bu tür binlerce yumurta üretebilir ve küçük alanlarda birlikte yaşayabilir ve yetiştirilebilir, evcilleştirme dönemi önemli bir yapay ve doğal seçim de oluşturmuştur (Luo ve ark., 2020). *C. auratus* türü Türkiye iç sularında değişik lokalitelerde bulunduğu bildirilmiştir (Innal, 2011). Bu türün bilinçli olarak veya yanlışlıkla Türkiye sularına bırakılması, balıkların üretim çiftliklerinden kaçması gibi ihtimallerle yayılış alanını genişlettiği varsayılmaktadır (Bostancı ve ark., 2021).

Bu istilacı balıklar sadece balıkçılık faaliyetlerini değil aynı zamanda biyolojik çeşitlilik açısından da büyük bir risk oluşturmaktadır. Bu şekilde

gerçekleşen tehditler, doğal türlere ait yaşam alanlarına taşınması yerli ve endemik türlere ait popülasyonların küçülmesine ve havzalardaki balıkçılık faaliyetlerinin bitmesine sebep olabilmektedir (Erdem ve ark., 2014). Atatürk Baraj Gölü çevresinde yaşayan ve balıkçılık faaliyetleri yapmakta olan insanlarından alınan bilgilere göre; avlanan balıklardan yarısına yakınının *C. gibelio* veya *C. auratus* olduğu dile getirilmiştir (Parmaksız ve Demir, 2022). Ayrıca bu istilacı olan türlerin popülasyonlarının hızla büyüdüğü, eğer bir önlem alınmazsa gelecekte avlama yapıldığında sadece bu istilacı türlere ait bireylerin avlanacağını özellikle belirtmişlerdir (Parmaksız ve Demir, 2022). Bu istilacı türlerin (Şekil 2) lezzetli olmadığı, insanlar tarafından tercih edilmediği için fiyatı düşük olduğu ve yöre balıkçılarının çoğu ağlarda yakalanan bu türe ait balıkları tezgaha bile getirmeyip, ağdan tekrar suya attıklarını ifade etmişlerdir. Eğer bu türler ile mücadele edilmezse baraj gölünde doğal ve ekonomik türlere ait bireyler her geçen gün daha da azalacak hatta bazı türlerin bireyelerine rastlanmayacaktır.



Şekil 2. Atatürk Baraj Gölü Genel Görüntü ve istilacı balık türleri (A: *Carassius gibelio*, B: *Carassius auratus*)

SONUÇ

C. gibelio veya *C. auratus* türlerinin Atatürk Baraj Gölü'nde gün gittikçe dominant duruma geçme eğiliminin olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda başta ekonomik ve endemik balık türleri olmak üzere tüm türlerin etkilenmesi kaçınılmaz olacaktır. İstilacı türlerin bu havzadan uzaklaştırılması için gerekli işlemler acilen uygulanmalıdır. Bu istilacı türlerin balıkçılar tarafından özellikle üreme döneminde avlanması teşvik edilmeli ve avlanan balıkların gıda sektöründe değerlendirilmesi sağlanmalıdır. Gıda olarak sadece insan beslenmesinde değil aynı zamanda evcil hayvanların tüketebileceği bir besine de dönüştürülmelidir. Ayrıca bu balık türlerinin havzaya yeniden girişi kesinlikle engellenmelidir. Yapılan mücadele dikkatlice takip edilmeli ve istilacı balıkların yoğun olduğu lokalitelerin durumu değerlendirilip rapor altına alınmalıdır. Daha sonra bu istilacı balıkların tamamı bitene kadarda önlemler devam ettirilmelidir.

KAYNAKÇA

- Aktop, Y., Japon balığının (*Carassius auratus* L. 1758) büyümesi ve Gonad gelişimi üzerine çakşır otunun (*Ferula elaeochytris* K. 1947) etkisinin araştırılması. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2017.
- Bayhan, Y. K. (2021). The Fish Fauna of the Atatürk Dam Lake (Adıyaman/Turkey). *Natural and Engineering Sciences*, 6(3), 237-255.
- Bostancı, D., Yedier, S., Helli, S., Polat, N. (2021). Ordu ili iç sularında *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) türünün ilk kaydı ve türün Ulugöl Yaylası Göleti popülasyonu ile ilgili bazı veriler. *Aquatic Research*, 4(3), 279-285.
- Castaldelli G, Pluchinotta A, Milardi M, Lanzoni M, Giari L et al. (2013). Introduction of exotic fish species and decline of native species in the lower Po basin, north-eastern Italy. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 23 (3): 405- 417.
- Çiçek, E., Eagderi, S., & Sungur, S. (2022). A review of the alien fishes of Turkish inland waters. *Turkish Journal of Zoology*, 46(1), 1-13.
- Doğaç, E., Ağdamar, S., Keskin, E., Tarkan, A. S., Yapıcı, S., & Acar, Ü. (2016). Mitochondrial genetic variations of an introduced freshwater fish, goldfish *Carassius auratus* at the frontier between Europe and Asia (western Anatolia, Turkey): proximity to Europe rather than East Asia?. *Mitochondrial Dna Part A*, 27(6), 4008-4014.
- Ekmekçi G, Kırankaya Ş. G, Gençoğlu L, Yoğurtçuoğlu B (2013). Türkiye içsularındaki istilacı balıkların güncel durumu ve istilanın etkilerinin değerlendirilmesi. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 28 (1): 105-140
- Erdem, Y., Samur, M., Özdemir, S. (2014). İçsularlarda İstilacı Balık Türleriyle Mücadelede Seçici Avlama Yöntemlerinin Etkinliği. *Aquatic Sciences and Engineering*, 29(2), 49-63.
- Innal, D. (2011). Distribution and impacts of *Carassius* species (Cyprinidae) in Turkey: A review. *Management of Biological Invasions*, (2), 57-68.
- Luo, J., Chai, J., Wen, Y., Tao, M., Lin, G., Liu, X., ... & Zhang, Y. P. (2020). From asymmetrical to balanced genomic diversification during rediploidization: Subgenomic evolution in allotetraploid fish. *Science Advances*, 6(22), eaaz7677.
- Minchin, D., Cook, E. J., & Clark, P. F. (2013). Alien species in British brackish and marine waters. *Aquatic Invasions*, 8(1), 3-19.

- Oymak, S. A., Erhan, Ü. N. L. Ü., Parmaksız, A., & Doğan, N. (2011). A study on the age, growth and reproduction of *Aspius vorax* (Heckel, 1843)(Cyprinidae) in Atatürk Dam Lake (Euphrates River), Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(2), 217–225.
- Oymak, S. A., Karadede, H., Dogan, N. (2009). Heavy metal in tissues of *Tor gryp*us from Atatürk Dam Lake, Euphrates River-Turkey, *Biologia*, 64, 1, 151-155.
- Parmaksız, A., Demir, A. (2022). Atatürk Baraj Gölü'nde (Türkiye) Yaşayan *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) türünün mtDNA COI ve cyt b Analizi. *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 6(2), 45-50.
- Perdikaris, C., Ergolavou, A., Gouva, E., Nathanailides, C., Chantzarpoulos, A., & Paschos, I. (2012). *Carassius gibelio* in Greece: the dominant naturalised invader of freshwaters. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 22(1), 17-27.
- Polat, N., Zengin, M., Gümüş, A. (2011). İstilacı balık türleri ve hayat stratejileri. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 63-86.
- Su, S., Cassey, P., & Blackburn, T. M. (2016). The wildlife pet trade as a driver of introduction and establishment in alien birds in Taiwan. *Biological Invasions*, 18(1), 215-229.
- Szczerbowski, J. A. 2001. *Carassius auratus*. In: Banarescu, P. and Paepke, H. J. (Eds.), *The Freshwater Fishes of Europe*, Vol. 5. Cyprinidae 2, Part III *Carassius* to *Cyprinus*: Gasterosteidae. Germany, p 5-41.
- Yerli, S. V., Mangit, F., Emiroğlu, Ö., Yeğen, V., Uysal, R., Ünlü, E., ... & Zengin, M. (2014). Distribution of Invasive *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) (Teleostei: Cyprinidae) in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(2), 581-590.
- Yılmaz, M., Yılmaz, S., Bostancı, D. and Polat, N. 2007. Bafra Balık Gölleri'nde yaşayan havuz balđı (*Carassius gibelio*, Bloch 1782)'nın beslenme rejimi. *Journal of FisheriesSciences.com*, 1(2):48- 57.
- Zhu, X., Xie, S., Zou, Z., Lei, W., Cui, Y., Yang, Y. and Wootton, R. J. 2004. Compensatory growth and food consumption in gibel carp, *Carassius auratus gibelio*, and Chinese longsnout catfish *Leiocassis longirostris*, experiencing cycles of feed deprivation and re-feeding. *Aquaculture*, 241: 235-247.

BÖLÜM 2
ATIKSU ARITIMINDA MİKROAGLERİN ROLÜ
VE ELDE EDİLEN BİYOKÜTLENİN BİYOYAKIT OLMA
POTANSİYELİ

Dr. Öğr. Üyesi Alper SOLMAZ ^{1*}

Öğr. Gör. Dr. Talip TURNA²

¹İskenderun Teknik Üniversitesi, İskenderun MYO., Hatay, Türkiye, alper.solmaz@iste.edu.tr, ORCID ID: 0000-0001-6928-3289

²Dicle Üniversitesi, Diyarbakır Teknik Bilimler MYO., Diyarbakır, Türkiye, talipturna@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-6318-7245

GİRİŞ

Günümüzde küresel ölçekte karar verici tür olan insanın, sayısının ve çeşitlenen ihtiyaçlarının kontrolsüz bir şekilde artması ekosistemi taşıma kapasitesi üzerinde çalışmaya zorlamaktadır. Bu ihtiyaçların karşılanması için oluşturulan yoğun çalışma ortamı, aşırı ve dengesiz kullanılan doğal kaynaklar, atık oluşturan sistemler yeni problemlere sebep olmaktadır. Bu üretim baskısı ekosistemin temel bileşenlerini su, hava, toprak, flora ve faunayı aşırı şekilde yormaktadır. Çevresel olguları tamamen bir kenara koyarak yapılan üretimler besin bulma açısından hem de atık oluşum miktarı açısından gelecek nesillere bırakılacak “sağlıklı bir dünya” olgusuna tereddütlerle yaklaşmayı akıllara getirmektedir. Bu tereddütleri azaltmak için yeni ve alternatif üretim yöntemleri üzerinde durulması çok önemlidir. Bu bağlamda özellikle su kirliliğinin giderilmesindeki rolü ve ayrıca canlılar için alternatif besin olarak kullanılabilme potansiyeli nedeniyle mikroalgler önemli bir konu olarak göze çarpmaktadır. Bu kapsamda değerlendirme yapıldığında özellikle atıksu arıtımında çevreci ve sürdürülebilir canlılar olan mikroalglerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Mikroalgler atık sudaki substrat ve nütriyentleri gideren günümüz klasik atıksu arıtma tesislerinde meydana gelen fazla aktif çamur bertaraf edilmek zorunda olunan bir kirletici statüsünde olduğundan dolayı arıtma işlemi için farklı ve sürdürülebilir yöntemler arayışı her geçen gün hız kazanmaktadır. Klasik aktif çamur sistemlerinde sadece aktif çamur oluşmamakta diğer taraftan aktif çamurdaki karbon gideren mikroorganizmalar ile nitrifikasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar için ihtiyaç duyulan oksijenin temini için çok ciddi miktarda elektrik enerjisi harcanmaktadır. İhtiyaç duyulan elektrik enerjisinin üretimi için ise günümüz şartlarında çoğunlukla petrol türevli yakıtlar kullanılmakta bu da doğal olarak küresel ısınmaya katkı sağlamaktadır.

Aşırı çamur oluşumu ve enerji tüketimleri sebebiyle klasik biyolojik nütriyet giderim sistemlerine alternatif olarak mikroalglerin kullanımı ile atıksu arıtım çalışmaları gün geçtikte popüler hale gelmektedir. Bunun iki temel sebebi mevcuttur. Birincisi atıksuda kirletici pozisyonunda bulunan azot ve fosforu mikroalgler besin olarak kullanmakta ve bunlardan yeni biyokütle üretmektedir. Üreyen yeni mikroalgal biyokütle fazla çamur olarak nitelendirilmekte bu da sistemden alınmaktadır. Bu biyokütle nihayetinde bünyesinde belirli miktar karbon, azot, fosfor ve diğer iz elementleri barındırdığı için başka sektörler için hammadde olarak değerlendirilebilmektedir. Örneğin gıda sanayisinde direkt besin kaynağı, tarımsal üretimde kimyasal gübrelere alternatif biyogübre, hayvan

yetiştiriciliğinde ham besin ya da bu besinlere katkı maddesi, kimya sanayisinde ham madde girdisi ve de içeriğinde bulunan yağ sayesinde biyoyakıt olarak kullanılabilenmektedir. İkincisi ise mikroalgal biyokütle aktif bir fotosentetik canlı olduğu için, arıtım/üreme sırasında atmosferde bulunan CO₂'yi kullanmakta buda küresel ısınma ile mücadeleye katkı sağlamaktadır. Bütün bu avantajlarından dolayı atıksu arıtımında çevreci ve ayrıca sürdürülebilir bir yöntem olan mikroalgal biyokütlenin kullanımının artırılması gerekmektedir.

1. MİKROALGLER

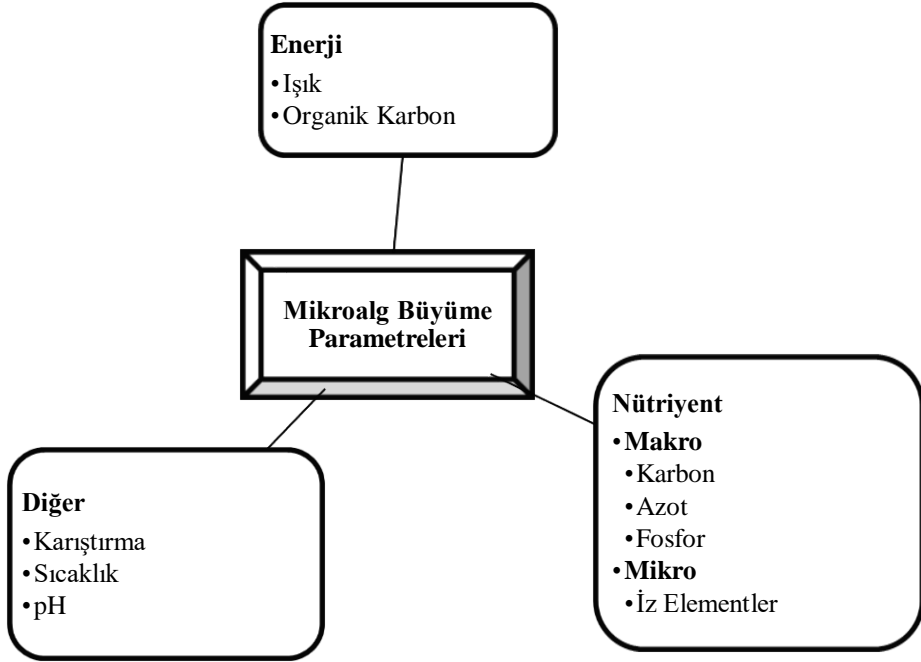
1.1. Mikroalgelerin Tanımı ve Yaşamsal Faaliyetleri

Mikroalgler CO₂ ve güneş ışığı sayesinde fotosentez yapan, genellikle ökaryotik türde olan, boyutları 1 µm civarından 60 metreye kadar ulaşabilen ve bünyelerinde klorofil barındıran canlılardır (Sahoo ve Baweja 2015; Solmaz 2018). 1836 yılından itibaren çeşitli sınıflandırmalar yapılmış olmakla birlikte 1935 yılında Fritsch tarafından yapılan sınıflandırmaya göre 11 ayrı sınıfa ayrıldığı belirtilmiştir. Bunlar Chlorophyceae (Green algae), Xanthophyceae (Yellow-green), Chrysophyceae (Orange algae) Bacillariophyceae, (Diatoms/yellow ya da golden brown algae), Cryptophyceae (Nearly brown), Dinophyceae (Dark yellow or brown), Chloromonadineae (Bright green), Euglenophyceae, Euglenophyceae (Brown algae), Rhodophyceae (Red algae), Myxophyceae (Cyanophyceae, blue green algae) “class” bazında olmakla birlikte “order” bazında 48 adet alt sınıflandırması bulunmaktadır (Baweja ve Sahoo 2015).

Mikroalglerin genel özelliklerine bakıldığında CO₂'yi inorganik karbon kaynağı olarak kullanan ototroflar yoğunlukta olmakla birlikte gün ışığını olmadan glikoz, galaktoz ve fruktozu hem enerji hem de karbon kaynağı olarak kullanan heterotrof türler ve vardır fakat bunların yanında mixotrofik diye tabir edilen (organik ve inorganik karbon kaynağının ikisini de kullanabilenler) türler de mevcuttur (Perez-Garcia et al. 2011; Abreu ve ark., 2012; Rashid ve ark., 2014).

Sucul ortamın temel besin kaynağı olan fitoplankton grubu mikroalg ve siyanobakterilerden oluşmaktadır. Doğada pek çok ortamda kolaylıkla yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilen mikroalgal biyokütle için Şekil 'de de görülebileceği üzere enerji kaynağı olarak öncelikle ışık ya da organik karbona ihtiyaç vardır. Bunun yanında makro nütriyentler (C, N, P) ve mikro nütriyentler (iz elementler) belirli oranlarda bulunmalı ve dahası ortamın

çevresel şartları (sıcaklık, karışım ve pH) uygun olması gerekmektedir (Razzak ve ark., 2013).



Şekil 1: Mikroalgal büyüme parametreleri.

1.2. Mikroalg Kültivasyon Sistemleri

Mikroalgler askıda ya da biyofilm olarak kültüre edilebilirler. Bunların uygulanması için genellikle açık ya da kapalı sistemler (fotobiyoreaktör) kullanılmaktadır (Jerney ve Spilling 2020).

Tablo 1. Farklı kültürasyon sistemleri

	Açık Sistemler	Kapalı Sistemler
Askıda sistemler	Durgun göletler Raceway pond İnce katmanlı akış şeritleri	Tüp Torba sistemler Flat paneller
Biyofilm sistemler	Algae turf scrubberler	

Açık Sistemler

Bu sistemlerin genel amacı gün ışığından faydalanmaktır. 1950’li yıllarda atıksu arıtımında denemeye başlanmıştır. Bu sistemlerin temel

avantajı işletme ve bakım maliyetlerinin çok düşük olmasıdır (Harun ve ark., 2010).

Kapalı Sistemler

Bu sistemler tamamen kullanıcının kontrolünde ilerlediği için ışık ve hava transferinin yanında etkili karışımda mümkündür. Dikey kolon tip, Flat panel tip, Tübüler tip, Karıştırmalı tip vs. gibi pek çok uygulaması mevcuttur (Brennan ve Owende 2010; Jerney ve Spilling 2020).

Açık ve kapalı sistemlerin birbirlerine göre avantajları ve bunların dezavantajları Tablo 2’de sunulmuştur (Kumar ve ark., 2015). Tablodan görülebileceği üzere klasik bir açık havuz kurmanın maliyeti, klasik bir fotobiyorektör kurmanın maliyetinden çok daha düşüktür. Ayrıca fotobiyorektörler açık havuzlar gibi çevre şartlarına açık olmayıp kontrollü bir şekilde işletildiği yani aydınlanma/karanlık periyodu, ışık şiddeti, havalandırma verimi, pH dengesi ve sıcaklık dengelemesi açık havuzlara göre daha kolay olduğu için mikroalgal biyokütlenin üretim verimi açık havuzlara göre daha yüksektir. Diğer taraftan fotobiyorektörlerin işletilmesi sırasında çok fazla değişkenin kontrol altında tutulma maliyeti açık havuzlarınkine göre oldukça yüksektir. Genel bir değerlendirmede bulunulacak olursa açık havuzların ticarileşme potansiyeli ise fotobiyorektörlere göre daha fazladır. Dolayısıyla üretilecek mikroalgal biyokütlenin ne amaçla kullanılacağına göre farklılık göstermektedir.

1.3. Mikroalg Biyokütlenin Faydalı Kullanım Alanları

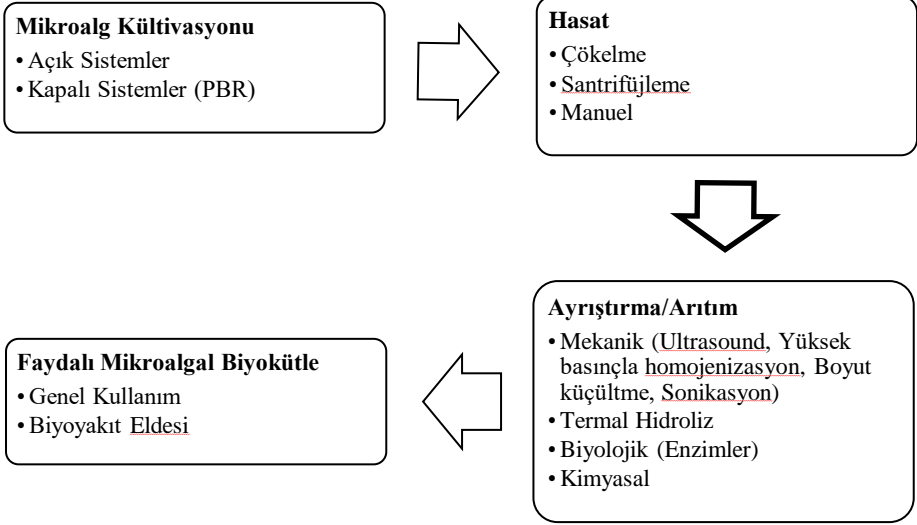
Mikroalgal biyokütleden ürün elde edebilmek bilindiği üzere açık ya da kapalı sistemlerde kültivasyon yapılmalı ardından üretilen biyokütle hasat edilmelidir. Hasat işlemi için kullanılan yöntemler klasik çökeltme, yüksek hızların kullanıldığı santrifüj işlemi ve büyük boyuttaki mikroalglerin fiziksel olarak toplanabileceği manuel yöntemlerdir.

Tablo 2: Açık havuzlar ile kapalı sistemlerin kıyaslanması

Öğeler	Açık Havuz	Fotobiyorektör
Fotokonversiyon verimi	~1,5%	~5%
Biomass derişimi	0,5 ⁻¹ Kg m ⁻³	2–9 Kg m ⁻³
Kültivasyon için gereken spesifik enerji ihtiyacı	0,5 ⁻⁴ W m ⁻³	2.5–15 W m ^{-3b}
Maximum enerji ihtiyacı (biodiesel ve biogas)	~ 81 MJ m ⁻² yıl ⁻¹	~269MJ m ⁻² yıl ⁻¹
Enerji (güç ve sıstıma) talebi	~57 MJ m ⁻² yıl ⁻¹	~207MJ m ⁻² yıl ⁻¹
Algal bikütlenin maliyeti	~2,66 \$ Kg ⁻¹	~7.32 \$ Kg ⁻¹

Ortalama lipid üretim maliyeti	~12,73 \$ / galon	~31.61 \$ \$ / galon
Volumetric algal productivities	0,12–0,48 g L ⁻¹ d ⁻¹	0,2–3,8 g L ⁻¹ d ⁻¹
Scale-up kapasitesi	~10,000 m ²	~100 m ²
Dünya çapında büyük ölçekli üretim tesisi	~95%	~5%
Küresel ısınma potansiyeli	Fosil türevli dizelden daha düşük	Fosil türevli dizelden daha yüksek
Kültivasyonda kullanılan alg türleri	Spesifik	Hepsi
İşletme, bakım ve temizlik	Kolay	Zahmetli, maliyetli ve zaman alıcı
Yatırım ve işletme maliyeti	Düşük	100 kat yüksek
Alan ihtiyacı	Yüksek	Depends
Işık enerjisi ihtiyacı	Yok	Maliyetli
Karıştırma için gereken enerji ihtiyacı	Düşük	Yüksek/İhtiyaca göre değişken
Hasat maliyeti	Yüksek	Orta
Yüzey / hacim oranı	Yüksek	Çok yüksek
Oksijen derişimindeki artış	Düşük	Çok yüksek
Hava şartlarına, buharlaşmaya ve kirlenmeye bağımlılık (Işıktaki ve sıcaklıkta dalgalanma)	Yüksek	Düşük

Bu yöntemlerle sıvıdan ayrılan mikroalgal biyokütle ultrason, yüksek basınç ve sonifikasyon gibi işlemlerin kullanıldığı mekanik yöntemler, termal hidroliz yöntemi, biyolojik olarak parçalama işlemleri ve çeşitli kimyasalların kullanıldığı ayırıştırma işlemleri sayesinde biyokütle kullanım amacına uygun hale getirilmek için dönüştürülür. Bu dönüşümün genel ifadesi Şekil 2’de sunulmuştur (Jankowska ve ark., 2017).



Şekil 2. Mikroalgal biyokütlenin üretiminde işlem sırası

Mikroalgal biyokütlelerin faydalı kullanım alanlarının belirlenmesinde temel alınan unsurların başında biyokütlenin karbonhidrat, protein, yağ ve enerji eldesi değerlendirilebilir. Tablo 3'te çeşitli biyokütlelerin kalite belirlemesi için kullanılan verimleri sıralanmıştır (Gerardo ve ark., 2014).

Tablo 3'te görüldüğü üzere mikroalgal biyokütlenin karbonhidrat oranına bakılacak olunursa insani gıda tüketimi ve hayvan besleme yemi olarak kullanılabilen mısırın karbonhidrat oranının en yüksek olduğu görülmekle birlikte mikroalgal biyokütlenin bünyesinde barındırdığı karbonhidrat oranı %8-64 aralığında olduğu görülmektedir. Bu oran türe, yetiştirilen ortama, besi kalitesine ve çevresel faktörlere göre değişkenlik göstermekle birlikte ortalama bir değer olan 36 değeri baz alınırsa palm yağı ve şeker kamışından daha yüksek bir değere sahip olduğu ve ayrıca da soya fasulyesi ile yarışabilecek bir düzeyde olduğu görülmektedir.

Tablo 3. Çeşitli biyokütlerin verim ve biyokimyasal kompozisyonu.

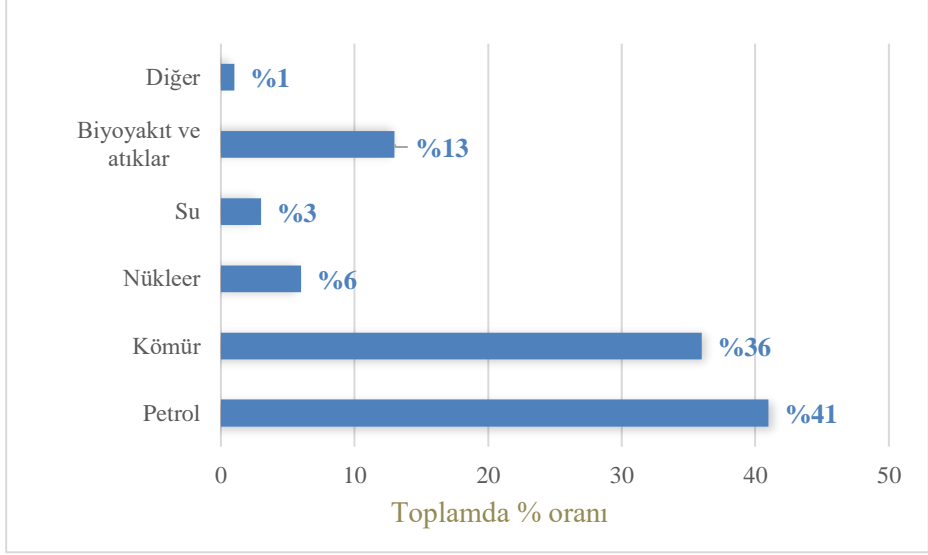
	Karbonhidrat (%)	Protein (%)	Yağ (%)	Enerji (MJ/kg kuru biyokütle)
Mikroalg	8-64	6-71	15-73	28
Odun (çam)	65	1	-	57
Palm Yağı	13-35	3-10	25-73	40
Mısır (Tohum olarak)	70-75	8-11	3-18	20
Soya fasulyesi	35	40	20	19
Şeker kamışı	12-16	-	-	3
Kolza tohumu	-	20	45	17

Diğer taraftan mikroalg biyokütlenin protein oranı da yine minimum ve maksimum değerlerinin ortalaması olan %34 değeri baz alınacak olursa palm yağı, mısır tohumu ve soya fasulyesinden daha yüksek protein değerine sahip olduğu ve de kolza tohumu ile yarışabilecek düzeyde olduğu açıktır. Ayrıca biyoyakıt olma potansiyelinin en önemli göstergesi olan yağ değeri incelenecek olursa ve yine değişken oranın ortalaması olan %44 değeri referans alınacak olursa, mikroalg biyokütlenin yağ içeriği mısır tohumu ve soya fasulyesinden daha fazla olduğu kolza tohumu ve palm yağı ile yarışabilecek bir orana sahip olduğu açıktır. Aynı şekilde ürünlerin direkt yakılması suretiyle elde edilen enerji değerleri değerlendirilecek olursa mikroalg biyokütlenin yakılması sonucu elde edilen enerji soya fasulyesi, mısır ve kolza tohumundan daha yüksek olduğu açıktır. Tüm bu veriler ışığında mikroalg yetiştiriciliğinde elde edilen biyokütlenin oldukça faydalı olduğu açıktır.

2. MİKROALGAL BİYOKÜTLEDEN BİYORYAKIT ELDESİ

Dünya genelinde enerji kaynakları yenilenebilir ve yenilenemez olarak iki kategoriye ayrılmıştır. Hiçbir dönüşüm yapılmadan direkt kullanılan enerji türlerine birincil enerji kaynakları (nükleer, petrol, doğalgaz, kömür, biyokütle, güneş vs..) çeşitli işlemler uygulandıktan sonra kullanılabilen enerji kaynaklarına (petrol türevli yakıtlar, elektrik vs..) ise ikincil enerji kaynakları denilmektedir (Şekil 3). Dünya çapında bir genelleme yapıldığında 2017 yılı için enerji kaynaklarının yaklaşık %34'ü petrol, %28'i kömür, %23'ü doğalgaz ve %14,8 lik kısmı ise diğer (yenilenebilir enerji, hidroelektrik,

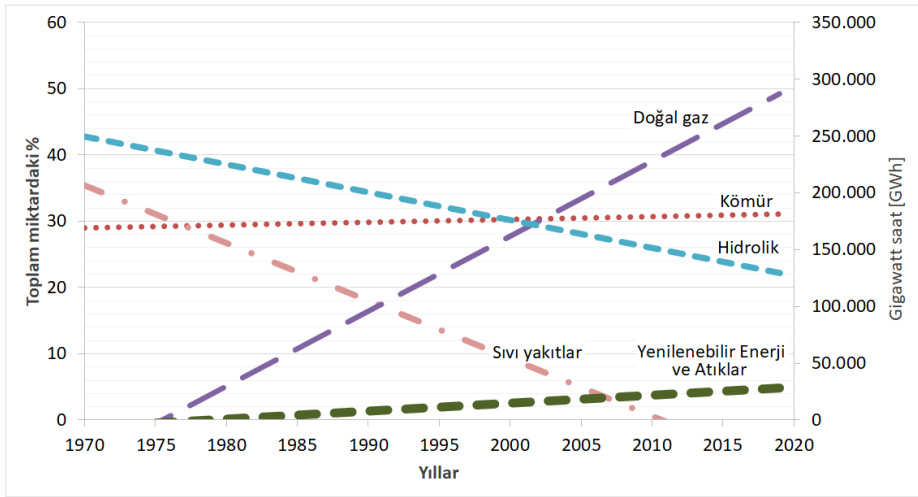
nükleer vs.) enerji kaynaklarından karşılanmaktadır (Sanghamitra ve ark., 2020).



Şekil 3. Çeşitli Kaynakların Dünyadaki Enerji Üretimindeki Payları

Ülkemiz özeline inildiğinde ise enerji kaynaklarının yaklaşık %31’ü petrol, %28’i kömür, %28’i doğalgaz ve %13’lük kısmı ise diğer (yenilenebilir enerji, hidroelektrik, güneş vs.) enerji kaynaklarından karşılanmaktadır (Şekil 4) (TÜİK 2020).

Petrol türevli yakıtların tüm yakıtlara oranı dünya çapında yaklaşık %86, ülkemizde ise yaklaşık %87 oranındadır (Sofraci ve Güney 2019). Petrole alternatif olarak bazı enerji bitkileri dünyada kullanılmıştır. Tablo 4’te petrole alternatif olan enerji bitlerinin sınıflandırması mevcuttur (Sanghamitra ve ark., 2020). Bilindiği üzere fosil yakıtlarının yanması sonucunda çevre kirliliği ve küresel ısınma meydana gelmektedir. Bu sorunun üstesinden gelebilmek için yenilenebilir, biyobozunabilir ve çevre dostu alternatif enerji kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Geçmiş yıllarda petrole alternatif enerji kaynakları olarak ilk önce 1G (1. nesil) gıda bitkileri kullanılmıştır.



Şekil 4. Ülkemizin elektrik enerjisi üretiminde enerji kaynakları ve bunların payı

Palm, soya fasulyesi, ayçiçeği ve mısır gibi gıda ürünlerinden biyoyakıt elde edilmiş fakat artan nüfusa yetecek gıda ürünlerindeki arz eksikliği nedeniyle insanlar tarafından tüketilen ürünlerin biyoyakıt olarak kullanılmasına sıcak bakılmamıştır. Bunun yerine 2G diye tabir edilen ve direkt gıda olarak kullanılmayan Jatropha, Karanja, Jajoba, Aspir, Kanola, Pelemir, Fiğ, Kolza, Tatlı sorgum ve Ketencik bitkileri kullanılmaya başlanmıştır. Fakat bu ürünler de verimli tarım arazilerini işgal ettiği için ve bu tarım alanlarının ile insani tüketim ürünlerinin ekiminde kullanılabilme olgusundan dolayı bu bitkilerden de biyoyakıt eldesi sürdürülebilir değildir. Bunların yerine verimli tarım alanlarını işgal etmeyen aksine kurak yerlerde dahi yetiştirilme potansiyeli olan 3. nesil ürünler olan Algae (micro, macro), Cyanobacteria ve Diatoms gibi canlıların kullanılması planlanmaktadır.

Tablo 4: Biyoyakıtların sınıflandırılması.

Generation	Hammadde	Örnekler
1G	Gıda bitkileri	Palm, Soya fasulyesi, Ayçiçeği, Mısır vb.
2G	Gıda dışı ürünler ve lignoselüloz biyokütlesi	Jatropha, Karanja, Jajoba, Aspir, Kanola, Pelemir, Fiğ, Kolza, Tatlı sorgum, Ketencik...
3G	Su bitkileri, mikro organizmalar	Algae (micro, macro), Cyanobacteria, Diatoms, vs.
Advanced	Genetiği değiştirilmiş hammadde	Genetiği değiştirilmiş 2G ve 3G

Diğer taraftan teknolojik gelişimler de göz önüne bulundurulduğunda 2. ve 3. nesil ürünlerin genetiğinin değiştirilmesi ise ileri nesil ürünlerin araştırmaları mevcuttur. Sayılan ürünlerden en dikkat çeken sürdürülebilir olduğu için mikroalglerdir. Mikroalgler yaşamsal faaliyetleri gereği CO₂'yi tükettiği için hem küresel çapta küresel ısınmanın önüne geçmeye çalışmakta hem oluşan biyokütleden yağ elde edilmesi sonucunda biyodizel elde edilmesiyle petrole alternatif olmaktadır. Ayrıca biyodizel içeriğinde sülfür ve diğer aromatik bileşikler olmadığı için oldukça popülerdir (Ambat ve ark., 2019). Hektar başına üretilen biyodizel miktarlarına bakıldığında mısırdaki 172 L/ha, kanolada 1.190 L/ha ve palm yağında 5.950 L/ha iken mikroalglerde ise bu değer 58.700 L/ha (kuru madde %30 yağ içeriği olan mikroalg) olarak hesaplanmıştır (Gouveia ve Oliveira 2009; Bhagea ve ark., 2019). Dolayısıyla biyodizel üretiminde soya fasulyesi, mısır tohumu, palm yağı, kolza tohumu ya da ay çekirdeği kullanıldığında tarım alanları gereksiz yere işgal edilmiş olmaktadır.

3. ATIKSU ARITIMINDA MİKROAGLER ve BİYİYAKIT POPTANSİYELİ

Dünyada ve ülkemizde atıksu arıtımı temel olarak fiziksel, kimyasal, biyolojik ve çamur arıtımından ibarettir. Çıkış suyunun deşarj edildiği su kütlesinin hassasiyeti ve/veya çıkış suyunun farklı maksatlarla kullanımı olduğu durumlarda ileri arıtım metotları uygulanmaktadır. Fakat genellikle atıksuları alıcı ortama deşarj etmek için biyolojik arıtmadan geçirmek gerekmektedir. Bu işlem için genellikle klasik biyolojik nütriyent giderim sistemleri kullanılmaktadır. Bu sistemlerde mikroorganizmalar (çoğunlukla klasik aktif çamur) atıksudaki C, N ve P'yi tutar. Bunun için oksik ve anoksik şartların sağlanması, çeşitli geri döngülerin ayarlanması vs. gibi pek çok ara işlem uygulanmaktadır. Bunların tamamının uygun koşullarda bir araya gelmesi ile arıtma işlemi gerçekleşerek alıcı ortama bırakılan C, N ve P derişimleri düşürülmektedir (Metcalf ve Eddy 2013).

Hiç arıtımı yapılmamış hayvancılık, tarımsal veya kuvvetli kentsel nitelikli atıksularda toplam azot derişimi yaklaşık 10-1000 mg/L aralığında, toplam fosfor derişimi 9-110 mg/L aralığından değişmektedir. Diğer taraftan evsel atıksuları veya ön çökeltim çıkış sularında toplam azot derişimi 20-80 mg/L aralığında, toplam fosfor derişimi ise 3-7 mg/L aralığında değişmektedir. Son olarak arıtımı yapılmış evsel atıksular için ülkemizde ve dünya genelinde toplam azot için müsaade edilen sınır değeri 5-30 mg/L ve toplam fosfor için ise 0,2-3 mg/L aralığındadır (Wu ve ark., 2014).

Dolayısıyla her 3 durumda da atıksu ya da arıtılmış atıksu bünyesinde ciddi miktarda N ve P mevcuttur. Bu N ve P alıcı ortamda nitrifikasyona neden olmaktadır.

Klasik biyolojik nütriyet giderim sistemlerinde mecburi olarak fazla aktif çamur oluşmaktadır. Ülkemizde atıksuların arıtımı sonucu yılda yaklaşık %20 kurulukta yaklaşık 7-8 milyon m³ arıtma çamuru oluşmaktadır ki bu da neredeyse 400.000 ton kuru maddeye eşdeğerdir (Tübitak 2015; Özdemir 2016; Yüksekdağ ve ark., 2020). 2016 yılında İnegöl Belediyesi ve İnegöl OSB arıtma tesisi çamur kurutma ve ünitesi projesi için 7 milyon USD, Antalya ili arıtma çamuru için 6,5 milyon Euro, Gaziantep OSB arıtma çamuru için yaklaşık 8 milyon TL ve Gaziantep belediyesi arıtma çamuru için ise 8,88 milyon TL olarak rapor edilmiştir (Bay ve ark., 2016). Bahsedilen rakamlardan görüldüğü üzere çamur bertaraf maliyetleri zaten arıtma tesisini işletmekte zorlanan belediye ve kurumlara ekstra maliyet yüklemektedir. Dolayısıyla atıksu arıtımında oluşan çamur çok ciddi bir çevresel problemdir ve bunun için daha az çamur üretimi ya da farklı alternatifleri olan prosesler aranmalıdır. Bu proseslerden en dikkat çeken mikroalgler ile yapılan arıtım teknolojileridir. Bu teknoloji ile bertaraf zorunluğu olan aktif çamur sistemleri ile atıksu arıtımı yapmak yerine bu arıtımı mikroalgler vasıtasıyla yapmak, oluşan biokütlenin faydalı kullanım alanı düşünüldüğünde tercih edilmesi gereken bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu olgular göz önüne alındığında atıksu arıtımını mikroalgler ile yapmak sürdürülebilir kalkınmaya ciddi katkı sağlayacaktır.

Atıksu arıtımında mikroalglerin kullanımı incelendiğinde hem ham atıksu, fiziksel arıtmadan geçmiş atıksu ya da biyolojik arıtmadan geçmiş atıksu mikroalgler ile arıtılmaya çalışılmış ve N ve P derişimlerinde yüksek giderim verimlerine ulaşıldığı rapor edilmiştir. (Olsson ve ark., 2014; Shi ve ark., 2014). 2009 ve 2011 yıllarında yapılan çalışmalarda ham evsel nitelikteki atıksu mikroalgler vasıtasıyla arıtılarak elde edilen biyokütlenin yağ oranı %11 ve %22 olarak ölçülmüştür (Woertz ve ark., 2009; Cho ve ark., 2017). Diğer taraftan farklı bir araştırmada hem ham atıksu hem de arıtılmış atıksu ayrı ayrı mikroalgler yardımıyla arıtılmış ve ham atıksuda %21,35 oranında yağ elde edilmişken arıtılmış atıksuyun mikroalgler ile arıtımında elde edilen biyokütlenin yağ içeriği ise %23,62 olarak ölçülmüştür (Hena ve ark., 2015)..

SONUÇ

Küresel ısınmanın etkilerini daha net bir şekilde hissettiğimiz şu günlerde yeşil fabrikalar diye nitelendirilen mikroalglerin atıksu arıtımında kullanımı biyosferdeki CO₂'nin azaltılmasına katkı sunmaktadır. Bu sayede küresel ısınmanın hızı yavaşlayabilir. Ayrıca oluşan faydalı biyokütleden biyoyakıt elde edilerek fosil yakıtlara olan bağımlılık azalmış olacaktır. Bu konu küresel bazda ele alındığında mikroalg yetiştiriciliği ve biyoyakıt üretimi için atıksuların kullanımı biyoyakıt üretimi için girdi maliyetlerinin azalmasına neden olabilir. Sürdürüle enerji kaynaklarından biri olan mikroalgal biyokütlenin gelecekte fosil kıtlara alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abreu AP, Fernandes B, Vicente AA, et al (2012) Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *Bioresour Technol* 118:61–66. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.055>
- Ambat I, Tang WZ, Sillanpää M (2019) Statistical analysis of sustainable production of algal biomass from wastewater treatment process. *Biomass and Bioenergy* 120:471–478
- Baweja P, Sahoo D (2015) Classification of Algae. In: Joseph S (ed) *The Algae World*. Springer, Netherlands, pp 31–55
- Bay T, Kara EE, Baysec S, et al (2016) Method of Incineration as a Means of Getting Rid of Sewage Sludge in Turkey and the World
- Bhagea R, Bhoyroo V, Puchooa D (2019) Microalgae: the next best alternative to fossil fuels after biomass. A review. *Microbiol Res (Pavia)* 10:. <https://doi.org/10.4081/mr.2019.7936>
- Brennan L, Owende P (2010) Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14:557–577
- Cho HU, Cho HU, Park JM, et al (2017) Enhanced microalgal biomass and lipid production from a consortium of indigenous microalgae and bacteria present in municipal wastewater under gradually mixotrophic culture conditions. *Bioresour Technol* 228:290–297. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.094>
- Gerardo ML, Oatley-Radcliffe DL, Lovitt RW (2014) Integration of membrane technology in microalgae biorefineries. *J Memb Sci* 464:86–99. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.04.010>
- Gouveia L, Oliveira AC (2009) Microalgae as a raw material for biofuels production. *J Ind Microbiol Biotechnol* 36:269–274. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0495-6>
- Harun R, Singh M, Forde GM, Danquah MK (2010) Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14:1037–1047
- Hena S, Fatimah S, Tabassum S (2015) Cultivation of algae consortium in a dairy farm wastewater for biodiesel production. *Water Resour Ind* 10:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2015.02.002>
- Jankowska E, Sahu AK, Oleskiewicz-Popiel P (2017) Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and

- pretreatment for anaerobic digestion. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 75:692–709
- Jerney J, Spilling K (2020) Large Scale Cultivation of Microalgae: Open and Closed Systems. *Methods Mol Biol* 1980:1–8. https://doi.org/10.1007/7651_2018_130/COVER
- Kumar K, Mishra SK, Shrivastav A, et al (2015) Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. Elsevier Ltd
- Metcalf & Eddy (2013) *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery*, 5th edn. McGraw-Hill Education
- Olsson J, Feng XM, Ascue J, et al (2014) Co-digestion of cultivated microalgae and sewage sludge from municipal waste water treatment. *Bioresour Technol* 171:203–210. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.069>
- Özdemir Ö (2016) İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisinde Sürdürülebilir İşletme İçin Revizyon ve Enerji Verimliliği: Malatya Örneği, Adıyaman Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi
- Perez-Garcia O, Escalante FME, De-Bashan LE, Bashan Y (2011) Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Res.* 45:11–36
- Rashid N, Ur Rehman MS, Sadiq M, et al (2014) Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renew Sustain Energy Rev* 40:760–778. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2014.07.104>
- Razzak SA, Hossain MM, Lucky RA, et al (2013) Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing - A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 27:622–653
- Sahoo D, Baweja P (2015) General Characteristics of Algae. In: Joseph S (ed) *The Algae World*. Springer, Netherlands, pp 3–29
- Sanghamitra S, Deshmukh S, Narayan KP (2020) Effects of alternate nutrient medium on microalgae biomass and lipid production as a bioenergy source for fuel production. *Mater Today Proc* 28:659–664. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.12.238>
- Shi J, Podola B, Melkonian M (2014) Application of a prototype-scale twin-layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. *Bioresour Technol* 154:260–266. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.100>

- Sofraci İE, Güney G (2019) Türkiye’de Petrol Piyasasında Regülasyon Uygulamalarının Değerlendirilmesi. *Al-Farabi Int J Soc Sci* 4:138–148
- Solmaz A (2018) Mikroalgal batık membran fotobiyoreaktör ile biyokütle üretimi ve nütriyent giderimi. Aksaray Üniversitesi
- Tübitak (2015) Eysel/Kentsel Arıtma Çamurlarının Yönetimi Projesi. In: TÜBİTAK 1007 -108G190, Kamu Projesi. <https://cygm.csb.gov.tr/evsel-kentsel-aritma-camurlarinin-yonetimi-projesi-duyuru-33959>. Accessed 25 May 2020
- TÜİK (2020) Çevre ve Enerji İstatistikleri. In: Türkiye İstatistik Kurumu. <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=Cevre-ve-Enerji-103>. Accessed 5 Nov 2022
- Woertz I, Feffer A, Lundquist T, Nelson Y (2009) Algae grown on dairy and municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock. *J Environ Eng* 135:1115–1122. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000129](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000129)
- Wu YH, Hu HY, Yu Y, et al (2014) Microalgal species for sustainable biomass/lipid production using wastewater as resource: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 33:675–688
- Yüksekdağ M, Gökpınar S, Yelmen B (2020) Atıksu Arıtma Tesislerinde Arıtma Çamurları ve Bertaraf Uygulamaları. *Eur J Sci Technol* 18:895–904. <https://doi.org/10.31590/ejosat.699952>

BÖLÜM 3

BİYOÇEŞİTLİLİĞİNİN KORUNMASINDA TOHUM BANKASININ ROLÜ¹

Prof. Dr. Serap KIRMIZI¹

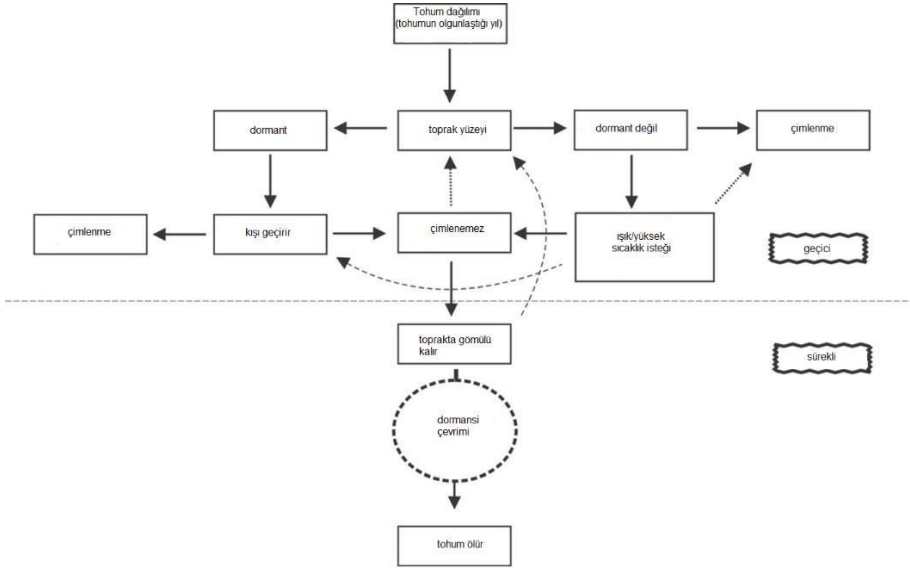
¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Gemlik Asım Kocabıyık Meslek Yüksekokulu, Bahçe Tarımı Programı, Gemlik, Bursa, TÜRKİYE, skirmizi@uludag.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-2680-9815

GİRİŞ

Çeşitli doğal ve antropojenik baskılar, ekosistemleri zorlamakta ve bunun sonucunda biyolojik çeşitlilikte azalma olmaktadır. Literatürde bu zorlanma konusu üzerinde önemle durulurken, daha çok toprak üstünde bulunan vejetasyona önem verilmekte ve toprak altında bulunan tohum bankası önemsenmemektedir. Toprakta bulunan tohum bankası, bir ekosistemin kurtarılmasında çok önemli bir role sahiptir. Bir ekosistemin dirençliliği, tohum bankasının büyüklüğü ve kalıcılığına bağlıdır (An ve ark., 2022).

Dağlardaki alpin bölgelerde tür çeşitliliği yüzdesi yüksektir. Bunu etkileyen faktörler arasında turistik aktiviteler, otel inşaatları, kış sporlarının pistleri, hayvanların otlatılması ve ekonomik bitkilerin doğadan toplanışı gibi doğanın dengesini bozan birçok faaliyet bulunmaktadır. Aynı zamanda, bütün bu etkenler bütün dünyada diğer ekosistemleri de etkilemektedir ve alpin bölgelerin de bunlardan etkilenmesi mümkündür. Alpin bölgeler bütün enlemlerde görülebilirken, ağaçların yetişebileceği sınırdan yukarıda yetişebilen bitki topluluklarını barındırır. Bu yüksek rakım bitki toplulukları, sert rüzgârlı, çok düşük sıcaklıklar, gelişme mevsiminin kısa sürmesi, topraklardaki besin maddelerinin azlığı ve daha birçok zorlu koşullara meydan okurlar. Zor büyüme koşullarına rağmen, alpin bölgelerinde endemizm oranı % 4' tür. Bu komünitelerin bitkilerini bir arada tutan kuvvetlerden birisi de tohumlarının sahip olduğu bazı özel karakterlerdir (Ceriani ve Cerabolini, 2014). Bu noktada karşımıza çıkan önemli bir karakter de tohumların ağırlığıdır ve tohumların ağırlığı topraktaki tohum bankasında kalış sürecini etkiler ve bu da ilgili türlerin rekabet şansını artırır (Tilman, 1994).

Alpin çevre koşullarında türlerin ve mikrohabitat çeşitliliği fazla olduğu için çimlenme özellikleri ve dormansi çeşitleriyle ilgili de varyasyonlar bulunmaktadır ve bu da alpin bitkiler için ortak bir çimlenme stratejisinin bulunmasına engel olur (Körner, 2003; Hoyle ve ark., 2015). Ayrıca, bazı alpin bitkilerin tohumları derin fizyolojik dormansi gösterip ışığa ihtiyaç duyarken, diğer bazı alpin bitki tohumları ise dormansi göstermezler ve karanlık ve düşük sıcaklıkta çimlenebilme özelliğine sahip olabilirler. Tudela-Islanda ve ark., (2017) çimlenme oranının toprağın ana kayasına ve habitat kökenine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil.1. Ana bitkiden dağılıp toprağa düştükten sonra tohumların durumu

Alpin bitkilerin kontrollü koşullarda düşük çimlenme göstermeleri bu bitkilerin uzun süreli tohum bankası oluşturabilmelerine yardımcı bir özelliktir (Mondoni ve ark., 2012). Ayrıca bu zorlu koşullarda fidelerin canlı kalma oranı düşeceğinden uzun süreli bir tohum bankası oluşturma şeklinde bir ekolojik stratejiye yönelebilmeleri muhtemeldir. Tohum ağırlığının yükseklik arttıkça düşme eğiliminde olduğu da gösterilmiştir (Baker,1972) Bununla beraber, alpin bitkilerde yıllar arasında tohum ağırlıklarının değişebileceği de göz ardı edilmemelidir. Tohum bankasında yani toprakta tohumlar düşük toprak sıcaklıklarında bekleyecekleri için tohumların canlılık süreleri de artmaktadır. Bu nedenle, aslında bütün alpin bitki tohumlarının toprakta bir süre beklemeleri onlar için avantajlı bir durumdur.

Tohum bankası, bitkiden tohumların dağılıp toprağa düşmesiyle başlamakta, tohum canlılığının bitmesi ya da çimlenmesi ile sonlanmaktadır (Şekil 1). Tohumlar ana bitkiden dağıldığında ve toprakla buluştuklarında örneğin tropik bölgelerde kurak mevsim ile ya da alpin bölgelerde de soğuk mevsim ile karşılaşılırlar. Bu yüzden tohumların dormansi özellikleri bir sonraki uygun mevsimi yakalayabilmek için, onların canlılığının korunmasında avantaj sağlar. Çimlenme bitkiden tohumların ilk dağılımlarının sonrasında büyüme mevsiminde hızlanır ve yıllar boyunca

yavaşlayarak sürebilir (Baskin ve Baskin, 2014). Geçici yani kısa süreli tohum bankası oluşturan tohumlardan ilk sonbahar mevsiminde çimlenebilenler tip 1 ve bahar mevsiminde çimlenebilenler tip 2 olarak kabul edilir. Jaganathan ve ark., (2019) tarafından, kalıcı yani uzun süreli tohum bankası oluşturularak, dağıldıktan kısa bir süre sonra çoğunluğu çimlenebilenler tip 3, bunların çimlenmeden duran az bir kısmı tip 4, olarak ifade edilmiştir.

Long ve ark., (2015) ise toprakta kalıcı olan tohumların durumunu şöyle açıklamışlardır; olgunlaşma ve dağılma sonrası çimlenmelerden sonra tohumların % 50 si hala toprakta çimlenmeyip kaldı ise kalıcı olması demektir. Tohumların toprakta kaldığı bu süre, komünitelerin sürdürülmesi, floranın yenilenmesi, zirai ve yabani ot kontrolünde önem arz eder. Bazen madencilik faaliyetleri için toprağın üst tabakası uzaklaştırılınca tohumlar da uzaklaştırılacağından dolayı tohum rezervinin korunması için bu üst tabaka korunup saklanılmaktadır. Bazı durumlarda da tohum bankasında korunmuş olan tohumlar kapanmış madenlerin alanlarında *ex situ* restorasyon amacıyla kullanılabilir. İlâveten, tohumların sahip oldukları gıda maddeleri sebebiyle böcekler tarafından tercih edilebileceklerinden, örneğin karıncaların elaiyozumlu tohumları yuvalarına taşımaları gibi, tohumları toprağın alt tabakalarına taşıyıp tohumların kalıcı hale gelmelerine yardımcı olmaları sözü konusu olabilmektedir. Bazı durumlarda da hayvanların sindirim sisteminden geçerek dışkı ile birlikte dışarı çıkarlar ve böylece farklı derinliklere gidebilirler. Angiosperm türlerinin yaklaşık % 4,5'u toprak altındaki karıncalar vasıtasıyla aşağı derinliklere taşındığı tahmin edilmektedir.

Tohum bankaları esasen, yıllar boyunca bir ortamda bulunan bir bitki topluluğunun tohumların toprağa giriş çıkışları yoluyla sürdürüldüğü bir bileşenidir. Tohumların toprakta kalıcı olup olmadıklarının tespit edilmesine yönelik belirli yöntemler bulunmaktadır;

- Radyoaktif etiketlenmiş karbon metoduyla tohum yaşının belirlenmesi ile,
- Tohumların toprağa gömülerek ve belirli zaman aralıklarıyla çıkarılıp çimlenme ve canlılık oranlarının belirlenmesi ile,
- Toprakta tohumların durduğu derinliğin tespit edilmesi ile,
- Süksesyonel gruplara göre tohum bankasını belirlenmesi ile,

-Tohum dağılımı ve tohum bankasının mevsimler arasındaki değişim dinamiklerinin karşılaştırılması ile.

Alpin türlerde kontrollü laboratuvar koşullarında bulunan düşük çimlenme oranları ile kalıcı tohum bankası oluşturabilmeleri arasında bağlantı bulunması muhtemeldir (Mondoni ve ark. (2012), ve bu düşük yerleşme şansına sahip türler için ekolojik bir davranış olabilir.

Bu çalışmada Uludağ'da yetişen bazı nadir ve endemik bitkilerin tohum ağırlıkları ve dormansi durumları belirlenmiş ve bu özelliklerin toprakta tohumların kalıcılıkları ile bağlantısı değerlendirilmiştir.

MATERYAL ve METOD

Uludağ' da alpin ve subalpin bölgede yayılış gösteren bitkilerin tohumları 2007 yılından itibaren 7 yıllık bir süreç boyunca aralıklı olarak toplanmış, kurutulma ve kabuklarından temizlendikten sonra çimlenme testleri yapılmıştır. Çimlenme ortamı olarak Petri kaplarına ekilmişlerdir ve 3 ml saf su ile inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon koşulları karanlık ve fotoperiyot (20°C; 20/10°C) uygulanmıştır. Tohum çimlenmesi 25 gün kontrol edilip sayılmış ve süre sonunda çimlenme yüzdeleri belirlenmiştir. Dormant tohumlarda dormansinin kırılması için Gibberellik asit ve/veya nemli üşütme uygulanmıştır. Kurutulmuş ve ayıklanmış tohumlar tartılarak (100 tohum), ağırlık ortalamaları alınmıştır.

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Elde edilen sonuçlara göre türlerin çoğunda tohumların dormansiye sahip olduğu ve dormansi tiplerinin de fizyolojik dormansi olduğu belirlenmiştir. (Tablo 1). Çalıştığımız türlerden 4 adetinin dormant tohumlara sahip olmadığı, 21 adetinin ise tohumlarının dormant olduğu gözlenmiştir. Genellikle alpin türlerin ortak bir özelliği olan küçük ve hafif tohum özelliğine sahip oldukları gözlenmiştir. Bu türlerden en düşük ve en yüksek tohum ağırlıkları 0.15-5.15 mg aralığında bulunmuştur.

Tohum ağırlıklarının alpin bölgelerde belirlendiği bir çalışmanın sonuçlarına göre 1011 türden 886'sında düşük tohum ağırlığı (0-3 mg) görülmüştür. Bu çalışmada ise sadece üç türde tohum ağırlığı 3 mg üzerinde olarak tespit edilmiştir. Tohum bankasındaki türlerin kalıcılığı veya uzun süreli tohum bankası oluşturabilmeleri sadece ağırlık veya şekil ile ilintili

değil, bunu etkileyen faktörler arasında tek yıllık veya çok yıllık olmaları, böcekler, toprağın parçacık yapısı da vardır. Tibet dağlarında bol olarak görülen ot tohumlarının genelde küçük olduğu, yani tohum boyutunun tür bolluğuna da etki ettiği bulunmuştur (Chu ve ark., 2017). Buna ilaveten, küçük tohumların toprağın derinliklerine daha rahat hareket edebilmelerinden dolayı dağılma sonrası yırtıcı hayvanlardan kaçabildikleri ve bundan dolayı daha uzun süre toprakta kalabildikleri konusunda kanıtlar da bulunmaktadır (Peco ve ark., 2003; An ve ark., 2022). Toprağın derinlerinde bulunan tohumların yüzeye yakın olanlardan küçük olması beklenen bir durumdur, fakat alpin florada bu konuda yapılan çalışmalar henüz çok az ve tür sayısı çok değildir. Avusturya Alpleri ve Tibet platosunda tohumların toprakta vertikal yönde hareketliliğini araştıran az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu durumda hangi derinliğin tohumlar için güvenli olduğu da önem kazanmaktadır. Ma ve ark. (2010), 15 cm derinlikte bulunan (doğal olarak gömülü) tohumların çıkarılınca optimal koşullarda çimlenip gelişebildiklerini ortaya koymuşlardır. Schweinbacher ve ark. (2010), 3 cm toprak derinliğine yerleştirilen tohumların 5 yıl sonra da çimlendiklerini kanıtlamışlardır. Bu tohumların yaklaşık olarak ne kadar süre ile toprakta canlı kalabildikleri konusunda kesin bir bilgi bulunmamaktadır ve türe özgü bir farklılıklar söz konusudur. Mc Graw ve ark. (1991) tarafından Alaska tundrasında bulunan *Carex bigelowii* ve *Luzula parviflora* tohumlarının hızlandırılmış kütle spektrometresi ile 2-3 yıl canlı kaldıkları tespit edilmiştir. Tohum ağırlığı ve ömrü ile ilgili çalışmalarda genelleme yapmanın mümkün olmadığı bu sonuçlar, muhtemelen farklı deneysel metodlardan kaynaklanmaktadır. Bazı deneyler kontrollü koşullarda (Cerabolini ve ark., 2003), bazıları ise toprağa gömülme şeklinde (Schweinbacher ve ark., 2011), yapılmıştır ve her deney yönteminin bazı avantajlı ve dezavantajlı yönleri olabilmektedir.

Tablo 1. Alpin türlerinde ortalama tohum ağırlıkları, dormansi tipleri ve muhtemel tohum bankası tipleri FD: Fizyolojik dormansi

Tür	Familyası	Tohum ağırlığı (mg)	Dormansi durumu	Dormansi tipi	Muhtemel tohum bankası tipi
<i>Hypericum adenotrichum</i>	Hypericaceae	0.2	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Allium flavum</i>	Liliaceae	1.6	Dormant	FD	Geçici
<i>Allium olympicum</i>	Liliaceae	1.1	Dormant	FD	Geçici
<i>Allium guttatum</i>	Liliaceae	0.6	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Muscari bourgaei</i>	Liliaceae	3.2	Dormant	FD	Geçici
<i>Pedicularis olympica</i>	Scrophulariaceae	0.6	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Verbascum olympicum</i>	Scrophulariaceae	0.15	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Androsace villosa</i>	Androsaceae	1.8	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Lamium veronicifolium</i>	Lamiaceae	2.3	Dormant	FD	Geçici
<i>Astragalus sibtorphanus</i>	Fabaceae	3.8	Dormant	-	Geçici
<i>Senecio olympicus</i>	Asteraceae	5.5	Dormant	FD	Geçici
<i>Centaurea drabinifolia</i>	Asteraceae	2.1	Dormant değil	-	Kalıcı
<i>Tripleurospermum pichlerii</i>	Asteraceae	0.2	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Circium leucopsis</i>	Asteraceae	1.3	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Ferulago macrosciadia</i>	Apiaceae	1.3	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Dianthus leucophaeus</i>	Caryophyllaceae	1.3	Dormant değil	-	Kalıcı
<i>Gypsophila olympica</i>	Caryophyllaceae	0.7	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Silene rhyncocarpa</i>	Caryophyllaceae	0.7	Dormant değil	-	Kalıcı
<i>Matthiola montana</i>	Brassicaceae	5	Dormant değil	-	Geçici
<i>Aubrieta olympica</i>	Brassicaceae	0.2	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Draba brunifolia</i>	Brassicaceae	0.4	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Thlaspi lilacinum</i>	Brassicaceae	1.9	Dormant	FD	Kalıcı
<i>Thlaspi papillosum</i>	Brassicaceae	2.2	Dormant	FD	Kalıcı

Tohum bankasında canlı tohumların bulunması vejetasyonun yenilenebilmesinin ön koşuludur (Valkó ve ark., 2011; Eskelinen ve ark., 2021; Yang ve ark., 2021). Toprak tohum bankaları ekosistemin önemli bir parçasıdır (Eskelinen ve ark, 2021), ayrıca, kalıcı tohum bankası geçici tohum bankasından daha önemli ve esnektir. Kalıcı tohum bankasının miktarında bir artış ekosistem esnekliğinde bir artış anlamına gelir. Ancak, geçici ve kalıcı

tohum bankalarının, özellikle bitki örtüsünü ciddi şekilde bozan otlatmanın etkileri arttığında, ekosistem direncinin ve bitki topluluğunun yenilenmesini nasıl teşvik ettiği bilinmemektedir. Kalıcı tohum bankası konusunda bilgi sahibi olunması türlerin korunması ve muhtemel restorasyon çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Bozulmuş çevrenin tekrar eski haline döndürülmesi ve idaresi için de toprak tohum bankaları önemlidir. Thomson ve ark. (1993, 2003) bu konuda yapmış oldukları çalışmalarda kalıcı yani uzun ömürlü tohumların küçük ve yuvarlak, kısa ömürlü tohumların da uzun, geniş ve düz şekilli ve büyük olduklarını göstermiştir. Yine Thompson'un yaptığı sınıflamaya göre;

- Canlılık süresi 1yıldan daha az olabilenler geçici olup bunlara Tip 1 tohum bankası denilmektedir,
- Canlılık süresi 1-5 yıl arası olanlar kısa ömürlü olup, bunlara Tip 2 tohum bankası denilmektedir,
- Canlılık süresi uzun olup, en az 5 yıl toprakta canlı olabilenlere Tip 3 tohum bankası denilmektedir.

Küçük tohumların, taşlar arasındaki boşluklara tutunma, yağmurda yıkanma yoluyla toprağa girmek, hayvanlar tarafından yutulup ve sindirim sisteminden geçerek toprağa girmeleri gibi yollar muhtemeldir. *Erodium* gibi özel yapılara sahip tohumlar kendi kendilerine toprağa gömülebilirler. Peart (1984) tarafından toprağa kolayca gömülen küçük tohumları için aynı zamanda başarılı bir fide gelişiminin gerekli olduğu gösterilmiştir.

Örneğin Uludağ'daki veya herhangi bir lokalitede yukarıda belirtilen nedenlerle herhangi bir tür vejetasyondan yok olduğunda ya da neslin tehlike altında olduğu durumlarda ilgili tür, toprakta tohum bankasında bulunan tohumlarından çoğalabilir, ya da *ex situ* olarak tohum gen bankasında saklanan tohumları kullanılarak bitkinin çoğaltılabilmesi de mümkün olabilir. Tüm dünyada biyolojik çeşitliliğin azalıyor olması nedeniyle bu tip çalışmalar günümüzde hız kazanmıştır.

KAYNAKLAR

- An, H., Baskin, C.C., & Ma, M. (2022). Nonlinear response of the soil seed bank and its role in plant community regeneration with increased grazing disturbance. *Journal of Applied Ecology*, 59, 2593–2603.
- Cerabolini, B., De Andreis, R., Ceriani, R.M., Pierce, S., & Raimondi, B. (2004). Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. *Biological Conservation*, 117, 351 – 356.
- Chu, C. J., Y. S. Wang, G. Z. Du, F. T. Maestre, Y.-J. Luo, & Wang, G. (2007). On the balance between niche and neutral processes as drivers of community structure along a successional gradient: insights from alpine and sub-alpine meadow communities. *Annals of Botany*, 100, 807–812.
- Eskelinen, A., Elwood, E., Harrison, S., Beyen, E., & Gremer, J. R. (2021). Vulnerability of grassland seed banks to resource-enhancing global changes. *Ecology*, 102, e03512.
- Hoyle, G. L., Steadman, K. J., Good, R. B., McIntosh, E. J., Galea, L. M., & Nicotra, A.B. (2015). Seed germination strategies: an evolutionary trajectory independent of vegetative functional traits. *Frontiers in plant science*, 6, 731.
- Jaganathan, K., Dalrymple, S. E., & Liu, B. (2015). Towards an understanding of factors controlling seed bank composition and longevity in the alpine environment. *Botanical Review*, 81, 70–103.
- Kaye, T.N. (1997). Seed dormancy in high elevation plants: implications for ecology and restoration. Pp 115– 120. In: T. N. Kaye, A. Liston, R. Love, D. Luoma, R. Meinke, M. Wilson (eds). *Conservation and management of native plants and fungi*. Native Plant Society of Oregon, Corvallis.
- Körner, C. (2003). *Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Springer Verlag
- Long, R.L., Gorecki, M.J., Renton, M., Scott, J.K., Colville, L., Goggin, D. E., & Finch-Savage, W. E. (2015). The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. *Biological Reviews*, 90(1), 31-59.
- Ma, M., Zhou, X., & Du., G. (2010). Role of soil seed bank along a disturbance gradient in an alpine meadow on the Tibet plateau. *Flora-*

- Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205, 128–134.
- Mondoni, A., Rossi, G., Orsenigo, S., & Probert., R. J. (2012). Climate warming could shift the timing of seed germination in alpine plants. *Annals of Botany*, 110, 155–164.
- Peart, M. H. (1984). The effects of morphology, orientation and position of grass diaspores on seedling survival. *Journal of Ecology*, 72, 437–453.
- Peco, B., J. Traba, C. Levassor, A.M. Sánchez, & Azcárate., F.M. (2003). Seed size, shape and persistence in dry Mediterranean grass and scrublands. *Seed Science Research*, 13, 87–95.
- Thompson, K., Band, S.R., & Hodson, J.G. (1993). Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology*, 7, 236-241.
- Thompson, K., R. M. Ceriani, J. P. Bakker, & Bekker., R.M. (2003). Are seed dormancy and persistence in soil related? *Seed Science Research*, 13, 97–100.
- Tilman, D. (1994). Competition and biodiversity in spatially structured habitat. *Ecology*, 75, 2-10.
- Valkó, O., Török, P., Tóthmérész, B., & Matus, G. (2011). Restoration potential in seed banks of acidic fen and dry-mesophilous meadows: Can restoration be based on local seed banks? *Restoration Ecology*, 19, 9–15.
- Yang, X., Baskin, C.C., Baskin, J.M., Pakeman, R.J., Huang, Z., Gao, R., & Cornelissen, J.H.C. (2021). Global patterns of potential future plant diversity hidden in soil seed banks. *Nature Communications*, 12, 7023.

BÖLÜM 4

BİYOTERÖRİZM TEHDİTİ

Serkan USLUCA¹

Doç. Dr. Dilek ÖZTAŞ²

Prof. Dr. Ahmet ÇARHAN³

Prof. Dr. Aytunç ATEŞ⁴

¹ Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, KBRN Tehditleri Yönetimi, Ankara, Türkiye, uslucaserkan@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-4912-0735

² Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlık Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, doztas@hotmail.com, ORCID ID: 0000-0002-8687-7238

³ Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Ankara, Türkiye, acarhan@ybu.edu.tr, ORCID ID: 0000-0003-1584-0072

⁴ Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye, aates@ybu.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-5802-9207

GİRİŞ

Covid-19 hastalığı Aralık 2019'da hayatımıza girdiğinde ilk başlarda çoğu kimse bu durumu önemsemedi. Tüm dünyayı etkisi altına alarak ülkeleri dahi çaresiz bırakan ve pandemi haline dönüşen hastalık, tüm insanların telaşlanmasına sebep oldu. Etrafımızda Covid-19 belirtileri gösteren en yakınıımız olan kişilerden bile korkarak kaçtık ve endişelendik. İnsanlar evlerine kapanarak bilim insanlarından gelecek aşı haberini beklemeye başladı. Ancak aşının bulunduğu ve hastalığa karşı etkili olduğu haberi duyurulduğunda dahi endişe ve korku devam etti.

Korku ve telaş; terör ve terörizm kavramları ile nasıl iç içe, ne kadar da ayrı düşünülemez değil mi?

Bir virüsün sebep olduğu hastalık tüm bunlara sebep olmuşken onlarca biyolojik ajan çok da zor olmayan yollardan ne tür yıkımlara sebep olabilir, görülmeli ve küresel anlamda önlemler alınmalı.

M.Ö 6. yüzyıldan günümüze kadar basit veya yoğun araştırma gerektiren yöntemler ile birçok biyolojik saldırı gerçekleşmiş ve birçok masum insan hayatını kaybetmiştir. Bu saldırıları günümüz şartlarında tamamen ortadan kaldırmak mümkün gözükmemektedir. Ancak öncesinde alınacak tedbirler ve insanların alınan tedbirler konusunda bilgilendirilerek eğitilmesi ile etkileri en aza indirilebilir.

1. TEMEL TANIMLAR

1.1 Biyogüvenlik

Biyolojik ajanlara veya toksinlere istenmeden maruz kalınmasını ve bunların bir kaza sonucu serbest kalmasını önlemeye yönelik alınan tedbirlerdir. (Sousa ve ark., 2016).

1.2 Biyoemniyet

Özellikle laboratuvar ortamında bulunan biyolojik ajanların çalınmasını, kaybolmasını, yetkisiz erişimini ve bilinçli olarak dışarıya saçılmasını önlemek ve kontrolünü sağlamaktır. (Sousa ve ark., 2016).

1.3 Biyosavunma

Gerek görüldüğünde askeri kaynaklarda kullanılarak biyoterör ve salgın hastalıklara önlem alınarak biyogüvenliğin sağlanmasıdır. (Demir., 2009)

1.4 Terör

Kişilerin veya toplulukların inandıkları doğruları gerçekleştirmek amacıyla iktidarda veya toplumda endişe ve telaş oluşturarak ulaşılmak

istenilen hedefe kurlsız şiddet hareketleri ile ulaşma çalışmalarıdır (Pekdemirli., 2021).

1.5 Biyolojik Terör

Hastalığa sebep olan patojenlerin kişiler, hükümetler veya belirli gruplar tarafından siyasi, ekonomik vb. sebepler doğrultusunda açık veya gizli yollardan kullanılarak karşı tarafı zarara ve yıkıma uğratma faaliyetleridir.

1.6 Biyolojik Silah

Biyolojik silah; sayısız defa çoğaltılabilen ve amacı canlılara zarar vermek olan mikroorganizmalar, toksinler, arakonakçılar, pestisitler, zararlı haşarat ve hayvanlardır. Bu amaçla kullanılmak istenen başta mikroorganizmalar olmak üzere tüm canlıların, gelişmiş ve gelişmekte olan bilimsel tekniklerle hali hazırda var olan özelliklerine katkı sağlanarak bu özellikleri güçlendirilebilmekte, hatta ve hatta farklı özellikler kazandırılabilir. (Ekici., 2012)

1.7 Biyolojik Savaş Ajamı

Canlı mikroorganizmaların genetik mühendislik vasıtasıyla zarar verme oranının artırılarak belirli bir hedefte çeşitli amaçlar için kullanılan biyolojik silahlardır.

2. TERÖR, TERÖRİZM VE BİYOTERÖRİZM

Kavramsal olarak terör ve terörizm ifadeleri zaman zaman karıştırılıyor olsa da terör eylemsel olayları anlatırken terörizm ise terör eyleminin hedefine ulaşmasındaki düşünce tarzını, taktiğini hayata geçirmek için izlediği yolu anlatır. (Ekici., 2012)

Biyolojik ajan tanımı; bitkiler de dahil olmak üzere tüm canlılarda çeşitli hastalıklara hatta ölümlere sebep olan tüm mikroorganizmalar olarak yapılmaktadır. Doğada kolay bulunabilir oldukları için kimyasal ajanların yanı sıra daha avantajlı konumdadırlar. Bulaşıcılık kapasitelerinin yüksek olması ve bu sebeple hastalık oluşturma etkilerinin yüksek olması, çeşitli genetik değişiklikler yapılması sonucunda biyolojik silah olarak kullanılabilmesinin yanında karşı tarafta savaşıma yeteneğini azaltma, yeme-içme gibi temel ihtiyaçları da engelleme kabiliyeti olmasından dolayı özellikle terör gruplarının ilgisini çekmektedir. Biyolojik ajanların insanların üzerinde kullanılması sonucu biyolojik saldırı gerçekleşir. Gerçekleştirilen saldırıyı kim, ne maksatla, kime karşı kullandığına göre tanımı, kapsamı ve etkisi değişmektedir. Biyolojik silahların profesyonel ordular tarafından askeri

hedeflere yönelik kullanılması biyolojik savaş, terör örgütlerinin sivil halkı hedef aldıkları biyolojik saldırılar ise biyoterörizm olarak tanımlanabilir.

Biyoterörizm kavramı aşağıda verilen şu ana başlıklara dayanmaktadır.

- Biyolojik ajanlar anlamında kabiliyet kazanmak isteyen ülkelerin sayısının her geçen gün artması,
- Genetik mühendislik ile biyolojik ajanların ölümcül etkisinin artırılabilir olması,
- Etkilerinin geç fark ediliyor olması,
- Dünya üzerinde söz sahibi olan ordu ve ekonomi bakımından büyük ülkelerin biyolojik ajan yeteneğine sahip olmasıdır.

3. BİYOLOJİK AJANLAR VE ETKİLERİ

Biyolojik silahları diğer kitle imha silahlarından en temel nitelik bu silahların çeşitliliğidir. Bulaş oranı fazla, üretimi görece basit, antiserum üretimi ve tedavi süreci üreticisi aracılığıyla rahatlıkla yönetilebilen tüm mikroorganizmalar biyolojik ajan olarak kullanılabilir. Genel olarak tüm biyolojik silahlar yüksek seviyede harabiyet vericidir ve mutasyona uğrayarak koruyucu önlemleri etkisiz hale getirebilirler. Bunların yanı sıra kimyasal silahlar biyolojik silahlara oranla daha az öldürücü etkiye sahiptir. Ancak kullanılan herhangi bir biyolojik silahın küçük bir miktarı dahi öldürücü etkiler yaratabilir. Örnek vermek gerekirse; ‘Botulinum’ adı verilen toksik maddenin kimyasal sinir ajanı olarak bilinen ‘Sarin’ gazından on binlerce kat daha zehirli etkiye sahip olduğu literatüre geçmiştir. Saldırılarda kullanılan biyolojik ajanlar, saldırıyı gerçekleştirenler tarafından büyük çoğunlukla gizlenmektedir. Bu nedenle gerçekleştirilen saldırılar sonucunda, saldırının biyolojik silahlar kaynaklı olduğunun tespiti için bu silahlar ile ilgili çeşitli semptomların tanınması gerekmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Birleşmiş Milletler (BM), Kuzey Atlantik İttifakı Örgütü (NATO) ve Biyolojik Silahlar Konvansiyonu gibi çeşitli kuruluşlarca 43 mikroorganizmanın (15 bakteri, 24 virüs, 2 mantar ve 2 parazit) biyolojik silah olarak geliştirilme ve kullanılma potansiyeline sahip olduğu açıklanmıştır. Bahsi geçen biyolojik ajanlar; üç ana kategoride incelenmiştir (Kılıç., 2006).

3.1 A Kategorisi

A kategorisinde incelenen biyolojik ajanlar genel halk sağlığı ve ulusal güvenlik açısından en yüksek riski taşıyan gruptur. Şarbon

(Anthrax) gibi mikroorganizmalar ve toksin maddeler bu kategoriye örnek olarak verilebilir. Bu kategoride yer alan maddeler;

- Kolay yayılabilme ve insanlar arası kolay bulaş sağlayabilme özelliğine sahiptir.
- Maruz kalan insanlar üzerinde büyük etki yaratabilme özelliğine sahip olmakla birlikte mortaliteleri yüksektir.
- Maruz kalan halk üzerinde kargaşaya ve depresyona sebep olabilirler. (Yüksel ve Erdem, 2016)

Tablo 1: A Kategori Ajanlar ve Etkileri

Biyolojik Ajan	Sebepl Olduğu Hastalık
Variola (majör, minor)	Çiçek Hastalığı
B. Anthracis	Şarbon Hastalığı
Yersinia pestis	Veba Hastalığı
Clostridium botulinum toksini	Botulizm
Francisella tularensis	Tularemi
Ebola, Marburg virüsleri	Viral Ateş (Kanamalı)
Lassa, Junin, Machupo virüsleri	Viral Ateş (Kanamalı)

3.2 B Kategorisi

B kategorisi kapsamında değerlendirilen biyolojik ajanlar yüksek risk teşkil etmeleri açısından ikinci sıradadır. Bunun nedeni;

- Kısmen kolay yayılabilir olmaları,
- Orta düzeyde hastalığa, düşük oranda ölüme sebep olmaları olarak verilebilir. Bu kategoride değerlendirilen ajanların sebepl olduğu hastalıkların tanısı için özel tanı ve izleme yöntemlerine gerek duyulmaktadır. (Demir, 2009)

Tablo 2: B Kategorisi Ajanları ve Etkileri

Biyolojik Ajan	Sebepl Olduğu Hastalık
Coxiella burnetii	Q Ateşi Hastalığı
Brucella spp.	Brucella Hastalığı
Burkholderia mallei/pseudomallei	Ruam/Melioidoz Hastalığı
Alfavirüsler	Ensefalit Hastalıklar
Toksinler (Risin, Clostridium perfringens toksini, SEB)	Toksik Kaynaklı Sendromlar
Rickettsia prowazekii	Tifus Hastalığı
Vibrio cholerae	Kolera Hastalığı
Salmonella spp.	Bağırsak Enfeksiyonu
Shigella dysenteriae	Dizanteri
Koli Basili	Gıda zehirlenmesi

3.3 C Kategorisi

Bu kategoride sınıflandırılan ajanlar üretim kolaylıkları, hızlı yayılabilme kabiliyetlerine sahiptir. Sahip oldukları bu nitelikler nedeniyle ilerleyen süreçlerde biyolojik silah ajanlarına dönüşme ihtimalleri yüksektir. (Yenen ve Doğanay, 2008)

Tablo 3: C Kategorisi Ajanlar

Hantavirüsü
Nipahvirüsü
Ensefalit Virüsler (Kene kaynaklı)
Kanamalı ateş virüsleri (Kene kaynaklı)
Tüberküloz

4. GEÇMİŞTEN GÜNÜMÜZDE BİYOTERÖRİZM

Biyolojik ajanların silah olarak kullanılmasının tarihi tahmin edilenden çok daha eskilere dayanmaktadır. Karşımıza çıkan ilk örneği ise 6. yüzyılda döneminin önemli medeniyetlerinden olan Asurluların düşmanlarının içme sularını çavdarda yetişen bir mantar çeşidi ile zehirlemeleri şeklinde çıkmaktadır. Yine yakın tarihlerde farklı medeniyetlerin düşmanlarının su kaynaklarını hayvan ve insan cesetleri ile zehirleyerek düşman kuvvetlerini kolay ve maliyetsiz şekilde etkisiz hale getirmeye çalıştıkları görülmektedir.

Güney Amerika'da yaşayan yerli kabilelerin hayvan ve bitkiler kullanarak yaptıkları toksinleri çeşitli ilkel savaş aletlerine sürme ileri le karşı tarafı etkisiz hale getirmeye çalışması ilk biyolojik savaşlara örnek olarak kabul edilebilir (Kiremitçi., 2014).

1346 yılında Cenevizlilerin Karadeniz'i kontrol etmek maksadıyla kullandıkları Kefe Altın Orda Hanlığı tarafından kuşatılmıştır. Kuşatmadan uzun süre sonuç alınamaması ve Altın Orda Hanlığı ordusunun veba salgınına yakalanması sonucu ordu içerisinde ölümler başlamıştır. Krizi fırsata çevirmek isteyen Altın Orda Hanlığı veba salgınına yakalanarak ölen cesetleri mancınık ile Kefe şehrine atmıştır. Cenevizlilerin şehri terk edip Avrupa' ya kaçmaları sonucu kara ölüm olarak anılan veba hastalığı Avrupa'ya yayılmış ve Dünya tarihine büyük etkileri olmuştur. (Baysallar., 2007)

1763 yılında İngiltere kontrolündeki Amerika' da kaptan Ecuyer yerlilere dostluk göstergesi olarak Çiçek Hastalığına yakalanan insanların kullandıkları battaniye ve mendilleri vermiştir. Yerliler battaniye ve mendili kullandıktan bir süre sonra Çiçek Hastalığına yakalanmışlar ve toplu ölümler yaşanmıştır.

1'inci Dünya Savaşında Almanlar Rusya' da veba salgını, İtalya'da kolera hastalığını, İngiltere' de ise çeşitli biyolojik ajanları kullanmakla suçlanmıştır.

2'nci Dünya Savaşı yıllarında Japonlar Birim 731 adındaki 150 bina ve 3000' den fazla çalışanı bulunan biyolojik silah geliştirme merkezi kurmuş ve bu merkezde çeşitli deneyler yapmışlardır. Bu alanda görevli yönetim kadroları ilerleyen yıllarda Amerika Birleşik Devletleri ve SSCB unsurları tarafından yakalanarak elde ettikleri bilgileri kendi biyolojik silah geliştirme programlarında kullanmışlardır.

İskoçya açıklarında bulunan Gruinard adasında biyolojik silah geliştirme programı yürüten İngilizler, yürüttükleri çalışmalar neticesinde ada 40 yılı aşkın sürede B.antraks sporlarının bulaşına neden olmuşlardır. 1941 yılında yapılan ilk deneylerle kirlenmeye başlayan ada 45 yıl sonra temizlenebilmiştir.

Japonya, İngiltere, Almanya, ABD, SSCB ve Irak tarafından yıllar boyunca birçok biyolojik silah geliştirme çalışması yapılmış birçok insan hayatını kaybetmiş ve deneylerin yapıldığı alanlar kirlenmiştir.

Biyolojik silahlara bakış açısını değiştiren olay olarak 11 Eylül 2001'deki AB'de gerçekleştirilen terör saldırısını kabul edebiliriz. Saldırının takip eden günlerinde değişik kurumlara yollanan mektuplarda yapılan incelemeler neticesinde şarbon sporlarına rastlanmış, temas eden kişilerde hastalık ve ölümler meydana gelmiştir. Bu olaylardan sonra biyoterörizm korkusu yalnızca ABD'de değil tüm Dünya'da etkisini göstermiştir. (Yenen ve Doğanay, 2008)

5. ULUSLARARASI ANTLAŞMALAR

Biyoterörizm, masum ve korunmasız insanlar için beklenmedik anda gelen ve hayati tehlike oluşturma riski olan araçlardan biridir. 1925 yılında Cenevre kentinde imzalanan “Boğucu, Zehirleyici ve Benzer Gazların ve Bakteriyolojik Araçların Savaşta Kullanımının Yasaklanmasına” ilişkin protokol, adından da anlaşılacağı gibi bu silahların yasaklanmasına ilişkin görüşleri kapsıyor olsa da üretimleri, geliştirilmeleri ve saklanmaları ilişkin herhangi bir madde içermemekteydi.

26 Mart 1975 tarihinde yürürlüğe giren “Bakteriyolojik (Biyolojik) ve Toksin Yapısındaki Silahların İmali, Geliştirilmesi ve Depolanmasını Yasaklayan ve İmhasını Söz Konusu Eden Konvansiyon “sözleşmesi bugüne kadar 146 ülke tarafından imzalanmıştır. Geniş çaplı bir katılımı ile imzalanan bu antlaşma, biyolojik silahların depolanması, üretilmesi ve üretilmesi için

çalışmalar yapılarak ticari olarak satışının yapılmasını önüne geçmeyi amaçlamaktaydı. Ne yazık ki Körfez Savaşı sonrasında Birleşmiş Milletler gözlemcileri tarafından Irak'ta yapılan incelemelerde biyolojik maddeler tespit edilmiş ve bu maddelerin uygun şartlar altında imhası gerçekleştirilmiştir. Tüm bunlar neticesinde Iraklı yetkililerce binlerce litre yoğunlaştırılmış botulinum üretimi yapıldığı kabul edilmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilinen biyolojik ajan türlerinden hangisinin ne vakitte ve hangi oranda kullanılacağı tahmin edilememesi, çeşitli biyolojik ajanlara karşı aşı ile koruma sağlanmasına imkân vermemektedir. Günümüzde veba, şarbon, çiçek ve son olarak hayatımıza giren Covid-19 aşılı lisanslı olarak üretilmektedir. Oldukça geniş olan biyolojik silah listesinde sadece belirli etkenlere karşı koruma sağlanması önemli bir tehdit ve tehlike oluşturmaktadır.

Biyolojik saldırılara karşı güçlü bir savunma geliştirilmesi için saldırılar gerçekleşmeden önce otoritelere çeşitli düzenlenmeler yapılmalı ve eğitimler planlanmalıdır. Biyolojik saldırılara karşı korunma yöntemleri kişisel ve toplu korunma olarak iki başlıkta incelenebilir.

Biyoterörizme karşı bireysel korunmada en etkili yöntem koruyucu giysi kullanmaktır. Özellikle biyolojik ajanın cilt ile temasını önlemek maksadıyla koruyucu elbise kullanılmalıdır. Koruyucu elbiseler tiplerine göre farklı koruma özelliklerine sahiptirler. Tüm teknolojik gelişmelere rağmen basit çözüm olarak kirlenme sonrası kirlenen bölgenin su ve sabun ile yıkanması geçerli bir çözüm olarak kabul edilebilir.

Emniyetli ve yeterli havalandırma sistemi bulunan sığınaklar askeri ve sivil halk için toplu korunma sağlayabilir. Sığınağın olmadığı veya sığınağa erişimin mümkün olmadığı yer ve zamanlarda ise evin bir odasının pencere ve kapılarını kalın bantlar ile kapatılarak veya naylon ile kaplayarak sızmayı önlemek gibi basit ancak etkili tedbirler alınabilir.

KAYNAKÇA

- Afet ve Acil Durum Yönetim Başkanlığı (AFAD), ‘‘Kimyasal Biyolojik Radyolojik Nükleer Tehditler (KBRN)’’ Erişim: 17 Ekim 2022
- Hancı, İ., Özdemir, Ç., Bozbıyık, A., & Tuğ, A. (2001). Biyolojik Silahlar:Etkileri,Korunma Yöntemleri. 330-332.
- Kılıç, S. (2006). Biyolojik Silahlar ve Biyoterörizm. *Türk Hij Den Biyol Dergisi* , 1-20.
- Kiremitçi, İ. (2014). Küresel Boyutta Biyolojik Terör Tehdidi. *Savunma Bilimleri Dergisi* ,27-58.
- Pakdemirli, B., Birişik, N., Aslan, S., & Öz, S. (2021). Önemli Bir Tarım,Gıda Güvenirliği ve Çevre Riski Olarak Agroterörizm Üzerine Bir Değerlendirme. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi* , 176-194.
- Yüksel, O., & Erdem, R. (2016). Biyoterörizm ve Sağlık. *Haccetepe Sağlık İdaresi Dergisi* , 203-222.

BÖLÜM 5
EKOSİSTEM BİTKİ ÖRTÜSÜNDE KUŞEKMEĞİ
(Polygonium arenastrum) **BİTKİSİ EKSTRAKT**
OLARAK KULLANIMI VE AHŞAP MALZEMENİN
ELASTİKLİK MODÜL DEĞİŞİMİ

Doç. Dr. Hatice ULUSOY¹

Prof. Dr. Hüseyin PEKER²

Prof. Dr. Nurgül AY³

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ormancılık Bölümü, Köyceğiz Meslek Yüksekokulu, Muğla, Türkiye. E-mail: haticeulusoy@mu.edu.tr. ORCID ID: 0000-0003-0960-3388

² Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Artvin, Türkiye. E-mail: peker100@artvin.edu.tr. ORCID ID: 0000-0002-7771-6993

³ Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Trabzon, Türkiye. E-mail: . nay@ktu.edu.tr

GİRİŞ

Ahşap materyal yüzyıllardan buyan çok değişik sahalarda ve değişik amaçlar doğrultusunda kullanılan hammaddeyi teşkil etmiştir. Bu malzemenin dayanım özelliğini artırmak, geliştirmeye yönelik çok çeşitli kurutma teknikleri ve yeni yöntemler uygulanmıştır. Bütün bu gelişmelere rağmen metotlar yenilikçi yaklaşımlar karşısında gelişmişlik seviyesini yakalayamamıştır. Teknolojide önemli gelişmeler bu malzemenin önemini kullanım düzeyini ciddi anlamda artırmıştır. Diğer yandan orman kaynakları hızlı bir şekilde azalmaya devam etmektedir. Ahşap malzemenin üstün kılınması ancak hava etkilerine ve zararlı canlılara karşı bu malzemenin üstün kılınmasıdır (Kartal ve ark., 2004).

Alternatif yöntemler emprenye yöntemlerinde de geliştirilmektedir. Biyolojik, kimyasal, mekanik ve fiziksel işlemler, kurutma, buharlama, oyma ve vakum basıncı v.b. gibi uygulama yöntemleri empenye sürecine bağlı olarak sıvı akışkanlığını sağlamak ve tutunma (retensiyon) miktarını artırmak için kullanılmaktadır. Ahşap üzerindeki performanslarının araştırıldığı yangın geciktirici kimyasallarla ilgili çeşitli akademik çalışmalar yapılmıştır. Yangın geciktirici kimyasal olarak kullanımında önemli parametreler olarak, düşük maliyeti, çevre dostu olması ve yangın geciktirici performansları azot ve fosfor içerikli kimyasallardır (Özdemir 2020, Baysal 1994).

Günümüz yüzyılında odunun modifikasyonu amacıyla çok çeşitli yöntemler (biyolojik, fiziksel, kimyasal vb) denenmeye devam edilmektedir. Asıl hedef ahşabın performans özelliklerini artırmak (çürüme, boyutsal kararlılık vb) böylelikle güçlü bir materyal elde edilmesini temin etmektir. Emprenye işlemine tabi tutulmuş ahşap malzemenin kullanımında toksik yapıda durumun oluşmaması, tekrar kullanılabilir olması insan/çevreyle dost yapıda olması günümüz insanlığının en önemli hedefleri arasında olmaya devam etmektedir (Hill 2011).

Ahşap malzemede kullanım alanları odunun anatomik yapısı ve teknolojik özellikleriyle doğru orantılı olup; ahşap malzemede gerilim, deformasyon ve kırılmaya neden olan mekaniksel türden dış kuvvet ile yüklemeler, ahşabın dayanımını belirleyen önemli parametrelerdir (Tomak, 2011, Güller ve ark. 2001).

Ülkemiz ve diğer dünya ülkelerinde orman kaynakları hızlı bir şekilde tükenmekte ve ahşabın korunumuna yönelik olarak çok çeşitli materyal ve yöntemler denenmekte olup, bu süreçlerde karşımıza yine ekosistemde tarih boyunca yer alan bitkiler, tıbbi aromatik bitkiler vb. materyaller gerek ahşapta emprenye, üstyüzey işlemleriyle ahşaba uygulanması bunun sonucunda

insan/çevre sağlığıyla dost ürünler elde edilmesi çalışmanın ana amacını oluşturmuştur. Özellikle elde edilen ekstraktla beraber su bazlı vernik kullanımı da denenmek suretiyle ahşabın elastiklik özelliğinde değişim belirlenmeye çalışılmıştır.

1. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada ahşap endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ve ülkemizde de yetişen kızılçam odunu (TS 2470) tercih edilmiştir. Emprenye maddesi içerisinde bitki özütü olarak Antibakteriyel /antioksidan özelliği kaynaklarda (Çetin 2017) belirtilen kuşekmeği (*Polygonium arenastrum*) ekstraktı elde edilmiş (Ceylan 2020), ASTM-D 1413-76 esaslarına göre ekstraktın emprenye işlemi gerçekleştirilmiştir. Özellikle çözücüsünün su olması yönüyle de su bazlı vernik kullanılmıştır.

1.1 Mekanik Özellikler (Elastiklik Modülü)

Elastiklik modülü denemeleri için aynı boyutlardaki numunelerde E modülü gerçekleştirilmiştir. Bozulmaların belirlenmesinde tensometre cihazından faydalanılmıştır. Elastiklik değeri aşağıda belirtilen formülle;

$$E = \Delta . P.L^3 / 4.b.h^3 . \Delta f \text{ (N/mm}^2\text{)}$$

2. BULGULAR VE TARTIŞMA

2.1. Konsantrasyon Özellikleri

Kızılçam odununda sığla bitki ekstraktının konsantrasyon özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Çözelti Özelliği

Odun Türü	Kuşekmeği Konsantrasyonu	pH		Yoğunluk (g/ml)	
		EÖ	ES	EÖ	ES
Kızılçam	% 1	6.98	6.98	0.795	0.795

Konsantrasyona göre değerlendirildiğinde yoğunluk ve pH özelliğinde değişim gözlenmemiştir. Bu durum çözeltinin kullanım sayısından kaynaklandığını söyleyebiliriz. Odunun anatomik yapısı, yaz odunu iştirak oranı, odun rutubeti, odun türü, odunun özgül ağırlığı emprenye işlemini önemli ölçüde etkilemektedir.

2.2. Tutunma Düzeyi (%)

Kızılcım odununda kuşekmeği bitki ekstraktının konsantrasyon bazında tutunma miktarları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 2. Tutunma Miktarı (%)

Emprenye Maddesi	Vernik	Vakum Süresi	Difüzyon Süresi	Ortalama (%)	HG
Kuşekmeği (%1)	-	30 Dak.	25 Dak.	0.12	B
			35 Dak.	0.17	A

Retensiyon (tutunma) miktarı itibariyle değerlendirildiğinde tutunma miktarı düzeyi en fazla 30 dakika vakum/35 dakika difüzyonda (% 0.17), en düşük miktar (% 0.12) olarak belirlenmiştir. Çeşitli vakum ve difüzyon sürelerinde tutunma miktarının farklı olması süre, anatomik yapıdan kaynaklandığı söylenebilir.

Bal (2006) ahşap malzemede ACQ yapılan emprenye işleminin tutunma miktarını artırdığını bildirmiştir. Özçifçi ve ark. (2009) yapmış olduğu çalışmada sarıçam odununda basınçlı/vakumlu emprenye işleminin sarıçamda tutunma miktarının (% 6.42), kayının daldırma yöntemiyle işlemde (% 0,30) gerçekleştiğini belirtmiştir.

2.3. Elastiklik Modülü (N/mm²)

Elastiklik modülü sonuçları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 3. Elastiklik Modülü (N/mm²)

Emprenye Maddesi	Vernik	Vakum Süresi	Difüzyon Süresi	Elastiklik Modülü (N/mm ²)	HG
Kontrol	-	-	-	8250	B
Yok	Su Bazlı Vernik	-	-	8430	A
Kuşekmeği	Vernik Yok	30 Dak.	25 Dak.	7967	D
Kuşekmeği	Su Bazlı Vernik		35 Dak.	8150	C

Tablo incelendiğinde; elastiklik modülü en fazla su bazlı vernik (8450 N/mm²) uygulamasında belirlenmiştir. Kuşekmeği ekstraktında 30 dakika vakum 25 dakika difüzyonda (7967 N/mm²), su bazlı vernik ve kuşekmeğinde (8150 N/mm²), kontrol örneğinde (8250 N/mm²) gerçekleşmiştir. Su bazlı vernik uygulamasında verniğin ahşap malzemeye kazandırdığı esneklik modül değerinin yüksek olmasında önemli rol oynamıştır. Bununla beraber odun türü, odunun anatomik yapısı, çözelti türü/konsantrasyonu, emprenye metodunda elastiklik modülünde etkili

olduğu söylenebilir. Aytaşkın (2009) bor türevleriyle çeşitli odun türlerini emprenye işlemine tabi tutmuş, eğilme direnci ve elastikiyet özelliğinde düşmeler olduğunu bildirmiştir. Sefil (2010), Thermo wood ile ısıtılma işlemine tabi tutulmuş bazı odun türlerinin farklı sıcaklık (2 saat) ve ısıtılma işlemi uygulamasında elastiklik değeri ve basınç direnci değerini artırmış olduğunu bildirmiştir.

SONUÇ

Araştırma gerek ülkemiz ve gerekse diğer dünya ülkelerinde insanlığın varlığından bu yana yaşamış olduğu çevre içinde daha sağlıklı ve optimum noktada insan/çevreyle dost ürünler (yiyecek, içecek, korucu malzemeler vb) elde etmeyi hedeflemiştir. Orman kaynakları hızla yok olmaktadır ahşap malzemenin uzun ömürlü olması, hijyenik olması, doğal koruyucularla işlem görmüş olması artık beklenen ve zorunlu bir durum haline gelmiştir. Bu amaçla çok çeşitli ahşap koruyucular elde edilmesine rağmen bunların çoğu sentetik/toksik kökenli maddelerdir. Kimyasal kökenli malzemelerin azaltılması günümüz yüzyılında yeni çalışmaları ortaya koymuştur.

Çeşitli bitki türleri, organik çeşitli materyaller, yosunlar, likenler, tıbbi aromatik bitki atık ve artıkları, midye kabukları vb daha nice malzemeler artık insanlığın sağlıklı (insan/çevre) yaşamında ana kaynağı oluşturmaya başlamıştır. Tıbbi aromatik bitki türlerinden kuşekmeği bitkisi gerek odunda tutunma göstermesi ve gerekse elastiklik modülünde olumlu yapısı çok çeşitli alanlarda kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

KAYNAKÇA

- Aytaşkın, A. (2009) Çeşitli Kimyasal Maddelerle Emprenye Edilmiş Ağaç Malzemelerin Bazı Teknolojik Özellikleri, Karabük Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Karabük.
- ASTM-D 1413-76 (1976). Standart test methods of testing wood preservatives by laboratory soilblock cultures, Annual Book of Astm Standarts. USA, 452-460.
- Bal, B. (2006) Amonyaklı bakır quat (ACQ) emprenye tuzu ile emprenye edilen sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) odununun bazı fiziksel ve mekanik özelliklerinin, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.
- Baysal, E. (1994) Çeşitli Borlu ve WR Bileşiklerin Kızılçam Odununun Bazı Fiziksel Özelliklerine Etkisi, K.T.Ü. Fen Bil. Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Ceylan, Ş. (2017) Çiriş Bitki (Antioksidan/Antibakteriyel) özütünün Ahşap Endüstrisinde (Mobilya/İnşaat) Kullanılabilir Olanakları, Artvin Çoruh Üniversitesi BAP Projesi Koordinatörlüğü, Proje No: 2017.M82.02.02, Artvin.
- Çetin, S. (2017) Erzurum İlinde Yetişen Ve Halk Arasında Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi, Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans, Artvin.
- Güller, B., ve Ay, N. (2001) Artvin Yöresi sakallı kızılğaç (*Alnus glutinosa* subsp. *barbata* (C.A. Mey.) Yalt.) odununun bazı mekanik özellikleri, Turk J Agric For, 25, 129–138.
- Hill, C. A. S., 2011. “Wood Modification”, BioResources 6 (2) 918- 919.
- Kartal, S., N. ve Unamura, Y., 2004. Borlu Bileşiklerin Emprenye Maddesi Olarak Ağaç Malzeme ve Kompozitlerde Kullanılması, Ü. Uluslararası Bor Sempozyumu (23-25 Eylül), Eskisehir, 334.
- Özdemir, B. (2020) Işgın (*Rheum ribes* L.) bitki (Antioksidan/Antibakteriyel) ekstraktının ahşapta emprenye edilebilirlik özelliği ve teknolojik özellikler üzerine etkisi, Artvin Çoruh üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Artvin
- Özçiğçi, A., Batan, F. (2009) Bor Yağının Ağaç Malzemenin Bazı Mekanik Özelliklerine Etkisi, Politeknik Dergisi, Cilt 12, Sayı 4.

- Sefil, Y. (2010) Thermowood Yöntemiyle Isıl İşlem Uygulanmış Gökmar Ve Kayın Odunlarının Fiziksel Ve Mekanik Özellikleri, Yüksek Lisans, Karabük Üniversitesi, Karabük.
- TS 2470 (1976). “Odunda Fiziksel ve Mekanik Deneyler İçin Numune Alma Metodları ve Genel Özellikler”, TSE, Ankara.
- Tomak, E.D. (2011) Masif Odundan Bor Bileşiklerinin Yıkınmasını Önlemede Yağlı Isıl İşlemin ve Emülsiyon Teknikleri ile Emprenye İşleminin Etkisi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 334s., Trabzon.

BÖLÜM 6

EKOSİSTEMDE SIĞLA ODUNU YAPRAĞININ EKSTRAKT OLARAK KULLANIMI VE AHŞABIN BASINÇ DİRENCİ DEĞİŞİMİNE ETKİLERİ

Doç. Dr. Hatice ULUSOY¹

Prof. Dr. Hüseyin PEKER²

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ormancılık Bölümü, Köyceğiz Meslek Yüksekokulu, Muğla, Türkiye. E-mail: haticeulusoy@mu.edu.tr. ORCID ID: 0000-0003-0960-3388

² Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Artvin, Türkiye. E-mail: peker100@artvin.edu.tr. ORCID ID: 0000-0002-7771-6993

GİRİŞ

İnsanoğlu yaşamış olduğu yüzyıl içerisinde sentetik malzeme kullanımının artması, atıklar, kirlilik ve doğanın çok hızlı bir şekilde yıkımlanması ile karşı karşıya kalmış ve kalmaya devam etmektedir. Her geçen süreçte insan/çevre sağlığı ciddi tehditler altında olup, iklim değişikliğinin de eklenmesiyle organik/doğal olan tüm yapılar, ürünler (bitkisel, hayvansal vb) büyük önem kazanmıştır. Özellikle tıp, eczacılık, baharat vb çok çeşitli alanlarda kullanılması tarih boyu süregelen bitkiler, ağaçlar, ağaç/bitki atıkları, yaprakları, gövdesi, kabuğu gibi her bir kısım daha dikkatli ve ekonomisel olarak kullanım/üretim çalışmaları artmıştır (Ulusoy ve ark., 2022).

Alternatif yöntemler empenye yöntemlerinde de geliştirilmektedir. Biyolojik, kimyasal, mekanik ve fiziksel işlemler, kurutma, buharlama, oyma ve vakum basıncı v.b. gibi uygulama yöntemleri empenye sürecine bağlı olarak sıvı akışkanlığını sağlamak ve tutunma (retensiyon) miktarını artırmak için kullanılmaktadır. Ahşap üzerindeki performanslarının araştırıldığı yangın geciktirici kimyasallarla ilgili çeşitli akademik çalışmalar yapılmıştır. Yangın geciktirici kimyasal olarak kullanımında önemli parametreler olarak, düşük maliyeti, çevre dostu olması ve yangın geciktirici performansları azot ve fosfor içerikli kimyasallardır (Özdemir 2020, Baysal 1994).

Erener ve ark. (2013) sığla ağacının antimikrobiyal etkisi in vitro olarak tanımlanmış sığla ağacının eteriksel yağ yapısının piliç kesimlerinde, karkas özelliğinde, performans, etin duyuşal özellikleri, sindirim sisteminin mikrobiyolojik özellikleri ve bazı biyokimya değişimleri incelenmiş ve aktivite sonuçlarına göre genel yönden test mikroorganizmalarına karşı en güçlü etki sığla ağacının yapraklarında olduğu gözlenmiş ve karma yeme katılan sığla ağacının eteriksel yağın katkısız antibiyotik yapısına tercih nedeni olması süreciyle önem itibariyle potansiyel yapı oluşturduğu bildirmiştir.

Ahşap malzemede kullanım alanları odunun anatomik yapısı ve teknolojik özellikleriyle doğru orantılı olup; ahşap malzemede gerilim, deformasyon ve kırılmaya neden olan mekaniksel türden dış kuvvet ile yüklemeler, ahşabın dayanımını belirleyen önemli parametrelerdir (Tomak, 2011, Güller ve ark. 2001).

Orman kaynaklarının hızla azaldığı günümüz yüzyılında ahşap malzemenin kullanım alanları, ahşabın uygun kullanımı, onarımı, bakımı ve bütün bunların yanında yenilikçi bir yaklaşım olarak atık/artık çeşitli bitki, tıbbi aromatik bitki kaynaklarının ekstrakt olarak ahşap sanayinde

kullanılabilmesi hedeflenmiş ve emprenye işlemi yapılmak suretiyle çeşitli tutunma ve bazı mekanik özellikleri (basınç direnci) araştırılmıştır. Böylelikle özellikle tıbbi aromatik bitki ekstra tının antibakteriyel/antimikrobiyal etkinliği kısmen de olsa ahşap yapısında etkili olacağı yani hijyenik bir yapı oluşturacağı da düşünülmektedir.

1. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada ahşap endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ve ülkemizde de yetişen İğne yapraklı ağaçlardan Kızılcım (*Pinus Brutia Ten.*) odunları seçilmiştir. Emprenye maddesi içerisinde bitki özütü olarak Antibakteriyel /antioksidan özelliği olan ve ayrıca endemik bir tür olan Türkiye’de Köyceğiz Bölgesinde yetişen Sığla Ağacının (*Liquidambar orientalis Mill .*) yaprakları seçilmiştir (TS 2470). ASTM-D 1413-76 esaslarına göre emprenye işlemi gerçekleştirilmiştir.

1.1. Mekanik Özelliklerin Belirlenmesi (Basınç Direnci)

Mekanik özelliklerle ilgili deneylerin yapılmasında 1-10 ton kapasiteli üniversal deney makinesi kullanılmıştır. Mekanik özelliklerden liflere paralel basınç direnci ve özgül ağırlık deneyleri yapılmıştır. Mekaniksel testlerin yapılmasında 20x20x300 mm boyutlarında hazırlanan örneklerden yararlanılmıştır (TS 2470, TS 2595). Ağaç malzemeyi sıkıştırmaya, ezmeye çalışan liflere paralel yönde tesir eden ve kuvvetlere karşı kırılma anındaki gerilmedir. Klimatize edilen örneklerin enine kesit boyutları ve lif yönündeki uzunlukları % 1 mm, ağırlıkları ise % 0,1 gr duyarlıkta ölçülmüş ve örneklerin kusurlu kısımlardan kaçınılarak kesilmiştir. Basınç direnci aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır.

$$\sigma_{B//} = F_{max}/axb \quad (kp/cm^2)$$

$$\sigma_{B//} = \text{Liflere paralel basınç direnci } (kp/cm^2)$$

$$F_{max} = \text{Kırılma anındaki kuvvet } (kp)$$

$$a \text{ ve } b = \text{Enine kesit ölçülerini } (cm) \text{ ifade etmektedir.}$$

2. BULGULAR VE TARTIŞMA

2.1. Konsantrasyon Özellikleri

Kızılcım odununda sığla bitki ekstraktının konsantrasyon özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Çözelti Özelliği

Odun Türü	Bitki Konsantrasyonu	pH	Yoğunluk (g/ml)		
		EÖ	ES	EÖ	ES
Kızılcım	% 1	4.6	4.6	0.875	0.875
	% 3	4.7	4.7	0.877	0.877
	% 5	4.8	4.8	0.878	0.878

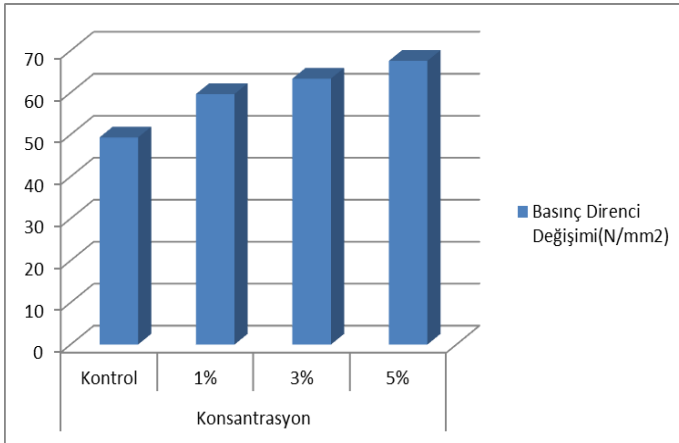
Konsantrasyona göre değerlendirildiğinde yoğunluk ve pH özelliğinde değişim gözlenmemiştir. Bu durum çözeltinin kullanım sayısından kaynaklandığını söyleyebiliriz.

2.2. Basınç Direnci (N/mm²)

Kızılcım odununda sığla bitki ekstraktının konsantrasyon bazında tutunma miktarları Tablo 1’de, değişim grafiği ise bunlara ilişkin olarak Şekil 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Basınç Direnci (N/mm²)

Odun Türü	Bitki Konsantrasyonu	Vakum Süresi	Difüzyon Süresi	Ortalama	HG
Kızılcım	Kontrol	30 Dak.	30 Dak.	49.33	D
	%1			59,66	C
	%3			63,33	B
	%5			67,55	A

**Şekil 1.** Basınç Direnci Değişimi (N/mm²)

Tablo ve şekil incelendiğinde en yüksek basınç direnci değişimi % 5 'lik ekstraktta (67.55 N/mm²), en düşük % 1'lik ekstraktta (59.66 N/mm²) tespit edilmiştir. Bu durum odunun anatomik yapısı, konsantrasyon, emprenye süresinden kaynaklandığını söyleyebiliriz. Tomak (2011) çeşitli odun ve çeşitli bitkilerden elde edilen yağ yapısıyla emprenye işlemini gerçekleştirmiş, basınç direnci üzerinde kısmen düşüş olduğunu bildirmiştir (Tomak ve ark, 2012). Şimşek ve ark. (2009) bor türevleriyle yapmış oldukları emprenye işlemlerinde sarıçam ve kayın odununun basınç direnci kısmen azalma olduğunu belirlemiştir. Sefil (2010) Thermo wood ile ısıtılmış kayın ve uludağ göknarında farklı sıcaklık (2 saat) ile ısıtılmış (kontrol) işlemi uygulanmış işlem sonucunda basınç direnci değerinin arttığını tespit etmiştir.

SONUÇ

İnsanoğlu var olduğu günden bu yana bitki, ağaç vb. tüm organik, doğal ve doğasal ürünleri sağlık (ilaç), bakım (parfümeri), gıda (baharat vb) sanayi gibi çok değişik alanlarda kullanmakta ve kullanılagelirken insan/çevre sağlığı bilinci daima ön plana çıkmaktadır. İçinde bulunduğumuz yüzyıl ve gelecek yüzyıllarda sentetik/kimyasal koruyucu gereçlerden mümkün olduğu kadar uzak kalabilmek anv-cak doğal/ekolojik kaynaklarla mümkün olacaktır. Sığla bitki ekstraktının basınç direnci üzerinde olumlu sonuç vermesi bu doğal gerecin çok çeşitli alanlarda kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Bor ve bor türevleriyle ikili işlemlerle kullanılması önerilebilir. Böylelikle yangına karşı dayanım gücü artırılabilir. Değişik konsantrasyonlarda denenebilir. Emprenye farklı metodlarla uygulanabilir. Çocuk oyuncaklarında hijyenik yapıda olması önemli koruyuculuk (sağlık) sağlayabilir.

KAYNAKÇA

- ASTM-D 1413-76 (1976). Standart test methods of testing wood preservatives by laboratory soilblock cultures, Annual Book of Astm Standarts. USA, 452-460.
- Baysal, E. (1994) Çeşitli Borlu ve Wr Bileşiklerin Kızılcam Odununun Bazı Fiziksel Özelliklerine Etkisi, K.T.Ü. Fen Bil. Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Erener, G., Işık K., Duru M.E. (2013) Sıgla Agacı (*Liquidambar Orientalis* Mill.) Yağı Ve Yapraklarından Elde Edilen Eterik Yağların Etlik Piliçlerde Performans, Kesim, Bağırsak Mikroflorası Ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri (Proje), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun
- Güller, B., ve Ay, N. (2001) Artvin Yöresi sakallı kızılgağaç (*Alnus glutinosa* subsp. *barbata* (C.A. Mey.) Yalt.) odununun bazı mekanik özellikleri, Turk J Agric For, 25, 129–138.
- Özdemir, B. (2020) Işgın (*Rheum ribes L.*) bitki (Antioksidan/Antibakteriyel) ekstraktının ahşapta emprenye edilebilme özelliği ve teknolojik özellikler üzerine etkisi, Artvin Çoruh üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Artvin
- Sefil, Y. (2010) Thermowood Yöntemiyle Isıl İşlem Uygulanmış Gökmar Ve Kayın Odunlarının Fiziksel Ve Mekanik Özellikleri, Yüksek Lisans, Karabük Üniversitesi, Karabük, 103-104s
- Şimşek, U.B. (2013) Bitkisel ve Kimyasal Koruyucularla Emprenye Edilen Sarıçam Odununun Bazı Fiziksel ve Biyoloji Özellikleri, Yüksek Lisans, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, 91s.
- Tomak, E.D. (2011) Masif Odundan Bor Bileşiklerinin Yıkınmasını Önlemede Yağlı Isıl İşlemin ve Emülsiyon Teknikleri ile Emprenye İşleminin Etkisi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 334s. ,Trabzon.
- TS 2470 (1976). “Odunda Fiziksel ve Mekaniksel Deneyler İçin Numune Alma Metodları ve Genel Özellikler”, TSE, Ankara.
- TS 2595, 1977. Odunun Liflere Paralel Basınç Dayanımının Tayini, TSE Ankara. TS 2595, 1977. Odunun Liflere Paralel Basınç Dayanımının Tayini, TSE Ankara.
- Ulusoy, H., Peker, H. (2022) New Approach to Ecological Structure: Effects of Medical Aromatic Plant Extract/Borax on The Anatomical Structure of Wood and Human/Environmental Health, Fresenius

Environmental Bulletin, ISSN 1018-4619, Volume 31-No:01A/2022,
Germany.

BÖLÜM 7

EKSOZOMLARIN BİYOLOJİSİ, FONKSİYONLARI, TEŞHİS VE TEDAVİDE KULLANIMLARI

Öğr. Gör. Dr. Dilek KAAN^{1,2}

¹Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kök Hücre Birimi, Kayseri/Türkiye

²Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri MYO, Radyoterapi Programı, Kayseri/Türkiye, email: drdlkkaan@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-3622-2249

GİRİŞ

Eksozomlar hücreler tarafından salınan doğal, hücre dışı veziküllerdir. Birçok ökaryotik hücre temel işlevlerini sürdürebilmesi için hücreler arasında haberleşmesi ve iş birliği içerisinde olması gerekmektedir. Hücrelerin haberleşmesi, kendisine yakın veya uzakta bulunan her hücre ile sağlıklı bir şekilde iletişimde olması, organizma içerisinde hem genetik hem de moleküler işlevlerin doğal seyrinde devam etmesini sağlar (Zhang ve ark., 2019). Kısacası hücreler; genetik bilginin aktarımı, korunması, gerekli bilginin hedef hücreye iletimi için eksozom salgılamaktadır. Ayrıca bunların dışında hücreler kendilerine ait atıkları, eksozomlar aracılığı ile ekstrasellüler boşluğa salınım yaparak hücreye zarar verecek olan toksik bileşenleri hücreden uzaklaştırarak hücreyi iç ve dış etkenlere karşı korurlar. Genetik bilginin aktarımının yapılabilmesi için hücre tarafından salınan eksozomlar salındıkları hücreye ait olan mRNA ve alt türevleri olan molekülleri hedef hücrelere taşırlar (Bolkent, 2021). Eksozomlar her hücre tarafından salınmaz. Eksozomların salınabilmesi için hücrenin sitoplazma ve organelere sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle bakteri ve alg gibi prokaryotik canlılar salınım yapamazlar. Eksozomların etkin ve çok önemli olmasının sebebi ise; organizma içerisinde bulunan bütün vücut sıvılarından salınarak, salındıkları kaynağa göre farklı biyolojik ve dolayısıyla farklı fonksiyon özellikler göstermesidir. Farklı özelliklere sahip olması klinikte tedavide kullanılmasını, ayrıca hastalıkların tanısı için biyobelirteç olarak kullanılmasını da sağlamaktadır. Eksozomların çok çeşitli özellikler göstermesi nedeniyle teşhis ve tedavide kullanılmaya avantaj olması, klinik uygulamalarda bu hücre dışı veziküllerin kullanım potansiyellerini giderek artırmaktadır (Colombo ve ark., 2014, Gümüşderelioğlu ve ark., 2019) Son olarak, hedeflenen ilaç dağıtımı, biyobelirteç çalışması ve aşı geliştirmede kullanım için eksozomların önemine dair bir görünüm mevcut olup eksozomun klinik uygulamalarının ve klinik öncesi koruma amaçlı uygulanmasının ilerlemesinin çok önemli olduğu açıktır (Hessvik ve Liorente, 2017, Gümüşderelioğlu ve ark., 2019).

1. EKSOZOM TANIMI

1.1. Eksozom Nedir ve Nasıl Oluşur?

Eksozom terimini ilk olarak Trams ve ark. 1981'de tanımlamıştır (Trams ve ark., 1981). Çoğu canlı hücre, çapı ~20 ila ~200 nm arasında değişen zar lipozomları olan hücre dışı kesecik (ekstrasellüler vezikül, hücrelerarası vezikül -EV) salgılar (Mathivanan ve ark., 2011). Eksozomlar hücre ile aynı topolojiye sahip olan, boyut olarak heterojen özellik gösteren,

lipitler, nükleik asitler ve glikokonjugatlar bakımından zengin hem plazma hem de endozom zarlarında tomurcuklanma ile oluşan zara bağlı, yüksek sıralı oligomerik protein kompleksleri içeren ve moleküler heterojenlik gösteren membran lipozomlarıdır. Bu güncel ve genişleyen araştırma alanında kullanılan EV terimlerinin, tanımlandırılması ve isimlendirilmesinde esas olan, köken aldıkları hücre türleri, biyogenezleri, hücre içerisindeki fizyolojik işlevleri ve izolasyon metoduna bağlı olarak değişen boyutlarıdır. Ekstraselüler veziküller; eksozomları, ektozomları, mikro vezikülleri, mikropartikülleri, prostasomları, tolerozomları (diyet antijenlerine karşı immünolojik toleransı indükleyen), apoptotik cisimleri (apoptotik hücreler tarafından salınan) ve nanovezikülleri kapsar (Pegtel ve Gould, 2019). Bu EV'ler kan, tükürük, anne sütü ve sperm dahil olmak üzere çoğu aktif hücre tarafından salgılanır ve çoğu vücut sıvısında bulunur. Bu tür membran veziküllerinin üç ana tipi vardır: mikropartiküller, mikroveziküller (100-1.000 nm) ve eksozomlar (20-200 nm)'dir (Sun ve ark., 2011). Eksozom biyogenezine bakıldığında, bir protein kalite kontrol mekanizması olup, bir kez salındığında, hücre dışı matrisin yeniden modellenmesini sağlayarak sinyalleri, mikroRNA (miRNA), haberci RNA (mRNA), proteinler ve diğer biyomolekülleri, hücre içi organeller arasında iletimlerini sağlamak için reseptörler içeren zar vezikülleri kullanır (Lawson ve ark., 2016). Eksozomlar, plazma zarının çift invaginasyonunu ve intralümenal veziküller (ILV'ler) içeren hücre içi multiveziküler cisimlerin oluşumunu içeren bir süreçte üretilir. Plazma zarının ilk invaginasyonu, hücre yüzeyi proteinlerini ve hücre dışı ortama ilişkili çözünen proteinleri içeren bir yapı oluşturur. Bu oluşan ilk yapı erken endozomların oluşumuna ya da var olan endozomlar ile direk olarak etkileşime geçmesini sağlar. Bu evrede trans-golgi ağı ve endoplazmik retikulum da endozomların oluşumuna ve içeriğine katkıda bulunabilir. Endozomlar geç evrede oluşan endozomlara olgunlaşabilir ve sonunda multiveziküler endozomlar olarak da adlandırılan MVE'ler oluşturabilir. MVE'ler, endozomal sınırlayıcı membranın içe doğru invaginasyonu yani, plazma membranının çift invaginasyonu ile oluşur. Bu süreç ILV içeren MVE'lerin parçalanmış lizozomlar veya otofagozomlar ile birleşmesi ya da içerdiği ILV'leri eksozomlar olarak serbest bırakmak üzere plazma membranı ile kaynaşması ile sonuçlanır (Kahlert ve Kalluri, 2013, Van Niel ve ark., 2018, Mathieu ve ark., 2019).

1.2. Eksozomların Biyolojisi ve Fonksiyonları

Ras ile ilgili protein GTPaz Rab, Sytenin-1, TSG101 (tümör duyarlılık geni 101 proteini), ALIX (apoptoz bağlantılı gen 2-etkileşimli protein X), sindekan-1, ESCRT (endosomal sorting complexes required for transport, taşıma için gerekli endozomal ayırma kompleksleri) proteinler, fosfolipidler, tetraspaninler, seramidler, sfingomiyelinazlar ve SNARE kompleks proteinleri, eksozomların biyogenezinde ve orjinlerinde bulunmalarına rağmen bu bileşiklerin eksozom biyogenezinde işlevleri ve süreçleri hakkında sınırlı bilgi olması nedeniyle in vivo araştırma yapılması, eksozom biyogenezinde yer alan bu bileşiklerin organizmada yer alan diğer moleküler yollar ile kesişmesi ve sonucunda fonksiyonel durumlarında araştırılması gerekmektedir (Kalluri ve LeBleu, 2020). Farklı hücre tiplerinden gelen eksozomlar, çekirdek özdeş protein seti içerir. Bunlar tetraspanin ailesinin üyelerini (CD9, CD63, CD81, CD37 ve CD82), ESCRT kompleksinin üyelerini (TSG101, Alix) ve ısı şok proteinlerini (Hsp 60, Hsp70, Hsp90) içerir (Taylor ve Gercel-Taylor, 2011). Belirli olan bu tetraspanin proteinlerinin eksozomlarda yüksek oranda zengin olduğunu, buna karşın jenerik plazma ve lizozomal membran proteinlerinin olmadığı bilinmektedir. Bunlardan CD81, esas olarak plazma zarına lokalize olmasına rağmen, eksozomlardaki en yüksek oranda zenginleştirilmiş proteindir, ancak endozom bakımından zenginleştirilmiş CD63 proteini, eksozomlardaki bu proteinlerden en az zengin olanıdır. CD81 ve CD63, diğer eksozomal tetraspaninler, özellikle CD9 ile birlikte en yaygın kullanılan eksozomal işaretleyici proteinler arasında yer alır. Bu tetraspaninler kendilerine ait katalitik aktiviteler içermezler, bunun yerine diğer membran proteinlerinin fonksiyonunu, stabilitesini ve oligomerizasyonunu kolaylaştırırlar. Tetraspaninlerin bu özelliklerinden dolayı eksozomlarda majör histouyumluluk kompleksi (MHC), sınıf II proteinleri, immünoglobulin süper ailesi üyesi 8 (IGSF8), hücreler arası yapışma molekülü-1 (ICAM-1), sindekanlar (SDC1–4), integrinler ve tetraspanin ile ilişkili çok sayıda ortak protein varlığının olduğu ayrıca bu proteinlerin tetraspaninler tarafından eksozomlara dahil edildiği bilinmektedir. Bu proteinler premetastatik nişin gelişiminde ve kanser metastazının organotropizminde kritik roller oynadığından biyomedikal öneme sahiptir (Escola ve ark., 1998, Peinado ve ark., 2017). Eksozomal tetraspaninler ayrıca virüs kodlu zar proteinlerinin (ENV) eksozomal salgılanmasında da rol oynar. Örneğin, Epstein-Barr virüsü (EBV) gizli membran proteini 1, kısmen CD63 ile fiziksel etkileşiminin bir sonucu olarak eksozomlardaki hücrelerden salgılanır (Verweij ve ark., 2011,

Hurwitz ve ark., 2017). Ayrıca eksozomlarda, HIV'den gelen zarf (ENV) proteinleri, hepatit C virüsü (HCV) ve diğer zarflı virüslerin birleşmesi ve iletimi için viral membran proteinleri de salgılanmaktadır (Van Dongen ve ark., 2016, Noltet Hoen ve ark., 2016, Gould ve ark., 2003). Bu proteinlerin yanı sıra eksozomlar, köken aldıkları hücreyi yansıtan bazı spesifik proteinleri de içerir. Epitelyal tümör hücreleri, epitel hücre yapışma molekülünü (EpCAM) taşıyan eksozomlar salgılar (Silva ve ark., 2011). Melanom türevli eksozomlar, tümörle ilişkili antijen Mart-1'i içerir (Mears ve ark., 2004). Mide kanseri, meme kanseri veya pankreas kanserinden gelen eksozomlar, insan epidermal reseptör (HER) ailesinin üyelerini ifade eder (Ciravolo ve ark., 2011). Eksozomlar bu proteinler dışında hücre dışı RNA'ları (ex RNA'lar) fonksiyonel formda diğer hücelere ve dokulara aktarabilen RNA'lar içerir. Oct-4 mRNA dahil olmak üzere RNA'ları içeren kök hücre eksozomları Oct4 mRNA'yı diğer hücelere aktarabilmekte ve bunun alıcı hücelerde yüksek Oct-4 ekspresyonunu sağlamaktadır. Eksozomlar, tek sarmallı DNA, çift sarmallı DNA, genomik DNA, mitokondriyal DNA ve ters kopyalanmış tamamlayıcı DNA'lar dahil olmak üzere DNA'da içermektedir (Kahlert ve ark., 2014). Bu nedenle, eksozomal DNA, dolaşımdaki hüresiz DNA'ya (cf DNA) kıyasla daha yüksek moleküler ağırlık sergileyebilir (Lu ve Risch, 2016). Ayrıca, eksozomal DNA tanı, hastalık ilerlemesi ve hastanın tedavisi için yeni bir biyobelirteçtir. Biyobelirteç tanımlama yoluyla erken teşhis, kanser, otoimmün, bulaşıcı ve enflamatuar hastalıklar gibi çeşitli kronik hastalıkların etkin tedavisi için sağlam bir araç olarak kabul edilir. Biyobelirteçler, teşhis araçları, kişiselleştirilmiş ilaç platformları ve klinik araştırmalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (Kalluri ve LeBleu, 2020). Eksozomlar, tanısız biyobelirteçler, görüntüleme araçları, terapötik hedefler, doku onarım maddeleri ve ilaç dağıtım platformları olarak işlev görürler. Benzersiz biyolojik ve patofizyolojik özellikleri ile yeni araştırma yolları olarak klinik öncesi, klinik deneylerde ve aşı geliştirmede kullanılabilir (Becker ve ark., 2016). Eksozomları diğer hücre dışı veziküllerden ayıran en önemli özelliği biyogenez yolları, lipid kompozisyonları ve taşıdıkları kargo içerikleridir. Kargo bileşiklerinin çok çeşitli olması ile eksozomların, nörodejenerasyon, kardiyovasküler disfonksiyon ve kanser dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıkların tedavisi için tanı ve tedavi araçları olarak kullanılmaya başlanması, sağlık alanında araştırılmaya, sağlıkta yeni terapötik yaklaşım olmaya aday olduğunu gösterir (Doyle ve Wang, 2019).

2. EKSOZOMLARIN TEŞHİS VE TEDAVİDE KULLANIMI

2.1. Nörolodejeneratif Hastalıklarda Eksozomlar

Eksozomal biyogenez ile nöronal hücrelerde salgı keseciklerinin düzenlenmesi arasındaki kesişme, eksozomlar ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezi arasındaki varsayılan bağlantıya yeni bir bakış açısı getirmiştir. Eksozomlar, beyinde katlanmamış ve anormal şekilde katlanmış proteinlerin toplanmasını teşvik edebilir veya sınırlayabilir. Eksozomlar, yanlış katlanmış proteinlerin düzenlenmesini sağlayabilir ve böylece detoksifiye edici ve sinir koruyucu işlevler uygulayabilir. Bunun tam tersi olarak beyinde oluşmuş veya varolan bir defektif söz konusu ise, yanlış katlanmış proteinlerin yayılmasına ve toplanmasına katılarak, protein kümelerinin 'enfektivitesini' etkin bir şekilde teşvik edebilir ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilir (Budnik ve ark., 2016). Eksozomların biyolojisine bakıldığında eksozomlar nöroprotektif olabilir. Eksozomlar, nörotoksik oligomer oluşumunu bozabilir veya eksozomlar bu toksik yapıları hücre dışına taşıyabilir. Nörodejeneratif hastalıklarda eksozomların işlevi, yanlış katlanmış protein birikiminin eksozom kontrolüne odaklanmış olsa da, nükleik asitler ve diğer bileşenler, diğer nörolojik bozuklukların kötüleşmesinde veya iyileştirilmesinde rol oynayabilir (Falkner ve ark., 2016). Merkezi sinir sisteminde bulunan oligodendrositler, nöronlar ve astrositler dahil olmak üzere birçok hücre türünün, eksozom salgıladığı gösterilmiştir. Potansiyel taşıyıcılar olarak eksozomlar, nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynar ve ayrıca bulaşmaya yardımcı olur (Wu ve ark., 2016).

2.2. Kanserde Eksozomlar

Şimdiye kadar, eksozomal DNA, çeşitli kanser türlerinde moleküler profillemeye için kullanılan yüksek kaliteli DNA malzemesi olarak onaylanmıştır. Eksozomal DNA'daki tümörle ilgili bazı mutasyonların, pankreas kanseri (Pk), kolorektal kanser vb. hastalarda hastalığın ilerlemesini ve prognozunu hakkında bilgi vermektedir. Eksozom veritabanı ExoCarta'ya (www.exocarta.org) göre, farklı organizmalardan ve vücut sıvılarından alınan eksozomlarda 9.769 protein, 3.408 mRNA, 2.838 miRNA ve 1.116 lipid tanımlanmıştır (Keerthikumar ve ark., 2016). Eksozomlar, verici hücrelerden alıcı hücrelere biyoaktif moleküller aktararak hücre-hücre iletişimde çok önemli roller oynarlar. Kanser hücrelerinin hem yakındaki hem de uzaktaki diğer hücrelerle bilgi alışverişinde bulunmak için daha fazla sayıda eksozom salgıdığı bilinmektedir. Biyoaktif yüklerini (proteinler, miRNA'lar ve lncRNA'lar dahil) teslim ederek, kanser hücresinden türetilen eksozomlar,

metastatik öncesi mikro ortamın oluşumuna, tümör büyümesine ve ilerlemesine, bağışıklık kaçışına, anjiyogeneze, anti-apoptotik sinyalleşmeye, ilaca dirençliliğe katkıda bulunur (Osaki ve Okada, 2019). Bu arada, dendritik hücreler (DH), B hücreleri ve T hücreleri gibi sağlıklı hücrelerden alınan eksozomlar, tümör büyümesinin inhibe edilmesinde önemli bir rol oynar. Bu nedenle, kaynak hücrelerine ve biyoaktif bileşenlerine bağlı olarak, eksozomlar kanser düzenlemesinde büyümeyi inhibe ederek veya teşvik ederek ikili rol oynayabilir (Utsugi-Kobukai ve ark., 2003). Güncel olarak kanser tedavilerinde; kanser hücrelerini baskılamak için bağışıklık hücrelerinden doğal olarak türetilen eksozomların kullanılması, kanserden türetilen eksozomların salınımının engellenmesi, gen taşıyıcıları olarak eksozomların kullanılması ve kanser önleyici ilaç taşıyıcıları olarak eksozomların kullanılması olarak farklı yöntem geliştirilmiştir (Liu ve ark., 2017, Gilligan ve Dwyer, 2017).

2.3. Kardiyovasküler Hastalıklarda Eksozomlar

Kardiyovasküler fonksiyon, kardiyomiyositler ve diğer kardiyak hücre tipleri arasındaki orkestrasyonlu iletişime bağlıdır. Eksozomlar tarafından aktarılan moleküler bileşikler, fizyolojik koşullarda kardiyak homeostazını modüle eder. Patolojik koşullarda, proteinlerde, nükleik asitlerde ve eksozomlar tarafından taşınan diğer kargo moleküllerde meydana gelen değişiklikler, kardiyovasküler hastalığın başlamasına ve ilerlemesine yol açar (Jadli ve ark., 2021).

Son yıllarda, eksozomal miRNA'lar, yeni hastalık biyobelirteçleri ve geleneksel biyobelirteçlere kıyasla yüksek özgüllüğe sahip kullanışlı tanı araçları olarak bildirilmiştir. Eksozomal miRNA'ların kardiyoproteksiyon için ve kardiyovasküler hastalıklarda biyobelirteçler olarak (tanı, prognoz ve terapötik faydada) kullanım olanakları da araştırılmaktadır. Kardiyomiyositler, endotelial hücreler ve kök hücreler gibi kardiyovasküler hücrelerden türetilen eksozomlar, kardiyovasküler dokularda kardiyokoruma ve/veya yaralanma sonrası rejenerasyona katılabilen sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve miRNA'ların taşınması için araç görevi görerek tedavide kullanılabilir (Zamani ve ark., 2019).

KAYNAKÇA

- Becker, A., Thakur, B. K., Weiss, J. M., Kim, H. S., Peinado, H., & Lyden, D. (2016). Extracellular vesicles in cancer: Cell-to-Cell mediators of metastasis. *Cancer Cell*, 30(6), 836–848. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.10.009>
- Bolkent, H. S. (2021). KANSERDE YENİ HEDEF: MİKROVEZİKÜLLER VE EKSOZOMLAR. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 84(1). <https://doi.org/10.26650/iuitfd.2020.0015>
- Budnik, V., Ruiz-Cañada, C., & Wendler, F. (2016). Extracellular vesicles round off communication in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(3), 160–172. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.29>
- Ciravolo, V., Huber, V., Ghedini, G. C., Venturelli, E., Bianchi, F., Campiglio, M., Morelli, D., Villa, A., Mina, P. D., Menard, S., Filipazzi, P., Rivoltini, L., Tagliabue, E., & Pupa, S. M. (2011). Potential role of HER2-overexpressing exosomes in countering trastuzumab-based therapy. *Journal of Cellular Physiology*, 227(2), 658–667. <https://doi.org/10.1002/jcp.22773>
- Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2014). Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 30(1), 255–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>
- Doyle, L., & Wang, M. (2019). Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis. *Cells*, 8(7), 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
- Escola, J.-M., Kleijmeer, M. J., Stoorvogel, W., Griffith, J. M., Yoshie, O., & Geuze, H. J. (1998). Selective enrichment of tetraspan proteins on the internal vesicles of multivesicular endosomes and on exosomes secreted by human b-lymphocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 273(32), 20121–20127. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.32.20121>
- Falkner, C., Hartmann, A., Guett, I., Dohler, F., Altmeppen, H., Betzel, C., Schubert, R., Thurm, D., Wegwitz, F., Joshi, P., Verderio, C., Krasemann, S., & Glatzel, M. (2016). Exosomal cellular prion protein drives fibrillization of amyloid beta and counteracts amyloid beta-mediated neurotoxicity. *Journal of Neurochemistry*, 137(1), 88–100. <https://doi.org/10.1111/jnc.13514>
- Gilligan, K., Dwyer, R. (2017). Engineering exosomes for cancer therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1122. <https://doi.org/10.3390/ijms18061122>
- Gould, S. J., Booth, A. M., & Hildreth, J. E. K. (2003). The Trojan exosome hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(19), 10592–10597. <https://doi.org/10.1073/pnas.1831413100>
- Gümüşlüdereoğlu, M., Ertekin, TS., Konuk, E., (2019). Biyolojik bir hazine eksozomlar. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 70-75.

- Hessvik, N. P., Llorente, A. (2017). Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(2), 193–208. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2595-9>
- Hurwitz, S. N., Nkosi, D., Conlon, M. M., York, S. B., Liu, X., Tremblay, D. C., & Meckes, D. G., Jr. (2017). CD63 regulates epstein-barr virus LMP1 exosomal packaging, enhancement of vesicle production, and noncanonical nf-kb signaling. *Journal of Virology*, 91(5). <https://doi.org/10.1128/jvi.02251-16>
- Jadli, A. S., Parasor, A., Gomes, K. P., Shandilya, R., & Patel, V. B. (2021). Exosomes in cardiovascular diseases: Pathological potential of nanomessenger. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.767488>
- Kahlert, C., & Kalluri, R. (2013). Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *Journal of Molecular Medicine*, 91(4), 431–437. <https://doi.org/10.1007/s00109-013-1020-6>
- Kahlert, C., Melo, S. A., Protopopov, A., Tang, J., Seth, S., Koch, M., Zhang, J., Weitz, J., Chin, L., Futreal, A., & Kalluri, R. (2014). Identification of Double-stranded Genomic DNA Spanning All Chromosomes with Mutated KRAS and p53 DNA in the Serum Exosomes of Patients with Pancreatic Cancer. *Journal of Biological Chemistry*, 289(7), 3869–3875. <https://doi.org/10.1074/jbc.c113.532267>
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology function and biomedical applications of exosomes. *Science*, 367(6478). <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- Keerthikumar, S., Chisanga, D., Ariyaratne, D., Al Saffar, H., Anand, S., Zhao, K., Samuel, M., Pathan, M., Jois, M., Chilamkurti, N., Gangoda, L., & Mathivanan, S. (2016). ExoCarta: A web-based compendium of exosomal cargo. *Journal of Molecular Biology*, 428(4), 688–692. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.019>
- Lawson, C., Vicencio, J. M., Yellon, D. M., & Davidson, S. M. (2016). Microvesicles and exosomes: New players in metabolic and cardiovascular disease. *Journal of Endocrinology*, 228(2), R57–R71. <https://doi.org/10.1530/joe-15-0201>
- Liu, H., Chen, L., Peng, Y., Yu, S., Liu, J., Wu, L., Zhang, L., Wu, Q., Chang, X., Yu, X., & Liu, T. (2017). Dendritic cells loaded with tumor derived exosomes for cancer immunotherapy. *Oncotarget*, 9(2), 2887–2894. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20812>
- Lu, L., & Risch, H. A. (2016). Exosomes: Potential for early detection in pancreatic cancer. *Future Oncology*, 12(8), 1081–1090. <https://doi.org/10.2217/fon-2015-0005>
- Mathieu, M., Martin-Jaular, L., Lavieue, G., & Théry, C. (2019). Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles

- for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biology*, 21(1), 9–17. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>
- Mathivanan, S., Fahner, C. J., Reid, G. E., & Simpson, R. J. (2011). ExoCarta 2012: Database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucleic Acids Research*, 40(D1), D1241–D1244. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr828>
- Mears, R., Craven, R. A., Hanrahan, S., Totty, N., Upton, C., Young, S. L., Patel, P., Selby, P. J., & Banks, R. E. (2004). Proteomic analysis of melanoma-derived exosomes by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 4(12), 4019–4031. <https://doi.org/10.1002/pmic.200400876>
- Noltet Hoen, E., Cremer, T., Gallo, R. C., & Margolis, L. B. (2016). Extracellular vesicles and viruses: Are they close relatives? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(33), 9155–9161. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605146113>
- Osaki, M., & Okada, F. (2019). Exosomes and their role in cancer progression. *Yonago Acta Medica*, 62(2), 182–190. <https://doi.org/10.33160/yam.2019.06.002>
- Pegtel, D. M., & Gould, S. J. (2019). Exosomes. *Annual Review of Biochemistry*, 88(1), 487–514. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-013118-111902>
- Peinado, H., Zhang, H., Matei, I. R., Costa-Silva, B., Hoshino, A., Rodrigues, G., Psaila, B., Kaplan, R. N., Bromberg, J. F., Kang, Y., Bissell, M. J., Cox, T. R., Giaccia, A. J., Ertler, J. T., Hiratsuka, S., Ghajar, C. M., & Lyden, D. (2017). Pre-metastatic niches: Organ-specific homes for metastases. *Nature Reviews Cancer*, 17(5), 302–317. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.6>
- Silva, J., Garcia, V., Rodriguez, M., Compte, M., Cisneros, E., Veguillas, P., Garcia, J. M., Dominguez, G., Campos Martin, Y., Cuevas, J., Peña, C., Herrera, M., Diaz, R., Mohammed, N., & Bonilla, F. (2011). Analysis of exosome release and its prognostic value in human colorectal cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 51(4), 409–418. <https://doi.org/10.1002/gcc.21926>
- Sun, D., Zhuang, X., Grizzle, W., Miller, D., & Zhang, H.-G. (2011). Abstract 4446: A novel nanoparticle drug delivery system: The anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Cancer Research*, 71(8_Supplement), 4446–4446. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2011-4446>
- Taylor, D. D., & Gercel-Taylor, C. (2011). Exosomes/microvesicles: Mediators of cancer-associated immunosuppressive microenvironments. *Seminars in Immunopathology*, 33(5), 441–454. <https://doi.org/10.1007/s00281-010-0234-8>
- Trams, E. G., Lauter, C. J., Norman Salem, Jr., & Heine, U. (1981). Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles.

- Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes*, 645(1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90512-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90512-5)
- Utsugi-Kobukai, S., Fujimaki, H., Hotta, C., Nakazawa, M., & Minami, M. (2003). MHC class I-mediated exogenous antigen presentation by exosomes secreted from immature and mature bone marrow derived dendritic cells. *Immunology Letters*, 89(2–3), 125–131. [https://doi.org/10.1016/s0165-2478\(03\)00128-7](https://doi.org/10.1016/s0165-2478(03)00128-7)
- Van Dongen, H. M., Masoumi, N., Witwer, K. W., & Pegtel, D. M. (2016). Extracellular vesicles exploit viral entry routes for cargo delivery. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(2), 369–386. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00063-15>
- Van Niel, G., D'Angelo, G., & Raposo, G. (2018). Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(4), 213–228. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
- Verweij, F. J., Van Eijndhoven, M. A. J., Hopmans, E. S., Vendrig, T., Wurdinger, T., Cahir-McFarland, E., Kieff, E., Geerts, D., Van Der Kant, R., Neefjes, J., Middeldorp, J. M., & Pegtel, D. M. (2011). LMP1 association with CD63 in endosomes and secretion via exosomes limits constitutive NF- κ B activation. *The EMBO Journal*, 30(11), 2115–2129. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.123>
- Wu, X., Zheng, T., & Zhang, B. (2016). Exosomes in parkinson's disease. *Neuroscience Bulletin*, 33(3), 331–338. <https://doi.org/10.1007/s12264-016-0092-z>
- Zamani, P., Fereydouni, N., Butler, A. E., Navashenaq, J. G., & Sahebkar, A. (2019). The therapeutic and diagnostic role of exosomes in cardiovascular diseases. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 29(6), 313–323. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2018.10.010>
- Zhang, Y., Liu, Y., Liu, H., & Tang, W. H. (2019). Exosomes: Biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell & Bioscience*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0282-2>

BÖLÜM 8

FARMOSOTİK ATIKLARIN SUCUL EKOSİSTEME ETKİLERİ

Öğr. Gör. Dr. Talip TURNA^{1*}

Dr. Öğr. Üyesi Alper SOLMAZ²

¹*Dicle Üniversitesi, Diyarbakır Teknik Bilimler MYO., Diyarbakır, Türkiye,
talipturna@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-6318-7245

²İskenderun Teknik Üniversitesi, İskenderun MYO., Hatay, Türkiye, alper.solmaz@iste.edu.tr,
ORCID ID: 0000-0001-6928-3289

GİRİŞ

Artan Dünya nüfusu ile birlikte bazı bölgelerde kentsel birikmeler oluşmuştur. Ayrıca, teknolojinin hızla gelişmesi ve tüketim alışkanlıklarının değişmesiyle birlikte tüketim de hızla artmıştır. Sanayileşme ile birlikte yerleşim alanlarının hızlı kontrolsüz bir biçimde büyümesi sebebiyle pek çok endüstriyel faaliyetlerden, kamu ve özel kuruluşlardan ve de bireysel konutlardan doğal olarak katı-sıvı ve gaz atıklar çıkmaktadır. Ekonomik ve sosyal dinamiklerin etkisiyle gerçekleşen bu göçler kırsal alanlarda büyük çözümler oluşturmaktadır. Kentlere doğru olan bu göçlerin oluşturduğu kontrolsüz nüfus artışı ekolojik denge üzerinde ciddi baskılar meydana getirmektedir. Kentsel altyapının ani nüfus artışlarına hazırlıksız yakalandığı durumlara bağlı olarak kentlerin ekolojik dengeleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Gün geçtikçe ortaya çıkan atıkların nitelik ve niceliklerinin değişmesi küresel ölçekte çevresel kirliliği arttırmaktadır (Çatalbaş, 2016; Saygı ve ark., 2012).



Resim 1. İlaç atıkları (“Drugging the Environment | The Scientist Magazine®”, 2022)

Günümüzde özellikle kentlerde içme ve kullanma suları özelinde su kaynaklarının yetersizliği, mevcut olanlarında hızla kirlenmesi nedeniyle su temini problemleri hızla artmaktadır. Canlıların hayatlarını idame ettirebilmesi için tartışılmaz bir şekilde önemli olan içme ve kullanma suları hızla kalitesini yitirmektedir. Bu yüzden içme ve kullanma suyu kaynaklarının aralıksız şekilde izlenmesi ve bunların denetlenmesi zaruridir. Su kirliliğine sebep olan maddeler içerik ve çeşitleri sürekli olarak değiştiğinden mevcut analiz yöntemleri sınırlı olmakla birlikte çeşitli yönlerde eksik kalmaktadır.

İnsanların ve de diğer canlıların sağlıklarının korunması için çok değişik ilaç grupları kullanılmaktadır. Bu ilaçlar canlı vücudunda tamamen vücutta emilememekte, direkt ya da farklı nitelikte ara ürüne dönüşerek canlı vücudundan idrar, dışkı, ter vs. atılmaktadır (Sönmez ve Işık, 2013).

1. KÜRESEL ÖLÇEKTE İLAÇ KULLANIMI

Küresel ölçekte ilaç kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Sadece, dünya çapında uyuşturucu kullanan 29 milyondan insanın olduğu tahmin ediliyor (Hurst, 2019). Dünya çapında yaklaşık olarak 200.000 ton /yıl antibiyotik kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2015). Ülkemiz özelinde 2018 yılı içerisinde 400 milyon civarında reçete yazıldığı bildirilmiştir (Bilgener ve Bulut, 2021). Dünya genelinde sağlık harcamalarının toplam harcamalara oranı düşük gelirlili ve orta gelirlili ülkeler için bakıldığında yaklaşık %70/75 civarındadır (Cameron ve ark., 2009) Ancak gerçekçi olmayan ilaç tüketimi, ilk olarak gelişmekte olan ülkelerin sağlık sistemlerinde gözlenmektedir. DSÖ, tüm ilaçların yarısından fazlasının irrasyonel olarak reçeteye yazıldığını ya da çeşitli yöntemlerle dağıtıldığını ve ayrıca bu hastaların yarısından fazlasının reçete edilen rejimlere uymadığını tahmin etmektedir. Mevcut bilgiler ilaçların akılcı bir şekilde kullanılmadığını göstermektedir. Akılcı olmayan ilaç kullanımının yaygın nedenleri şunlardır: reçeteli ilaçlar hakkında yeterli bilgi eksikliği, tıp mezunlarının eğitiminde eksik kalması, sağlık hizmeti sağlayan kurum ve kuruluşlar ve hastalar arasında zayıf iletişim, teşhis olanaklarının eksikliği, hastadan gelen talep ve kusurlu ilaç tedarik sistemi ve hastanın teşhisini kendisi koyarak bilinçsizce ilaç kullanmasıdır. Bu akılcı olmayan kullanım ve gelecekteki nüfus artışına paralel olarak yükselecek reçete sayısı neticesinde sucul ortamlara salınacak ilaçlardan kaynaklanan olası ekolojik riskler endişe verici boyutlara ulaşabilir (Gracia-Lor ve ark., 2012).

1.1. Farmosotik Atıkların Kaynakları ve Yayılım Mekanizması

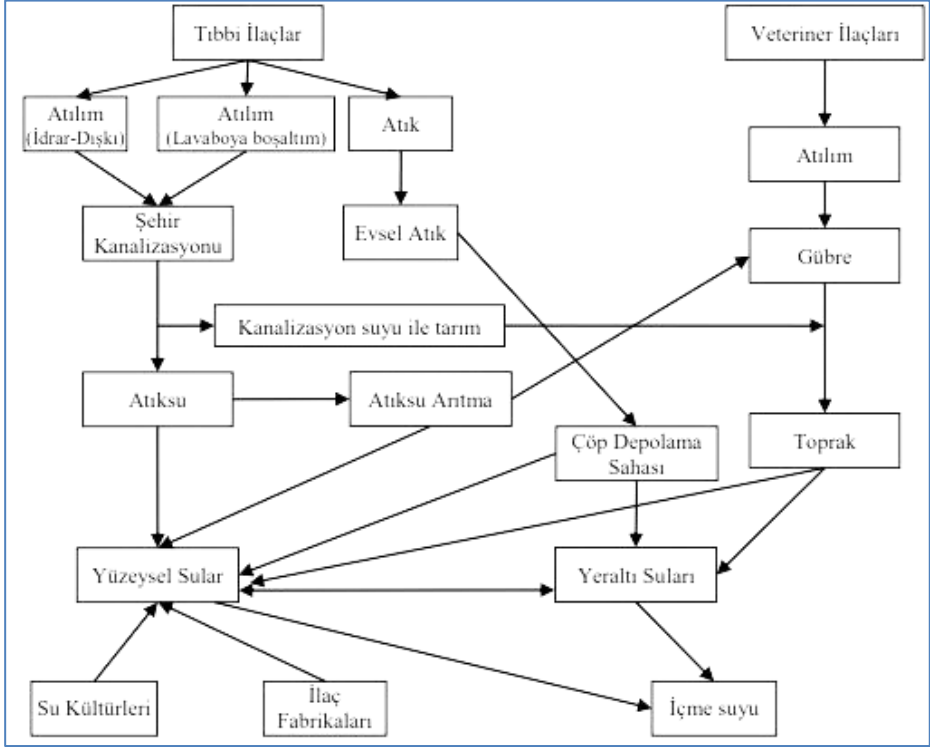
Canlı üzerinde en etkili biçimde tesir etmesi amacıyla üretilen ilaçların kolay bir şekilde içilebilmeleri için ve raf ömrünün uzun olabilmesi için çevresel şartlara karşı oldukça dayanıklı ve sıvı fazda hareket yetenekleri yüksek olacak şekilde üretilirler.

Farmasötik atıkların yayılımı ve taşınması hakkında yaygın olarak kabul edilen bazı hipotezler şunlardır (Dey ve ark., 2019);

1. Tedavi sırasında canlı vücut tarafından emilen ilaçlar metabolize edilmeden kalır ve daha sonra atılır ve kanalizasyon ve septik

- tanklarda kontaminasyona yol açar; örneğin, metotreksat insan vücudunda tamamen değişmeden kalır.
2. Kanalizasyon arıtma tesisleri bu tür kirleticileri uzaklaştırmakta başarısız olur deşarj suyu ve kurutulmuş çamur kullanılırsa, bu bileşiklerin önemli miktarları çözünmüş ve biyolojik olarak adsorbe edilmiş halde yüzeysel ve yeraltı sularına ulaşır.
 3. İlaç sanayii atıksuları su kirliliğinin yanında toprak kirliliğine de yol açar.
 4. Farmasötik atıklarla kirlenmiş topraklardan gelen akışlar yeraltı suyuna sızarak, çözülmüş kirleticileri en yakın su havzasına taşır.
 5. Hayvancılıkta kullanılan veteriner ilaçlarında bulunan bileşikler, genellikle hayvan pislikleri yoluyla toprağa ulaşır ve yeraltı sularına karışır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan kimyasallar doğrudan yüzey akışlarına giderek sucul ekosisteme ulaşırlar (Ebele ve ark., 2017).
 6. Farmasötik ürünler, evlerden, ofislerden ve endüstrilerden gelen yıkama, temizleme ve banyo faaliyetleri ile kolayca kanalizasyona boşalırlar (Peck, 2006).
 7. Düzenli depolama sahalarına dökülen katı atıklar, genellikle uzun vadeli birincil farmasötiklerin kaynağı haline gelen atılmış ürünler ve süresi dolmuş ilaçların yanı sıra sızıntı suyunda çözünen ve yeraltı suyunu kolayca kirleten biyo-dönüştürülmüş formları içerir.

Tüketilen ilaçların büyük bir kısmı insan idrarıyla birlikte veya dışkı içerisinde ya da direkt olarak lavabolara dökülme sonucu kanalizasyona girerek atıksu arıtma tesislerine kadar bir yol izleyerek son nokta olan sucul ekosistemlere ulaşırlar. Canlı vücudundaki etki mekanizmalarının maksimum seviyeye ulaşması için ilaçlara kazandırılan yetenekler sebebiyle ilaç bünyesindeki aktif maddeler ve çeşitli biyotransformasyon maddeleri, sucul ekosistemde birikerek çeşitli ekotoksik etkilere sebep olabilirler (Saygı ve ark., 2012). Farmasötikler ve kişisel bakım ürünleri kentsel atık sularda düzenli olarak bulunurlar. Potansiyel toksisiteleri ve ekolojik etkileri konusunda endişe uyandıran analjezikler, antibiyotikler, sitostatik hormonlar, dezenfektanlar ve antiseptikler gibi çeşitli biyoaktif bileşenleri çeşitli araştırma ve incelemelerle ekosistemde gözlemlenen ilaçlardan bazılarıdır (Falás ve ark., 2012; Saygı ve ark., 2012). Genel olarak ilaç atıklarının oluşumu ve çevresel yayılımı Şekil 1’de sunulmuştur.



Şekil 1. Farmasötik atıkların oluşumu ve yayılımı (Ganiyu vd., 2015; Halling-Sørensen vd., 1998; Heberer, 2002; Saygı vd., 2012; Ziylan ve Ince, 2011)

Farmasötik ve kişisel bakım ürünleri adı altında toplanmış bu atıklar; insan/hayvan hastalıklarını engelleme ya da tedavi etmede kullanılan insan ilaçları, kişisel bakım ürünleri ve veteriner ilaçlarında kullanılan dezenfektanlar veya sentetik misklerin yanı sıra yaşam kalitesini iyileştirmek için evlerde kullanılan kimyasalları da içeren geniş bir gruptur (Gao ve ark., 2016; Pompei ve ark., 2019). Dünya çapında yaklaşık olarak 200.000 ton /yıl antibiyotik kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2015). Bu aşırı kullanım nedeniyle, atık suyun arıtma tesislerinde daha düşük seviyelerde giderildiği ve çevreye sürekli deşarjların olduğu raporlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine bakıldığında, antibiyotik direncinin artması nedeniyle oluşacak enfeksiyonlardan dolayı 2050 yılına kadar yaklaşık neredeyse 10.000.000'dan fazla insanın hayatını kaybedebileceği düşünülmektedir (Rafiei ve ark., 2021). Çok sayıda çalışma bu deşarjlar sebebiyle farmasötik kalıntıların sucul ekosistemlerde bulunduğunu bildirmiştir (Azuma ve ark., 2019; Sharma ve ark., 2019).

Farmasötik bileşiklerin bazıları çok düşük konsantrasyonlarda bile biyolojik olarak aktif olduğundan ve suda yaşayan canlıların bünyelerinde birikebilecek potansiyelindedir. Bu bileşiklerin içme ve sulama suyunda ortaya çıkması birçok bölgede sağlık sorunları ve su yönetimi sorunu oluşturabilir (Tanoue ve ark., 2015). Bu bileşikler su kütlelerinde birikebilir ve daha sonra balıklar ve bazı kabuklu deniz ürünleri gibi suda yaşayan organizmalarda birikerek su ekosistemindeki hedef olmayan organizmaları etkileyebilirler (Liu ve ark., 2018). Farmasötiklerin yeraltı sularında bulunması, insan bağırsak florası ile etkileşime girerek metabolizmanın antibiyotik direncinin artmasını sağlayabilir (Szekeres ve ark., 2018). Öte yandan, farmasötikleri içeren su kullanılarak yapılan sulama neticesinde ekinler bu bileşikleri bünyesine alarak insan maruziyetine yol açabilirler (Miller ve ark., 2016).

Bununla birlikte, genel olarak, AAT'leri ve içme suyu arıtma tesislerinin çoğu bu tür maddeleri arıtmak için tasarlanmamıştır. Sonuç olarak bu bileşiklerin önemli bir kısmı arıtma tesislerinde arıtılamaz. Bu nedenle, saf bileşik ve/veya metabolitleri yoluyla su ortamına girebilirler (Matamoros ve ark., 2009).

2. FARMOSOTİK ATIKLARIN SUCUL EKOSİSTEME ETKİLERİ

Farmosotikler ekosistem içerisinde yayılıcı yeteneklere sahip bileşiklerdir (Dey ve ark., 2019). Bu özelliklerinden dolayı toprak ve su ekosistemleri üzerinde kolaylıkla yayılabilirler. Hemen tüm alıcı ortamlar (okyanus, deniz, nehir, göll vs.) birçok farmosotik atık için ana depolardır (Su ve ark., 2020). Bu atıklar balıklar ve diğer deniz canlılarının, metabolik aktivitelerini negaitf yönde etkilemektedir (Guo ve ark., 2021). Ayrıca, farmosotiklerin bazıları, bu sucul organizmaların hayati organlarında biyolojik olarak birikerek işlev bozukluğuna veya hasara neden olur (Watanabe ve ark., 2016).

Grabicavo ve ark. tarafından yapılan araştırmada, balıkların ve diğer su organizmalarının beyni, solungaçları, kasları, karaciğeri ve böbrekleri gibi ana organlarda değişen miktarlarda farmasötik bileşikler tespit etmişlerdir (Grabicova ve ark., 2017). Yapılmış başka bir çalışmada Çek Cumhuriyeti'nin Zivny Çayı'nda yetiştirilen nehir alabalığının (*Salmo trutta m. fario*) karaciğerinde ve böbreklerinde 10'dan fazla ilaç etkeninin bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca balıkların beyininde bir antidepresan türü olan (Sertralin) birikmiştir (Grabicová ve ark., 2020). Farmasötik atıkların balıklarda ve diğer suda yaşayan hayvanlarda biyolojik olarak birikmesi, akut ve kronik toksisite

ile sonuçlanır. Ayrıca suda yaşayan hayvanlardaki kronik etkisi, nörolojik bir bozukluk, üreme bozukluğu, büyüme ve diğer metabolik kusurlardan oluşur.

Farmasötik atıkların sucul ekosisteme olan diğer bir etkisi canlıların antibiyotik direnci üzerine olan etkisidir. Farmasötik atıkların bertarafı, özellikle uygun şekilde yapılmadığında antibiyotiklere dirençli mikrobiyal varyantların veya antibiyotiğe dirençli genlerin yaygınlaşmasına neden olmuştur (Thomas ve ark., 2020) Ayrıca, bu atıklar organizmanın spesifik antibiyotiklere karşı direncini sağlayan bazı genetik elementlerin evrimini veya edinimini teşvik eder (Amato ve ark., 2021) Bu devinim sürecindeki en kötü senaryo insanların kontamine su içerek bu ürünleri vücutlarına almaları ve balık, deniz canlıları ve diğer tarımsal ürünlerin tüketiminden dolayı trofik transferleridir. Wee ve ark. Malezya musluk suyunda antibiyotikler, anti-inflamatuar ilaçlar, anti-epileptik ilaçlar, psikoaktif uyarıcılar ve 0,03-21,39 ng/L aralığında diğerleri içeren ilaç kalıntıları tespit ettiler (Wee ve ark., 2020). Bir anti-inflamatuar ilaç olan diklofenak 21.39 ng/L ile en yüksek konsantrasyonu gösterse de bazı diğer antibiyotikler endişe verici düzeyde tespit edildi. Amato ve ark. Valencia kenti yakınlarında tarımsal sulama sularından alınan örneklerde antibiyotik direnç genlerinin varlığını ve yüzdelere araştırdığı çalışmada %79,2 oranında çoklu dirençli Ecoli izolatu tespit ettiler. Dolayısı ile bu su kesinlikle meyve ve sebzelerin temizliğinde kullanılamaz (Amato ve ark., 2021).

SONUÇLAR

Farmosotik atıklar tarımsal faaliyetler, veterinerlik ve tıbbi faaliyetler, evsel temizlik ürünler ve kişisel bakım ürünlerinde bulunan özel kirleticilerdir. Bunların pek çoğu biyolojik yönden oldukça aktif olmakla birlikte alıcı ortamlarda düşük derişimlerde görülmektedir. Bunların birçoğu içme ve kullanma suyu arıtım tesislerinde ya da atıksu arıtma tesislerinde klasik arıtma (teknoloji yetersizliği-maliyet) nedeni ile arıtılmadan sucul ekosisteme ulaşmaktadırlar. Son yıllarda analitik analiz metotların gelişmesi ile bu bileşikler ve sucul ekosistemde daha kolay bir şekilde tespit edilebilmektedirler. Sucul ekosistemlerdeki biyoakümülyasyon ve biomagnifikasyon süreçleri ile canlı vücutlarında birikime neden olurlar. Bu trofik transfer neticesinde devinim sekteye uğramaktadır. Canlıların karaciğer, beyin, böbrek vs. sistemlerini bozarak toksik etkiye sebep olmaktadır. Özellikle en önemli sorun antibiyotiklerin oluşturduğu sucul ekosistemlerdeki antibiyotik direncinin artmasıdır. Antibiyotik direnç genlerinin artması ve evrimi oldukça problemleri bir süreçtir.

Bu sebeplerden dolayı farmosotik atıkların detaylı bir şekilde izlenmesi ve denetlenmesi gerekmektedir. Total atık miktarını azaltmak için akılcı ilaç kullanımının yaygınlaştırılarak koruyucu hekimlik sürecinin daha aktif işletilmesi gerekmektedir. Böylece ilaç kullanımını azaltılabilir. Ayrıca ilaç üretim sanayiinde yeşil kimya tekniklerinin de önemsenmesi gerekmektedir. Ayrıca atıksularında yoğun miktarda ilaç kalıntıları bulunan hastane atıksuları için mutlaka hibrit arıtma seçenekleri değerlendirilmelidir. İleri oksidasyon yöntemleri ve hibrit arıtma prosesleri bu atıkların gideriminde başarılı sonuçlar vermektedir. Fotodegradasyon, adsorpsiyon, membran filtrasyonu, katalitik oksidasyon, vb. gibi çeşitli gelişmiş atık su arıtma teknolojileri, bu özel kimyasal bileşikler sınıfının verimli bir şekilde uzaklaştırılması için geliştirilmiştir (Kumar ve ark., 2022).

Söz konusu farmosotik atıklar miktar bakımından diğer kirleticilere nazaran oldukça düşük derişimlerde olmasına rağmen zor parçalanabilir ve toksik etkilerinden dolayı dikkat edilmesi gereken bir konudur. Ekosistemdeki devinim sayesinde oluşturdukları ara ürünler ve canlı vücudundaki başkalaşımlara sebep olmaları sebebi ile gelecek yıllarda hem insanlar hem de diğer pek çok canlıda istenmeyen negatif sonuçlara yol açabilirler. Ekosistemlerin taşıma kapasitelerinin üzerinde yapılan deşarjlar neticesinde sistemlerin gelecekte ne şekilde bize cevap vereceği bilinmeyenlerle dolu bir süreçtir.

KAYNAKLAR

- Anderson, J., Rainie, L., Luchsinger, A. (2018). Artificial intelligence and the future of humans. Pew Research Center, 10, 12.
- Amato, M., Dasí, D., González, A., Ferrús, M. A., Castillo, M. Á. 2021. "Occurrence of antibiotic resistant bacteria and resistance genes in agricultural irrigation waters from Valencia city (Spain)". *Agricultural Water Management*, 256, 107097.
- Azuma, T., Otomo, K., Kunitou, M., Shimizu, M., Hosomaru, K., Mikata, S., ... Hayashi, T. 2019. "Environmental fate of pharmaceutical compounds and antimicrobial-resistant bacteria in hospital effluents, and contributions to pollutant loads in the surface waters in Japan". *Science of The Total Environment*, 657, 476–484.
- Bilgener, E., Bulut, S. 2021. "Evaluation of electronic prescriptions in Turkey: A community pharmacy perspective". *Health Policy and Technology*, 10(1), 52–59.
- Cameron, A., Ewen, M., Ross-Degnan, D., Ball, D., Laing, R. 2009. "Medicine prices, availability, and affordability in 36 developing and middle-income countries: a secondary analysis". *The Lancet*, 373(9659), 240–249.
- Çatalbaş, F. 2016. "Yozgat şehir merkezinin başlıca kentleşme sorunları ve çözüm önerileri". *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 32(1), 1–10.
- Dey, S., Bano, F., Malik, A. 2019. "Pharmaceuticals and personal care product (PPCP) contamination—a global discharge inventory". *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology Emerging Contaminants and Micro Pollutants*, 1–26.
- Drugging the Environment | The Scientist Magazine®. y.y. Tarihinde 13 Kasım 2022, adresinden erişildi <https://www.the-scientist.com/features/drugging-the-environment-35077>
- Ebele, A. J., Abou-Elwafa Abdallah, M., Harrad, S. 2017. "Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment". *Emerging Contaminants*, 3(1), 1–16.
- Falås, P., Andersen, H. R., Ledin, A., La Cour Jansen, J. 2012. "Occurrence and reduction of pharmaceuticals in the water phase at Swedish wastewater treatment plants". *Water Science and Technology*, 66(4), 783–791.

- Ganiyu, S. O., Van Hullebusch, E. D., Cretin, M., Esposito, G., Oturan, M. A. 2015. "Coupling of membrane filtration and advanced oxidation processes for removal of pharmaceutical residues: A critical review". *Separation and Purification Technology*, 156, 891–914.
- Gao, J., O'Brien, J., Du, P., Li, X., Ort, C., Mueller, J. F., Thai, P. K. 2016. "Measuring selected PPCPs in wastewater to estimate the population in different cities in China". *Science of The Total Environment*, 568, 164–170.
- Grabicova, K., Grabic, R., Fedorova, G., Fick, J., Cerveny, D., Kolarova, J., ... Randak, T. 2017. "Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream". *Water Research*, 124, 654–662.
- Gracia-Lor, E., Sancho, J. V., Serrano, R., Hernández, F. 2012. "Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia". *Chemosphere*, 87(5), 453–462.
- Guo, J., Liu, S., Zhou, L., Cheng, B., Li, Q. 2021. "Prioritizing pharmaceuticals based on environmental risks in the aquatic environment in China". *Journal of Environmental Management*, 278.
- Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H. C., Jørgensen, S. E. 1998. "Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review". *Chemosphere*, 36(2), 357–393.
- Heberer, T. 2002. "Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data". *Toxicology Letters*, 131(1–2), 5–17.
- Hurst, T. 2019. "World Drug Report". *The Encyclopedia of Women and Crime*, 1–2.
- Kumar, B., Rai, P., Chakraborty, P. 2022. "Pharmaceuticals in Indian Aquatic Environment: Risk and Implications for Management", 47–76.
- Liu, X., Lu, S., Meng, W., Zheng, B. 2018. "Residues and health risk assessment of typical antibiotics in aquatic products from the Dongting Lake, China "Did you eat 'Antibiotics' today?"". *Environmental Science and Pollution Research*, 25(4), 3913–3921.
- Matamoros, V., Arias, C., Brix, H., Bayona, J. M. 2009. "Preliminary screening of small-scale domestic wastewater treatment systems for removal of pharmaceutical and personal care products". *Water Research*, 43(1), 55–62.

- Miller, E. L., Nason, S. L., Karthikeyan, K. G., Pedersen, J. A. 2016. "Root Uptake of Pharmaceuticals and Personal Care Product Ingredients". *Environmental Science and Technology*, 50(2), 525–541.
- Peck, A. M. 2006. "Analytical methods for the determination of persistent ingredients of personal care products in environmental matrices". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386(4), 907–939.
- Pompei, C. M. E., Campos, L. C., da Silva, B. F., Fogo, J. C., Vieira, E. M. 2019. "Occurrence of PPCPs in a Brazilian water reservoir and their removal efficiency by ecological filtration". *Chemosphere*, 226, 210–219.
- Rafiei, N., Fatehizadeh, A., Amin, M. M., Pourzamani, H. R., Ebrahimi, A., Taheri, E., Aminabhavi, T. M. 2021. "Application of UV/chlorine processes for the DR83:1 degradation from wastewater: Effect of coexisting anions". *Journal of Environmental Management*, 297.
- Saygı, Ş., Battal, D., Journal, N. Ş.-M. P., 2012, undefined. 2012. "Çevre ve insan sağlığı yönünden ilaç atıklarının önemi". *dergipark.org.tr*, 16, 82–90.
- Sharma, B. M., Bečanová, J., Scheringer, M., Sharma, A., Bharat, G. K., Whitehead, P. G., ... Nizzetto, L. 2019. "Health and ecological risk assessment of emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, and artificial sweeteners) in surface and groundwater (drinking water) in the Ganges River Basin, India". *Science of The Total Environment*, 646, 1459–1467.
- Sönmez, G., Işık, M. 2013. "Sulardaki İlaç Kalıntılarının İleri Oksidasyon Yöntemleri ile Giderimi". *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(1), 68–73.
- Su, C., Cui, Y., Liu, D., Zhang, H., Baninla, Y. 2020. "Endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment of China: Which chemicals are the prioritized ones?". *Science of The Total Environment*, 720, 137652.
- Szekeres, E., Chiriac, C. M., Baricz, A., Szöke-Nagy, T., Lung, I., Soran, M. L., ... Coman, C. 2018. "Investigating antibiotics, antibiotic resistance genes, and microbial contaminants in groundwater in relation to the proximity of urban areas". *Environmental Pollution*, 236, 734–744.
- Tanoue, R., Nomiyama, K., Nakamura, H., Kim, J. W., Isobe, T., Shinohara, R., ... Tanabe, S. 2015. "Uptake and Tissue Distribution of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Wild Fish from

- Treated-Wastewater-Impacted Streams". *Environmental Science and Technology*, 49(19), 11649–11658.
- Thomas, J. C., Oladeinde, A., Kieran, T. J., Finger, J. W., Bayona-Vásquez, N. J., Cartee, J. C., ... Glenn, T. C. 2020. "Co-occurrence of antibiotic, biocide, and heavy metal resistance genes in bacteria from metal and radionuclide contaminated soils at the Savannah River Site". *Microbial Biotechnology*, 13(4), 1179–1200.
- Watanabe, H., Tamura, I., Abe, R., Takanobu, H., Nakamura, A., Suzuki, T., ... Tatarazako, N. 2016. "Chronic toxicity of an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals to three aquatic organisms (alga, daphnid, and fish)". *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 996–1006.
- Wee, S. Y., Haron, D. E. M., Aris, A. Z., Yusoff, F. M., Praveena, S. M. 2020. "Active pharmaceutical ingredients in Malaysian drinking water: consumption, exposure, and human health risk". *Environmental Geochemistry and Health*, 42(10), 3247–3261.
- Zhang, Q. Q., Ying, G. G., Pan, C. G., Liu, Y. S., Zhao, J. L. 2015. "Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance". *Environmental Science and Technology*, 49(11), 6772–6782.
- Ziylan, A., Ince, N. H. 2011. "The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes". *Journal of Hazardous Materials*, 187(1–3), 24–36.

BÖLÜM 9

GIDA KATKI MADDESİ OLARAK KULLANILAN BAZI ENZİMLER VE KULLANIM ALANLARI I

Öğr. Gör. Dr. Arzu İMECE¹

Prof. Dr. Memnune ŞENGÜL²

Dr. Öğrt. Üyesi Melek ZOR³

¹ Iğdır Üniversitesi, Iğdır Meslek Yüksekokulu, Otel, Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü Iğdır/TÜRKİYE; arzuodunkiran@gmail.com, ORCID; 0000-0002-6455-8594

² Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum/TÜRKİYE; memnune@atauni.edu.tr , ORCID; 0000-0003-3909-2523

³ Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Turizm İşletmeciliği ve Otelcilik Yüksekokulu, Gastronomi Bölümü, Ağrı/TÜRKİYE; mzor@agri.edu.tr, ORCID; 0000-0002-5795-218X

GİRİŞ

Yüksek molekül ağırlıklı birçok bağ ve interaksiyonlarla bir arada tutulan amino asit zincirlerinden oluşan protein yapılı bileşikler olan enzimler; hücrelerin tümünde az miktarda bulunmasına rağmen oldukça önemli fonksiyonlara sahip, biyokimyasal olayları başlatan veya bu olayları hızlandıran, reaksiyona girdiğinde herhangi bir değişime uğramadan reaksiyondan çıkabilen biyolojik katalizörlerdir (Cemeroğlu, 2013). Enzimler spesifik, çok yönlü ve çok etkili biyolojik katalizörler olduklarından dolayı uygun ortam koşulları altında kimyasal olarak katalize edilmiş reaksiyonlara kıyasla çok daha yüksek reaksiyon hızları sağlamaktadırlar (Liu, 2020).

Klasik biyoteknoloji dönemi, Leeuwenhook'un mikropları, Pasteur'un biyolojik süreç olarak fermantasyonları, Buchner'in proteinler olarak enzimleri ve Sumner'in ilk enzim kristal yapılarının simgesel keşifleriyle dikkat çekmeye başlamıştır (Rastall, 2007). İzole edilen ilk enzim, 1833'te bir Fransız şeker fabrikasında kimyager olarak çalışan Anselme Payen ve Jean-François Persoz tarafından malt çözeltilisinden ekstrakte edilen diastazdır. Saf bir enzimin ilk kez üretilmesi ve uygulanması, 1896 yılında Japonya'da *Aspergillus oryzae*'den amilaz enziminin izole edilmesi ile gerçekleşmiştir (Liu, 2020). Modern endüstriyel enzimoloji dönemi, 1913 yılında Otto Röhm tarafından çamaşır deterjanlarında ham bir proteaz karışımının kullanımı için bir patent verilmesiyle başlamıştır. Sonraki yıllarda mikroorganizmalar enzim üretimi için kullanılmıştır. Ancak, tüm mikroorganizmalar büyük ölçekli fermantasyona uygun olmadığından dolayı mikrobiyal enzim üretimi sınırlı olmuştur (Rastall, 2007).

Bazı enzimler, katlanmış bir polipeptit zinciri (çoğu hidrolitik enzimin tipik özelliği) gibi basit bir yapıya sahip olmasının yanısıra birçok enzimin birden fazla alt birimi vardır. Yani enzimler basit ve bileşik yapılı enzimler olarak gruplandırılabilir. Basit yapılı enzimler sadece protein yapısındadır; ancak bileşik yapılı enzimlerde temel yapıyı oluşturan protein yapısı yanında protein olmayan bir grup daha bulunmaktadır. Bileşik yapılı enzimlerin protein yapısında olmayan bu grup, kofaktör olarak adlandırılmaktadır. Bu grup ya Mg^{++} , Zn^{++} , Mn^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} , Na^+ , K^+ gibi metal iyonları ya da Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD), Nikotinamid adenin dinükleotid Fosfat (NADP), Flavin adenin dinükleotid (FAD), koenzim A (CoA), Tiamin pirofosfat (TPP) gibi karmaşık organik moleküller olup, bu organik bileşikler koenzim olarak adlandırılmaktadırlar.

Enzim=Protein+Kofaktör

Kofaktör=metal iyonu ya da Koenzim

Proteinden oluşan enzim yapısı apoenzim veya apoprotein, aktivite gösteren protein+kofaktör komplekside holoenzim olarak adlandırılmaktadır (Gökalp ve ark.1996; Saldamlı, 2005).

Apoenzim (Apoprotein)=enzimin protein yapısı

Holoenzim = apoenzim + kofaktör

Birkaç farklı moleküler formda meydana gelen ancak aynı reaksiyonu katalizleyen enzimlere izoenzimler denmektedir. Bazı enzimler, enzim kompleksleri oluşturmak için birlikte gruplandırılmaktadır. Enzimler substrata özgüdür ve katalize ettikleri reaksiyona göre sınıflandırılmaktadırlar (Liu, 2020).

Her enzimin reaksiyon tipine göre özel enzim sınıflandırma sistemi katalize edilmiştir. Bu sistem altında enzimler ve koenzimler, bunların faaliyet birimleri ve reaksiyon kinetiğini göstermek için kullanılan sembollerle birlikte standart test yöntemleri tümü tek bir sisteme dahil edilmiştir. Enzimler altı ana gruba ayrılmışlardır;

1. Oksidoredüktazlar: Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını katalize eden oksidazlar ve dehidrojenazlar olarak bilinen enzimlerdir.
2. Transferazlar: İki substrat arasında H⁺ dışındaki metil, karbonil, sülfür, fosfor ve nitrojen radikalleri gibi kimyasal grupların transferini katalizleyen enzimlerdir.
3. Hidrolazlar: H₂O molekülünün ester, eter, peptid, glikozil, asit anhidrid, C-C, C-halojenür, veya P-N bağlarına katılması ile hidrolizini katalizleyen enzimlerdir.
4. Liyazlar: hidroliz ve yükseltgenme dışında mekanizmalarla çeşitli kimyasal bağları kırabilen yeni çift bağların oluşumunu katalizleyen enzimlerdir.
5. İzomerazlar: Geometrik, optik ve pozisyon izomerlerinin yapısal olarak yeniden düzenlenmesini sağlayan enzimlerdir.
6. Ligazlar: ATP, GTP gibi bileşenlerden fosfat bağlarının kopması sonucu açığa çıkan enerjinin kullanılması ile iki molekülün birleşmesini kataliz eden enzimlerdir (Gökalp ve ark. 1996; Kuddus 2018).

Enzimlerin adlandırılmasında; üreaz gibi substratın sonuna veya alkol dehidrojenaz gibi katalize edilen reaksiyonun sonuna -az eki eklenerek ya da enzimlerin ihtiva ettiği prostetik gruplara göre hemimli enzimler, flavinli enzimler gibi çeşitli adlandırma yöntemleri kullanılmıştır (Gökalp ve ark. 1996; Liu, 2020). Yine enzimlerin adlandırılmasında hiçbir özelliği olmayan enzim yapısı, substrat ve reaksiyon şartları hakkında bilgi edinilmeyen adlandırmalar da (pepsin, tripsin, katalaz, rennin vb) yapılmıştır (Gökalp ve ark. 1996). Bu noktada bir enzime iki veya daha fazla isim verildiği gibi, farklı enzimler de aynı adla adlandırılabilirdiği için standart olarak sınıflandırılma zorunluluk olarak ortaya çıkmıştır.

Enzimlerin sistematik adlandırılması Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (International Union of Biochemistry and Molecular Biology; IUBMB) tarafından geliştirilmiştir ve EC kodu (Enzim Kodu veya Enzim Komisyonu anlamına gelir öneki) ile genellikle sayısal şema ile kullanılmaktadır. Bu sınıflandırma şeması, söz konusu enzimi açık bir şekilde tanımladığı için faydalı olmaktadır (Liu, 2020; Sutay Kocabaş 2021). Tüm enzimler, bir sınıf, alt sınıf ve alt sınıfa göre dört basamaklı sayı kategorisine ayrılmıştır.

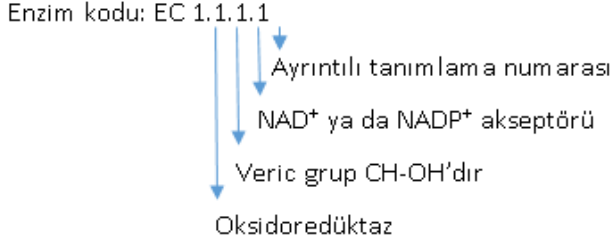
Sistematik sınıflandırma ve adlandırmada göz önünde bulundurulacak noktalar şunlardır;

1. Enzimler 6 ana grupta ve her bir ana grupta kendi içerisinde 4-13 alt gruba ayrılmıştır.
2. Enzim adı; birinci kısımda substrat, ikinci kısımda ise kataliz edilen reaksiyonun tipi olacak şekilde iki kısımdan oluşmuştur.
3. Reaksiyonla ilgili açıklayıcı bilgiler parantez içinde adlandırmadan sonra yazılmıştır.
4. Enzimlere adlandırmanın yanısıra sistematik bir kod numarası verilmektedir (Gökalp ve ark. 1996).

E.C. **1.1.1.1**. Bu rakamlardan sarı renkli olan ilk basamak 6 ana gruptan hangisine dahil olduğunu, yeşil renkli olan ikinci basamak ana gruptaki alt grubu, mavi renkli üçüncü basamak alt-alt grubu ve son olarak gri renkli son basamak ise ilk üç basamağı aynı olan enzimin grubunda ki sırasını ifade etmektedir (Gökalp ve ark. 1996).

Örnek olarak, Alkoldehidrojenaz (önemsiz ad) enziminde (Liu, 2020);

Sistematik isim: alkol: NAD + oksidoredüktaz (bir alkol elektron vericisidir ve NAD + elektron alıcısıdır)



Enzim reaksiyonlarının hızını etkileyen en önemli faktörler;

1. Enzim konsantrasyonu;
2. Substrat konsantrasyonu,
3. Sıcaklık
4. pH olarak bildirilmektedir (Gökalp ve ark. 1996).

Enzimlerin ticari olarak ilk üretimi 1874 yılında Christian Hansen tarafından kurulan şirketin buzağı şirdeninden ekstrakte edilen ve sütün pıhtılaştırılması için gıda endüstrisinde kullanılan renneti üretmesi ile başlamıştır (Sutay Kocabaş 2021).

Mikroorganizmalar (bakteri, küf ve mayalar) tarafından doğal olarak üretilen enzimler, bir dizi biyoteknolojik prosesinde belirli aşamaları katalize etmek için tarımsal gıda, kimya ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (May, 2019). Günümüzde 2000'den fazla enzim bilinmektedir (Liu, 2020). Gıda enzimlerinin kullanımında Türkiye'de 24 Şubat 2017 tarihinde 29989 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Gıda Enzimleri Yönetmeliği esas alınmaktadır (Anonim 2021).

Bu derlemede, gıda sanayiinde kullanılan bazı enzimler, bu enzimlerin fonksiyonel özellikleri ve kullanım amaçları ile ilgili çeşitli çalışmaların sonuçları derlenmiştir.

1. LAKTAZ (β -GALAKTOSİDAZ)

Laktaz (β -galaktosidaz, EC 3.2.1.23) süt ürünlerinde bulunan bir disakkarit olan laktozun glikoz ve galaktoza hidrolize olmasından sorumludur. Hidrolize edilmiş laktozun tatlılık derecesi ve çözünürlüğü artmaktadır, bununla birlikte bulunduğu ortamın ozmotik basıncını yükseltmektedir (Saldamlı 2005; Ren ve ark. 2017). Laktaz azlığında veya yokluğunda şişkinlik, mide gazı, kramp ve diyare gibi semptomlarla ortaya çıkan laktoz

intoleransı olarak adlandırılan sağlık problemi meydana gelmektedir. Laktaz enzimini 1889 yılında ilk keşfeden ve adlandıran kişi Martinus W. Beijerinck olmuştur. Laktaz enzimi genellikle *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* gibi mayalar ve küflerden elde edilmektedir. Ayrıca *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* probiyotik suşları, süt endüstrisinde kullanılmaktadır (Er ve Sarımeahmetoğlu 2009; Sarsar 2015; Venkateswarulu ve ark. 2020; Vera ve ark. 2020; Zhang ve ark. 2020). Enzim aktivitesini düşürdüğü bilinen maddelerden bazıları gümüş ve bakır iyonları, tetrasiklin hidroklorür ve bakır oksit nanopartikülleridir. Laktaz aktivitesini arttırdığı bilinen maddelerin örnekleri, belirli koşullarda süt protein iyonları Na^+ ve K^+ ve düşük konsantrasyonlarda kalsiyum ve demir iyonlarıdır (Kayukawa ve ark. 2020).

Süt endüstrisinde kullanılan laktaz, laktoz kristalizasyonunu engellemek, tatlılığı geliştirmek, süt ürünlerinin çözünürlüğünü artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca β -galaktosidaz enzimi düşük laktoz toleransı olan kişiler için laktoz içeriği düşük gıda üretimini, peynir altı suyu gibi çevreyi kirleten bir maddeden yararlanmak için de faydalanılmaktadır (Büdüş 2019; Bhatia ve ark. 2021). Laktaz enzimi en yaygın olarak dondurmacılıkta, laktoz kristalleştirilmesi olarak ortaya çıkan taneli veya kumlu ürünlerin oluşumunun engellenmesi amacı ile kullanılmaktadır (Saldamlı, 2005). Büdüş (2019) çalışmasında dondurmada laktoz hidrolizasyonunu β -galaktosidaz ilavesi ile sağlayarak daha düşük şekerli daha tatlı ve düşük kalorili dondurma elde etmiştir.

Düşük laktozlu süt üretimi için yapılan bir çalışmada laktaz üretimi amacı ile *Humicola insolens*, *Torula thermophila* ve *Thermomyces lanuginosus* olmak üzere üç termofilik küf incelenmiş olup bu küfler arasında en yüksek laktaz aktivitesi *Thermomyces lanuginosus*'da tespit edildiği bildirilmiştir. Enzimin ekstraselüler üretimi, optimum pH değerinin süt pH'sına uygun olması, ısıya dayanıklı olması, uzun süre stabil kalabilmesi endüstride kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir (Soydan 2006). Bayramoğlu ve ark. (2007) immobilize laktazın serbest formdakinden daha geniş sıcaklık ve pH aralıklarında aktivitelerinin çoğunu muhafaza ettiğini, immobilizasyonun depolama stabilitesini artırdığını bildirmişlerdir. Panesar ve ark. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada, *Kluyveromyces marxianus*'dan elde edilen laktaz enzimi yağsız sütteki laktozun hidrolizasyonu için kullanılmış ve süt laktozunun %89 oranında hidrolizini sağladığı görülmüştür.

Sarsar (2015) yaptığı çalışmada *Escherichia coli*'den elde edilmiş laktaz enzimini glisidil metakrilat içeren epoksi fonksiyonel özelliğine sahip ve UV ile sertleşen polimer UV kullanılarak hazırlanan polimeriyle kovalent bağlanmayla immobilize etmiş ve serbest enzime göre immobilize enzimin uzun saklama kararlılığı, tekrar kullanım ve termal dirençlilik gibi üstünlükleri olduğunu bildirmiştir.

A. oryzae'den elde edilen laktaz, kitosan ile kaplı karragenanın doğal biyopolimerleri üzerinde immobilize edilmiştir. Enzim için immobilizasyonda kullanılan biyopolimerlerinde termal stabiliteyi ve pH stabilitesini artırdığını ve yüksek katalitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. (Elnashar ve Yassin 2009). Aynı şekilde El-Aassar (2013) çalışmasında *Aspergillus oryzae*'den β -Galaktosidaz, glutaraldehit kullanılarak amino grubu içeren nanofiberler üzerinde enzimi immobilize etmiştir. İmmobilizasyonda termal ve pH stabiliteilerinin arttığı ve immobilize β -galaktosidazın, serbest forma kıyasla sıcaklık ve pH inaktivasyonuna karşı daha iyi dirence sahip olduğunu bildirilmiştir.

Fermente edilmiş Ragi'den (*Eleusine coracana* Gaertn.) izole edilen *Lactobacillus acidophilus* bakterisi, termostabil laktaz enzimi üretmekte ve bu enzimin süt işlemede mikrobiyal kontaminasyonu önlemekte kullanılabilir olduğu rapor edilmiştir (Akolkar ve ark. 2006).

Bacillus subtilis genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS) laktaz enzimi için endüstriyel düzeyde yetiştirilmesi için bu suş kullanılmaktadır. Süt endüstrisi atık sularında bulunan bakteri türleri probiyotik özelliklere sahiptir. Venkateswarulu ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, ticari bir süt çiftliğinden laktaz üreten bakterilerin izolasyonu ve gram pozitif organizmadan laktaz enzim üretimini sağlamışlardır. Venkateswarulu ve ark. (2020)'ın yaptıkları çalışmanın temel amacı, bu izolattan üretilen laktazın laktoz intoleransı olan hastaların tedavisi için biyoterapötik ajan olarak kullanılabilmesi şeklinde, laktazın toplu üretimi için potansiyel mikrobiyal suşun izolasyonu için süt atık sularının taranmasıdır. Süt atıkları, konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle laktaz üreten bakteriler açısından taranmış ve laktazın ticari üretimi için potansiyel tür olarak kullanılabilen yeni bir izolat *Bacillus subtilis* VUVD001 suşu belirlenmiştir (Venkateswarulu ve ark. 2020). Ayrıca Natarajan ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada *Bacillus subtilis* olarak BPTK4 suşundan β -galaktosidaz enzimi üretimi yaptıklarını bildirmişlerdir.

Chen ve ark. (2008) *Bacillus stearothermophilus*'tan sütteki laktozun hidrolizinde yüksek düzeyde transgalaktosilasyon aktivitesine sahip termostabil galaktosidaz saflaştırılmış ve sonuç olarak bu rekombinant ısıya

dayanıklı enzimin süt işlemede hem laktoz hidrolizi hem de galaktooligosakarit üretimi için uygun olabileceğini bildirmişlerdir. *Kluyveromyces lactis*'ten üretilen laktaz enzimi, laktozun hidrolize edilmesinde etkili olabilmektedir. Laktoz intolerant bireylerde, bu enzimin eklendiği sütün tüketen başarılı sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Schneider ve ark. 1990). Rosado ve ark. (1984) yaptıkları çalışmada *Kluyveromyces lactis*'ten elde edilen laktaz enzimini içeren sütleri tüketen laktoz intolerant bireylerde semptomların azaldığını bildirmişlerdir. Corazza ve ark. (1992) yaptıkları çalışmada *Aspergillus niger*'den elde ettikleri laktaz enziminin eklendiği sütü tüketen bireylerin laktoz malabsorbsiyonunun azaldığını tespit etmişlerdir.

Büyük ölçekte üretilen ve büyük pazar payına sahip önemli bir prebiyotik olan galakto-oligosakkaritler β -Galaktosidaz'ın transgalaktozilasyon ürünleridir. Galakto-oligosakkaritler sindirilemeyen oligosakkaritlerdir, sağlık yararı sağlayan konakçı bağırsak mikroorganizmaları tarafından seçici olarak kullanılan bir substrat olarak kullanılmaktadırlar (Vera ve ark. 2020).

Zhang ve Zhong (2018), sütte laktoz hidrolizini kontrol etmek için potansiyel bir dağıtım sistemi olarak kapsüllenmiş laktaz içeren emülsiyonlardan hazırlanan dondurularak kurutulmuş kapsüller, laktoz içermeyen gıdaların oluşturulması, laktaz takviyelerinin yutulması veya gıda matrisinde kapsüllenmiş enzimin eklenmesi ile mücadele edilebileceğini bildirmişlerdir.

2. AMİLAZ (1,4- α -D-GLUKANOHİDROLAZ)

En önemli ve en eski endüstriyel enzimlerden biri olan amilazlar (1,4- α -D-glukanohidrolaz; EC 3.2.1.1.); nişasta, glikojen vb. molekülleri, dekstrinler ve daha düşük sayıda glikoz ünitelerinden meydana gelen ürünlere dönüştüren ekstrasellüler enzimlerdir (Özdemir ve Sıdal, 2013; Saini ve ark. 2017; Güllü, 2020). 1833 yılında Anselme Payen ve Jean-Francois Persoz, arpadan nişastanın glikoza hidrolizinden sorumlu olarak izole edilmiş olan ve günümüzde amilaz olarak bilinen bu enzimler Yunanca fermentasyon anlamındaki 'diastaz' olarak isimlendirilmiştir. Amilaz, bitişik glikoz üniteleri arasındaki α -1,4-glikozidik bağlarını rastgele parçalamasıyla basit şeker türevlerine dönüşümünü katalize eden bir hidrolaz enzimidir. Amilaz; α - β - γ -amilaz olmak üzere üç alt sınıfa ayrılmaktadır (Rüzgar, 2019; Güllü, 2020).

Bitkisel kaynaklı α -amilazlar; arpa, pirinç ve kassava bitkilerinden izole edilebilmektedir (Polaina ve MacCabe, 2007; Saldamlı, 2005). α -amilaz

bitkiler ve hayvanlar tarafından sentezlenebilmesine rağmen, mikroorganizmalar tarafından kontrollü şartlar altında daha kısa sürede ürün elde edilmesinden dolayı asıl kaynağı teşkil etmektedir. Bu enzim kaynağı olarak kullanılan mikroorganizmalar içerisinde de doğada geniş bir yayılım alanına sahip olan bazı *Bacillus* türleri ve alt türleri yer almaktadır (Wolfgang, 2007; Saini ve ark. 2017; Kuddus, 2018). Ayrıca α -amilaz üreten küflerden bazıları; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Mucor*, *Candida*, *Neurospora* ve *Rhizopus*'dur (Bhalla ve ark. 2007).

En önemli endüstriyel enzimlerden biri olan farklı amilazlar, endüstriyel enzim pazarının %25'ine katkıda bulunmaktadır. α -amilazlar, biorafineri, deterjan, gıda, ilaç, tekstil ve kağıt gibi birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır (Sindhu ve ark. 2017). Farklı yöntemlerle elde edilen nişasta ve glikojen molekülleri üzerine yapılan yapısal araştırmalarda, bunların demleme ve damıtma endüstrisinde de fermantasyon için kullanıldığı belirtilmektedir. Amilazlar çikolata şuruplarında viskozite kontrolü, içki üretimi, tahıl ürünleri, meyve suları, meyve ekstraktları, yüksek maltoz şurubu üretiminde ve pektinden nişastanın uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır (Gökalp ve ark. 1996; Topal ve ark., 2000; Rüzgar, 2019). Çikolata şurupları, kakao bulamaçlarının amilazlarla işlenmesi ile çikolatadaki nişasta dekstrinize olmakta ve bu nedenle şurup incelmektedir. Bu şuruplar; yüksek kakao içeriğine, oda sıcaklığında mükemmel stabilite ve akış özelliklerine sahip olmaktadır. Bu işlem kakao aromalı dondurulmuş şekerlemelerin üretiminde kullanışlılık arz etmektedir (Parameswaran ve ark. 2018).

Nişasta gibi polimerik karbonhidratlar, meyve sularında yavaş filtrasyon, membran tıkanıklığı, meyve suyu konsantrelerinde ise jelleşme ve sonradan bulanma gibi durumlara sebep olabilmektedir. Nişasta, meyve sularının depektinizasyonu sırasında pektinazlarla birlikte nişastayı parçalayan bir enzim tarafından ortadan kaldırılmaktadır (Uçan ve Akyıldız, 2012). α -amilaz enzimi, nişasta molekülündeki α -1,4 bağlarını hidrolitik olarak parçalayarak glikoz, maltoz, maltotrioz ve α -limit dekstrinlerin oluşumunu sağlamaktadır. Amiloglikozidaz ise nişastanın α -1,4 bağları ve α -1,6 bağlarını parçalayarak nişastanın glikoza kadar parçalanmasını sağlamaktadır (de Souza ve Magalhaes 2010). Nişasta α -amilaz tarafından kısa dekstrin zincirlerine kısmi hidrolizi ile sınıflandırılmaktadır (Rüzgar, 2019). α -amilazların karakteristik özellikleri (moleküler ağırlıkları, optimum çalışma sıcaklığı ve pH değeri vb. izole edildiği kaynağa göre oldukça farklılık göstermekte ve α -amilaz ile nişastanın hidroliz hızı; sıcaklık, pH, substrat konsantrasyonu ve yapısı, enzim konsantrasyonu, Ca^{2+} iyonlarının varlığı ve diğer stabilize edici

ajanlar gibi birçok koşula bağlıdır. Bu nedenle kullanım alanına uygun özelliğe sahip α -amilazlar tercih edilmektedir (Sivaramakrishnan ve ark. 2006).

Geçtiğimiz yüzyıl içerisinde büyük ölçekli bir nişasta işleme endüstrisi ortaya çıkmıştır ve bunun sonucu olarak, nişastanın asit hidrolizinden, maltodekstrin, modifiye nişastalar veya glikoz ve früktoz şuruplarının üretiminde nişasta dönüştürücü enzimlerin kullanımına bir geçiş görülmektedir. Şu anda, bu enzimler dünya enzim üretiminin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (Van Der Maarel ve ark. 2002; Couto ve Sanromán, 2006; Chi ve ark. 2009; Sundarram ve Murthy, 2014).

Yüksek früktozlu mısır şurubu genelde mısır nişastasının, kimyasal ve enzimatik hidroliz teknikleri kullanılarak üretilmektedir. Üretim; sıvılaştırma, parçalama ve izomerizasyon aşamaları ile gerçekleşmektedir. Üretimde üç farklı enzim kullanılmaktadır. İlk olarak nişasta granülleri α -amilaz enzimi aracılığıyla uygun şartlarda hidrolize edilerek dekstrin zincirlerine parçalanır. Daha sonra dekstrin zincirleri glukoamilaz enzimi ile parçalanarak bireysel dekstrin moleküllerine ve en son bu moleküller glikoz izomeraz enzimi ile früktoza dönüştürülmektedir. Hidroliz işleminde asit de kullanılabilir. Damıtma ve prosten sonra farklı früktoz içeren (%42, %55 ve %90) şuruplar elde edilmektedir. İlk olarak %42'lik früktoz şurubu dekstrozun enzimler ile izomerleştirilmesi sonucunda üretilmektedir. Daha sonra bu şurup früktozu tutan kolonlardan geçirilerek %90'lık yüksek früktozlu şurup ve tekrar %42'lik şurup ile karıştırılarak %55 früktozlu mısır şerbeti elde edilmektedir (Karaoğlu, 2011; Saldamlı, 2005). Yüksek früktozlu mısır şurubunun sakarozla kıyasla tatlılığının, çözünürlüğünün daha yüksek olması ve verdiği tatlılığa göre ucuzluğu onu gıda endüstrisi için daha çekici kılmaktadır (Parameswaran ve ark. 2018).

Fungal α -amilazın önemli uygulama alanlarının başında unlu mamüller gelmektedir (Asgher, 2007). Ekmek ve fırıncılık ürünlerinde yapılan α -amilaz takviyesi, uygulandığı üründe; fermentasyon oranını artırmakta, hamurun viskozitesini düşürmekte, ürün hacminde ve dokusunda iyileşmelere neden olmakta, hamurdaki şeker miktarını artırması nedeni ile tat, renk ve kızarma kalitesini artırmaktadır (Kuddus, 2018). Bunun sonucunda α -amilaz; daha fazla hacim, daha iyi renk ve daha yumuşak bir yapı kazandırarak lezzet ve tekstürel açıdan kaliteli ürünler üretmek amacıyla uzun yıllardır tercih edilmektedir (Van Dam ve Hille, 1992). α -amilazların fırıncılık ürünlerinde kullanılmasının amaçlarından biri de, pişmiş ürünlerin raf ömrünü azaltan bayatlamayı geciktirmesidir. Ancak α -amilazın fazla

kullanılması ekmekte yapışkan bir yapıya neden olmaktadır (Gupta ve ark. 2003). *Aspergillus oryzae* tarafından üretilen α -amilaz ısıya duyarlılığının oldukça düşük olmasından ötürü pişirme esnasında inaktive olmamaktadır. α -amilazın kabarma hacmini ve parçalanmış nişasta granüllerinin hidrolizinin ekmek kalitesini artırdığı rapor edilmiştir (Fadıloğlu ve Erkmek, 2004). Amilazların ekmekçilikte hamur kıvamını azaltmada da önemli rolü vardır. Hamurda hasar görmüş nişasta granülleri yüksek su tutma kapasitesine sahiptir. Bu hidrate nişasta amilazlar tarafından hidrolize edildiğinde ortama salınan su hamur kıvamının azalmasına ve yumuşamasına neden olmaktadır. Un katkısı olarak özellikle ısıya oldukça duyarlı olan fungal α -amilaz preparatları ilave edilmektedir. Fırına verilmiş hamurun sıcaklığı yaklaşık 60 °C üzerine yükseldiğinde hasar görmemiş nişasta jelatinize olarak α -amilaz aktivitesine duyarlı hale gelmektedir. Bu aşamada α -amilaz aktivitesi kontrol altında tutulmak zorundadır. Çünkü nişastada aşırı bir sıvılaşma meydana gelerek ekmek içinde istenmeyen yapışkan bir yapı oluşabilmektedir. Bu durum sıcaklığa duyarlı fungal α -amilaz kullanılarak önlenebilmekte ya da en aza indirilebilmektedir (Saldamlı, 2005)

Dinçbaş (2009) yaptığı çalışmada *Bacillus amyloliquefaciens* kaynaklı α -amilaz enzimini kalsiyum alginat kapsüllerinde immobilize ederek serbest (immobilize edilmemiş) ve immobilize enzimin farklı nişasta kaynakları (mısır, buğday, pirinç, çözümlü patates nişastası, patates gibi lokal marketlerden satın alınan ticari nişastalar) üzerindeki hidroliz yeteneklerini araştırmıştır. Dinçbaş (2009)'ın yaptığı bu çalışmada enzim immobilizasyonu %2 alginat ve %5 CaCl₂ varlığında gerçekleştirilmiş ve immobilizasyon verimi yaklaşık %89 olarak saptanmıştır.

Çelebier (2016) ekonomik değeri olmayan çeşitli atıklardan katı faz fermantasyon (SSF) tekniği ile *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve *Aspergillus niger* ATCC 16404 suşları kullanarak bakteriyel ve fungal kaynaklı α -amilaz enzimi elde etmek amacıyla yaptığı çalışmasında bakteriyel amilaz için en iyi üretim ortamının muz kabuğu, fungal amilaz için ise pirinç kabuğu olduğunu belirlemiştir.

Herrera-Márquez ve ark. (2019) gıda endüstrisinde temizlik prosesleri (CIP) için amilaz ve proteazın stabilitesini belirledikleri çalışmalarında bu enzimlerin çalışma pH değerlerinde iyonik olmayan karakterlerine rağmen, bir enzimatik sıvı deterjanın bileşenleri olarak kullanıldıklarında enzimatik deaktivasyona katkıda bulduklarını göstermişlerdir.

Dundar (2014), yüksek amilozlu doğal mısır nişastasından (Hylon VII, %70 amiloz) dirençli nişasta (DN) içeren nişasta türevleri elde etmek için

ilk olarak yüksek sıcaklıklarda (140 veya 145 °C) otoklavladıktan sonra farklı bekleme (24, 48 veya 72 saat) süreleri uygulayarak asit hidrolizi ile dirençli nişasta üretmiştir. Daha sonra ikinci olarak α -amilaz ile inkübe edilen örnek otoklavlanmış, bunu takiben pullulanaz enzimi ile muamele ve bekleme işlemi uygulandıktan sonra, tekrar α -amilaz inkübasyonu yapılarak DN içeren nişasta türevi elde edilmiştir. Bu çalışma sonucunda bu türevlerin, lif kaynağı olarak, erişte üretimi sırasında formülasyonda kısmen buğday unu yerine ikame edildiği bildirilmiştir.

3. İNVERTAZ (β -D-FRUKTOFURANOSİD FRUKTOHİDROLAZ)

İnvertaz (β -fruktofuranosidaz, β -fruktofuranosidaz, β -D-fruktofuranosid fruktohidrolaz, sukraz, invertin, sakkaraz, EC.3.2.1.26) sakaroz ve ilgili glikozitlerin hidrolizini katalize eden karbonhidraz grubu bir enzimdir (Kotwal ve Shankar 2009). Hem sakaroz hem de glikoz çözeltileri polarize ışığın sağa dönmesine neden olurken, früktoz çözeltisi sola döndürmektedir. Enzim, sakaroz çözeltisi ile gözlemlenen düzlem polarize ışığın sağa dönüşünün, invert şeker çözeltisi için gözlemlenen sola dönüşünü katalize ettiğinden, bu enzim için "invertaz" seçilen genel isim olmaktadır. İnvertazlar, aşağıdaki şemada gösterildiği gibi sakaroz veya α -D-glukopiranozil- β -D-fruktofuranosidin iki monosakkaride, yani glikoz ve früktoza parçalanmasını katalize eden glikozit hidrolazlardır (Guimarães, 2007; Kat ve Keskin, 2013; Nadeem ve ark. 2015). Bu hidrolitik parçalanma sakaroz inversiyonu olarak adlandırılmaktadır. Sakarozun optik rotasyonu pozitif iken hidroliz ürününün toplam optik rotasyonu negatiftir (Saldamlı, 2005).



Doğada oldukça yaygın olarak bulunan invertaz enzimi pek çok mikrobiyal ve bitkisel kaynaktan izole edilerek saflaştırılmıştır (Kuddus, 2018; Manoochehri ve ark. 2020). Goulart ve ark. (2009) çalışmalarında bir ipliksi mantar olan *Rhizopus* spp. kullanarak buğday kepeği besiyerinde invertaz enzimini elde etmiş ve poliakrilamid jelde karakterize etmişlerdir. *Aspergillus casingii*, potansiyel olarak invertaz ürettiği yaygın olarak bilinen bir kültür. *Aspergillus casingii*, ham özünden 72 saat sonra soya küspesi ortamında invertaz izole edildiği bildirilmiştir (Novaki ve ark. 2010). Ayrıca *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlsbergensis* mayaları, *Aspergillus oryzae*, *A.*

niger ve *Mucor verrucaria* küflerinden izole edilebilmektedirler (Gökalp ve ark. 1996). Özdiç (2019) yaptığı çalışmada endüstriyel ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) üretiminde artık olarak açığa çıkan eleküstü mayadan invertaz enzimi üretiminde başarılı sonuçlar elde edildiğini bildirmiştir.

Enzimlerin en önemli özelliklerinden biri, ısıya veya termodinamik davranışa karşı kararlı olmalarıdır. Bir enzimin termal kararlılığı, endüstriyel uygulamalar için önemli bir kriter olmaktadır. Yiyecek hazırlama süreçlerinde genellikle yüksek sıcaklıklara maruz kalmaları sebebiyle enzimlerin dayanıklı olmaları istenmektedir (Manoochehri ve ark. 2020). Bu sebeple invertaz enzimi endüstride, bununla birlikte genellikle gıda sanayinde yaygın bir kullanım alanına sahip olmaktadır. İnvertaz, invert şeker bazı şurupların elde edilmesi, çikolata, şekerleme, bebek gıdası, kondense sütler ve sığır yemlerinin üretimi gibi birçok alanda kullanılabilir. Gıda endüstrisinde invert şeker şuruplarının hazırlanması aşamasında ya asit hidrolizi veya sakarozun invertaz enzimi ile enzimatik hidrolizi yardımıyla gerçekleştirilmektedir. Sakarozu göre invert şekerin iki önemli avantajı daha vardır, bunlar; çözünür olması ve kristalleşme sorununa sebep olmamasıdır (Saldamlı, 2005; Kat ve Keskin, 2013; Kuddus, 2018). Bununla birlikte invertaz enzimi, sakaroz konsantrasyonun analitik olarak tayin edilmesi amacıyla biyosensörlerde kullanılabilir (Kat ve Keskin, 2013).

Kat ve Keskin (2013) kokulu kara üzümünden (*Vitis labrusca*) izole edilen invertaz enziminin TPP (three phase partitioning) yöntemiyle saflaştırılması sonrası termal kararlılığını inceledikleri çalışmalarında; saflaştırılan enzimin 4-50 °C sıcaklık aralığında stabilitesini koruduğunu saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bal arılarının sentezlediği invertaz enzimi baldaki sakarozu glikoz ve früktoza doğal olarak çevirmektedir (Davis, 1995). Bu sebeple baldaki şekerin büyük bir kısmı invert şekerdir. Ayrıca diyastaz ve invertaz enzimlerinin miktarları ile bal kalitesi arasında bir ilişki olduğu da belirtilmektedir. Bu iki enzimin ısı ve zaman ile gösterdikleri değişimler önem arz etmektedir (Yılmaz Karahan ve Eskici, 2017). Baldaki invertaz gibi enzimlerin, glikozu hidrojen peroksit dönüştürme ve bakterileri öldürme kabiliyetine sahip olduğu ve baldaki invertaz enzimlerinin, ilerlemiş kemik ve mide kanseri hastalarını, bir tümörün gerilemesine neden olabileceği ölçüde tedavi etmeye yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Benkeblia ve ark. 2008; Neff, 2007 ; Schiweck ve ark. 2000).

İnvertaz enzimi önemli bir antioksidan aktiviteye ve antibakteriyel etkiye sahiptir. İnvertaz enziminin bu özellikleri, bakteriyel enfeksiyonları ve oksidatif bağırsak fermantasyonunu önlemektedir (Manoochchri ve ark. 2020).

4. PROTEAZ

Proteinlerdeki peptid bağlarının hidrolizini katalizleyen proteolitik enzimler olarak adlandırılan proteazlar ekzopeptidazlar (EC No (3.4.11-3.4.19)) ve endopeptidazlar (EC No (3.4.21-3.4.24, 3.4.99)) olmak üzere iki tip olarak gruplandırılmıştır. Ekzopeptidazlar peptid bağlarını uçlardan hidrolize ederek sondaki aminoasitleri ayırmaktadır. Endopeptidazlar ise gıda endüstrisinde iç kısımlardaki peptid bağlarını hidrolizleyerek çeşitli yapıda peptid ürünleri oluşturan yaygın olarak kullanılan enzimlerdir (Gökalp ve ark. 1996; Saldamlı, 2005; Sevinç, 2010; Gurumallesh ve ark. 2019).

Proteazlar aktif merkezlerinin özelliklerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır;

1. Aktif merkezlerinde merkaptto grupları (aktiviteden sorumlu) içeren; bromelain, papain ve bazı mikroorganizma proteazları yer almaktadır. Bu grupta yer alan enzimler oksidan maddeler ve ağır metallerle inhibe olmaktadır.

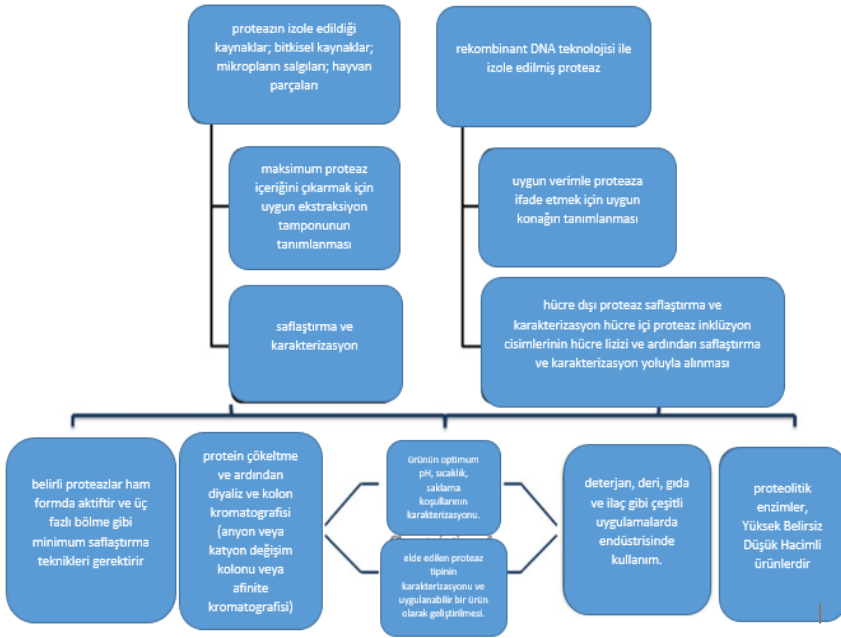
2. Bu grup enzimler metalloproteinazlar olarak adlandırılmaktadır ve aktif merkezinde aktiviteden sorumlu Zn, Mg veya Co gibi metal iyonları bulunmaktadır. Nötral bakteriyel proteinazlar bu grupta yer almaktadır. Bu enzimler EDTA (etilen diammin tetraasetik asit) gibi maddeler tarafından inhibe edilmektedirler.

3. Histidin proteazların aktif merkezinde histidin aminoasidi kalıntısı bulunmaktadır. Tripsin, kimotripsin ve alkali koşullarda aktif olan bakteri veya küf kaynaklı proteazlar bu gruba girmektedir.

4. Asidik proteazlar olarak adlandırılan bu gruba asit pH'da aktif olan proteazlar girmektedir. Pepsin ve belirli küf proteazları bu grupta yer almaktadır.

5. Endüstriyel olarak pankreatik enzim preparatları pankreastan elde edilmektedir. Bu preparatlar temelde tripsin ve kimotripsinden oluşmakta, ayrıca peptidaz, amilaz ve lipazda bulunmaktadır. Pankreasın uygun şekilde kurutulması ile elde edilen bir diğer enzim preparatı ise pankreatin olarak adlandırılmaktadır (Saldamlı, 2005). Ayrıca proteazlar optimum pH şartlarına göre alkali ve nötr proteazlar olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır (Parameswaran ve ark. 2018).

Proteazlar *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. stearotermophilus*, *Mucor miehei*, *M. pusillus*. gibi mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimlerdir (Topal ve ark., 2000; Saldamlı, 2005; Kuddus, 2018). Her mikroorganizmanın, proteaz enzimini salgılamak için optimize edilmiş bir büyüme ortamına ve çevresel koşullara ihtiyacı vardır. Salgılandıktan sonra, proteaz enziminin saf fraksiyonunu elde etmek için bir dizi işlem gerçekleştirilmektedir (Gurumallesh, 2019). Proteaz saflaştırma adımlarının kısa bir özeti Şekil 1 'de gösterilmektedir.



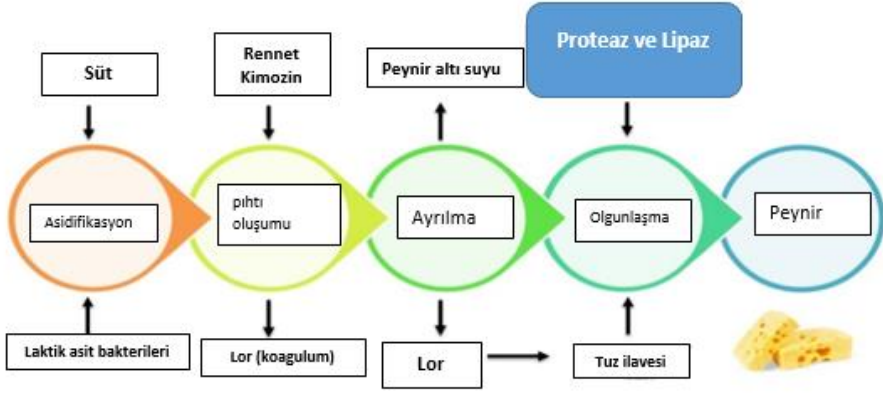
Şekil 1. Proteaz izolasyonu ve saflaştırma stratejileri (Gurumallesh, 2019).

Bitki kökenli proteazlardan bromelain, papain, fişin ve keratinazlar sayılabilmektedir. Rennin, kimotripsin, pankreas tripsin ve pepsin sindirim sürecinde temel rol oynayan hayvan proteazlarıdır (Gurumallesh, 2019).

Proteazlar gıda proteinlerinin koagülasyonunda, emülsifikasyonunda, köpüklenme, yağ bağlanması ve jelleşme gücünün ayarlanmasına yardımcı olmaktadır (Pardo ve ark. 2000).

Proteazlar ekmek pişirme, biranın olgunlaştırılmasında, geleneksel fermente ürünlerde, mayalama ve soya sosu, miso, et tenderleme, balık proteininin çözünürlüğünü artırmada ve peynir üretiminde koagülasyon

amacıyla kullanılmaktadır (Topal ve ark., 2000; Soares ve ark. 2012; Kuddus, 2018). Kimosin (rennin) ve rennetin (kimosin ve pepsin karışımı) sütün koagüle edip jelleştirebilmektedir. Renninin bu etkisi k-kazeinin Phe105-Met106 arasındaki tek bir peptid bağıni hidrolize etmesiyle ortaya çıkmaktadır. K-kazeinin üzerinde oluşan bu hidroliz ile birlikte tüm kazein misellerinin kararlılığı durumu bozulmakta ve kararlılığı bozulan miseller biraraya gelerek pıhtı (peynir pıhtısı) oluşturmaktadır. Kalıp beyaz peynirlerin olgunlaşması esnasında ortama ilave edilen mikrobiyal proteazlar peynirde aroma ve tekstürün oluşabilmesine yardımcı olmaktadır. Cheddar peyniri ve mavi küflü peynirlerde olgunlaşma sırasında bu şekilde aroma oluşturulmaktadır (Saldamlı, 2005). Peynir üretiminde proteaz ve lipaz enzimlerinin metodolojisi Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2 Peynir üretimi aşamaları (Gurumallesh ve ark. 2019).

Proteazlar, endüstriyel olarak üretilen enzim ticaretinin yaklaşık olarak %60'ını oluşturmaktadırlar. Bu enzim; çamaşır deterjanları, et, deri, süt, ilaç, bira, organik sentezlerde ve atıkların arıtılmasında kullanım alanı bulmuştur (Kıran ve ark. 2006; Zhang ve ark. 2020). Proteaz gıda endüstrisinde mayşeleme, protein işleme, damıtılmış alkollü içki üretimi ve pastacılık ürünleri üretiminde kullanılmaktadır (Akkara ve Tosun, 2014). Proteazların deniz ürünlerinde; deri soyma ve kireç çözme, balık proteini hidrolizatı, balık sosu, tuzlu balık olgunlaştırma, deniz ürünleri aromaları, havyar üretimi alanlarında ette tenderleme işleminde, peynirde sütün pıhtılaşması, peynir olgunlaşması ve acı giderme, peynir altı suyu proteini hidroliz, sütte oksitlenmiş tadı önleme, bira üretiminde durultma, maltlaştırma işleminde, fırıncılıkta 109lüten hidrolizi, ekmekte doku ve lezzet iyileştirme,

fırınlanmış ürünler, krakerler, hamur işleri, bisküviler ve kurabiyelerde, soya proteini hidrolizatı, soya sosu üretiminde, fonksiyonel yiyecekler ve nutrasötiklerin üretiminde, biyoaktif peptid üretimi, bebek maması formülasyonunda, meyve sularının ve alkolsüz içeceklerin arıtılması, zenginleştirilmesinde kullanıldığı rapor edilmiştir (de Souza ve ark. 2015; Parameswaran ve ark. 2018).

Proteazlardan biracılıkta non-biyolojik bulanıklığı engellemek amacıyla protein ve tanninin gözle görülebilir partiküller halinde kompleksler oluşturmasından kaynaklanan non-biyolojik bulanıklık papain, 110lüte, bromelain ile bakteriyel ve fungal proteazlardan faydalanılmaktadır (Saldamlı, 2005). Proteazlar ayrıca bebek maması gibi gıdalara dahil edilmek üzere protein hidrolizatları üretmek için kullanılmaktadır (Zhang ve ark. 2018).

Aspergillus, *Candida*, *Coriolus*, *Endothia*, *Endomophthora*, *Irpex*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sclerotium* ve *Torulopsis* peynir üretimi sırasında kullanılan rennin aktifliğinde rol alan bazı proteaz enzimini üreten funguslar sınıfında yer almaktadırlar (Bhalla ve ark. 2007). Ayrıca et olgunlaştırmada kullanılan papain, pepsin ve bromelin gibi enzimlerde proteaz grubu enzimlerdir (Gökalp ve ark. 1996). Bu proteolitik enzimler etin yapısındaki elastin ve kollajeni kısmi olarak hidrolizasyona uğratarak etin yumuşamasına neden olmaktadır. Bu etki mekanizması özellikle kas fibrillerini tutan sarkolemma vb. kas doku bölgelerinde gerçekleşmektedir. Sonuç olarak etteki rigor mortis fazındaki sertliğin azalarak yumuşaması ise ette doğal olarak bulunan Ca^{+2} tarafından aktive edilen proteazlar ile katepsinler tarafından gerçekleştirilmektedir (Saldamlı, 2005).

Hamurun yoğurulması ile 110lüteni oluşturan gliadin ve 110lüteni 110 birbirinden ayrılmakta ve daha sonra 110lüteni 110 düz zincir halini alarak gliadin serbest kalmaktadır. Düz zincir haline gelip birbirine paralel duruma gelen ve disülfid bağları ile birbirine bağlanan glüten; elastikiyet (eğilip bükülme yeteneği) kazanırken; hamur yüzeyinde düzgün bir yapı oluşmaktadır. Proteazlardan, özellikle sert yapılı buğdaylardan elde edilmiş unlarda, 110lüten yapısının parçalanarak hamur yumuşaklığı ve elastikiyetinin artırılması amacıyla yararlanılmaktadır. Proteaz eklenen hamurun vizkozitesi, yoğurmaya karşı direnç göstererek yoğurma zamanını azaltmakta ve vizkoelastik özelliği iyileştirmektedir. Bisküvi üretimi sırasında hamurun viskozite ve elastikiyetini azaltmak ve 110lüteni zayıflatmak için disülfid bağlarını kırmada sodyum metabisülfid (SMS) kullanılmaktadır. Ancak proteazlar da indirgen maddelere benzer bir etki gösterdiğinden dolayı SMS yerine proteaz kullanımı yaygınlaşmış, hatta birçok ülkede SMS kullanımı

yasaklanmıştır. Proteazlar yalnızca peptit bağlarına etki etmekte ve bu bağları parçalamaktadır. Böylece lineer zincirlerle çapraz bağlantıların oluşumunu artırmaktadır. Proteazların SMS'e göre avantajları vardır. Bunlar pişme sırasında ısı etkisiyle denatüre olmaları ve toksisite problemlerinin olmamasıdır. Bunun yanısıra ısıya dayanıklı vitaminler proteazdan etkilenmemekte ve son üründe bozunmadan kalabilmektedirler. Proteolizis ileri derecede meydana gelirse, peptit bağları fazlaca parçalanırken, gaz tutma özelliği zayıf, gevşek hamur oluşmaktadır. Bu sebeple proteazlar kontrollü kullanılmalıdır (Erem ve Certel, 2006).

Modern mutfak uygulamalarında şefler ve bilim adamları arasındaki entelektüel ve yaratıcı alışverişi teşvik eden Nicholas Kurti, 1970'lerde enzimlerle ilgili yaptığı araştırmasında taze ananas suyundan izole ettiği proteolitik enzimleri derin kaslara enjekte ederek domuz etini yumuşatmıştır (Collados ve ark. 2020).

5. LİPAZ (TRİAÇİLGİSEROL AÇİLHİDROLAZ)

Lipazlar (EC 3.1.1.3) triaçilgliserolester hidrolazların bir üyesidir ve yağları hidrolize eden enzimlerdir. Sulu emülsiyon halindeki gliseritleri hidrolize eden karboksietilesteraz olmalarından dolayı lipazlar heterojen sistemde yalnızca su ve lipid arasındaki yüzeyde bulunan esterlerin hidrolizini gerçekleştiren enzimler olarak kabul edilmektedirler (Saldamlı 2005; Kebabcı 2010). Yaygın olarak kimya endüstrisi, fırıncılık ürünleri, süt ürünleri, katı ve sıvı yağ endüstrisi için çok yönlü olarak kullanılmaktadır (Parameswaran ve ark. 2018)

Lipazlar hidrolitik aktivitelerinin yanında esterifikasyon, interesterifikasyon, asidoliz, alkolozis ve amilozis reaksiyonlarında katalizör olarak görev almaktadırlar (Kebabcı, 2010; Villeneuve ve ark. 2000). Lipazlar bakterilerde, mantarlarda, mayalarda, hayvanlarda, bitkilerde kısacası her yerde bulunan enzimlerdir. Doğaları gereği çok esnekler düşük su içeriği veya organik çözücüler varlığında, geniş pH ve sıcaklık aralıklarında reaksiyonları ve işlemleri katalize edebilmektedirler. Bu özellikleri lipazları endüstriler için çok yönlü bir araç haline getirmiştir (Gupta ve ark. 2004),

Bacillus, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* gibi bakteri türlerinin, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor miehei*, *Rhizopus arrhizus*, *R. delemar*, *R. japonicus*, *R. niveus*, *R. oryzae* vb. ve *Aspergillus* türleri *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Lachancea*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida* and *Torulasporea* maya

türlerinden; hint fasülyesi, badem, sorgum, Hindistan cevizi ve yulaf gibi bitkilerin lipaz üretiminde kullanıldıkları bildirilmektedir (Singh ve Muhopadhyay, 2012; Parameswaran ve ark. 2018).

Kebabcı (2010) farklı maya suşlarından lipaz eldesi ve saflaştırılması üzerine yaptığı araştırmasında en yüksek lipaz etkinliği gösteren suşun *Yarrowia lipolytica* NBRC 1658 olduğunu bildirmiştir.

Yağ endüstrisinde ana safsızlıklar olan fosfolipidlerin uzaklaştırılmasında fosfolipazlar kullanılmaktadır. Fosfolipaz soya fasülyesinden pirinç kepeği, hurma, ayçekirdeği, mısır ve kanola yağ rafinasyonu sürecinde safsızlıkların giderilmesi için kullanılmaktadır. Lipazın sıvı yağ endüstrisinde enzim destekli proseslerin verimi % 2'ye kadar artırdığı, enerji açısından verimli olması, pompalama ve ayırma işlemlerinin daha kolay olması, çok düşük yağ kayıpları, sınırlı sabun oluşumu ve daha düşük su tüketimi avantajları olarak sayılmaktadır (Parameswaran ve ark. 2018).

Lipazlar bazı peynir çeşitlerinde ve tereyağlarında, margarin ve çikolata ürünlerinde aromanın zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadırlar. Peynir yapımında kullanılan renninin kütesinde, proteolitik enzimler gibi lipazlar da bulunmaktadır (Gökalp ve ark. 1996).

Peynir üretiminde peynir lezzetini geliştirmek veya yoğunlaştırmak için enzim kullanılmaktadır. Peynir lezzetinin uygunluğu için kısa ve uzun zincirli serbest yağ asitleri arasındaki oran belirli bir dengede olmalıdır. Bu amaçla, yağların lipolitik modifikasyonunda esterazlipaz karışımı kullanılmaktadır (Erbay ve ark. 2016).

Lipazlar ekmek hamurunda trigliseridleri diğliseridlere, monogliseridlere ve yağ asitlerine hidrolize etmek için kullanılmaktadırlar. Trigliseridlerin hidrolizi ile ekmekte yumuşaklık, boyut, aşırı fermantasyona tolerans artmakta ve ekmeğin raf ömrü uzamaktadır. Lipazlar ayrıca glikoz oksidaz gibi diğer enzimlerle birlikte unlu mamullerin kalitesini daha da artırmak ve ekmek dokusunu iyileştirmek için kullanılmaktadırlar (Xiao ve ark. 2017).

Şu anda pişirme uygulamaları için mevcut lipazlar, undaki bir dizi farklı lipid yapısını hidrolize etmekte ve bu endojen lipidlerin gelişmiş yüzey aktivitesine yol açmakta olduğundan dolayı ekmek hacminde önemli bir artışa neden olmaktadır. Lipid fraksiyonunda neden olduğu değişiklikler, ekmek hacminde, eklenen lipazın türüne ve eklenen lipazın konsantrasyonuna bağlıdır. Lipid fraksiyon bileşimi ve unun pişirme performansı arasında önemli bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (Schaffarczyk ve ark. 2014).

Gıda endüstrisinde kullanılan aromatik ve tatlandırıcı bileşiklerin çoğu mikrobiyal enzimler tarafından sentezlenmektedir. Doğal işlemlerle elde edilen bileşenlerin kullanımı gıda endüstrisinde önemli bir etkiye sahiptir. Lipazlar, fırıncılık ve şekerleme ürünlerinde, süt ürünlerinde, yağlarda ve salata soslarında aroma, tat vermek için kullanılmaktadır. Lipazlar ayrıca çay endüstrisinde çaydaki lipid bileşimini azaltmak ve çayı güçlendiren çoklu doymamış yağ asitlerinin konsantrasyonunu artırmak, ayrıca biralarda özel tat ve aroma vermek için de kullanılmaktadır (Parameswaran ve ark. 2018).

Lipazların katalize ettiği tranesterifikasyon reaksiyonları sonucunda çeşitli yenilebilir yağlardan kakao yağı ikameleri sentezlenebilmektedir (Guerrand, 2017). Lipazlar, çikolata endüstrisinde şekerlemelerde, sütlü çikolatada, karamelde ve tereyağı kremasında aromayı arttırmak için yaygın olarak, tatlılığı azaltmak için, karamel ve şekerlemelerin tereyağı tadını iyileştirmek için kullanılmaktadır (Parameswaran ve ark. 2018).

6. TRANSGLUTAMİNAZ (Γ-GLUTAMİL-TRANSFERAZ, PROTEİN-GLUTAMİN)

Transglutaminaz (TGase) enzimi (protein-glutamin, γ -glutamil-transferaz EC 2.3.2.13), peptit bağına bağlı bulunan glutamin kalıntısının γ -karboksiamid grubu (açıl verici) ile lisin ve birlikte glutamin kalıntılarının birincil amino grupları (açıl alıcı) arasındaki açıl transfer reaksiyonu katalize etmektedir (Sharma ve ark., 2001; Yüksel ve Erdem 2007; Akbari ve ark. 2021). Substrat olarak amin bulunmadığında TGase, su moleküllerini açıl yakalayıcılar olarak kullanıp, indirgenmiş glutaminin deaminasyonunu katalizlemektedir (Saguer ve ark. 2007; Akbari ve ark. 2021). Hücresel büyüme, farklılaşma ve bölünmenin düzenlenmesinden sorumlu olan Tgaz'lar, yaraların iyileşmesi, kanın pıhtılaşması, ve eritrosit membranının sertleşmesi gibi birçok biyolojik reaksiyonlarda görev almaktadır. Tgaz ilk olarak 1989 yılında *Streptomyces mobaraensis* olarak bilinen mikroorganizmadan izole edilmiştir. Genellikle *Streptomyces*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Providencia* ve *Actinomyces* suşları, MTGase (Mikrobiyal transglutaminaz) biyosentezi için ana kaynaklar olarak bilinmektedirler (Akbari ve ark. 2021). MTGase enziminin molekül ağırlığı 38000 daltondur ve monomerik, tek bir protein yapısında yaklaşık 331 aminoasitten oluşmaktadır (Karaca, 2020). Bu enzimin geniş pH aralığında (pH 5.0-8.0) stabil kalabildiği, optimum aktivitesini 50°C'de gösterdiği ve donma noktasının biraz üzerindeki sıcaklıklarda bile kısmi bir aktivite sergilediği bildirilmiştir (Hazar, 2018).

TGase çoğunlukla gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek artık deniz ürünleri, surimi ürünleri, et ürünleri, erişte, makarna, süt ürünleri, unlu mamüller gibi hazır gıdaların fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. (Kuraishi ve ark. 2001; Saguer ve ark. 2007). Transglutaminaz enzimi ve ϵ - (γ -glutamil) lizin çapraz bağları ile proteinlerin polimerizasyonunu sağlayarak et ürünlerinde dokunun ve jel gücünün artışı sağlamaktadır. Transglutaminazlar proteinlerin modifikasyonunda;

- 1-Glutaminin (Peptid veya proteine bağlı) karboksiamidi ile primer amin arasında açil transfer reaksiyonunu,
- 2-Protein veya peptidlerin glutamin ve lizin rezidüleri arasında (-Glu) lizin çapraz bağının (G-L bağı) oluşumunu,
- 3-Ortamda uygun bir primer amin bulunmaması veya lizinin amin grubunun belirli ajanlarla bağlanması durumunda suyun kullanımını katalizlemek suretiyle 3 şekilde rol oynamaktadırlar (Karaca, 2020).

2000 yılında, Fat Duck restoranının (Bray, Birleşik Krallık) şefi ve sahibi Heston Blumenthal, özellikle profesyonel mutfaklarda enzim kullanımını tanıtarak transglutaminazın potansiyelini araştırmış ve transglutaminaza “meat glue” (et tutkalı) adını vermiştir (Collados ve ark. 2020). Transglutaminazın et tutkalı adlandırmasını almasının nedeni; genellikle düşük değerli etlerde bağlayıcı olarak kullanılması ile istenen boyutta ve daha yüksek kalitede büyük et parçaları oluşturmasından ötürüdür (Sutay Kocabaş, 2021)

Et ürünlerinde mekanik dayanımı arttırmak için transglutaminaz ilavesi ile ette tekstürü, tat ve koku problemleri ile pişirme problemlerinin ortadan kaldırılması ile beraber, tuz ve kullanılan katkı maddelerinin kullanımının azaltılması veya tamamen ortadan kaldırması gibi avantajlar sağlamaktadır (Yüksel ve Erdem, 2008). Pietrasik ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, transglutaminazın etten elde edilen ürünlerde özellikle pişirme ve çözündürme kayıplarını azalttığını bildirmişlerdir. Tseng ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada tuz oranı düşürülmüş tavuk eti köftelerinin veriminin TGaz yüzdesinin artışıyla arttığını vurgulamışlardır. Chin ve Chung (2003), transglutaminazın düşük yağlı sosislerde %0.1 transglutaminaz kullanımı tuz seviyesinin %1.5'tan %1 seviyesine azaltılmasını sağlamış, ayrıca yaklaşık %0.3 oranında transglutaminazın %10 emülsifiye et yerine kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Carballo ve ark. (2006) et ürünlerinde bağlama maddesi olarak transglutaminaz ve kazeinat kompleksini kullandıkları çalışmada, ürünün dayanıklılık ve çignenebilirlik özelliğinin bu kompleksin kullanıldığı ürünlerde daha iyi sonuç verdiğini tespit etmişlerdir. Baytar (2010) köfte üretimi sırasında gıda katkı maddesi olarak kullanılan transglutaminaz enziminin ürünün çeşitli fiziksel ve kimyasal parametreleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Pietrasik ve Li-Chan (2002) sığır jellerinde mikrobiyal transglutaminazın jelleşme ve tekstür özelliklerine etkisini inceledikleri çalışmalarında; %0.5 oranında mikrobiyal transglutaminaz içeren örneklerin, içermeyenlere göre daha fazla su bağlayabildikleri ve daha az pişirme kaybına uğradıklarını belirlemişlerdir. Trespalacios ve Pla (2007) çalışmalarında tavuk etine transglutaminaz enzimi ekleyerek, üründe sıkı ve homojen bir yapı oluştuğunu tespit etmişler ayrıca sertlik ve çignenebilirlik özelliğinde de olumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Balık etinde yapılan bir çalışmada ise yapıyı korumak ve geliştirmek amacıyla en iyi sertlik ve su tutma kapasitesinin elde edildiği kombinasyonun %1 transglutaminaz enzimi ve %1 tuz olduğu belirlenmiştir (Vacha ve ark. 2006).

Lee ve Chin (2011) tarafından domuz etinden üretilen yeniden yapılandırılmış ham üründe sodyum kazeinat ile birlikte transglutaminaz kullanılması durumunda pişirme kayıplarının azaldığı, elastikiyet ve çignenebilirlik değerlerinin ise arttığı, peynir altı suyu protein izolatu ve transglutaminaz enziminin kombine kullanılması durumunda da elastikiyet, çignenebilirlik ve kesme değerlerinin artış gösterdiği ve %1 tuz içeren örneklerde süt proteinleri kullanılması durumunda duyuşal açıdan %1,5 tuz içeren örneklerden farklı bulunmadığı tespit edilmiştir. Lee ve Chin (2011), ayrıca tuzu %1'e düşürülmüş örneklerde %1 süt proteini ve %0,3 transglutaminaz enzimi kullanımının fonksiyonel, tekstürel ve duyuşal özellikleri geliştirdiğini de vurgulamışlardır.

Ahmed ve ark. (2009), iki et türü (sığır ve tavuk eti) ile hazırladıkları sosislerde TGaz ilavesinin kırılma kuvvetini önemli derecede etkilediği ve özellikle kırmızı et ile üretilen köftelerde daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Kazeinat ve MTGaz birlikte kullanıldığında viskoz bir yapı oluşmaktadır. Bu viskoz yapı sayesinde farklı dolgu maddelerinin birleştirilmesinde zamklaştırıcı rolü görmektedir (Yüksel ve Erdem, 2008). Tavuk etinden yapılan döner kebabına sodyum kazeinat ve MTgaz ilavesi sertliği, çignenebilirliği, sululuğu ve toplam kabul edirliliği artırmıştır. Na kazeinat ile enzimin birlikte kullanılmasının daha etkili sonuçlar verdiği ve döner kebabının üretiminde meydana gelen küçük parçaların yapıdan

ayrılmasını engellemek için birlikte kullanımın önerildiği bildirilmiştir (Kılıç, 2002).

Hazar (2018), pastırma üretiminde transglutaminaz enzimi kullanımının, örneklerdeki renk kusurlarını giderdiği ve yarık oluşumunun önüne geçtiğini ve oksidasyonun bir göstergesi olan TBARS değerinde düşüşe neden olduğunu bildirmiştir.

Transglutaminaz enzim ilavesi yapılarak üretilen peynirlerde peynir altı suyunda kalan proteinin önemli oranda azaldığı ve peynir sertliğinde önemli bir artış olduğu, duyu analizlere göre enzim ilaveli ürünün aroma, tekstür ve renk gibi özelliklerinde iyileşme gözlemlendiği belirtilmiştir (Mahmood ve Sebo, 2009). Peynir, yoğurt ve dondurma gibi süt ürünlerinin üretiminde kullanılan bu enzim, peynirin su tutma kapasitesini artırarak peynirde bir verim artışı sağlamakta, yoğurta ise pıhtı sıklığını geliştirerek sinerezisi azaltmakta ayrıca dondurma üretiminde proteinlerin emülsiyon kapasitesini geliştirerek daha düzgün bir kristal yapıda ürün elde edilmesine katkı sağlamaktadır (Karahan, 2015). Aaltonen ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, peynir üretiminde süte transglutaminaz enziminin eklenmesi ile ürünün nem içeriği yükselerek verimde %4 oranında artış sağlandığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada transglutaminaz enzim ilavesi yapılan labne peynirinde enzim oranı arttıkça ürünün sertliğinde de artış olduğu ve enzim ilavesi ile peynirin kuru, pürüzsüz ve daha beyaz bir yüzeye sahip olduğu belirlenmiştir (Aloğlu ve Öner, 2013).

Özer ve ark. (2007) yağsız yoğurt üretiminde mikrobiyal transglutaminaz enzimi kullandıkları çalışmada enzimin vizkoziteyi arttırdığını, enzim konsantrasyonu arttıkça daha sıkı bir mikrostrüktürel yapının oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Farnsworth ve ark. (2006) keçi sütünden probiyotik yoğurt üretiminde transglutaminazların kullanılmasının uygun olduğunu bildirmişlerdir. Şanlı (2011) geleneksel yöntemle ürettiği ayranında transglutaminaz enzimi ile süt proteinlerinin çapraz bağlanması sonucunda ayran jelinde proteinlerin daha düzenli dağıldığını ve daha sıkı bir mikrostrüktürel yapının oluştuğunu ortaya koymuştur.

Kırımhan (2011), mikrobiyal transglutaminaz enzimi ile muamele edilmiş yoğurtlu dondurmalarda düşük oranda hacim artışı olduğu, erimeye karşı direncin arttığı ve erime karakteristiklerindeki gelişmeye bağlı olarak yoğurtlu dondurmaların şekillerini daha uzun süre koruduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada TGase ile muamele edilmiş yoğurt kullanımının yoğurt dondurmalarında duyu özelliklerinde herhangi bir olumsuzluk oluşturmadığını saptamışlardır.

Farklı oranlarda transglutaminaz enzimi kullanılarak hazırlanan yeniden yapılandırılmış kuru-kür edilmiş jambon örneklerin depolama sonucunda duyuşal değerlendirilmesi yapılmış ve transglutaminaz enzim oranının artışı ile duyuşal parametrelerin tümünün hafif bir artış gosterdiği belirlenmiştir (Jira ve ark. 2017)

Rossa ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada, mikrobiyal yolla üretilen transglutaminaz enziminin (TG), farklı yağ içeriklerine (%4, 6 ve 8) sahip dondurmaların fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Enzim ilavesi sonucunda dondurmaların hacim özelliklerinde, yağ kümeleşmesi ve erimeye karşı direnç özelliklerinde önemli düzeyde artış gerçekleştiği tespit etmişlerdir.

Transglutaminaz enzimi tekstürel yapıyı iyileştirmek ve ekmek hacminin artırılması amacıyla düşük kaliteli unlarla yapılan çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır. Enzimin düşük dozlarda ekmek hamuruna ilavesi hamur özelliklerinde modifikasyona neden olmaktadır. Transglutaminazlar, çözünabilir proteinlerin disülfid kovalent bağların oluşumu ile çözünemeyen yüksek moleköl ağırlıklı protein polimerlerine dönüşümünü sağlamaktadır (Gerrard ve ark. 1998; Larre ve ark. 2000; Basman ve Köksel, 2003; Tseng ve Cheng Liu, 2002; Kurt ve Zorba, 2004; Motoki ve Seguro, 1998). Mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesiyle hazırlanan hamurlarda uzamaya karşı direncin arttığı ve böylece yapışkanlığın azaldığı bildirilmiştir (Tseng ve Cheng Liu, 2002; Bauer ve ark. 2003). Transglutaminaz enziminin, pastacılık ürünleri (kek, bisküvi vb.) üzerinde olumlu etkileri olduğu ve bu enzim ilavesi ile bazı keklerde pişirme işleminin sonrası çökmenin önlendiği, hacim, içyapı ve tekstürün iyileştiği bildirilmiştir (Kuraishi ve ark. 2001; Basman ve ark. 2002).

SONUÇ

Enzimler, bugün biokimyanın büyük bir hızla ilerleyen çeşitli bölümlerinden birisi olmaktadır. Biokimyanın diğer konularından farklı olarak enzimler üzerinde çalışmaların başlaması pek yenidir ve gittikçe büyük bir hızla ilerlemektedir. Özellikle gıda sektöründe ürün üretimi sırasında olumlu katkı sağlamaları, üretim sırasında oluşabilecek olumsuzlukları ortadan kaldırmak veya ürünün pazarlanabilirliğini etkileyen olumsuz durumları ortadan kaldırmak amacıyla çeşitli enzimlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaya başlamıştır. Bu durumda enzim ile ilgili çalışmalar giderek önem kazanmıştır. Yaptığımız bu araştırma da gıda alanında genel olarak

kullanılan enzimler araştırılmış bu enzimlerin genel yapıları, kullanım alanları ile ilgili bilgi verilerek, yapılan çalışmalar biraraya getirilmiştir.

KAYNAKÇA

- Aaltonen, T., Huuonen, I., Myllarinen, P. (2014). Controlled Transglutaminase Treatment in Edam Cheese Making. *International Dairy Journal*, 38(2): 179-182.
- Ahmed, A.M., Kawahara, S., Ohta, K., Nakade, K., Soeda, T., Muguruma, M. (2007). Differentiation in improvements of gel strength in chicken and beef sausages induced by transglutaminase. *Meat Science*, 76: 455-462.
- Akbari, M., Razavi, S. H., Kieliszek, M. (2021). Recent advances in microbial transglutaminase biosynthesis and its application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*. 110: 458-469.
- Akkara, M., Tosun, H. (2014). Industrial Products Derived From Fungi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 9(2): 46-53.
- Akolkar, S.K., Sajgure, A.D., Lele, S.S. (2006). β -Galactosidase from *Lactobacillus acidophilus* isolated from fermented ragi (*Eleusine coracana*). *Indian Journal of Biotechnology*, 5: 184-188.
- Aloğlu, H.Ş., Öner, Z. (2013). The Effect of Treating Goat's Milk with Transglutaminase on Chemical, Structural, and Sensory Properties of Labneh. *Small Ruminant Research*, 109 (1): 31-37.
- Anonim, (2021). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/02/20170224-10.htm>. (Erişim tarihi: 14.04.2021)
- Asgher, M., Asad, M.J., Rahman, S.U., Legge, R.L. (2007). A thermostable α -amylase from a moderately thermophilic *Bacillus subtilis* strain for starch processing. *Journal of food engineering*, 79(3): 950-955. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.053
- Basman, A. Köksel, H. (2003). Transglutaminaz Enziminin Gıda Endüstrisindeki Bazı Uygulamaları. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, sayfa: 209-399, 2-4 Ekim 2003. Ankara.
- Basman, A., Köksel, H. Perry, K.W.Ng. (2002). Effects of increasing levels of transglutaminase on the rheological properties and bread quality characteristics of two wheat flours. *European Food Research and Technology*, 215 (5): 419-424.
- Bauer, N., Koehler, P., Wieser, H. Schieberle, P. (2003). Studies on Effects of Microbial Transglutaminase on Gluten Proteins of Wheat. II. Rheological Properties. *Cereal Chemistry*, 80 (6): 787-790.

- Bayramoglu, G., Tunali, Y., Arica, M.Y. (2007). Immobilization of β -galactosidase onto magnetic poly (GMA–MMA) beads for hydrolysis of lactose in bed reactor. *Catalysis Communications*, 8(7): 1094-1101. doi.org/10.1016/j.catcom.2006.10.029
- Baytar, B. (2010). Transglutaminaz enzimi ve NaCl'nin tavuk köftelerinin çeşitli özellikleri üzerindeki etkilerinin yanıt yüzeyi yöntemi ile modellenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Benkeblia, N., Yoshida, N., Ooi, Y., Nagamine, T., Onodera, S., Shiomi, N. (2005, June). Variations of carbohydrate content and invertase activity in green and white asparagus spears-Effects of spear length and portion. In XI International Asparagus Symposium, 776: 459-464. DOI:10.17660/ActaHortic.2008.776.59
- Bhalla, T.C., Sharma, N.N. and Sharma, M. (2007). Food and Industrial Microbiology. National Institute of Science Communication and Information Resources, CSIR-New Delhi. http://nsdl.niscair.res.in/handle/123456789/129.
- Bhatia, S.K., Vivek, N., Kumar, V., Chandel, N., Thakur, M., Kumar, D., Yang, N., Pugazendhi, A., Kumar, G. (2020). Molecular biology interventions for activity improvement and production of industrial enzymes. *Bioresource Technology*, 124596.
- Büdüş, F. (2019). Reducing the sugar content of ice cream by lactose hydrolysis. Msc Thesis, Harran University, Food Engineering. Şanlıurfa, Türkiye.
- Carballo, J., Ayo, J. Colmenero, F.J. (2006). Microbial Transglutaminase and Caseinate as Cold Set Binders: Influence of Meat Species and Chilling Storage. *Food Science and Technology*, 39 (6): 692-699. doi.org/10.1016/j.lwt.2005.03.020
- Cemeroğlu, B. (2013). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Bizim Grup Basımevi.
- Chen, W., Chen, H., Xia, Y., Zhao, J., Tian, F., Zhang, H. (2008). Production, purification, and characterization of a potential thermostable galactosidase for milk lactose hydrolysis from *Bacillus stearothermophilus*. *Journal of Dairy Science*, 91(5): 1751-1758.
- Chi, Z., Chi, Z., Liu, G., Wang, F., Ju, L., Zhang, T. (2009). *Saccharomycopsis fibuligera* and its applications in biotechnology. *Biotechnology advances*, 27(4): 423-431. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.03.003

- Chin, K. B., Chung, B.K. (2003). Utilization of transglutaminase for the development of low-fat, low-salt sausages and restructured meat products manufactured with pork hams and loins. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 16(2), 261-265.
- Collados, A., Conversa, V., Fombellida, M., Rozas, S., Kim, J.H., Arboleya, J.C., ... Perezábad, L. (2020). Applying food enzymes in the kitchen. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 100-212. doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100212
- Corazza, G.R., Benati, G., Sorge, M., Strocchi, A., Calza, G., Gasbarrini, G. (1992). β -Galactosidase from *Aspergillus niger* in adult lactose malabsorption: a double-blind crossover study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 6(1), 61-66.
- Couto, S.R., Sanromán, M.A. (2006). Application of solid-state fermentation to food industry-a review. *Journal of Food Engineering*, 76(3): 291-302. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.022
- Çelebier, İ. (2016). Isolation of microbial amylase from starch-containing wastes. Master Thesis, Department of Biotechnology, Hacettepe University, Ankara, Türkiye. 142 p.
- Davis, E.A. (1995). Functionality of sugars-physicochemical interactions in foods, *American Journal of Clinical Nutrition*, 62: 170-177.
- de Souza, P.M., Bittencourt, M.L.A., Caprara, C.C., Freitas, M., Almeida, R.P.C., Silveira, D., Fonseca, Y.M., Ferreira Filho, E.X., Pessoa Junior, A., Magalhães, P.O. (2015). A biotechnology perspective of fungal proteases. *Braz J Microbiol* 46: 337-346
- de Souza, P.M., Magalhaes, P.D.O.E. (2010). Application of microbial-amylase in industry-a review. *Braz J Microbiol*, 41: 850-861. doi.org/10.1590/S1517-83822010000400004
- Dinçbaş, S. (2009). Alginat kapsüllerinde tutuklanan *Bacillus amyloliquefaciens* α -Amilaz enziminin farklı nişasta kaynaklarını hidrolizleme yeteneğinin araştırılması. Msc Thesis. Uludağ University, Bursa, Türkiye.
- Dundar, A.N.İ. (2014). Production of resistant starch from high amylose corn starch and their utilization in noodle. PhD Thesis, Uludağ University, Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Food Engineering. Bursa, Turkey, 120 p.
- El-Aassar, M.R. (2013). Functionalized electrospun nanofibers from poly (AN-co-MMA) for enzyme immobilization. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 85: 140-148.

- Elnashar, M.M., Yassin, M.A. (2009). Lactose hydrolysis by β -galactosidase covalently immobilized to thermally stable biopolymers. *Applied biochemistry and biotechnology*, 159(2): 426-437. doi/10.1007/s12010-008-8453-3
- Er, B., Sarımehtemtoğlu, B. (2009). Süt endüstrisinde mikrobiyel enzim kullanımı. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 80(1): 25-30.
- Erbay, Z., Baş, D., Kendirci, P., Çam, M., Kelebek, H., Salum, P., Selli, S. (2016). Lezzet Katkısı Olarak Peynir ve Enzim Modifiye Peynir Tekniğinde Güncel Durum. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 14(2). ISSN Print: 1304-7582
- Erem, F., Certel, M. (2006). Fırın Ürünlerinde Enzim Uygulamaları. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*; 24-26 Mayıs 2006, Bolu. Turkey.
- Fadıloğlu, S., Erkmen, O. (2004). Importance of enzymes in food industry. *Food*, 29(5).
- Farnsworth, J., Hendricks, G., Guo, M. (2006). Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Res*, 65: 113-120. doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.036
- Gerrard, J.A., Fayle, S.E., Wilson, A.J., Newberry, M.P., Ross, M., Kavale, S. (1998). Dough Properties and Crumb Strength of White Pan Bread as Affected by microbial transglutaminase. *Journal of Food Science*. 63(3): 472-475.
- Goulart, A.J., Adalberto, P.R., Monti, R. (2009). Purificação parcial de invertase a partir de *Rhizopus* sp em fermentação semi-sólida. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 14(2): 199-203.
- Gökalp, H.Y., Nas, S., Certel, M. (1996). *Biyokimya-I "Temel Yapılar ve Kavramlar"*. Mühendislik Fakültesi Matbaası, Denizli, Turkey, 400 p.
- Guerrand, D. (2017). Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries. *OCL Oilseeds and fats crops and lipids*, 24(4), D403.
- Guimarães L.H.S., Terenzi H.F., Polizeli M.L.T., Jorge J.A. (2007). Production and characterization of a thermostable extracellular D-fructofuranosidase produced by *Aspergillus ochraceus* with agroindustrial residues as carbon sources, *Enzyme and Microbial Technology*, 42: 52-57. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.07.021

- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V.K., Chauhan, B. (2003). Microbial α - amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38: 1599-1616.
- Gupta, R., Gupta, N., Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 64: 763-781.
- Gurumallesh, P., Alagu, K., Ramakrishnan, B., Muthusamy, S. (2019). A systematic reconsideration on proteases. *International journal of biological macromolecules*, 128: 254-267. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.081>
- Güllü, Ş. (2020). Production of recombinant bacterial alpha amylase in *Pichia pastoris*. MSc Thesis in Food Engineering. Akdeniz University, Turkey, 84 p.
- Hazar, F.Y. (2018). Pastırma üretiminde transglutaminaz enziminin kullanılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 186 s.
- Herrera-Marquez, O., Fernandez-Serrano, M., Pilamala, M., Jacome, M.B., Luzon, G. (2019). Stability studies of an amylase and a protease for cleaning processes in the food industry. *Food and Bioproducts Processing*, 117: 64-73. doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.015
- Jira, W., Sadeghi-Mehr, A., Brüggemann, D.A., Schwägele, F. (2017). Production of dry-cured formed ham with different concentrations of microbial transglutaminase: mass spectrometric analysis and sensory evaluation. *Meat Science*, 129: 81-87.
- Karaca, S. (2020). Et ve et ürünlerinde kullanılan ingredientlerin kalıntı nitrit seviyesi üzerine etkisi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s.112
- Karahan, L.E. (2015). Mikrobiyal Transglutaminaz Enzimi ve Süt Ürünlerinde Kullanımı. *Batman University Journal of Life Sciences*, 5(2): 200-216.
- Karaoğlu, M. (2011). High fructose corn syrup (HFCS). *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 33: 1-12.
- Kat, B., Keskin, S.Y. (2013). Purification of invertase by three-phase partitioning systems and determination of thermal stability. *SAU J. Sci.*, 17(2): 291-294.
- Kayukawa, C.T.M., Oliveira, M.A.S., Kaspchak, E., Sanchuki, H.B.S., Igarashi-Mafra, L., Mafra, M.R. (2020). Quillaja bark saponin effects

- on Kluyveromyces lactis β -galactosidase activity and structure. Food chemistry, 303: 125388. doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125388
- Kebabcı, Ö. (2010). Lipase Production From Various Yeasts and Yield Improvement. Hacettepe University, Department of Biology, Biotechnology Section, Ankara, Turkey, 149 p.
- Kılıç, B. (2002). Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab. Meat Science, 61: 120-126.
- Kıran, Ö.E., Çömlekçioğlu, U., Dostbil, N. (2006). Bazı mikrobiyal enzimler ve endüstrideki kullanım alanları. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(1): 12-19.
- Kırımhan, E.Ü. (2011). The use of microbial transglutaminase enzyme in frozen yoghurt production. Ph. D. Thesis. Ankara University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Dairy Technology, Ankara, Turkey, 82 p.
- Kotwal, S.M., Shankar, V. (2009). Immobilized invertase. Biotechnology Advances, 27(4): 311-322. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.01.009
- Kuddus, M. (2018). Enzymes in Food Technology. Springer, ISBN 978-981-13-1932-7, ISBN 978-981-13-1933-4 (eBook), <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1933-4>
- Kuraishi, C., Yamazaki, K., Susa, Y. (2001). Transglutaminase: its utilization in the food industry. Food reviews international, 17(2): 221-246. doi.org/10.1081/FRI-100001258
- Kurt, Ş. Zorba, Ö. (2004). Transglutaminaz ve Proteinlerin Modifikasyonunda Kullanımı. Gıda, 29(5): 357-364.
- Larre, C., Donery-Papini, S., Popineau, Y., Deshasey, G., Desserne, C. Lefebure, J. (2000). Biochemical Analysis and Rheological Properties of Gluten Modified by Transglutaminase. Cereal Chemistry, 77(2): 32-38.
- Lee, H.C., Chin, K.B. (2011). Evaluation of various salt levels and different dairy proteins in combination with microbial transglutaminase on the quality characteristics of restructured pork ham. International Journal of Food Science and Technology, 46: 1522-1528.
- Liu, S. (2020). Enzymes. Bioprocess Engineering, 229-290.
- Mahmood, W.A., Sebo, N.H. (2009). Effect of Microbial Transglutaminase Treatment on Soft Cheese Properties. Mesopotamia Journal of Agriculture, 37 (4).

- Manoochehri, H., Hosseini, N.F., Saidijam, M., Taheri, M., Rezaee, H., Nouri, F. (2020). A review on invertase: Its potentials and applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101599. doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101599
- May, O. (2019). Industrial Enzyme Applications–Overview and Historic Perspective. *Industrial Enzyme Applications*, 1-24.
- Motoki, M., Seguro, K. (1998). Transglutaminase and its Use for Food Processing. *Trends in Food Science and Tecnology*, 9: 204-210.
- Nadeem, H., Rashid, M.H., Siddique, M.H., Azeem, F., Muzammil, S., Javed, M.R., ... Riaz, M. (2015). Microbial invertases: a review on kinetics, thermodynamics, physiochemical properties. *Process Biochemistry*, 50(8): 1202-1210. doi.org/10.1016/j.procbio.2015.04.015
- Natarajan, J., Christobell, C., Kumar, D.M., Balakumaran, M.D., Kumar, M.R., Kalaichelvan, P.T. (2012). Isolation and Characterization of Galactosidase Producing *Bacillus* sp. from Dairy Effluent. *World Applied Sciences Journal*, 17(11): 1466-1474.
- Neff, K.J. (2007). The healing power of honey: from burns to weak bones, raw honey can help. *Natural News*. com.
- Novaki, L., Hasan, S.D., Kadowaki, M.K., Andrade, D. (2010). Produção de invertase por fermentação em estado sólido a partir de farelo de soja. *Engevista*, 12(2): 131-140.
- Özdemir, A., Sıdal, U. (2013). *Streptomyces* sp. MC10 suşunun alfa amilaz üretim kabiliyetinin belirlenmesi. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1): 39-46.
- Özdingç, N. (2019). The production of invertase from the by-product of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) factory. MSc. Thesis, Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Agricultural Biotechnology Tekirdağ Namık Kemal University, Turkey, 61 p.
- Özer, B., Kirmaci, H.A., Oztekin, S., Hayaloglu, A. Atamer, M. (2007). Incorporation of Microbial Transglutaminase into Non-Fat Yogurt Production. *International Dairy Journal*, 17 (3): 199-207.
- Panesar, R., Panesar, P.S., Sngnh, R.S., Kennedy, J.F., Bera, M.B. (2007). Production of Lactose Hydrolyzed Milk Using Ethanol Permeabilized Yeast Cells, *Food Chemistry*, 101:786-790. doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.064
- Parameswaran, B., Varjani, S., Raveendran, S. (Eds.). (2018). *Green Bio-processes: Enzymes in Industrial Food Processing*. Springer. ISBN: 978-981-13-3262-3,978-981-13-3263-0

- Pardo, M.F., López, L.M., Canals, F., Avilés, F.X., Natalucci, C.L., Caffini, N.O. (2000). Purification of balansain I, an endopeptidase from unripe fruits of *Bromelia balansae* Mez (Bromeliaceae). *J Agric Food Chem* 48: 3795-3800.
- Pietrasik, Z, Jarmoluk A., Shand, P.J. (2007). Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase. *LWT-Food Science and Technology*, 40 (5): 915-920. doi.org/10.1016/j.lwt.2006.03.003
- Pietrasik, Z., Li-Chan, E.C.Y. (2002). Binding and textural properties of beef gels as affected by protein, κ -carrageenan and microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, 35(1): 91-98.
- Polaina, J., MacCabe, A.P. (2007). *Industrial Enzymes*, pp. 531-547.
- Rastall, R. (Ed.). (2007). *Novel enzyme technology for food applications*. Published in North America by CRC press LLC, 6000 Broken Sound Parkway, NW, suite 300, Boca Raton, FL 33487, USA.
- Ren, Z., Liu, G., Chi, Z., Han, Y., Hu, Z., Chi, Z. (2017). Overexpression of both the lactase gene and its transcriptional activator gene greatly enhances lactase production by *Kluyveromyces marxianus*. *Process Biochemistry*, 61: 38-46, doi.org/10.1016/j.procbio.2017.06.001
- Rosado, J.L., Solomons, N.W., Lisker, R., Bourges, H. (1984): Enzyme replacement therapy for primary adult lactase deficiency. Effective reduction of lactose malabsorption and milk intolerance by direct addition of beta-galactosidase to milk at mealtime. *Gastroenterology*, 87(5): 1072-1082.
- Rossa, P.N., Burin, V.M., Bordignon-Luiz, M.T. (2012). Effect of Microbial Transglutaminase on Functional and Rheological Properties of Ice Cream with Different Fat Contents. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2): 224-230.
- Rüzgar, D. (2019). Purification and characterization of amylase and protease enzymes from *Bacillus licheniformis* OSBS6 by three-phase partitioning system. Master Thesis, Department of Biotechnology, Ataturk University, Erzurum, Turkey. 137 p.
- Saguer, E., Fort, N., Pares, D., Toldra, M., Carretero, C. (2007). Improvement of gelling properties of porcine blood plasma using microbial transglutaminase. *Food Chem.*, 101: 49-56. doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.050
- Saini, R., Saini, H.S., Dahiya, A. (2017). Amylases: characteristics and industrial applications. *J. Pharmacogn Phytochem.*, 6(4):1865–1871

- Saldamlı, İ. (2005). *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 587 s.
- Sarsar, O. (2015). Immobilization of lactase enzyme. Marmara University, 47 p.
- Schaffarczyk, M., Østdal, H., Koehler, P. (2014). Lipases in wheat breadmaking: analysis and functional effects of lipid reaction products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(32): 8229-8237. [dx.doi.org/10.1021/jf5022434](https://doi.org/10.1021/jf5022434)
- Schiweck, H., Bär, A., Vogel, R., Schwarz, E., Kunz, M., Lüssem, B., ... Peters, S. (2000). Sugar alcohols. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. doi.org/10.1002/14356007.a25_413.pub2
- Schneider, R.E., Corona, E., Rosales, F., Schneider, F.E., Rodriguez, O., Pineda, O. (1990): Effect of temperature on the lactose hydrolytic capacity of a lactase derived from *Kluyveromyces Iactis*. *Nuir*, 5(1): 197-201.
- Sevinç, N. (2010). Protease production, partial purification and characterization from *Bacillus* sp. isolated from Turkish soil. Msc Thesis. Uludağ University, Turkey. 101 p.
- Sharma, R., Lorenzen, P.C. Qvist, K.B. (2001). Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ - (γ - glutamin) lsine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. *International Dairy Journal*. 11: 785-793.
- Sindhu, R., Binod, P., Madhavan, A., Beevi, U.S., Mathew, A.K., Abraham, A., Pandey, A., Kumar, V. (2017). Molecular improvements in microbial α -amylases for enhanced stability and catalytic efficiency. *Bioresource technology*, 245: 1740-1748. doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.098
- Singh, A.K., Muhopadhyay M. (2012). Overview of Fungal Lipase: A Review. *Applied Biochem. Biotechnology*, 166: 486-520.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K.M., Soccol, C.R., Pandey, A. (2006). α -Amylases from microbial sources—an overview on recent developments. *Food Technol Biotechnol.*, 44(2): 173-184. ISSN 1330-9862
- Soares, I., Távora, Z., Barcelos, R. P., Baroni, S. (2012). Microorganism-produced enzymes in the food industry. *Food industry, scientific, health and social aspects of the food industry*, 83-94.
- Soydan, M. (2006). Production of thermostable beta-galactosidase from thermophilic fungi for use in low lactose milk production. M. Sc.

- Thesis, Middle East Technical University, Department of Food Engineering. Ankara. 89 p.
- Sundarram, A., Murthy, T.P.K. (2014). α -amylase production and applications: a review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(4): 166-175. DOI:10.12691/jaem-2-4-10
- Sutay Kocabaş, D. (2021). Gıda endüstrisinde enzimlerin rolü ve ilgili yasal düzenlemeler. Ögel ZB, editör. *Gıda Biyoteknolojisi*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 29-38.
- Şanlı, T., Sezgin, E., Şenel, E., Benli, M. (2011). Geleneksel yöntemle ayran üretiminde transglutaminaz kullanımının ayranın özellikleri üzerine etkileri. *Gıda*, 36 (4): 217-224.
- Topal, Ş., Pembeci, C., Borcaklı, M., Batum, M., Çeltik, Ö. (2000). Türkiye'nin tarımsal mikoflorasının endüstriyel öneme sahip bazı enzimatik aktivitelerinin incelenmesi-I: amilaz, proteaz, lipaz. *Turk J Biol*, 24: 79-93.
- Trespalacios, P., Pla, R. (2007). Simultaneous Application of Transglutaminase and High Pressure to Improve Functional Properties of Chicken Meat Gels. *Food Chemistry*, 100(1): 264-272.
- Tseng, T.F., Cheng Liu, M.T.C. (2002). Purification of Transglutaminase and its Effects on Myosin Heavy Chain and Actin of Spent Hens. *Meat Science*, 60(3): 267-270.
- Tseng, T.F., Liu, D.C., Chen, M.T. (2000). Evaluation of transglutaminase on the quality of low-salt chicken meat-balls. *Meat Science*, 55: 427-431.
- Uçan, F., Akyıldız, A. (2012). Enzymatic applications in fruit juice industry. *Food*, 37(6): 363-370.
- Vácha, F., Novik, I., Spicka, J., Podola, M. (2006). Determination of the effect of microbial transglutaminase on technological properties of common carp (*Cyprinus Carpio L.*) meat. *Czech Journal of Animal Science*, 51(12): 535-542.
- Van Dam, H.W., Hille, J.D.R. (1992). Yeast and enzymes in bread making. *Cereal Foods World*, 37: 245-252.
- Van Der Maarel, M.J., Van der Veen, B., Uitdehaag, J.C., Leemhuis, H., Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of biotechnology*, 94(2): 137-155. doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00407-2
- Venkateswarulu, T.C., Peele, K.A., Krupanidhi, S., Reddy, K.P.N., Indira, M., Rao, A.R., Kumar, R.B., Prabhakar, K.V. (2020). Biochemical and

- molecular characterization of lactase producing bacterium isolated from dairy effluent. *Journal of King Saud University-Science*, 32(2): 1581-1585.
- Vera, C., Guerrero, C., Aburto, C., Cordova, A., Illanes, A. (2020). Conventional and non-conventional applications of β -galactosidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1868(1), 140271. doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.140271
- Villeneuve, P., Muderhwa, J.M., Graille, J., Haas, M.J. (2000). Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *J Mol Catal B Enzym* 9: 113-148.
- Wolfgang, A. 2007. *Enzyme in Industry: Production and Applications*. Thirdh Completely Revised Edition. Wiley-VCH Pres.
- Xiao, F., Li, Z., Pan, L. (2017). Application of microbial lipase and its research progress. *Progress Appl Microbiol.*, 8-14.
- Yılmaz Karahan, S., Eskici, G. (2017). Biochemical aspects of honey produced in Erzincan. 34(2): 36-42. doi:10.13002/jafag1120
- Yüksel, Z., Erdem, Y.K. (2007). Gıda Endüstrisinde Transglutaminaz Uygulamaları: 1. Enzimin Genel Özellikleri. *Gıda Dergisi*, 32(6): 287-292.
- Yüksel, Z., Erdem, Y.K. (2008). Gıda Endüstrisinde Transglutaminaz Uygulamaları: 1. Enzimin Gıda Süreçlerinde Kullanım Olanakları. *Gıda Dergisi*, 33 (3): 143-149.
- Zhang, S., Wang, J., Jiang, H. (2020). Microbial production of value-added bioproducts and enzymes from molasses, a by-product of sugar industry. *Food Chemistry*, 128860. doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128860
- Zhang, Y., Zhong, Q. (2018). Freeze-dried capsules prepared from emulsions with encapsulated lactase as a potential delivery system to control lactose hydrolysis in milk. *Food Chemistry*, 241: 397-402.

BÖLÜM 10

GIDA KATKI MADDESİ OLARAK KULLANILAN BAZI ENZİMLER VE KULLANIM ALANLARI II

Öğr. Gör. Dr. Arzu İMECE¹

Prof. Dr. Memnune ŞENGÜL²

Dr. Öğr. Üyesi Melek ZOR³

¹ Iğdır Üniversitesi, Iğdır Meslek Yüksekokulu, Otel, Lokanta ve İkram Hizmetleri Bölümü Iğdır/TÜRKİYE; arzuodunkiran@gmail.com, ORCID; 0000-0002-6455-8594

² Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum/TÜRKİYE; memnune@atauni.edu.tr , ORCID; 0000-0003-3909-2523

³ Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Turizm İşletmeciliği ve Otelcilik Yüksekokulu, Gastronomi Bölümü, Ağrı/TÜRKİYE; mzor@agri.edu.tr, ORCID; 0000-0002-5795-218X

GİRİŞ

Bugün bildiğimiz gibi enzim endüstrisi, modern biyoteknolojinin evrimi sayesinde son yirmi yılda gözle görülür bir hızda gelişme yaşamıştır (Kirk ve ark. 2002). Doğada bulunan enzimlerden insanlar, binlerce yıldır çeşitli şekillerde faydalanmıştır. Peynir, yoğurt, kefir, ekmek, bira, sirke, şarap ve diğer fermente edilmiş geleneksel yiyecek ve içeceklerin yanısıra Sümer, Mısır ve Çin'de M.Ö. 6000 yıllarında kağıt ve tekstil gibi malzemelerin üretiminde de enzimler kullanılmıştır (Rastall, 2007). Bunlarla beraber enzimlerin deterjan, hayvan yemi, nutrasötik, kişisel bakım, kozmetik ve atık su alanları için kullanılmaya başlanmış ve ileriye dönük tahminler ile daha da geliştirilmesi hedeflenmektedir. Buna ek olarak, enzim pazarı son on yılda ürüne göre endüstriyel enzim (karbonhidrazlar, lipazlar, proteazlar, polimerazlar ve nükleazlar vb) üretme ve pazar analizi yapılarak bir pazar payı oluşturma açısından önemli bir ilerleme kaydetmiştir (Bourlieu ve ark. 2020).

Doğal olarak kullanılan enzimlerin kaynağının, kendiliğinden gelişen mikroorganizmalardan, buzağuların işkembelerinden veya papaya meyvesi gibi ilave preparatlarda bulunan enzimlere dayandığı bilinmektedir. Fakat bu enzimler, saf veya iyi karakterize edilmiş herhangi bir formda kullanılmamıştır. Geçtiğimiz yüzyılın son dönemlerinde, seçilen üretim suşlarının kullanılmasıyla enzimlerin üretilmesini amaçlayan fermantasyon süreçlerinin geliştirilmesi, enzimlerin büyük ölçekte bile saflaştırılmış, iyi karakterize edilmiş olarak üretilmesini mümkün kılmıştır. Bu gelişme ile örneğin deterjan, tekstil ve nişasta endüstrilerinde enzimlerin endüstriyel üretime ve işleme alanlarına girmesi sağlanmıştır (Kirk ve ark. 2002). Endüstriyel enzim üretiminde kullanılan iki temel fermantasyon tekniği; batık (sıvı) kültür fermantasyonu ve katı kültür fermantasyonudur (Sutay Kocabaş 2021).

Bir enzimi verimli, ekonomik ve yeterli saflıkta elde etmek için saflaştırma işlemi gerekmektedir. Mikrobiyal olarak üretilen bazı enzimler hücre içinde üretildiğinden, çeşitli hücre parçalama yöntemlerinin uygulanması gerekebilmektedir. Bazılarını ise mikroorganizma hücre dışına yani besiyeri ortamına salgılamakta ve böylece besiyeri, santrifüjleme veya filtrasyon yöntemlerine tabi tutulabilmektedir. Enzimler doğası gereği heterojen olduğu için tek bir saflaştırma protokolü uygulanamaz. Saflaştırma stratejileri geliştirmek için protein özellikleri, organik çözücülerin kararlılığını, iyonik gücü, yük özelliklerini, proteaz duyarlılığını, biyospesifik

afiniteyi, hidrofobikliği, translasyon sonrası modifikasyonları ve sıcaklık stabilitesini içermektedir (Kallberg ve ark. 2012)

Enzim üretimi için rekombinant gen teknolojisinin kullanımı ile enzim üretiminden sorumlu olan aktif gen taşınması sağlanmış olup böylece daha önce üretilmeyen enzimlerin ticari alanda kullanılması sağlanmıştır. Ayrıca, modern biyoteknolojinin ilerlemesiyle birlikte, protein mühendisliğinin gelişimine yönelik yapılan çalışmalar, endüstriyel enzimlerin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamıştır. Bu ilerlemeler, endüstriyel faaliyetlerin daha da genişlemesine olanak tanıyan, yeni faaliyetler sergileyen ve yeni işlem koşullarına uyarlanmış özel yapım enzimler sağlamayı mümkün kılmıştır (Kirk ve ark. 2002). Rekombinant DNA teknolojisi ile enzim yapısının biyolojik fonksiyonu arasındaki ilişkiyi yeni bakış açısıyla birleştirirken, insan tarafından tasarlanan veya manipüle edilen enzimler üretilmektedir. Bu durum artık sadece enzimler için doğal kaynaklara bağımlı olmamayı beraberinde getirmektedir (Liu, 2020).

Tüm bunların yanısıra küresel popülasyonun artması ile insan yaşam süresinde bir uzama olduğu gözlemlenmiştir. Böylece, nüfusun beklentisi ile beraber yaşın ilerlemesi ile besin değeri yüksek gıdaların, özellikle taze meyve ve sebzelerin üretim ihtiyacı artış göstermiştir. Bununla birlikte, bu gıdalar hasat sonrası mikroorganizmalar tarafından bozulmaya eğilimlidir. Bu nedenle hasat sonrası meyve ve sebzelerde oluşabilecek bozulmalara karşı biyokontrol ajanları olarak enzimlerin alternatif kullanımı düşünülmektedir (da Silva, 2019). Çünkü mikroorganizmaların neden olduğu gıda bozulmasının olumsuz ekonomik etkileri de oldukça fazladır (James and Zikankuba, 2017; Mahajan ve ark. 2014). *Monilinia spp.*, *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum* gibi patojenler; şeftali, elma, armut, erik ve nektarin gibi meyvelerin hasat sonrası bozulmasına neden olan önemli mikroorganizmalardır (Zhang ve ark. 2018b). Hasat sonrası küf patojenlerinin biyokontrolü: peptidaz ve kitinazlar, gıdalardaki bakteri ve küflerin büyümesini kontrol edebilen belirli mikroorganizma tiplerinin uygulanması için araştırılmış ve bu biyokontrol uygulaması bitkilerde patojenler için kullanılmıştır. Örneğin, proteolitik ve kitinolitik enzimlerin hedeflenen uygulaması; mikroorganizmanın hücresel yapısını bozmakta ve sonuç olarak büyümelerini engellemektedir. Enzimlerin taze gıdaların korunmasını geliştirmek için kullanımının farklı bir sistem olarak karşımıza çıkması, geleneksel gıda muhafaza uygulamalarının her zaman belirli bir mutfak çeşidinin tüm ihtiyaçlarını karşılamadığını gösterebilmektedir. Örneğin, dehidrasyon, meyveyi korumakta, ancak taze meyve tüketimi veya meyve

suları yapmak için geçerli bir uygulama olmadığı ve meyve ve sebzelerdeki vitaminler gibi temel bileşenlerin kaybına sebep olduğu için alternatif uygulama gerektirmektedir. Soğutma, mikrobiyal biyo-bozunmaya karşı gıdaların korunmasında basit bir yöntem olarak da kullanılabilmesi ile beraber, soğutmaya ek olarak, enzimlerin kullanımı ürünün raf ömrünü daha da uzatabilmektedir. Çilek, elma gibi meyve ve bazı sebzelerde meydana gelen küf kanaklı bozulmalarının geciktirilmesi için depoda +4 °C'de tutulmasının bile bu gıdalar için çok uzun bir raf ömrü sağlamadığı bilinmektedir (da Silva, 2019). Bazı çalışmalar enzimlerin gıda koruyucu ajanlar olarak başarılı bir şekilde kullanıldığını göstermiştir. Zhang ve ark. (2012), *Botrytis cinerea* büyümesinin in vitro inhibisyonunu sağlayabilen *Aureobasidium pullulans*'tan rekombinant olarak elde edilmiş olan peptidaz uygulamasını bildirmiştir.

Son yıllarda kimyasalların ve biyoyakıtların sentezi için enzimlerin önemi oldukça artmıştır (Baeyens ve ark. 2015). Daha yeşil biyosentez işlemi, yan ürünlerin oluşumu, yüksek enerji tüketimi, olumsuz çevresel problemler ve gerekli karmaşık ayırma işlemleri de dahil olmak üzere geleneksel kimyasal işlemlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmaktadır (Bencze ve ark. 2016). Bu sebeple biyosentez işlemi, birçok alanda yaygın bir şekilde alternatif bir yol olarak benimsenmiştir (Moelans ve ark. 2005; Nie ve ark. 2015; Kang ve ark. 2015).

Serbest enzimlerin çoğu, yüksek pH, sıcaklık ve polar çözücü ortamı gibi belirli kritik koşullar altında kararsızdırlar (He ve ark. 2016). Bu problemin üstesinden gelmek için, etkili bir yöntem olarak enzimler immobilize edilebilmektedir (Cai ve ark. 2016), burada immobilizasyon yöntemi ve seçilen taşıyıcılar, enzimin stabilitesini ve polar solvent toleransını artırabilecek anahtar faktörlerdir (Pereira ve ark. 2015; Singh ve ark. 2015). Adsorpsiyon en basit immobilizasyon yöntemi olarak kabul edilmektedir. Enzim ve taşıyıcı, hidrojen bağları, hidrofobiklik ve Van der Waals kuvvetleri gibi moleküller arası kuvvetlerle etkileşime girmesine rağmen, adsorpsiyonun sabitleme gücü, çapraz bağlama ve kovalent bağlanma gibi diğer geleneksel immobilizasyon yöntemlerinden daha zayıftır (Moelans ve ark. 2005). Enzimin aktif konformasyonu ve aktivitesi adsorpsiyondan nadiren etkilenmektedir (Mohamad ve ark. 2015). İmmobilizasyon taşıyıcısı olarak, mezo gözenekli silika (Moelans ve ark. 2005), polipropilen (Deng ve ark. 2004), selülozik yapıdaki maddeler ve kitosan (Feng ve ark. 2017) gibi gözenekli yapılara sahip doğal veya yapay polimer malzemeler yaygın olarak kullanılmaktadır. İmmobilize edilmiş (hareketsizleştirilmiş) enzimlerin katalitik

özellikleri, immobilizasyon taşıyıcılarından büyük ölçüde etkilenmektedir ve uygun bir taşıyıcı, bu immobilize edilmiş enzimin performansını ve ömrünü yüksek oranda artırabilmekte, ancak çoğu taşıyıcı türünün geri dönüştürülemediği ve yeniden kullanılmadığı için maliyeti de arttırabilmektedir. Bu tür yapay polimer taşıyıcıların ayrıca doğal olarak parçalanması oldukça zor olmakla birlikte atık taşıyıcıların uygun şekilde bertaraf edilmemesi çevreye zarar verebilmektedir (Chamas ve ark. 2020).

Bu araştırma, “Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Bazı Enzimler ve Kullanım Alanları I” ‘in devamı olarak derlenmiştir.

1. KSİLANAZ (1,4-D-XYLAN XYLANOHYDROLASE)

Ksilanaz (1,4-D-xylan xylanohydrolase, EC 3.2.1.8), bitkilerde hemiselülozların önemli bir bileşeni olan ve hücre duvarlarını bir arada tutma kapasitesine sahip ksiloz moleküllerinin polimerinden oluşan ksilanın β -1,4 glikosidik bağımlı parçalayan önemli bir hidrolitik enzim grubudur ve üretilen ürünler ksiloz ve ksilobiyoz gibi ksilooligosakaritlerdir (Singh ve ark. 2003; Aehle 2004; Singh 2019). Mısır lifi, mısır kabuğu ve şeker pancarı posası gibi çeşitli tarımsal kalıntılar, yaklaşık %20-40 hemiselüloz içermektedir ve bu da onu doğada en bol bulunan ikinci polisakarit yapmaktadır. Hemiselüloz, birçok gıda endüstrisi tarafından istenmeyen bir durum olarak görüldüğü için endüstriyel alanda uzun bir süre kullanılmamıştır. Fakat, şimdi hemiselülozun yapışkan, kalınlaştırıcı, stabilize edici ve emülsifiye edici özelliği nedeniyle değerli olduğu kabul edilmektedir (Tatar ve ark. 2014).

Ksilanazların küf, bakteri, maya, alg, protozoa, salyangoz, kabuklular, böcekler ve tohumlar gibi pek çok canlı grubu tarafından üretildiği bilinmektedir. Endüstriyel olarak ksilanaz üretiminde çeşitli mikroorganizmalar ve yaygın olarak küfler (*Aspergillus* sp. ve *Trichoderma* sp.) kullanılmaktadır. Bu enzimler katı veya sıvı kültür fermentasyonu ile üretilmektedirler. Ancak ticari olarak üretilen ksilanazların yaklaşık %90'ı sıvı kültür fermentasyon yöntemi ile üretilmektedir (Yeğin ve Büyükkilleci 2015).

Mikrobiyal ksilanazlar; meyve suyu ve bira arıtımı, fırıncılık ürünleri, meyvelerin yumuşatılması, kraft hamurunun biyolojik olarak ağartılması, bitki liflerinin zamkının giderilmesi, tütün işleme, bitkisel yağların ekstraksiyonu, geri kazanımı gibi birçok işlem için endüstriyel ölçekte biyoteknolojik potansiyelleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Diğer enzimlerle birlikte ksilanaz uygulamaları, meyve sularının verimini artırmak için, sebze ve meyve sularının arıtılması ve ekstraksiyonu için kullanılan pektinazlar ve

selülozların varlığının yanı sıra kullanılmaktadır. Ekmek yapımında ksilanaz, glikoz oksidaz, α -amilaz ve malt amilaz ile birlikte buğday unundaki hemiselülozları parçalayarak hamurun kabartılmasını, ekmeğin hacminin artmasını, ekmeğin daha yumuşak olmasını sağlamaktadır (Singh, 2019). Hurmadan yağ elde edilmesinden sonra ortaya çıkan lignoselülotik yapıdaki atık, kültür ortamı olarak değerlendirilmiş ksilanaz ve karboksimetilselüloz enzimlerinin üretimi için kullanılmıştır. *Aspergillus niger* ATTC 6275 bu amaçla kullanılmıştır (Prasert ve ark. 1997). Ksilanaz enzimi üretimi için yine lignoselülozik yapıda buğday kepeği, pirinç kabuğu ve yulaf ezmesi substrat olarak üretim ortamında yer almış ve *Aspergillus niger* PPI'nin derin kültür yöntemi ile üretimi gerçekleştirilmiştir (Pandey and Pandey 2002).

Ksilanaz, ticari uygulamalar için büyük miktarlarda hızla üretim yapabilmelidir. Bakteri kaynaklı enzimlerin üretiminde pirinç samanı, pirinç kepeği, buğday samanı, buğday kepeği, şeker kamışı küspesi, mısır unu, mısır koçanı, ağaç talaşı ve yulaf samanı gibi doğal ksilan kaynakları, ksilanaz üretimi için birçok ülkede bol miktarda bulunan karbon kaynağı olarak kullanılan potansiyel hammaddeler olarak bilinmektedirler (Saraçoğlu 2010; Sipos ve ark. 2010; Kshirsagar ve ark. 2015; Gomes ve ark. 2016).

Ekmeğin kalitesi, liflerin varlığından büyük ölçüde etkilenmektedir (Cavella ve ark. 2008). Ksilanazın ekmeğe faydalı özellikler sağlama potansiyeli nedeniyle son on yılda fırıncılık endüstrisinde kullanımı artmıştır. Ksilanazlar, suda çözünmeyen arabinoksilan, hamurdaki su ile etkileşime giren çözünür bir arabinoksilan formuna dönüştürmekte, böylece hacmi artırıp daha düzgün ve daha ince kırıntılar oluşturmaktadır ve aynı zamanda hamur sertliğini azaltmaktadır. Ayrıca hamur yapımında makine parçalarına yapışmayacak şekilde hamur kalitesini arttırmaktadır (Butt ve ark. 2008). Ekmeğin depolanması ve hamurların yumuşatılması sırasında ksilanazın bayatlamayı önleyici etkisi, suyu serbest bırakan arabinoksilanların parçalanmasından kaynaklanmaktadır (Oliveira ve ark. 2014; Yeğin ve Büyükkilleci 2015). Ayrıca Courtin ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada ksilanazın ekmeğin sertliğini azalttığını fakat ekmeğin bayatlaması üzerine bir etkisinin bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Örneğin, fırın ürünlerinde hamur yoğrulması ve işlenmesi 35°C'nin altında gerçekleştirildiğinden ötürü ksilanazların düşük ve orta sıcaklık değerlerinde yüksek aktivite göstermesi gerekmektedir (Collins ve ark. 2005)

Meyve suyu üretiminde ksilanazlar, pektinazlar, amilazlar ve selülozlarla birlikte berraklaştırma için kullanılmaktadır. Buna ilaveten ksilanazlar meyve sularında indirgen şeker miktarını artırmak suretiyle meyve

suyu verimini artırmaktadır (Dhiman ve ark. 2011; Singh 2019). *Pediococcus acidilactici* GC25'ten üretilen ksilanazın kayısı, şeftali gibi meyve sularının bulanıklığını azaltarak arıtılmasında kullanıldığı bildirilmektedir (Adiguzel ve ark. 2019). Ksilanazlar, bira üretiminde arpanın hidrolize olmasını kolaylaştırmak arpanın yapısındaki uzun zincirli arabinoksilanların parçalanmasını sağlayarak suretiyle vizkoziteyi düşürmektedir, böylece bulanıklığın azaltılmasına katkı sağlamaktadırlar (Bajpai 2012). Sıvı kahve üretim işlemlerinde kahve musilajını sıvılaştırılmak (Saraçoğlu 2010). Bunların yanısıra ksiloz, ksilo-oligomerler ve ksilitol üretiminde de ksilanazlar kullanılmaktadır (Juturu ve Wu 2012).

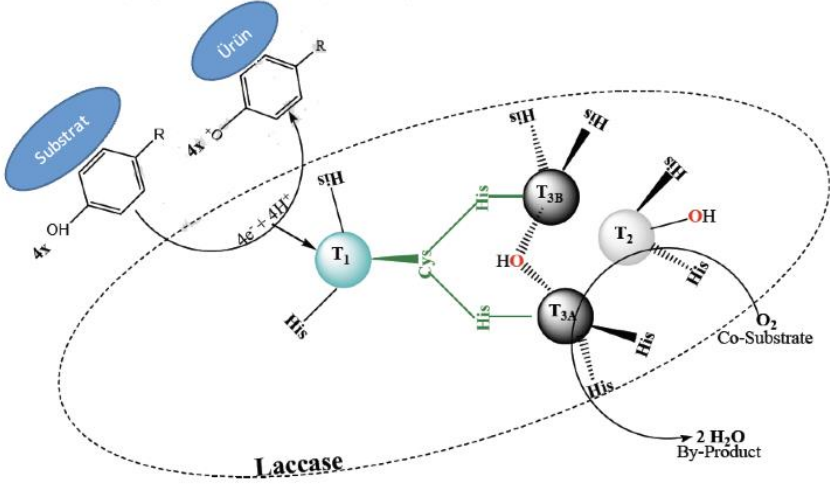
Endoksilanazlar ekmek, kek, bisküvi gibi fırın ürünlerinin kalitesini geliştirmek amacı ile son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Pentozanlar hamurdaki suyun bir kısmını (yaklaşık %23'ünü) bağlamakta, ticari hemiselülazlar ise hamura eklendikleri zaman pentozan molekülündeki glikozidik bağları rasgele noktalardan kırarak molekülün polimerizasyon derecesini düşürüp, molekülü modifiye etmektedir, böylece hamur ve ekmekte suyun dağılımını, hamurun işlenmesini kolaylaştırmaktadır. Endoksilanazlar fermentasyonu tolere edebilmekte, pişme stabilitesini, fırın sıçramasını ve ekmek hacmini artırmaktadır, ekmek içi rengini, gözenek yapısını, tekstürü ve stabiliteyi olumlu yönde etkilemektedir. Bu enzimler askorbik asit ile birlikte ağartma ajanı olan bromatın yerine de kullanılabilir (Erem ve Certel 2006).

1. LAKKAZ (BENZENEDİOL: OKSİJEN OKSİDOREDÜKTAZ)

Çoklu bakır içeren lakkaz (benzenediol: oksijen oksidoredüktaz; EC 1.10.3.2) enzimleri, hem fenolik hem de fenolik-olmayan ligninle ilişkili bileşikler okside edebilmesinin yanı sıra biyolojik yıkıma dirençli olan çevre kirleticilerini de oksitleyebilmektedirler. Buna ek olarak, elektron alıcısı olarak moleküler yapıdaki oksijeni kullanmaları ve toksisitesi olan hidrojen peroksite ihtiyaç duymamalarından dolayı, lakkaz enzimleri son zamanlarda oldukça ilgi çeken bir araştırma alanı oluşturmaktadır (Demiralp ve ark. 2015).

Lakkazlar, çok miktarda fenolik substratın tek elektronlu oksidasyonunu katalize eden mono veya multimerik bakır içeren oksidazlar olmaktadır. Moleküler oksijen, terminal elektron alıcısı olarak hizmet etmekte ve bu nedenle iki su molekülüne indirgenmektedir. Lakkazların fenolik bileşikler oksitleme yetenekleri ve moleküler oksijeni suya indirgeme

yetenekleri, bu enzimler üzerinde yoğun çalışmalara yol açtığı belirtilmiştir (Bar 2001).



Şekil 1 Lakkazın katalitik döngüsü (Akpınar 2017)

Son zamanlara kadar lakkaz enzimleri büyük çoğunlukla funguslar ve bitkilerden izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bunun sonucunda biyoteknolojik uygulamaların neredeyse tamamında fungal lakkazlar kullanılmıştır. Lakkazlar fungusların yanısıra birçok gram negatif, gram pozitif bakteriler ve aktinomisetler tarafından da üretilmektedir (Singh ve ark. 2011). Her ne kadar genom analizleri lakkaz enzimlerinin bakterilerde de yaygın olarak bulunduğu işaret etse de bakteriyel lakkazlar hakkında bilinenler çok daha azdır (Alexandre ve Zhulin 2000).

Ticari uygulamalar için lakkazlar, bakteriler (*E. coli*), filamentli mantarlar (*Aspergillus* sp.) ve diğer bazı basidiomycete türleri olan *Agaricus bisporus*, *Cerrena unicolor* ve *Trametes versicolor*'dan elde edilmektedir. Ayrıca, *Myceliophthora thermophila*'dan lakkaz farklı amaçlar için tasarlanmıştır (Bar 2001).

Lakkazın ticari olarak başarılı bir şekilde kullanıldığı ürünler arasında çayda renk geliştirme uygulamaları, hamur ağartma ve iyileştirme, içecek kalitesinin artırılması, bitkisel yağ içeren ürünlerin stabilizasyonu ve şarapların stabilizasyonu yer almaktadır (Kuddus 2018).

Gıda veya meşrubatların renklerinin olumlu olarak iyileştirilmesi veya modifiye etmek amacıyla lakkaz enzimleri kullanılmaktadır. Meyve suları, bira ve şaraplarda karararma, puslanma ve bulanıklığa yol açan ve

istenmeyen fenolik bileşiklerin giderilmesi amacıyla lakkazlar kullanılmaktadır (Cantarelli ve ark. 1989; Giovanelli ve Ravasini, 1993; Minussi ve ark. 2002; Eyüpoğlu ve ark. 2011).

Lakkaz enzimleri, biyopolimerlerin çapraz bağlanmasını sağlamakta ve bu sayede hamurun yapısal özelliklerini iyileştirebilmektedir. Bu amaçla fırıncılıkta da kullanılmaktadırlar (Si, 1993; Labat ve ark. 2001). Selinheimo ve ark. (2006) yapmış oldukları bir çalışmada, beyaz çürükçül bir fungus olan *Trametes hirsuta* tarafından üretilen lakkaz enziminin bir yandan hamurun elastikiyetini düşürürken, diğer taraftan hamurun maksimum direncini artırdığını tespit etmişlerdir. Flander ve ark. (2011) ise yapmış oldukları bir çalışmada yine *T. hirsuta* kaynaklı lakkaz enzimi ile Pentopan Mono BG ksilanaz enzimlerinin tek tek veya bir kokteyl halinde yulaf, buğday ve yulaf buğday karışımından oluşan hamurlarda kullanmışlar ve lakkaz ilave edilen hamurlardan elde edilen taze ekmeklerin sıklığını arttığını, sonuç olarak lakkaz ve ksilanaz enzimlerinden oluşan bir kompleksi ise hem yulaf hem de buğday unundan yapılan ekmeklerin tekstürleri açısından yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Minussi ve ark. (2002) ise biyo-iyileştirme, meşrubat işleme, askorbik asitin tanımlanması, şeker pancarı pektin jelatinasyonu, fırıncılık ve biyosensör olarak kullanılması gibi gıda endüstrisinin farklı alanlarında lakkaz enzimlerinin potansiyel uygulamalarını tanımlamışlardır. Buna rağmen, bu araştırmacılar lakkaz enzimlerinin endüstriyel kullanımlarının daha da geliştirilmesi için bu enzimlerin düşük maliyetlerle üretilmesini ve uzun süre muhafazasını sağlayan tekniklerin daha fazla araştırılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Kakao içeren çözeltilere lakkaz enziminin ilavesi ile kakaonun lezzeti artmakta ve bu uygulama ile çikolata üretiminde kullanılan kakaonun acılığı ortadan kaldırılmış olmaktadır. *Trametes villosa*'dan elde edilen lakkazın dilimlenmiş zeytin-su karışımına ilave edilmesi ile karışımda bulunan acı tatta yüksek oranda azalma sağlandığı rapor edilmiştir (Minussi ve ark. 2002).

Ayrıca lakkazlar dekolorizasyon ve detoksifikasyon özelliklerinden dolayı şarap endüstrisinde fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasında, çamaşır tozu, deterjan endüstrisinde boyar maddelerin transferi işlemlerinde ve gıda, kozmetik, kâğıt, tekstil ve tekstil atıklarının azo boya içeren sularının biyolojik olarak arıtılmasında kullanılmaktadır (Eyüpoğlu ve ark. 2011; Ertaş ve Ögün 2020).

2. KATALAZ (HİDROJEN PEROKSİT OKSİDOREDÜKTAZ)

Katalaz (Hidrojen Peroksit Oksidoredüktaz, E.C: 1.11.1.6) enzimi, reaktif oksijen türlerinin (ROS), yani genellikle aerobik solunumun bir yan ürünü olarak üretilen hidrojen peroksidin inaktive edilmesinde önemli bir rol oynayan oksidoredüktaz enzimidir (Beers ve Sizer, 1952; Kara 2008). Bu şekilde bir antioksidan görevi görmekte ve hücreyi oksidatif strese karşı korumaktadır (Abbott ve ark. 2009). Bu enzimin çalışmasının temel mekanizması, reaktif oksijen türlerinin, yani hidrojen peroksidin (H_2O_2) oksijene ve suya parçalanması ve böylece aşağıdaki reaksiyonda gösterildiği gibi bu substratın neden olduğu oksidatif stresi gidermeyi kapsamaktadır (Barynin ve ark. 2001). Katalaz enzimi bir saniyede milyonlarca H_2O_2 molekülünü parçalayabilmektedir (Aslankoç ve ark. 2019).



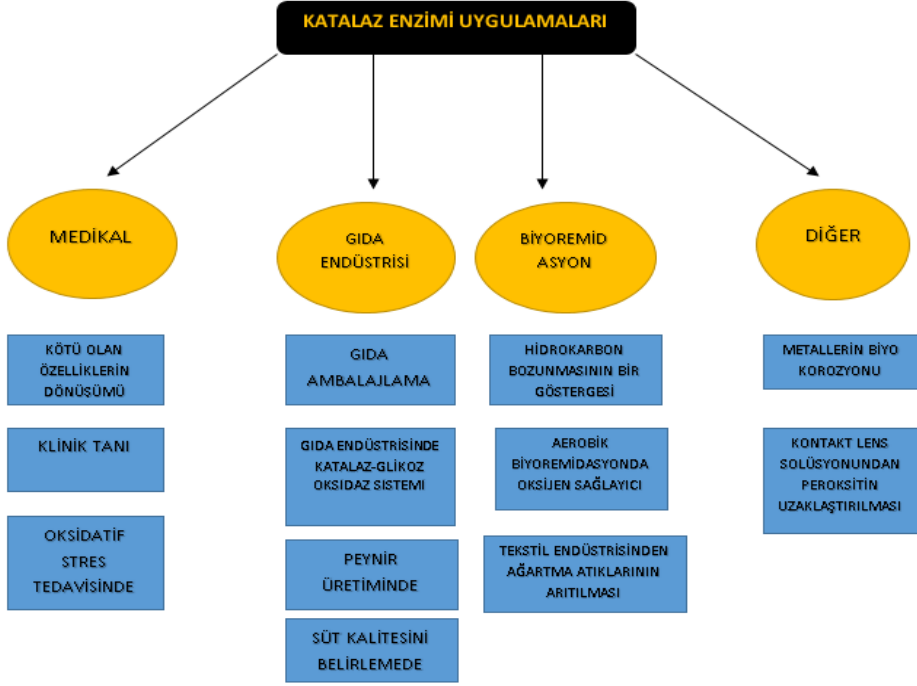
Katalaz, her biri 500 amino asit uzunluğunda olan dört polipeptit zincirinden oluşan bir tetramerdir. Enzimin hidrojen peroksit ile reaksiyona girmesine izin veren dört porfirin hem (demir) grubu içermektedir. Katalazın optimum pH'sı 4-11 arasında oldukça geniş bir çalışma aralığına sahiptir (Díaz ve ark. 2012).

Enzim, çok çeşitli aerobik ve anaerobik organizmalarda bulunmaktadır. Hayvanlar, Sığır karaciğeri, bitkiler, *Arthrobacter* türleri, *Rhodococcus* suşu, *Bacillus* SF, *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae*'nin katalaz enzimi eldesinde kullanıldığı çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (Paar ve ark. 2001; Geciova ve ark. 2002; Fruhwirth ve ark. 2002; Sutton ve ark. 2011; Leilei ve ark. 2012; Ogbolosingha ve ark. 2015; Ighodaro ve Akinloye 2018).

Kirleticileri kontamine bir alandan uzaklaştırmak veya yok etmek için enzimlerin kullanılmasını içeren bir atık yönetimi tekniği olan biyoremediasyonda katalaz enzimi petrolle kirlenmiş toprağın atıklardan arındırılmasında ve tekstil endüstrisinin atık sularından hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında yaygın kullanım alanı bulmaktadır (Kaushal ve ark. 2018).

Enzim endüstrisinin genişlemesinin bir sonucu olarak, son zamanlarda katalazın sütün kalitesinin belirlenmesi, gıda ürünlerinin

ambalajlanması, peynir vb. üretimde kullanılması gibi çeşitli işlemlere dahil olmak üzere gıda endüstrisinde birçok enzim uygulamasından yararlanılmıştır. Endüstride katalaz enziminin diğer bazı uygulamaları, Şekil 4’de belirtildiği gibidir (Kaushal ve ark. 2018).



Şekil 2. Katalazın gıda alanındaki uygulamaları (Kaushal ve ark. 2018)

Parpinello ve ark., (2002) yaptıkları çalışmada katalaz enzimini glikoz oksidaz enzimi ile birlikte meyve pürelirinin esmerleşmesini kontrol etmek için kullanılmışlar ve meyve pürlerinin kahverengileşmesini önleyici doğal antioksidanlar olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

3. PEKTİNAZ

Asidik bir polisakarit olan ve temel yapıtaşı α -1,4-bağlı D-galakturonik asit olan, bitkilerin orta lamellerinde ve birincil hücre duvarında yaygın olarak bulunan pektinin parçalanması, pektin metil esterazlar (PME, EC 3.1.1.11), pektin liyazlar (PL, EC 4.2.2.10), ekzopoligalakturonaz (ekzo-PG, EC 3.2.1.67) ve endopoligalakturonaz (endo-PG, EC 3.2.2.15) içeren pektinazlar ile gerçekleşmektedir (Mohnen, 2008; Yadav ve ark. 2009). Pektinazlar ticari olarak ilk kez 1930’lu yıllarda meyve suyu ve şarap

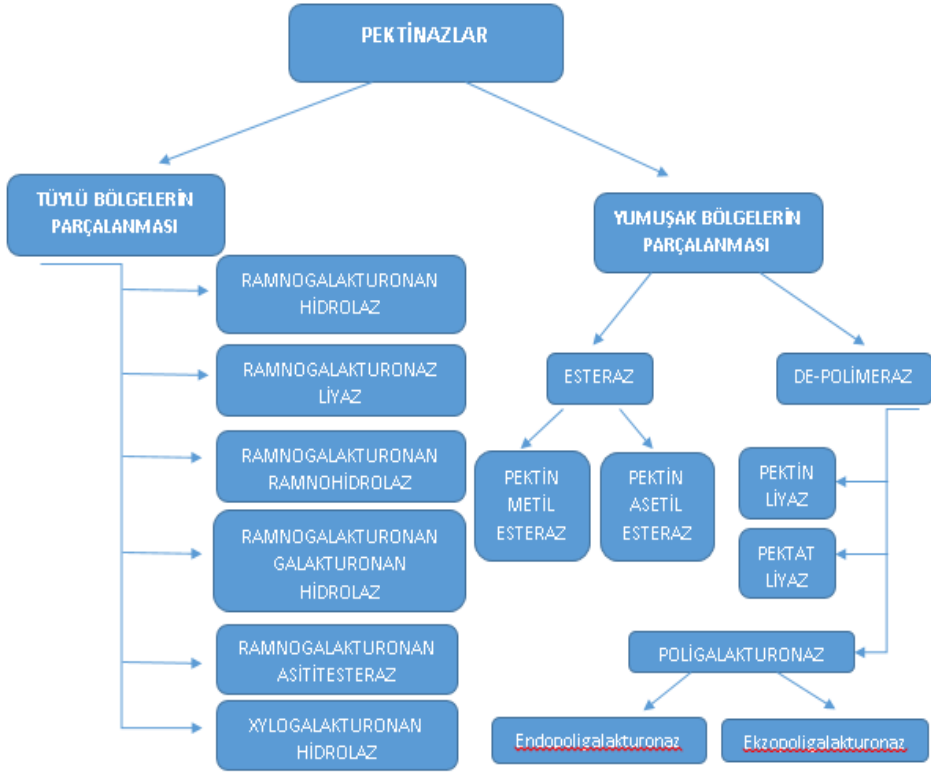
endüstrisinde kullanılmışlardır (Kashyap ve ark. 2001). Mikrobiyal pektinazlar, küresel gıda ve endüstriyel enzimlerin %25'ini oluşturmaktadır (Murad ve Azzaz, 2011). Mikrobiyal pektinazların üretiminde *Erwinia*, *Bacillus* türleri, *Pseudomonas* türleri, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Aspergillus*, *Penicillium actinomycetes* ve *Rhizopus* kullanıldığı bildirilmiştir (Hoondal ve ark. 2002; Uzuner ve Çekmecelioğlu 2016). Bitki kaynaklı pektinazların temel kaynaklarının domates ve portakal olduğu bildirilmektedir (Uzuner ve Çekmecelioğlu 2016).

Pektinazlar, genç bitki hücrelerinde pektin olarak bilinen yüksek moleküler ağırlıklı heteropolisakkaritlerin degradasyonundan sorumludur. Pektinazlar meyve suyu, konsantre ve tekstil endüstrilerinin işleme kısmında kullanılan enzimlerdendir (Kashyap ve ark. 2001). Pektinaz, viskoziteyi, bulanıklığı ve posa parçacıklarını azaltmak ve meyve konsantrelerinin berraklaşmasını sağlayarak daha sonraki gıda işleme süresini kısaltmak, kahve ve çay yaprağı fermantasyonu, yağ ekstraksiyonu, fonksiyonel gıdalar geliştirme gibi çeşitli endüstriyel uygulamalara sahiptir. Gıda biyoteknolojik sürecinde pektinazın yararlı rolüne rağmen, pektinaz ile muamele edilmiş gıda malzemeleri, biyolojik aktivitelerde yalnızca kısmen tanımlanmış bulunmaktadır (Cho ve ark. 2019; Anand ve ark. 2020).

Endüstriyel enzim üretiminde maliyetin %30-40'ını kültür ortamı oluşturmaktadır. Son yıllarda kültür ortamı maliyetinin düşürülebilmesi için karbon kaynağı olarak lignoselülozik maddeler (ağaçlar, tarla ürünleri, organik çöpler, mutfak atıkları vb) kullanılmaktadır. Pektinaz üretiminde de narenciye kabuğu, elma posası ve mısır unu karışımı, buğday kepeği, bal kabağı küspesi, şeker pancarı posası, susam tohumu pres artığı ve benzer tarım gıda atıkları kullanılmaktadır (Uzuner ve Çekmecelioğlu 2016)

Erwinia chrysanthemi'den bir pektin-metilesteraz A, geliştirilmiş termal stabilizasyon için yönlendirilmiş bir değişime tabi tutulmuş ve bu da onu şeker pancarı küspesi biyorafineri uygulamaları için daha uygun hale getirmiştir (Chakiath ve ark. 2009).

Pektinin pürüzsüz ve tüylü bölgelerindeki büyük karmaşıklık ve çeşitlilik, substratın özgülüğüne ve katalize ettikleri reaksiyon tipine bağlı olarak birkaç çeşit parçalayıcı enzim gerektirmektedir. Pektinazın sınıflandırılması aşağıda belirtilen şekilde şematik olarak gösterilmiştir (Anand ve ark. 2020).



Şekil 3. Pektinazın sınıflandırılması (Anand ve ark. 2020)

Pektinlerin tüylü bölgesinin degradasyonunda rol oynayan enzim grupları, ramnogalakturonan hidrolaz (RG hidrolaz), ramnogalakturonan liyaz, ramnogalakturonan ramnohidrolaz (RG ramnohidrolaz), ramnogalakturonan galakturonan hidrolaz (RG ramnohidrolaz) ve ramnogalakturonan asit esteraz'dır. Bu enzim grubu hakkında sınırlı araştırma vardır (Schols ve ark. 1990; Kofod ve ark. 1994; Suykerbuyk ve ark. 1995; Mutter ve ark. 1996). Bu enzim grupları üzerinde, endüstriyel uygulamalarını keşfetmek için yapısal ve işlevsel yönlerini hedefleyen kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, α -arabinofuranosidaz (EC 3.2.1.55), endoarabinaz (EC 3.2.1.99), β -galaktosidaz (EC 3.2.1.23), endogalaktanaz (EC 3.2.1.23), feruloil ve p-kumaroil esterazlar gibi pektinlerin yan zincirlerinin degradasyonunda rol oynayan başka enzimler vardır (de Vries, 1999).

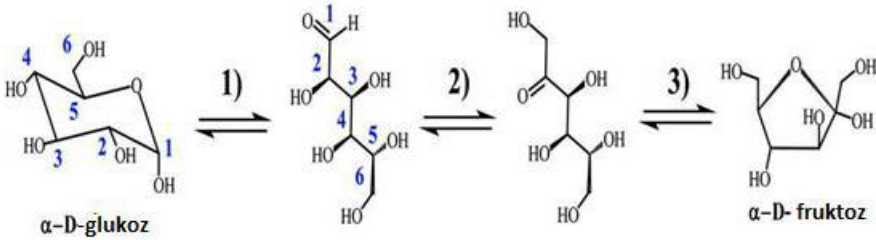
Pektinaz enzimi, gıda üretim sektöründe jöle, marmelat, reçel, vb. ürünlerde jelleşmenin sağlanmasında, salça, krema, krem peynir, sos,

mayonez gibi ürünlerin tat yoğunluğunun ve kıvamının artırılmasında, meyveli yoğurdun içeriğindeki meyve tadının artırılmasında, dondurmada stabilizatör olarak, fırın ve fırıncılık ürünlerinde bayatlamının geciktirilmesi için, zeytin posasından zeytin yağının eldesinde, kahve ve çay fermantasyonlarında ve şarap üretiminde kullanılmaktadır (Akaslan 2019). Birçok çalışma pektinazın meyve suyu üretiminde verimin artırılması ve bulanıklığın giderilmesinde yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (Kareem ve Adebowale 2007; Swain ve Ray 2010; Nadaroğlu ve ark. 2010; Joshi ve ark. 2011; Kumar ve Sharma 2015; Uzuner ve Çekmecelioglu 2015).

Pektinazın çay fermantasyonunu hızlandığı, hazır çay tozlarının köpük oluşturma özelliğini yok ettiği ve kahvenin fermantasyonunda kahve çekirdeklerinden müsilajlı kaplamayı çıkarmak için kullanıldığı bildirilmektedir (Hoondal ve ark. 2002).

4. GLİKOZ İZOMERAZ (D-XYLOSE KETOL-İSOMERASE)

Glikoz izomeraz (E.C. 5.3.1.5), glikozu früktoza izomerleştirmekte ve aynı zamanda ksilozu ksilüloza dönüştürmektedir. Ksiloz için daha yüksek afiniteye sahip olduğu için ksiloz izomeraz olarak da adlandırılmakta, ancak glikozun früktoza dönüşüm reaksiyonu daha büyük ticari önem taşımaktadır (İnan Bektaş 2018). Glikoz izomeraz reaksiyonu Şekil 4’de gösterilmiştir (Kovalevsky ve ark. 2010).



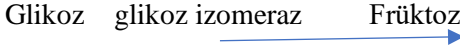
Şekil 4 Glikoz izomerazın katalizlediği reaksiyon (Kovalevsky ve ark. 2010)

Glikoz izomeraz (GI), ilk olarak 1957 yılında Marshall ve Kooi tarafından *Pseudomonas hydrophila* kullanılarak üretilmiş ve bunu takiben *Actinomyces sp.*, *Aerobacter sp.*, *Actinoplanes sp.*, *Streptomyces sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Bacillus sp.* ve *Lactobacillus sp.* üzerinde GI üretimi için çalışıldığı belirtilmektedir. Aktinobakteriler, GI üretimi için kullanılan mikroorganizmalar olmaktadır. Yeni izole edilmiş *Streptomyces sp.* 16S rRNA dizilimi ile *Streptomyces enissocaesilis* olarak tanımlanan T.S.A.KP

(GenBank erişim no. MN911386), hücre dışı GI üretimi için kullanıldığı bildirilmektedir (Sağlam 1990; Chopda ve ark. 2014; Akkoç 2016).

Glikoz izomeraz (GI), yiyecek ve içeceklerde kullanılan başlıca tatlandırıcı olan yüksek früktozlu mısır şurubu (HFCS) üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Neifar ve ark. 2020). Früktozun glikozdan daha yüksek çözünürlük ve tatlandırma kapasitesi, onu endüstriyel düzeyde çekici bir tatlandırıcı yapmaktadır. HFCS, glikozdan daha ucuzdur ve ayrıca daha düşük kalori değerine sahiptir. Son on yıl içerisinde, glikozun früktoza dönüşümü büyük ilgi görmüştür ve büyük ticari değere sahip olmuştur (Fatima ve Javed, 2020).

D-glikoz ketoizomeraz olarakta adlandırılan glikoz izomeraz, D-glikozun D-früktoza izomerizasyonunu katalize etmektedir.



HFCS üretimi, immobilize enzimlerin en büyük endüstriyel kullanım alanlarından biridir. HFCS üretiminde kullanılan immobilize glikoz izomeraz, çeşitli bakteri kaynaklarından izole edilmektedir. Glikoz izomeraz enziminin başka bir potansiyel kullanımı ise, laktozun β -galaktosidaz ile hidrolizini takiben peynir altı suyundan yüksek früktoz şuruplarının üretilmesidir, ancak bu işlemin herhangi bir ticari uygulaması bulunmamaktadır (McSweeney, 2016).

Genellikle güvenli (GRAS) olarak tanınan sıvı glikoz ve früktoz karışımı (HFS), tat artırıcı, iyi nem tutucu, kristal oluşumu ve asitli gıdalarda iyi stabilite sağlama gibi sakarozu göre daha iyi teknik ve işlevsel özellikleri nedeniyle dünya tatlandırıcı pazarında büyük ilgi uyandırmıştır (White, 2014). Früktoz, sakarozdan daha tatlıdır ve glikozdan farklı olarak insülin katılımı olmadan emilebilmekte, bu da onu diyabette tüketime uygun hale getirmektedir (Yu ve ark. 2011). Bu üstün fonksiyonel özellikler, yoğurt, dondurma, çikolata süt ve içecekler dahil birçok gıda maddesinde önemli bir gıda bileşeni olarak uygulanmasına izin vermektedir (Neifar ve ark. 2020).

HFS üretim sürecindeki en önemli adım, serbest veya tam hücreli glikoz izomeraz tarafından yaygın olarak gerçekleştirilen izomerizasyon olmaktadır (Dehkordi ve ark. 2009). Bununla birlikte, bu biyokatalizörün orijinal haliyle endüstriyel uygulaması, diğer faktörlerin yanı sıra, maliyet üretimi, düşük operasyonel stabilite, biyo-dönüşümün gerçekleştirilmesinden sonra yeniden kullanılabilirliğinde sorunlar çıkarabilmektedir. Bunlar gibi bazı dezavantajlar enzimin immobilize edilmesi ile engellenebilmektedir (Bedade ve ark. 2019).

HFCS, ürünlere tatlı tat vermek için gıda (şekerleme, fırıncılık ve yumuşak içecekler) ve ilaç endüstrilerinde geniş uygulama alanı bulmaktadır. Yıllık küresel GI üretimi yaklaşık 10 milyon tondur. GI pahalı bir enzim olup, bu nedenle izomerizasyon sürecini ekonomik olarak uygulanabilir kılmak için enzim immobilizasyonu gerekmektedir. Enzimin immobilizasyonu, çözünmeyen taşıyıcıya adsorpsiyon, polimerik destekler içinde yakalama, çapraz bağlama ve desteklerle kovalent bağlanma yoluyla gerçekleştirilebilmektedir. Enzimin immobilize edilip kullanılması, enzim yapısına en az zarar veren yöntemdir (Singh ve ark. 2020). GI, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanıldığından, immobilizasyon taşıyıcısı toksik olmamalı ve ekonomik olmalıdır (Wang ve ark. 2006).

5. β -MANNANAZ (MANNAN ENDO-1,4-BETA-MANNOSİDASE)

β -mannanazlar (EC 3.2.1.78), ağaçlar ve baklagil tohumlarında yaygın olarak bulunan mannanlar, galaktomannanlar, glukomannanlar ve galaktoglukanetnamelerde 1,4-beta-D-mannozidik bağları hidroliz eden hücre dışı enzimlerdir. Mannanazlar, çeşitli mantar, maya, bakteri ve deniz yosunları ile karasal bitkilerin çimlenmekte olan tohumlarından ve çeşitli omurgasızlardan üretilmektedir (Ertaş ve Öğün 2020)

β -mannanaz, sanayinin kağıt hamuru ve kağıdın biyolojik ağartılmasında, deterjan endüstrisinde hidrolitik ajan olarak, hayvan yemlerinin iyileştirilmesinde, balık yemi katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca mannanaz ile kısmen hidrolize edilmiş guar zambının irritabl bağırsak sendromunun tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Chauhan ve ark. 2012). Son zamanlarda mannanaz enziminin sağlık ve güzellik bakım ürünleri, deterjan, şampuan, diş macunları, kontakt lens temizleyicileri ve sert zemin temizleme ürünlerinin üretimi gibi endüstriyel sektörlerde de faydalanılmaktadır (Çelenk 2015).

Mannoz, protein insan N-glikanlarının (Lowe ve Marth, 2003), depolama polimerlerinin, bitkilerdeki mannan ve glukomannanın (Yu ve ark. 2018) ve *Leishmania*'daki mannojenin önemli bir bileşenidir (Sernee ve ark. 2019) ve hatta enzim substrat tanınmasında rol oynadığının gözlemlendiği bildirilmektedir. Mannoz içeren polimerlerin rolü ele alındığında, bu polimerlerin özelliklerini değiştirmek veya depolanan enerjilerini serbest bırakmak için çeşitli enzimler geliştirmiş olması gerekli bir durum haline gelmiştir. Mannoz polimerler yapısını bozan enzimlerin çoğu glikozit hidrolazlar (GH) olarak sınıflandırılmaktadır (Armstrong ve ark. 2020).

Yapılan bir çalışmada, enterik bakterilerin, insan bağırsağında bulunan mannoz polimerleri de dahil olmak üzere çeşitli polisakaritleri parçalamak için GH'leri nasıl kullandığı ifade edilmektedir. Böylece besin maddesinin komensal bakteri tarafından bozunma mekanizmalarının daha iyi anlaşılması sağlanmaktadır (Gregg ve ark. 2011).

İki kompleks α -(1→6)-D-mannoz içeren lipoglikanlar, lipomannan (LM) ve lipoarabinomannanlar (LAM) mikobakterilerin hücre zarfını doldurmaktadır. LM ve LAM'ın bir mannosillenmiş fosfatidil-miyo-inositol lipid ve bazen α -(1→2)-D-mannopiranosil ile dallanmış α -(1→6)-D-mannopiranozil kalıntılarından oluşan bir mannan omurgasını bulundurabildiği belirtilmiştir (Angala ve ark. 2014). Bu lipoglikanların biyosentetik alandaki son gelişmelere rağmen, mannan dallanmış yapısında, özellikle α -(1→2)-D-mannopiranozil kalıntılarının mannan omurgası boyunca kesin dağılımı bilinmemektedir. Bunun için, LM ve LAM'ın mannan omurgasını hidrolize edebilen iki tip glikosil hidrolaz geleneksel olarak kullanılmıştır. Bir ekso-tip α -(1→2,3,6) mannosidaz (EC#3.2.1.24), terminal mannopiranozil kalıntılarını indirgeyici olmayan uçtan (Li 1966) ayıran ve iki mannopiranozil kalıntısı arasındaki glikosidik bağı ayıran bir endo- α -(1→6)-D-mannanazdan (EC#3.2.1.101) (Chatterjee ve ark. 1992) oluşmaktadır. İlk enzimin saflaştırılabilir ve ticari olarak temin edilebilir olduğu fakat ikinci enzimin ticari bir kaynağı olmadığı bildirilmektedir (Li ve ark. 2019). α -(1→6)-D-mannopiranozil kalıntılarını hidrolize eden bir enzim olan endomannanaz, 1974 yılında Nakajima ve Ballou tarafından keşfedilmiş olup daha sonra bu enzimin topraktan izole edilen bir bakteri olan *Bacillus circulans*'dan izolasyonunun sağlandığı belirtilmiştir (Nakajima ve ark. 1976).

Helbert ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, yeni bir mannosidaz ailesi belirlemişlerdir. GH164 adı verilen bu familyanın, gen sentezi ve yüksek verimli aktivite deneylerinin kombinasyonu sonucu elde edildiği bildirilmiştir.

Mannanaz, diğer enzimlerle birlikte, hurma çekirdeği keki ve mısır unu gibi mannan açısından zengin düşük maliyetli substratlardan mannozun ekonomik üretimi için kullanılabilir. Kahve ekstraktındaki mannanlar, mannanaz tarafından verimli bir şekilde hidrolize edilmekte ve bu da önemli viskozite azalmasına neden olmaktadır. Enzimatik etkinin bir sonucu olarak, kahve çekirdeği ekstraktları, buharlaştırma gibi düşük maliyetli bir prosedürle konsantre edilebilir. Fungal β -mannanazlar, harcanan kahve öğütülmüş yaklaşık pH 5'e sahip olduğundan bu uygulamaya çok uygundur. Hem kısmen

saflaştırılmış hem de ham mannanaz preparatları, kahve mannanının bozunması için başarıyla kullanılmıştır (Chauhan ve ark.2012).

6. SELÜLAZ (ENDO-1,4-B-D-GLUKANAZ, EKZO-1,4-B-GLUKANAZ VE B-D-GLUKOSİDAZ)

Biyoteknoloji işlemlerinde yaygın olarak kullanılan biyolojik katalizörler arasında yer alan selülaaz, biyoteknolojik uygulamalarda anahtar rol oynamaktadır. Selülaaz, endo-1,4- β -D-glukanaz (EC-3.2.1.4), ekzo-1,4- β -glukanaz (ekzocellobiohidrolaz, EC-3.2.1.91) ve β -D-glukosidaz (β -D-glikozit glukanohidrolaz, EC-3.2.1.21) içeren karmaşık bir enzim sistemidir. Bu enzim glikoz üretmek amacıyla selülozik kristallerin 1,4 glikosidik bağlarını hidrolize etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Khoshnevisan ve ark. 2017; Kumar ve ark. 2019).

Selüloz monomerik moleküllerin mikrofibriller oluşturmak için paralel diziler halinde düzenlendiği bir polisakkarittir. Bireysel polisakkarit zincirleri, mikrofibrillerde hidrojen bağları ile birbirine bağlanmaktadır. Selülaazlar, doğrusal bir glikoz polimer olan bu selülozdaki glikozidik bağları hidrolize edebilen bir grup hidrolitik enzime verilen genel addır (Medina-Gonzalez ve ark. 2012; Heinze ve ark. 2015).

Özellikle yenilenebilir lignoselülozik materyalde bulunan selüloz, doğada en fazla bulunan organik substrat olarak kabul edilmektedir. Ayrıca selülaazlar, doğadaki karbon dengesini korumada önemli bir role sahip olmakta ve esas olarak küf ve bakteriler tarafından üretildiği belirtilmektedir. Endoglukanazlar (EC 3.2.1.4), ekzoglukanazlar (EC 3.2.1.91) ve β -glukosidazlar (EC 3.2.1.21) dahil olmak üzere üç tür enzimin selülozu β -glikoza dönüştürmek için sinerjik olarak hareket ettiği yaygın olarak kabul edilmektedir. Daha sonra sellobiyoz, β -glikozidazlar tarafından glikoza hidrolize edilmektedir. Selülaazlar, tarım sektöründe olduğu kadar birçok sektörde kullanım imkanı bulan önemli bir biyoteknolojik potansiyele sahip olan enzimlerdir (Morana ve ark. 2011).

Selülaazlar, mikroorganizmalar tarafından selülozik materyallerin substrat olarak kullanılması ile de üretilen enzimlerdir. Küfler ve bakteriler de dahil olmak üzere birçok mikroorganizma selülaaz enzimini üretebilmektedir. Özellikle küfler verimli bir enzim üretimi sağladığından dolayı selülaaz enzimi üretiminde de önemli rol oynamaktadır (Ezeilo ve ark. 2019). *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* gibi farklı cinslere ait fungal suşlar selülaazlar ve ksilanazlar üretmektedirler (Wang ve ark. 2020). Özellikle *Trichoderma sp.* yüksek seviyede selülaaz

üretebilmektedir. Selüloolitik enzimler için en büyük dezavantaj üretim maliyetleridir (Ho ve Jamila, 2014). Yeni izolatları izole ederek, kültür koşullarını optimize edip, selülaz üretiminin artırılması, uygun maliyetli ve gelişmiş enzim üretimi için en uygun bir yaklaşım olmaktadır. Sıcaklık, pH, fermentasyon süresi ve kimyasal elementler gibi faktörler bir enzimin üretim sürecine önemli derecede etki etmektedirler (Rao ve ark. 1998).

Selülaz enzimi gıdalarda, kimyasallar, deterjanlar, kozmetikler, kağıt hamuru, kağıt ve ilaç endüstrilerinde birçok uygulama alanı bulmaktadır (Wang ve ark. 2016; Xu ve ark. 2016; Srivastava ve Kapoor, 2017). Bununla birlikte, söz konusu endüstrilerde uygulanmasını kısıtlayan stabilitesi ve yeniden kullanılabilirliği konusunda hala çok fazla endişe bulunmaktadır (Khoshnevisan ve ark. 2017).

Selülozik atıklardan şeker, glikoz ve selooligosakkarit üretiminde, lignoselülozik materyalin parçalanmasında, tohumlardan yağ ve meyvelerden meyve suyu ekstraksiyonunda ve meyve sularının berraklaştırılmasında, hindistan cevizi ve soya fasulyesinden protein izolasyonunda, mısır ve tatlı patatesten nişasta üretiminde, soya sosu gibi fermente soya gıdaların üretiminde ve soyanın dış zarının uzaklaştırılmasında, yosunların sindirimini arttırmak amacı ile jelatinize edilmesinde ve su yosunlarından agar ekstraksiyonunda, biyoetanol üretimi için substrat eldesinde, kurutulmuş sebze ve çorba karışımlarının geri sulandırımının artırılmasında, polisakkarit, protein, enzimlerin ve aroma bileşiklerinin eldesinde bitki hücre duvarlarının parçalanarak daha yüksek verim alınması için kullanılmaktadır. Selülaz, ksilanaz ve pektinaz enzimleri preparat olarak hazırlanmakta ve sebze ve meyve sularının renk ve verimini artırmak ve mango, papaya, şeftali, erik, kayısı, armut gibi meyve nektarlarının ve pürelerinin viskozitesini azaltmak için kullanılmaktadır. Selülaz enzimi birada ezme ya da fermentasyon aşamalarında viskoziteyi azaltarak süzülebilirliği artırmak için kullanılırken; şaraplarda renk ve aroma artışı için kullanılmaktadır (Doğan 2013).

Baraldi ve ark. (2016), selülazın kahve tozu üretiminde termal hidrolize kıyasla daha ucuz olan ve daha az enerji kullanan enzimatik hidroliz için kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bu işlemin aynı zamanda hazır kahvede istenmeyen uçucu bileşik miktarını da azalttığı belirtilmiştir.

Çay endüstrisinde yeşil çay üretimi için yaşlı yapraklara göre polifenollerce daha fakir olan taze yapraklar tercih edilmektedir. Hai ve ark. (2016), yaşlı çay yapraklarından çay polifenollerinin ekstraksiyonu için selülaz ilavesinin kullanılabileceğini ispatlamışlardır.

Ayrıca selüloz enzimi pektinaz ve hemiselüloz enzimleri ile birlikte zeytin yağı ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Bu enzim karışımlarının uygulanması; daha yüksek ekstraksiyon, daha iyi kalite, daha fazla antioksidan, daha düşük ekşime ve daha az israf sonuçlarını getirmektedir (Kumar ve ark. 2019).

Mussatto ve ark. (2008) bira mayşe atığından bulunan selüloz selüloz enzimi ile hidrolize ederek glikoz elde etmişler ve bu ortamdan *Lactobacillus delbrueckii* bakterisi aracılığı ile laktik asit ürettiklerini bildirmişlerdir.

Selülozlar, ayrıca biyokütlenin biyoyakıtlara fermantasyonu için kullanılabilir (Coseri, 2017; Sun ve ark. 2015). Çeşitli endüstriyel uygulamalar ile araştırma ve geliştirme (Ar-Ge) için dikkate değer bir öneme sahip olan selülozün son zamanlarda, üretimi ve bu enzimin araştırma zorlukları, özellikle ekonomik işleminin geliştirilmesi, selülozün endüstriyel uygulaması için önemli derecede dikkate alındığı belirtilmektedir (Kuhad ve ark.2011). Endüstriyel alanda ve tıpta birçok uygulaması olmasına rağmen, çoğu farklı ortam ve sıcaklıklarda düşük enzim stabilitesine sahip olan selülozün enzim stabilitesini artırmak için protein mühendisliği, kimyasal modifikasyon ve immobilizasyon gibi birkaç farklı yöntem uygulaması yapılabileceği bildirilmektedir (Hyeon ve ark. 2016). Bunlar arasında enzim immobilizasyonu, enzimatik reaksiyonun heterojen bir şekilde olması ve yeniden kullanılabilirlik durumundan dolayı diğer uygulamalara kıyasla daha fazla avantaja sahip olduğu bildirilmektedir (Homaei ve ark. 2013; de Albuquerque ve ark. 2018).

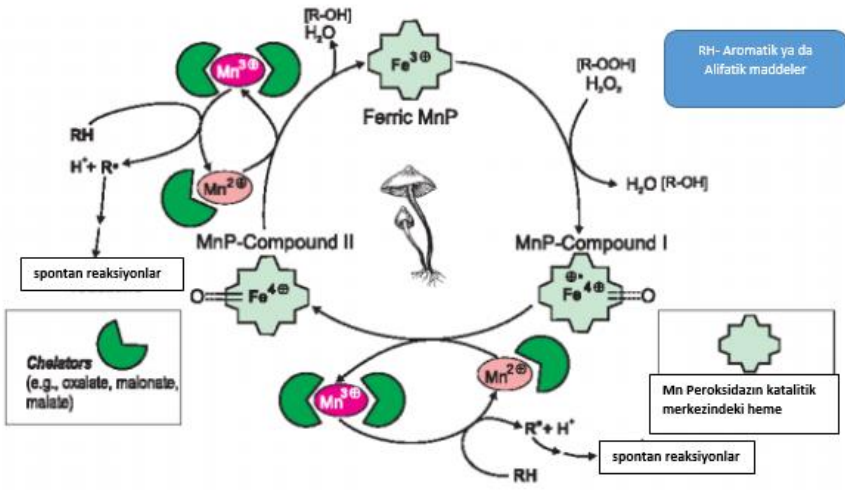
Lignoselülozik biyoetanol üretiminde enzimatik hidroliz aşamasında bitkisel biyokütlenin bozunması işlemi için yeni, daha verimli ve düşük maliyetli selüloolitik enzimlere ihtiyaç duyulmaktadır (Baskaran ve Krishnan, 2020). Lignoselüloolitik enzim arayışında, bitkilerin hücre duvarı polimerlerini verimli bir şekilde ayrıştıran doğal sistemlerin araştırılmasına odaklanan bazı çalışmalar yapılmıştır (da Silva ve ark. 2016; Thomas ve ark. 2016; Druzhinina ve Druzhinina, 2017).

Şeker kamışı tarlaları yıllar geçtikçe ölçek olarak önemli ölçüde arttığı ve haşere istilasına daha duyarlı hale geldiği bildirilmiştir. Sıklığı ve verebileceği zarar nedeniyle, şeker kamışı kurdunun Brezilya'da şeker kamışının önemli ölçüde üretkenlik kaybına yol açan potansiyel bir tehdit olduğu belirtilmektedir. Bu durum şeker kamışı üretiminde önemli bir ekonomik kayba neden olmaktadır. Bunu önlemek amacıyla şeker kamışı dokularını yüksek hidroliz edebilme etkinliğine sahip, selüloz üretebilen

simbiyotik bakterilerden oluşan bir konsorsiyum geliştirildiği bildirilmiştir (Sipos ve ark. 2010).

7. MANGANEZ PEROKSİDAZ (HİDROJEN PEROKSİT OKSİDOREDÜKTAZ)

Manganez peroksidazlar (MnP), (E.C 1.11.1.13) ilk olarak beyaz çürükçül küf olan *Phanerochaete chrysosporium*'dan elde edilen lignin bozunma sisteminin bir parçası olarak tanımlanmıştır (Wariishi ve ark. 1992). Bilinen tüm beyaz çürükçül küfler, MnP enzimlerini üreterek, büyük ve uzun vasküler bitkilerin büyümesini desteklemede anahtar rol oynayan birçok biyopolimer yapılar olan lignini parçalama kapasitelerini sağlamaktadır (Higuchi, 2006). Bu enzimlerin prostetik grubu H_2O_2 'ye bağlı olmakla beraber Mn^{2+} 'nin Mn^{3+} 'e oksidasyonunu katalize etmektedirler (Glenn ve Gold, 1985). MnP katalitik döngüsü, enzim yapısındaki hem grubunun oksidasyonu ile bir H_2O_2 molekülünün bölünmesini içermektedir. Daha sonra Mn^{2+} , oksalat gibi organik asitlerle stabilize edilmesi gereken güçlü bir oksitleyici olan Mn^{3+} 'ya oksitlenmektedir (Martínez, 2002). Reaksiyon sırasında oluşan Mn^{3+} organik asit kompleksi, lignini ve birkaç ksenobiyotik bileşiği oksitleyebilen ve difüze edilebilir bir oksidan görevi görmektedir (Pech-Canul ve ark. 2020). Başka bir ifade ile Mn^{3+} daha sonra organik asitle stabilize edilerek, lignin polimerlerinin aromatik halkalarını parçalayan düşük moleküler ağırlıklı difüze edilebilir redoks mediyatörü olarak işlev gören Mn^{3+} organik asit kompleksinin oluşturulmasını sağlamaktadır (Kuwahara ve ark. 1984).



Şekil 5 Manganez peroksidaz katalitik döngüsü (Akpınar 2017)

Manganez peroksidazın keşfinden bu yana MnP'ye olan ilgi, esas olarak, biyolojik ağartma ve biyoremediasyondaki alanlarındaki potansiyel uygulaması nedeniyle büyük öneme sahip olduğu belirtilmektedir. MnP enzimlerinin, moleküler kütleleri 38 ile 62.5 kDa arasında değişen ve ortalaması 45 kDa olan glikosile edilmiş hem proteinlerinden oluşmaktadır (Hofrichter, 2002). Hücre dışı fungal MnP'lerin izoelektrik noktası (pI) genellikle asidiktir (pI 3-4), optimum pH 4-7 ve optimum sıcaklığın 40-60 °C olduğu bildirilmektedir (Akpınar 2017).

Manganez peroksidaz, *Basidiomycetes* familyalarında (*Agaricales*, *Corticiales*, *Polyporales*, *Hymenochaetales*) bulunan genler ile yakından ilişkili bir gen tarafından kodlanan bir dizi izozim olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir (Tello ve ark. 2000). Ayrıca, MnP'nin 11 farklı izoformunun *Ceriporiopsis (Gelatoporia) subvermispora*'da tanımlanmış olduğu tespit edilmiştir (Lobos ve ark. 1994). MnP proteini, 330-370 amino asitten oluşmakta ve 21-29 amino asitten oluşan bir lider peptidin yanı sıra, MnP genlerinde korunan N-terminal MAF ve AAP dahil kısa diziler içermektedir ve tipik MnP sekresyon sinyal peptidleri olma eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (Li ve ark. 1999).

Birçok boya maddesi, belirli koşullar altında toksik veya kansere neden olabilmeleri nedeniyle sağlık üzerine potansiyel tehlike oluşturmaktadır (Champagne ve Ramsay, 2005). Boyama işlemleri sırasında boyaların %10-15'inin atık su içinde kaybolduğu düşünülmektedir. Bu durumda boyaların kimyasal yapısı ve özelliklerinden dolayı, boya içeren atık suların geleneksel biyolojik arıtma yöntemleriyle ayrıştırılması ve renklerinin giderilmesi zor olmaktadır. Bundan dolayı, boya içeren atıkların sebep olduğu çevresel sorunlar dikkat çekmektedir. Beyaz çürüklül küflerin (WRF) polisiklik aromatik hidrokarbonlar, sentetik boyalar ve diğer öncelikli kirleticiler dahil olmak üzere birçok kirletici ajanı parçalamak için önemli bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2016). Bu potansiyele esas olarak lakkaz, manganez bağımlı peroksidaz, lignin peroksidaz ve manganezden bağımsız peroksidaz dahil WRF'lerin hücre dışı ligninolitik enzimleri sahip olmaktadır (Asgher ve ark. 2008). MnP'nin reaksiyon üzerine önemli etkisi, bu enzimi, tehlikeli atıkların uzaklaştırılması, su ve toprakta organopiretanların biyoremediasyonu ve selülozun ağartma ve hamur haline getirilmesi gibi çeşitli biyoteknolojik uygulamalar için dikkat çekici hale getirdiği belirtilmektedir. MnP, boya renginin giderilmesinde etkilidir ve bu önemli uygulamanın son yıllarda büyük ilgi gördüğü bildirilmiştir. Serbest MnP, pH değişimi, uygun olmayan sıcaklık ve toksik yan ürünlerin varlığı gibi

endüstriyel olarak elverişsiz koşullar altında kolaylıkla denatüre edilebilmekte, bununla birlikte, MnP'nin immobilizasyonunun, bu değişken koşullara karşı enzime stabilite sağlamakta olduğu belirtilmiştir. Bunların yanı sıra bu yöntemin boya renk giderimi reaksiyonlarında enzimlerin etkili biyokatalizör olarak görev yapmasını sağladığı bildirilmektedir (Zhang ve ark. 2018a).

MnP, enzimatik özellikleri ve potansiyel olarak endüstriyel uygulamaları olmasına rağmen *P. chrysosporium* tarafından üretilen bu enzimin sınırlı üretimi ve düşük stabilitesi olmak üzere iki ana özelliği enzimin kullanımını sınırlandırmakta olduğu belirtilmektedir (Pech-Canul ve ark. 2020). MnP enzimlerinin özelliklerini optimize etmek için farklı yaklaşımlar araştırılmıştır, örneğin MnP'nin H₂O₂'ye daha dirençli ve aynı zamanda yüksek sıcaklıklara (Miyazaki ve Takahashi 2001) veya pH'ya daha az duyarlı olan mutasyona uğramış versiyonlarını (Reading ve Aust 2000) elde etmek için bölgeye yönelik mutagenesis işlemlerinin gerçekleştirildiği çalışmalar bulunmaktadır.

Lakkaz ve mangan peroksidaz enzimleri zeytin karasuyunda fenolik bileşiklerin giderimi ve renk açılımında önemli rol üstlemiştir (Yücel vd 2006).

Mangan peroksidaz enzimi meyve, sebze ve zeytinyağı gibi gıda sanayi atıklarının işlenmesinde kullanılmaktadır. Gıda sanayi atığı olan zeytin kara suyu içeriğinde yer alan fitotoksik bileşikler sebebiyle tarımsal alanlarda sulama suyu olarak kullanılamamaktadır. Bu fitotoksik bileşiklerin giderilmesinde lakkaz ve mangan peroksidaz enzimlerini üretebilen funguslar kullanılmaktadır.

SONUÇ

Enzimlerin, doğal olmaları, kontrol edilebilir olmaları, sıcaklıkla kolay inhibe edilebilir olmaları gibi birçok avantajından dolayı tercih edilmesi söz konusudur. Gıda sanayinde kullanılan enzimlerle ilgili yapılan çalışmalar, teknolojinin ilerlemesi ve enzime olan ilginin giderek artmasıyla devam etmektedir. Bu durumda gıda sektöründe kullanılan ve araştırmalara konu olan birçok enzim bulunmaktadır. Yapılan bu araştırma “Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Bazı Enzimler ve Kullanım Alanları I” çalışmasının bir devamı olmaktadır. Gıda alanında kullanılan bazı enzimleri yapısı, kullanım alanları ve bu enzimlerle ilgili yapılan araştırmalar derlenmiştir.

KAYNAKÇA

- Abbott, D. A., Suir, E., Duong, G. H., de Hulster, E., Pronk, J. T., & van Maris, A. J. (2009). Catalase overexpression reduces lactic acid-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and environmental microbiology*, 75(8), 2320-2325.
- Adiguzel, G., Faiz, O., Sisecioglu, M., Sari, B., Baltaci, O., Akbulut, S., Genc, B., Adiguzel, A. (2019). A novel endo- β -1,4-xylanase from *Pediococcus acidilactici* GC25; purification, characterization and application in clarification of fruit juices. *Int. J. Biol. Macromol.*, 129: 571-578.
- Aehle, W. (2004). *Enzymes in Industry*. WILEY-WCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 514 s, Weinheim.
- Akaslan, G. (2019). *Pseudomonas fluorescens* (NRRL B-2641) ile pektin liyaz, ekzo pektinaz ve endo pektinaz üretiminin tepki yüzey yönetimi ile optimizasyonu. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 124 s.
- Akkoç, Y. (2016). Glukoamilaz ve glikoz izomerazın çapraz bağlı enzim agregatları oluşturularak birlikte immobilizasyonu ve karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 115 s.
- Akpınar, M. (2017). Production of some ligninolytic and hydrolytic enzymes with solid state fermentation. Doctoral Thesis, Dokuz Eylül University, 199 p.
- Alexandre, G., Zhulin, I.B. (2000). Laccases are widespread in bacteria. *Trends Biotechnol*, 18: 41-42.
- Anand, G., Yadav, S., Gupta, R., Yadav, D. (2020). Pectinases: from microbes to industries. *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*, 287.
- Angala, S.K., Belardinelli, J.M., Huc-Claustre, E., Wheat, W.H., Jackson, M. (2014). The cell envelope glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 49(5), 361-399.
- Armstrong, Z., Davies, G.J. (2020). Structure and function of Bs164 β -mannosidase from *Bacteroides salyersiae* the founding member of glycoside hydrolase family GH164. *Journal of Biological Chemistry*, 295(13), 4316-4326.

- Asgher, M., Bhatti, H.N., Ashraf, M., Legge, R.L. (2008). Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system. *Biodegradation*, 19(6): 771.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E.Ş., Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- Baeyens, J., Kang, Q., Appels, L., Dewil, R., Lv, Y., Tan, T. (2015). Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol. *Progress in Energy and Combustion Science*, 47: 60-88.
- Bajpai, P., 2014. *Xylanolytic enzymes*, New York, Academic Press is a imprint of Elsevier. The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford, OX5 1GB, UK 225 Wyman Street, Waltham, MA 02451, USA.
- Bar, M. (2001). Kinetics and physico-chemical properties of white-rot fungal laccases. Doctoral dissertation, University of the Free State.
- Baraldi, I.J., Giordano, R.L.C., Zangirolami, T.C. (2016). Enzymatic hydrolysis as an environmentally friendly process compared to thermal hydrolysis for instant coffee production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 33(4): 763-771.
- Barynin, V.V., Whittaker, M.M., Antonyuk, S.V., Lamzin, V.S., Harrison, P.M., Artymiuk, P.J., Whittaker, J.W. (2001). Crystal structure of manganese catalase from *Lactobacillus plantarum*. *Structure*, 9(8): 725-738.
- Baskaran, R., Krishnan, C. (2020). Enhanced production of cellulase from a novel strain *Trichoderma gamsii* M501 through response surface methodology and its application in biomass saccharification. *Process Biochemistry*, 99: 48-60.
- Bedade, D.K., Sutar, Y.B., Singhal, R.S. (2019). Chitosan coated calcium alginate beads for covalent immobilization of acrylamidase: process parameters and removal of acrylamide from coffee. *Food chemistry*, 275: 95-104.
- Beers, R.F., Sizer, I.W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol chem*, 195(1): 133-140.
- Bencze, L.C., Bartha-Vári, J.H., Katona, G., Toşa, M.I., Paizs, C., Irimie, F.D. (2016). Nanobioconjugates of *Candida antarctica* lipase B and single-

- walled carbon nanotubes in biodiesel production. *Bioresource Technology*, 200, 853-860.
- Bourlieu, C., Astruc, T., Barbe, S., Berrin, J.G., Bonnin, E., Boutrou, R., Hugouvieux, V., Feunteun, S., Paës, G. (2020). Enzymes to unravel bioproducts architecture. *Biotechnology Advances*, 107546.
- Butt, M.S., Tahir-Nadeem, M., Ahmad, Z., Sultan, M.T. (2008). Xylanases and their applications in baking industry. *Food Technol Biotechnol.*, 46(1): 22-31.
- Cai, D., Li, P., Chen, C., Wang, Y., Hu, S., Cui, C., Qin, P., Tan, T. (2016). Effect of chemical pretreatments on corn stalk bagasse as immobilizing carrier of *Clostridium acetobutylicum* in the performance of a fermentation-pervaporation coupled system. *Bioresource technology*, 220: 68-75.
- Cantarelli, C., Brenna, O., Giovanelli, G., Rossi, M. (1989). Beverage stabilization through enzymatic removal of phenolics. *Food Biotechnol*, 3: 203-13.
- Cavella, S., Romano, A., Giancone, T., Masi, P. (2008) The influence of dietary fibres on bubble development during bread making. In: *Bubbles in food*, 2: 311-321.
- Chakiath, C., Lyons, M.J., Kozak, R.E., Laufer, C.S. (2009). Thermal stabilization of *Erwinia chrysanthemi* pectin methylesterase A for application in a sugar beet pulp biorefinery. *Applied and environmental microbiology*, 75(23): 7343-7349.
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., Abu-Omar, M., Scott, S.L., Suh, S. (2020). Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9): 3494-3511.
- Champagne, P.P., Ramsay, J.A. (2005). Contribution of manganese peroxidase and laccase to dye decoloration by *Trametes versicolor*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(3): 276.
- Chauhan, P.S., Puri, N., Sharma, P., Gupta, N. (2012). Mannanases: microbial sources, production, properties and potential biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93: 1817-1830.
- Cho, H.D., Kim, J.H., Won, Y.S., Moon, K. D., Seo, K.I. (2019). Inhibitory Effects of Pectinase-Treated *Prunus Mume* Fruit Concentrate on Colorectal Cancer Proliferation and Angiogenesis of Endothelial Cells. *Journal of food science*, 84(11): 3284-3295.

- Chopda, V.R., Nagula, K.N., Bhand, D.V., Pandit, A.B. (2014). Studying the effect of nature of glass surface on immobilization of glucose isomerase. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(3): 86-89.
- Collins, T., Gerday, C., Feller, G. (2005). Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanase. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 3-23.
- Coseri, S. (2017). Cellulose: To depolymerize... or not to?. *Biotechnology advances*, 35(2): 251-266.
- Courtin CM, Gelders GG, Delcour JA. (2001). The use of two endoxylanases with different substrate selectivity provides insight into the functionality of arabinoxylans in wheat flour breadmaking. *Cereal Chemistry*, 78: 564-571.
- Çelenk, C. (2015). *Lactobacillus plantarum* bakterisinden fitaz ve mannanaz enzimlerinin kısmi saflaştırılması, bazı kinetik özelliklerinin belirlenmesi ve nanohidroksiapatit'e immobilize edilmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 65 s.
- da Silva, G.T., Chiarello, L.M., Lima, E.M., Ramos, L.P. (2016). Sono-assisted alkaline pretreatment of sugarcane bagasse for cellulosic ethanol production. *Catalysis Today*, 269: 21-28.
- da Silva, R.R. (2019). Enzyme technology in food preservation: A promising and sustainable strategy for biocontrol of post-harvest fungal pathogens. *Food chemistry*, 277: 531-532.
- de Albuquerque, T.L., Gomes, S.D.L., D'Almeida, A.P., Fernandez-Lafuente, R., Gonçalves, L.R.B., Rocha, M.V.P. (2018). Immobilization of β -galactosidase in glutaraldehyde-chitosan and its application to the synthesis of lactulose using cheese whey as feedstock. *Process Biochemistry*, 73: 65-73.
- de Vries, R.P. (1999). Accessory enzymes from *Aspergillus* involved in xylan and pectin degradation. De Vries. ProQuest LLC, ISBN 90-5808-108-7
- Dehkordi, A.M., Tehrani, M.S., Safari, I. (2009). Kinetics of glucose isomerization to fructose by immobilized glucose isomerase (Sweetzyme IT). *Industrial & engineering chemistry research*, 48(7): 3271-3278.
- Demiralp, B., Büyük, İ., Aras, S., Cansaran-Duman, D. (2015). Industrial and biotechnological applications of laccase enzyme. *Turk Hij Den Biyol Derg.*, 72(4): 351-368. DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2015.09581
- Deng, H.T., Xu, Z.K., Wu, J., Ye, P., Liu, Z.M., Seta, P. (2004). A comparative study on lipase immobilized polypropylene

- microfiltration membranes modified by sugar-containing polymer and polypeptide. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 28(2-3): 95-100.
- Dhiman, S.S., Garg, G., Sharma, J., Mahajan, R., Methoxy, R. (2011). Characterization of statistically produced xylanase for enrichment of fruit juice clarification process. *New Biotechnology* 28(6): 746-755.
- Díaz, A., Loewen, P.C., Fita, I., Carpena, X. (2012). Thirty years of heme catalases structural biology. *Archives of biochemistry and biophysics*, 525(2): 102-110.
- Doğan, D. (2013). Beyaz-çürükçül fungusların selüloz ve ksilanaz enzim üretim potansiyellerinin araştırılması. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 157
- Druzhinina, I.S., Kubicek, C.P. (2017). Genetic engineering of *Trichoderma reesei* cellulases and their production. *Microbial biotechnology*, 10(6): 1485-1499.
- Erem, F., Certel, M. (2006). Fırın Ürünlerinde Enzim Uygulamaları. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu. Turkey.
- Ertaş, N.A., Ögün, E. (2020). Van Gölü'nden toplanan su ve sediment numunelerinden izole edilen bakterilerin lakkaz ve mannanaz enzimlerini üretme kabiliyetleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (18): 545-551.
- Eyüpoğlu, O.E., Ozan, V., Atacı, N., Arısan, İ. (2011). Determination of Some Enzymes, Which Have Industrial Importance by Lignolytic Enzymes, from White Saprophyte Mushrooms and Role of Acidic Conditions' Effect Mechanism in Production. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2): 93-98. ISSN: 1308-3961, E-ISSN: 1308-0261
- Ezeilo, U.R., Lee, C.T., Huyop, F., Zakaria, I.I., Wahab, R.A. (2019). Raw oil palm frond leaves as cost-effective substrate for cellulase and xylanase productions by *Trichoderma asperellum* UC1 under solid-state fermentation. *Journal of environmental management*, 243: 206-217.
- Fatima, B., Javed, M.M. (2020). Production, purification and physicochemical characterization of D-xylose/glucose isomerase from *Escherichia coli* strain BL21. *3 Biotech*, 10(2): 39.
- Feng, L., Cao, Y., Xu, D., Zhang, D., Huang, Z. (2017). Influence of chitosan-sodium alginate pretreated with ultrasound on the enzyme activity,

- viscosity and structure of papain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5): 1561-1566.
- Flander, L., Rouau, X., Morel, M.H., Autio, K., Seppänen Laakso, T., Kruus, K., Buchert, J. (2011). Effects of Laccase and Xylanase on the Chemical and Rheological Properties of Oat and quality parameters of glutenfree oat breads, 59(15): 8385-8390.
- Fruhwith, G., Paar, A., Gudelj, M., Cavaco-Paulo, A., Robra, K.H., Gübitz, G. (2002). An immobilised catalase peroxidase from the alkalothermophilic *Bacillus SF* for the treatment of textile-bleaching effluents. *Applied microbiology and biotechnology*, 60(3): 313-319.
- Geciova, J., Bury, D., Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry-a review. *International Dairy Journal*, 12(6): 541-553.
- Giovanelli, G., Ravasini, G. (1993). Apple juice stabilization by combined enzyme membrane filtration process. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 26: 1-7.
- Glenn, J.K., Gold, M.H. (1985). Purification and characterization of an extracellular Mn (II)-dependent peroxidase from the lignin-degrading basidiomycete, *Phanerochaete chrysosporium*. *Archives of biochemistry and biophysics*, 242(2), 329-341.
- Gomes, A.F.S., dos Santos, B.S.L., Francison, E.G., Baffi, M.A. (2016). Substrate and temperature effect on xylanase production by *Aspergillus fumigatus* using low cost agricultural wastes. *Bioscience Journal*, 32(4). DOI: <https://doi.org/10.14393/BJ-v32n4a2016-32935>
- Gregg, K.J., Zandberg, W.F., Hehemann, J.H., Whitworth, G.E., Deng, L., Vocadlo, D.J., Boraston, A.B. (2011). Analysis of a new family of widely distributed metal-independent α -mannosidases provides unique insight into the processing of N-linked glycans. *Journal of Biological Chemistry*, 286(17): 15586-15596.
- Hai, T.C., Nam, N.D., Hong Anh, L.T., Vu, T.A., Man, P.V. (2016). Enzyme assisted extraction of polyphenols from the old tea leaves. *J Nutr Health Sci*, 3(4): 404-410.
- He, Y., Li, J., Kodali, S., Chen, B., Guo, Z. (2016). The near-ideal catalytic property of *Candida antarctica* lipase A to highly concentrate n-3 polyunsaturated fatty acids in monoacylglycerols via one-step ethanolysis of triacylglycerols. *Bioresource technology*, 219: 466-478.

- Heinze, T. (2015). Cellulose: structure and properties. In *Cellulose chemistry and properties: fibers, nanocelluloses and advanced materials*, 1-52. Springer, Cham.
- Helbert, W., Poulet, L., Drouillard, S., Mathieu, S., Liodice, M., Couturier, M., Lombard, V., Terrapon, N., Turchetto, J., Vincentelli, R., Henrissat, B. (2019). Discovery of novel carbohydrate-active enzymes through the rational exploration of the protein sequences space. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(13): 6063-6068.
- Higuchi, T. (2006). Look back over the studies of lignin biochemistry. *Journal of Wood Science*, 52(1): 2-8.
- Ho, H.L., Jamila, S.H. (2014). Optimisation of medium formulation and growth conditions for xylanase production by *Aspergillus brasiliensis* in submerged fermentation (SmF). *J Biodivers Biopros Dev*, 1(102): 2376-0214.
- Hofrichter, M. (2002). Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial technology*, 30(4): 454-466.
- Homaei, A.A., Sariri, R., Vianello, F., Stevanato, R. (2013). Enzyme immobilization: an update. *Journal of chemical biology*, 6(4): 185-205.
- Hoondal, G.S., Tiwari R.P., Tewari, R., Dahiya N. and Beg Q.K. (2002). Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(4-5): 409-418.
- Hyeon, J.E., Shin, S.K., Han, S.O. (2016). Design of nanoscale enzyme complexes based on various scaffolding materials for biomass conversion and immobilization. *Biotechnology journal*, 11(11): 1386-1396.
- Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4): 287-293.
- İnan Bektaş, K. (2018). Glikoz İzomeraz Üreticisi Dört *Geobacillus* Suşunun İzolasyonu ve Moleküler Metotlar Kullanarak Tanımlanması. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2); 299-308. doi.org/10.17714/gumusfenbil.319426
- James, A., Zikankuba, V. (2017). Postharvest management of fruits and vegetable: A potential for reducing poverty, hidden hunger and

- malnutrition in sub-Saharan Africa. *Cogent Food & Agriculture*, 3(1): 1312052.
- Joshi, V.K., Parmar, M., Rana, N. (2011). Purification and characterization of pectinase produced from apple pomace and evaluation of its efficacy in fruit juice extraction and clarification. *Indian J Nat Prod Resour*, 2(2): 189-197.
- Juturu, V., Wu J.C. (2012). Microbial xylanases: Engineering, production and industrial applications. *Biotechnology Advances* 30: 1219-1277.
- Kallberg, K., Johansson, H.O., Bulow, L. (2012). Multimodal chromatography: an efficient tool in downstream processing of proteins. *Biotechnol. J.*, 7: 1485-1495
- Kang, Q., Van der Bruggen, B., Dewil, R., Baeyens, J., Tan, T. (2015). Hybrid operation of the bio-ethanol fermentation. *Separation and Purification Technology*, 149: 322-330.
- Kara, D. (2008). Sakaryada yetişen iki farklı kabak çekirdeğinden (*Cucurbita maxima* ve *moschata*) katalaz enziminin karakterizasyonu (Master's thesis, Sakarya Üniversitesi).
- Kareem, S. O., & Adebawale, A. A. (2007). Clarification of orange juice by crude fungal pectinase from citrus peel. *Nigerian Food Journal*, 25(1), 130-137.
- Kashyap, D.R., Vohra, P.K., Chopra, S., Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource technology*, 77(3): 215-227.
- Kaushal, J., Mehandia, S., Singh, G., Raina, A., Arya, S.K. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 16: 192-199.
- Khoshnevisan, K., Vakhshiteh, F., Barkhi, M., Baharifar, H., Poor-Akbar, E., Zari, N., Stamatis, H., Bordbar, A.K. (2017). Immobilization of cellulase enzyme onto magnetic nanoparticles: Applications and recent advances. *Molecular Catalysis*, 442: 66-73.
- Kirk, O., Borchert, T.V., Fuglsang, C.C. (2002). Industrial enzyme applications. *Current opinion in biotechnology*, 13(4): 345-351.
- Kofod, L.V., Kauppinen, S., Christgau, S., Andersen, L.N., Heldt-Hansen, H.P., Dörreich, K., Dalbøge, H. (1994). Cloning and characterization of two structurally and functionally divergent rhamnogalacturonases from *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Biological Chemistry*, 269(46): 29182-29189.

- Kovalevsky, A.Y., Hanson, L., Fisher, S.Z., Mustyakimov, M., Mason, S.A., Forsyth, V.T., Blakeley, M.P., Keen, D.A., Wagner, T., Carrell, H.L., Katz, A.K., Glusker, J.P., Langan, P. (2010). Metal Ion Roles and the Movement of Hydrogen During Reaction Catalyzed by D-xylose Isomerase: A Joint X-ray and Neutron Diffraction Study. *Structure*, 18: 688-699.
- Kshirsagar, S.D., Saratale, G.D., Saratale, R.G., Govindwar, S.P., Oh, M.K. (2016). An isolated Amycolatopsis sp. GDS for cellulase and xylanase production using agricultural waste biomass. *Journal of applied microbiology*, 120(1): 112-125. doi:10.1111/jam.12988
- Kuddus, M. (2018). *Enzymes in Food Technology*. Springer, ISBN 978-981-13-1932-7, ISBN 978-981-13-1933-4 (eBook), <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1933-4>
- Kuhad, R.C., Gupta, R., Singh, A. (2011). Microbial cellulases and their industrial applications. *Enzyme research*, 2011. doi:10.4061/2011/280696
- Kumar, S., Sharma, H.K. (2015). Enzymatic degumming of pineapple (*Ananas comosus*) mill juice using crude and commercial enzymes. *Food Measure*, 9: 414-425.
- Kumar, V.A., Kurup, R.S.C., Snishamol, C., Prabhu, G.N. (2019). Role of cellulases in food, feed, and beverage industries. *Green Bioprocesses*, 323-343.
- Kuwahara, M., Glenn, J.K., Morgan, M.A., Gold, M.H. (1984). Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS letters*, 169(2): 247-250.
- Labat, E., Morel, M.H., Rouau, X. (2001). Effect of laccase and manganese peroxidase on wheat gluten and pentonans during mixing. *Food Hydrocoll*, 15: 47-52.
- Leilei, Z., Mingxin, H., Suiyi, Z. (2012). Enzymatic remediation of the polluted crude oil by *Rhodococcus*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(7): 1540-1547.
- Li, D., Li, N., Ma, B., Mayfield, M.B., Gold, M.H. (1999). Characterization of genes encoding two manganese peroxidases from the lignin-degrading fungus *Dichomitus squalens*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1434(2): 356-364.

- Li, W., Palčeková, Z., Zou, L., Lowary, T.L., McNeil, M.R., Jackson, M. (2019). Cloning and Partial Characterization of an Endo- α -(1 \rightarrow 6)-d-Mannanase Gene from *Bacillus circulans*. *International journal of molecular sciences*, 20(24): 6244.
- Li, Y.T. (1966). Presence of α -d-Mannosidic Linkage in Glycoproteins liberation of d-mannose from various glycoproteins by α -mannosidase isolated from jack bean meal. *Journal of Biological Chemistry*, 241(4): 1010-1012.
- Liu, S. (2020). Enzymes. *Bioprocess Engineering*, 229-290.
- Lobos, S., Larraín, J., Salas, L., Cullen, D., Vicuña, R. (1994). Isoenzymes of manganese-dependent peroxidase and laccase produced by the lignin-degrading basidiomycete *Ceriporiopsis subvermispora*. *Microbiology*, 140(10): 2691-2698.
- Lowe, J.B., Marth, J.D. (2003). A genetic approach to mammalian glycan function. *Annual review of biochemistry*, 72(1): 643-691.
- Mahajan, P.V., Caleb, O.J., Singh, Z., Watkins, C.B., Geyer, M. (2014). Postharvest treatments of fresh produce. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 372(2017): 20130309.
- Martínez, A.T. (2002). Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. *Enzyme and microbial technology*, 30(4): 425-444.
- McSweeney, P.L.H. (2016). Enzymes exogenous to milk in dairy technology: catalase, glucose oxidase, glucose isomerase and hexose oxidase.
- Medina-Gonzalez, Y., Camy, S., Condoret, J.S. (2012). Cellulosic materials as biopolymers and supercritical CO₂ as a green process: chemistry and applications. *International Journal of Sustainable Engineering*, 5(1): 47-65.
- Minussi, R.C., Pastore, G.M., Durán, N. (2002). Potential applications of laccase in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.*, 13: 205-216.
- Miyazaki, C., Takahashi, H. (2001). Engineering of the H₂O₂-binding pocket region of a recombinant manganese peroxidase to be resistant to H₂O₂. *FEBS letters*, 509(1): 111-114.
- Moelans, D., Cool, P., Baeyens, J., Vansant, E.F. (2005). Using mesoporous silica materials to immobilise biocatalysis-enzymes. *Catalysis Communications*, 6(4): 307-311.
- Mohamad, N.R., Marzuki, N.H.C., Buang, N.A., Huyop, F., Wahab, R.A. (2015). An overview of technologies for immobilization of enzymes

- and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(2): 205-220.
- Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current opinion in plant biology*, 11(3): 266-277.
- Morana, A., Maurelli, L., Ionata, E., La Cara, F., Rossi, M. (2011). Cellulases from fungi and bacteria and their biotechnological applications. *Cellulase: Types and Action, Mechanisms and Uses*. New York (US): Nova Science Publisher, Inc.. pp. 1e79.
- Murad, H.A., Azzaz, H.H. (2011). Microbial pectinases and ruminant nutrition. *Research Journal of Microbiology*, 6(3): 246-269.
- Mussatto, S.I., Fernandes, M., Mancilha, I.M., Roberto, I.C. (2008). Effects of medium supplementation and pH control on lactic acid production from brewer's spent grain. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3): 437-444.
- Mutter, M., Colquhoun, I.J., Schols, H.A., Beldman, G., Voragen, A.G. (1996). Rhamnogalacturonase B from *Aspergillus aculeatus* is a rhamnogalacturonan [alpha]-l-rhamnopyranosyl-(1-> 4)-[alpha]-d-galactopyranosyluronide lyase. *Plant physiology*, 110(1): 73-77.
- Nadaroğlu, H., Taşkın, E., Adıgüzel, A., Güllüce, M., Demir, N. (2010). Production of a novel pectin lyase from *Bacillus pumilus* (P9), purification and characterization and fruit juice application. *Rom Biotech Lett*, 15(2): 5167-5176.
- Nakajima, T., Maitra, S.K., Ballou, C.E. (1976). An endo-alpha1 leads to 6-D-mannanase from a soil bacterium. Purification, properties, and mode of action. *Journal of Biological Chemistry*, 251(1): 174-181.
- Neifar, S., Cervantes, F.V., Bouanane-Darenfed, A., BenHlima, H., Ballesteros, A.O., Plou, F. J., Bejar, S. (2020). Immobilization of the glucose isomerase from *Caldicoprobacter algeriensis* on Sepabeads EC-HA and its efficient application in continuous High Fructose Syrup production using packed bed reactor. *Food chemistry*, 309: 125710.
- Nie, K., Wang, M., Zhang, X., Hu, W., Liu, L., Wang, F., Deng, L., Tan, T. (2015). Additives improve the enzymatic synthesis of biodiesel from waste oil in a solvent free system. *Fuel*, 146: 13-19.
- Ogbolosingha, A.J., Essien, E., Ohiri, R.C. (2015). Variation of lipase, catalase and dehydrogenase activities during bioremediation of crude oil polluted soil. *Journal of Environmental and Health Science*, 5(14): 128-141.

- Oliveira, D.S., Telis-Romero, J., Da-Silva, R., Franco, C.M.L. (2014). Effect of a *Thermoascus aurantiacus* thermostable enzyme cocktail on wheat bread quality. *Food Chem* 143:139-146.
- Paar, A., Costa, S., Tzanov, T., Gudelj, M., Robra, K.H., Cavaco-Paulo, A., Gübitz, G.M. (2001). Thermo-alkali-stable catalases from newly isolated *Bacillus* sp. for the treatment and recycling of textile bleaching effluents. *Journal of biotechnology*, 89(2-3): 147-153.
- Pandey, P., Pandey, A.K. (2002). Production of cellulase-free thermostable xylanases by an isolated strain of *Aspergillus niger* PPI, utilizing various lignocellulosic wastes”, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 18: 281-283.
- Parpinello, G.P., Chinnici, F., Versari, A., Riponi, C. (2002). Preliminary study on glucose oxidase-catalase enzyme system to control the browning of apple and pear purées. *Lwt-Food Science and Technology*, 35(3): 239-243.
- Pech-Canul, A.D.L.C., Carrillo-Campos, J., Ballinas-Casarrubias, M.D.L., Solis-Oviedo, R.L., Hernández-Rascón, S.K., Hernández-Ochoa, L.R., Gutiérrez-Méndez, N., García-Triana, A. (2020). Functional Expression and One-Step Protein Purification of Manganese Peroxidase 1 (rMnP1) from *Phanerochaete chrysosporium* Using the *E. coli*-Expression System. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2): 416.
- Pereira, M.G., Facchini, F.D.A., Filo, L.E.C., Polizeli, A.M., Vici, A.C., Jorge, J.A., Fernandez-Lorente, G., Pessela, B.C., Guisan, J.M. (2015). Immobilized lipase from *Hypocrea pseudokoningii* on hydrophobic and ionic supports: Determination of thermal and organic solvent stabilities for applications in the oleochemical industry. *Process Biochemistry*, 50(4): 561-570.
- Prasert, P., H, Kittikul, A., Kunghae, A., Maneesri, J., Oi, S. (1997). Optimization for xylanase and cellulase production from *Aspergillus niger* ATTC 6275 in palm oil mill wastes and its application”, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 13: 555-559.
- Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., Deshpande, V.V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(3): 597-635.
- Rastall, R. (Ed.). (2007). *Novel enzyme technology for food applications*. Published in North America by CRC press LLC, 6000 Broken Sound Parkway, NW, suite 300, Boca Raton, FL 33487, USA.

- Reading, N.S., Aust, S.D. (2000). Engineering a disulfide bond in recombinant manganese peroxidase results in increased thermostability. *Biotechnology progress*, 16(3): 326-333.
- Sağlam, N. (1990). Şeker şuruplarının mikropsal üretimi:II. glikoz izomeraz üretimi üzerine çalışmalar. Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 5(5)Retrieved from
- Saraçoğlu, Z.N. (2010). Cellulase-free alkaline xylanase enzim üreticisi *Bacillus* sp. suşlarının izolasyonu, enzim üretimi, karakterizasyonu ve biyoteknolojik kullanım olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. 89 s.
- Schols, H.A., Geraeds, C.C., Searle-van Leeuwen, M.F., Kormelink, F.J., Voragen, A.G. (1990). Rhamnogalacturonase: a novel enzyme that degrades the hairy regions of pectins. *Carbohydrate Research*, 206(1): 105-115.
- Selinheimo, E., Kruus, K., Buchert, J., Hopia, A., Autio, K. (2006). Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. *J Cereal Sci.*, 43: 152-159.
- Serne, M.F., Ralton, J.E., Nero, T.L., Sobala, L.F., Kloehn, J., Vieira-Lara, M.A., Cobbold, S.A., LaurenStanton Douglas, L.S., EricHansen, E.V.P., Males, A., Ward, T., Bastidas, L.M., van der Peet, P.L., Parker, M.W., Ascher, D.B., Williams, S.J., Davies, G.J., Males, A. (2019). A family of dual-activity glycosyltransferase-phosphorylases mediates mannogen turnover and virulence in *Leishmania* parasites. *Cell Host & Microbe*, 26(3): 385-399.
- Si JQ. Use of laccases in baking. *Int Pat Appl* WO9428728.1993.
- Singh, B. (2019). Production, characteristics, and biotechnological applications of microbial xylanases. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(21-22): 8763-8784. doi.org/10.1007/s00253-019-10108-6
- Singh, G., Bhalla, A., Kaur, P., Capalash, N., Sharma, P. (2011). Laccase from prokaryotes: a new source for an old enzyme. *Reviews in Environmental Science and Bio/technology*, 10(4), 309-326.
- Singh, J., Singh, M.K., Kumar, M., Thakur, I.S. (2015). Immobilized lipase from *Schizophyllum commune* ISTL04 for the production of fatty acids methyl esters from cyanobacterial oil. *Bioresource Technology*, 188: 214-218.

- Singh, S., Madlala, A.M. Prior, B.A. (2003). *Thermomyces lanuginosus*: Properties of strains and their hemicellulases, *FEMS Microbiology Reviews*, 27: 3-16.
- Singh, T.A., Jajoo, A., Bhasin, S. (2020). Optimization of various encapsulation systems for efficient immobilization of actinobacterial glucose isomerase. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29: 101766.
- Sipos, B., Benkő, Z., Dienes, D., Réczey, K., Viikari, L., Siika-Aho, M. (2010). Characterisation of specific activities and hydrolytic properties of cell-wall-degrading enzymes produced by *Trichoderma reesei* Rut C30 on different carbon sources. *Applied biochemistry and biotechnology*, 161(1-8): 347-364. DOI 10.1007/s12010-009-8824-4
- Srivastava, P.K., Kapoor, M. (2017). Production, properties, and applications of endo- β -mannanases. *Biotechnology advances*, 35(1): 1-19.
- Sun, F.F., Hong, J., Hu, J., Saddler, J.N., Fang, X., Zhang, Z., Shen, S. (2015). Accessory enzymes influence cellulase hydrolysis of the model substrate and the realistic lignocellulosic biomass. *Enzyme and microbial technology*, 79: 42-48.
- Sutay Kocabaş, D. (2021). Gıda endüstrisinde enzimlerin rolü ve ilgili yasal düzenlemeler. Ögel ZB, editör. *Gıda Biyoteknolojisi*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 29-38.
- Sutton, N.B., Grotenhuis, J.T.C., Langenhoff, A.A., Rijnaarts, H.H. (2011). Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. *Journal of Soils and Sediments*, 11(1): 129-140.
- Suykerbuyk, M.E.G., Schaap, P.J., Stam, H., Musters, W., Visser, J. (1995). Cloning, sequence and expression of the gene coding for rhamnogalacturonase of *Aspergillus aculeatus*; a novel pectinolytic enzyme. *Applied microbiology and biotechnology*, 43(5): 861-870.
- Swain, M.R., Ray, R.C. (2010). Production, characterization and application of a thermostable exo-polygalacturonase by *Bacillus subtilis* CM5. *Food Biotechnol.*, 24: 37-50.
- Tatar, F., Tunç, M.T., Dervisoglu, M., Cekmecelioglu, D., Kahyaoglu, T. (2014). Evaluation of hemicellulose as a coating material with gum arabic for food microencapsulation. *Food research international*, 57: 168-175.
- Tello, M., Corsini, G., Larrondo, L. F., Salas, L., Lobos, S., Vicuña, R. (2000). Characterization of three new manganese peroxidase genes

- from the ligninolytic basidiomycete *Ceriporiopsis subvermispora*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1490(1-2): 137-144.
- Thomas, L., Parameswaran, B., Pandey, A. (2016). Hydrolysis of pretreated rice straw by an enzyme cocktail comprising acidic xylanase from *Aspergillus* sp. for bioethanol production. *Renewable Energy*, 98: 9-15.
- Uzuner, S, Cekmecelioglu, D. (2015). Optimizing clarification of carrot juice by bacterial crude pectinase. *Int J Food Sci Technol*, 50: 2707-2712.
- Uzuner, S., Çekmecelioglu, D. (2016). Gıda atıklarının pektinaz enzimi üretiminde kullanımı. *Gıda*, 41(4): 259-266.
- Wang, H., Zhai, L., Geng, A. (2020). Enhanced cellulase and reducing sugar production by a new mutant strain *Trichoderma harzianum* EUA20. *Journal of bioscience and bioengineering*, 129(2): 242-249.
- Wang, L.Y., Gu, Y.H., Zhou, Q.Z., Ma, G.H., Wan, Y.H., Su, Z.G. (2006). Preparation and characterization of uniform-sized chitosan microspheres containing insulin by membrane emulsification and a two-step solidification process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 50(2): 126-135.
- Wang, Q., Liu, S., Yang, G., Chen, J., Ji, X., Ni, Y. (2016). Recycling cellulase towards industrial application of enzyme treatment on hardwood kraft-based dissolving pulp. *Bioresource Technology*, 212: 160-163.
- Wariishi, H., Valli, K., Gold, M.H. (1992). Manganese (II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. Kinetic mechanism and role of chelators. *Journal of Biological Chemistry*, 267(33): 23688-23695.
- White, J.S. (2014). Sucrose, HFCS, and fructose: history, manufacture, composition, applications, and production. In: *Fructose, high fructose corn syrup, sucrose and health*, 13-33. Humana Press, New York, NY.
- Xu, J., Sheng, Z., Wang, X., Liu, X., Xia, J., Xiong, P., He, B. (2016). Enhancement in ionic liquid tolerance of cellulase immobilized on PEGylated graphene oxide nanosheets: application in saccharification of lignocellulose. *Bioresource Technology*, 200: 1060-1064.
- Yadav, S., Yadav, P.K., Dinesh, Y., Yadav, K.D.S. (2009). Pectin lyase: a review. *Process Biochemistry*, 44(1): 1-10.
- Yeğın, S., Büyükkilleci, A.O. (2015). Mikrobiyal ksilanazlar ve gıda endüstrisinde kullanım alanları. *Akademik Gıda*, 13(4): 317-326.

- Yu, H., Guo, Y., Wu, D., Zhan, W., Lu, G. (2011). Immobilization of glucose isomerase onto GAMM support for isomerization of glucose to fructose. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 72(1-2): 73-76.
- Yu, L., Lyczakowski, J.J., Pereira, C.S., Kotake, T., Yu, X., Li, A., Mogelsvang, S., Skaf, M.S., Dupree, P. (2018). The patterned structure of galactoglucomannan suggests it may bind to cellulose in seed mucilage. *Plant Physiology*, 178(3): 1011-1026.
- Yücel, U., Öngen, G., Güngör, G. (2006). Eko-teknolojik yaklaşım ile gıda sanayi atıklarında enzim uygulamaları. *Akademik Gıda*, 4(2): 6-10.
- Zhang, D., Spadaro, D., Valente, S., Garibaldi, A., Gullino, M.L. (2012). Cloning, characterization, expression and antifungal activity of an alkaline serine protease of *Aureobasidium pullulans* PL5 involved in the biological control of postharvest pathogens. *International journal of food microbiology*, 153(3): 453-46
- Zhang, H., Zhang, J., Zhang, X., Geng, A. (2018). Purification and characterization of a novel manganese peroxidase from white-rot fungus *Cerrena unicolor* BBP6 and its application in dye decolorization and denim bleaching. *Process Biochemistry*, 66: 222-229.
- Zhang, H., Zhang, S., He, F., Qin, X., Zhang, X., Yang, Y. (2016). Characterization of a manganese peroxidase from white-rot fungus *Trametes* sp. 48424 with strong ability of degrading different types of dyes and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Hazardous Materials*, 320: 265-277.

BÖLÜM 11

HÜCRE ÖLÜM ŞEKİLLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Gül GÖRMEZ¹

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Van, Türkiye. gulgormez@hotmail.com <https://orcid.org/0000-0001-6980-4988>

GİRİŞ

Çok hücreli organizmalarda hücreler, genetik kodlarında kayıtlı olan bölünme, farklılaşma ve ölüm gibi işlemleri gerçekleştirirken bir yandan da varlıkları için gerekli olan dengeyi sağlamaya çalışırlar. Organizmaların sürekliliğini sağlayan fizyolojik süreçlerin kusursuz işleyebilmesi için her gün milyarlarca hücre ölürken, kalıntıları da fagositler tarafından temizlenir. Normal şartlar altında, hücre ölümü ve temizlenmesi sorunsuz bir şekilde gerçekleşirken, doku hasarı, enfeksiyon ve kronik iltihaplanma gibi durumlarda çok sayıda hücrenin aniden ölmesi ve dokular arası boşlukta birikmesi bu sistemi sekteye uğratmaktadır (Bertheloot ve ark., 2021). Kontrollü hücre ölümünün en iyi karakterize edilmiş ve yaygın biçimi, Yunanca'da ağaçtan düşen yapraklardaki gibi 'düşme' anlamına gelen 'apoptosis' olarak adlandırılırken, kontrolsüz hücre ölümü biçimi genellikle Yunanca'da 'nekroz' olarak adlandırılır. Hücre ölümünün gerçekleştiğini söyleyebilmek için; hücre canlılık testlerinde plazma zarının bütünlüğünü kaybetmesi, çekirdek de dahil olmak üzere fragmentlere bölünmesi ve yakındaki hücreler tarafından fagosite edilmesi gibi bazı morfolojik ve moleküler belirteçlerin olması gerekir (Pardee ve ark., 1974). Hücre ölümü, yok olma gibi görünse de bazı durumlarda organizmanın bütünlüğünün sağlıklı bir şekilde devam etmesi ve korunması için gereklidir. Hücre ölüm yolakları üzerine yapılan çalışmalar arttıkça, sistemin oldukça karmaşık ve içi içe geçmiş mekanizmalardan oluştuğu anlaşılmaktadır.

Hücre ölüm mekanizmasının anlaşılması, kanser başta olmak üzere nörodejeneratif, kronik ve otoimmün hastalıkların tedavisinde önemli rol oynayacaktır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ya bağlı Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), 2020 yılında dünya çapında yaklaşık 19,3 milyon kişiye kanser teşhisi konulduğunu ve her 6 ölümden 1'inin (yaklaşık 10,3 milyon) kanser nedeniyle olduğunu bildirmektedir. Son yıllarda hem yeni sentezlenen kimyasal moleküllerin (Gümüş ve ark., 2018) hem de tıbbi bitki etken maddelerinin (Yüksek ve ark., 2017) hücre ölüm mekanizmaları üzerindeki etkileri konusunda önemli çalışmalar yapılmaktadır. Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi tarafından 2018 yılında hücre ölüm şekilleri açıklanmıştır (Galuzzi, 2018). Hücre ölümü, kendiliğinden veya genetik ve başka faktörlerin etkisiyle gerçekleşmesi açısından programlı ve programlanmamış hücre ölümü olmak üzere iki önemli başlık altında incelenebilir (Gao ve ark., 2022).

1.PROGRAMLI HÜCRE ÖLÜMÜ

Programlı hücre ölümünün en önemli özelliği birbiriyle ilişkili şekilde ilerleyen bir dizi sinyal iletim mekanizmalarına sahip olmasıdır. Programlı hücre ölümünde zar bütünlüğü korunurken kaspaz bağımlılığı söz konusuysa apoptotik hücre ölümünden söz edilebilir. Kaspazlara bağımlılığın olmadığı ve özellikle hücre zarının parçalandığı durumlarda ise apoptotik olmayan hücre ölümü söz konusudur. Programlı hücre ölümü Apoptotik (intrinsik ve ekstrinsik apoptoz), Apoptotik olmayan (otofaji, entoz, mitoptoz, ferroptoz piroptoz ve nekroptoz) olarak sınıflandırılabilir (Tablo 1). Nekroz ise programlı olmayan hücre bölünmesi başlığı altında incelenebilir (Galuzzi ve ark, 2018; Yan ve ark, 2020). Apoptoz, nekroz ve otofaji gibi hücre ölüm modları, enfarktüs, diyabetik kardiyomiyopati, iskemik kardiyomiyosit, konjestif kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıkları etkilediği bildirilmiştir (Lee, 2009; Lee, 2009). Ferroptoz, piroptoz ve partanatos iskemide etkili olurken, apoptoz ve sekonder nekroz ise sistemik otoimmün hastalıklarda ana ölüm şekilleridir (Del ve ark, 2019).

1.1.Apoptoz

Apoptoz, bir hücrenin büyüme ve bölünmeyi durdurarak, içeriğini kendini çevreleyen ortama bırakmadan, kontrollü şekilde ölmesiyle sonuçlanan bir süreçtir. Apoptoz, gerek embriyolojik süreçte gerekse doğum sonrasında mitotik döngü ve doku yenilenmesi için gerekli bir mekanizmadır. Kaspazlara bağlı temel düzenleyici mekanizmalar, embriyonik hücrelerin gelişimi esnasında, apoptozu yöneterek önemli rol oynar (Kaiser ve ark, 2014). Apoptoz, aynı zamanda DNA hasarlı hücreleri ortadan kaldıran ve enfeksiyonlara karşı savaşan önemli bir bağışıklık sistemi aracıdır. Apoptoz, metastaz yeteneği kazanabilecek sorunlu hücreleri ortadan kaldırdığı için kansere karşı en etkili silah olmasına rağmen, genetik programlamaya uygun olarak gerçekleşmediğinde kansere ve diğer genetik ve immünolojik hastalıklara yol açabilir.

Apoptozda membran dışı doğru kabarcık oluştururken, sitoplazma büzüşür, organeller kaybolmaya başlar ve DNA yoğunlaşarak parçalara ayrışır. Apoptozun gerçekleşmesi için ya mitokondri merkezli mekanizma (intrinsik), ya da hücreyi dışardan etkileyen (ekstrinsik) reseptörlerin harekete geçmesi gerekir (Elmore, 2007). İntrinsik apoptoz, mitokondriyal apoptoz olarak da adlandırılırken, ekstrinsik apoptoz ölüm reseptörü yolu olarak adlandırılır (D'Arcy, 2019). Reaktif oksijen türlerinin hücre içinde yoğunlaşması sonucu, DNA replikasyonu esnasında oluşan stres ve hasar,

mitoz esnasında istenmeyen kusurlar, endoplazmik retikulum ve mikrotübüllerde meydana gelen değişiklikler intrinsik apoptozun en önemli nedenleridir (Brumatti, 2010; Czabotar ve ark,2014). İntrinsik apoptoz mitokondriyal proteinler ve HtrA serin peptidaz 2'nin salınması ve başlatıcı kaspaz 9'un aktivasyonu ile tetiklenir (Chipuk ve ark, 2006). Bu esnada mitokondriyal dış zar geçirgenliği kaybolur. Mitokondri dış zar geçirgenliği, Bcl2 grubu proteinler (apoptozu indükleyen BAX, BAK ve apoptozu engelleyen Bclxl, Bcl2l) tarafından kontrol edilirken (Singh, 2019), hücre içi yapıların parçalanmasında Kaspaz 3, 6ve 7 önemli rol oynar (McIlwain, 2015). Bax ve Bak proteinleri memeli mitokondri dış zarında por oluşturma özellikleri nedeniyle apoptozu indükleyen proteinler olarak tanımlanır (Moldoveanu, 2014). Özellikle Bax proteinlerinin sayısına göre mitokondri membranında oluşan porların boyutu değişiklik gösterir (Gillies, 2015). Bcl2 ailesine ait Bclxl ve Bad proteinleri ise mitokondri membranında Bax ve Bak proteinlerine bağlanarak yapılarının değişmesine ve dolayısıyla intrinsik apoptoz için gerekli por oluşumunun önlenmesine neden olurlar (Llambi ve ark, 2011). Bak ve Bax proteinleri ayrıca, retikular stres esnasında endoplazmik retikulum membran geçirgenliğini aktive ederek, endoplazmik retikulum ile mitokondri arasında Ca^{+2} iyon transferini aktive ederek, mitokondri kökenli intrinsik apoptozu aktive eder (Bassoy ve ark, 2017). Mitokondri zar geçirgenliği dolaylı olarak, sitokrom c gibi mitokondri solunum zincirinde elektron transferini düzenleyen proteinlerin sitozole geçmesini tetikler. Sitokrom c sitozole geçince apoptotik peptidaz aktive edici faktöre ve prokaspaz 9'a bağlanarak, kaspaz 9'u aktive edilecek olan apoptozu oluşturur ((Li ve ark, 2000)). Aktifleşen kaspaz 9 ise kaspaz3 ve kaspaz 7'yi aktive ederek intrinsik apoptozun gerçekleşmesini sağlar (Julien,2017).

Ölüm reseptörleri olarak da bilinen membran reseptörleri (FAS ve TNF) ve başlatıcı kaspazlar (kaspaz 8 ve kaspaz 10) ekstrinsik apoptozda önemli rol oynar (Schulze-Osthoff, 1998). Plazma zar reseptörleri hücre dışında sorunlar tespit ettiği zaman kaspaz 8 tarafından indüklenen ve kaspaz 3 tarafından işlevselleştirilen ekstrinsik apoptozla hücreyi programlı ölüme götürür. Hücre hasarı tespit edildiğinde, öncü kaspazlar işlevsel olmayan prokaspazların aktivasyonundan sorumludur. Makrofajların ürettiği ölüm ligandları hedef hücre zarlarında ölüm reseptörlerine bağlanınca kaspaz 8 aktive edilerek ekstrinsik apoptozu başlatır. Uygulayıcı kaspazlarının aktivasyonu, endonükleazların aktivasyonundan DNA parçalanmasına, çekirdek proteinlerinin ve hücre membranının deformasyonuna, proteinlerin

çapraz bağlanmasına, fagositik hücreler için ligandların ekspresyonuna ve apoptotik cisimlerin oluşumuna neden olan bir dizi olayı başlatır (D'Arcy, 2019).

1.2. Otofaji

Hücrenin yoğun stres yaşadığı durumlarda hücre otofaji yaparak organizmayı koruma altına alır. Otofaji esnasında Kalıtım materyali dağımaktır, organeller parçalanır, hücre içinde büyük vesikül oluşumu gözlenir, hücre zarı şişer. Özellikle lizin, fenilalanin, glutamin, arjinin, glisin amino asitlerini içeren proteinler ve hücre komponentleri asidik hidrolaz enzimleri içeren lizozomlara alınarak, hücreye zarar vermeyecek şekilde parçalanır. Parçalanmış komponentler, hücreye zarar vermeyecek şekilde yeni hücre yapısı oluşturmak için geri dönüştürülebildiği gibi enerji kaynağı olarak da kullanılır (Mizushima, 2018). Otofajinin çeşitli yöntemlerle durdurulmaya çalışılması, genellikle strese yanıt veren hücrelerin ölümünü (geciktirmekten ziyade) hızlandırarak, otofajide kalıcı veya geçici endojen kusurlara (embriyonik ölümler ve gelişimsel defektler, kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif bozukluklara) neden olur (Menzies ve ark, 2015; Galuzzi ve ark, 2017).

1.3. Entoz

Entoz, hücre içinde hücre olarak tanımlanabilir. Entozis integrin tarafından tetiklenmektedir. Entotik hücre ve konakçı hücrenin, bağlantı arayüzleriyle birbirleriyle etkileşime geçmesi sonucu bağlantı arayüzünün karşısındaki hücre korteksinde biriken aktin ve miyozin, entoz oluşumunu yönlendiren dengesiz kasılma kuvvetini üretir (White, 2007; Ishikawa, 2015).

1.4. Mitoptoz

Mitofajiden (mitokondrinin otofajik bozunması) farklı olarak, mitokondriyal intihar olarak da bilinen mitoptoz, adenosin trifosfat (ATP) kaynağının eşzamanlı olarak bozulmasıyla birlikte mitokondrinin programlanmış bir bölünmesi ve füzyonu sürecini temsil eder. Sonuç olarak, mitoptoz hem apoptoz (Lyamzaev ve ark, 2008) hem de otofaji (Jangamreddy ve ark, 2012) ile ilişkilendirilebilir. Bozulmuş mitokondri, hücreden ekstrüde edilen ya otofagozomlar ya da mitoptotik cisimler haline gelir. Bu anlamda mitoptozun kendisi bir hücre ölüm yolu değil, mitokondriyal bir ölüm yoludur. Bununla birlikte, yüksek fisyon yoluyla kapsamlı mitokondriyal parçalanma, sonunda hücre ölümüne yol açar.

1.5. Ferroptoz

Ferroptoz, bozulmamış ve balonlaşmamış hücre zarı, kromatin yoğunlaşmasının olmadığı normal boyutlu çekirdek ile normal bir morfoloji gösterse de gerçekte azalmış krista ve çökmüş zarlara sahip, küçülmüş mitokondrilerle tanımlanır (Latunde-Dada, 2017). Ferroptoz inhibitörlerinin ortama verilmesi ve lipid peroksit miktarlarının ölçülmesiyle ferroptoz indüksiyonu tepit edilebilir.

1.6. Piroptoz

Piroptoz, bağışıklık hücrelerinde hücre içi patojenlere karşı savaşan, programlanmış hücre ölümünün enflamatuvar bir şeklidir. Enfekte makrofajların enflamasyon sensörleri patojenlerin flagellin bileşenlerini tanır ve kaspaz 1'i aktive edecek protein kompleksi enflamazomları oluşturur (Bergsbaken ve ark.2009). Aktifleşen kaspaz-1, gasdermin D'nin parçalanmasıyla zar gözenek oluşumuna aracılık ederek hücrenin yırtılmasına izin verir. Bu esnada DNA yoğunlaşır ve fragmanlara ayrışır (Liu ve ark, 2016).

1.7. Nekroptoz

Nekroptoz, spesifik ölüm reseptörleri tarafından hücre içi veya hücre dışı ortamda olağandışılık tespit edildiği zaman gerçekleşen programlı bir hücre ölüm şeklidir (Vanlangenakker ve ark, 2012). Nekroptozis, çok sayıda sinyal yolağı aracılığıyla reseptör etkileşimli protein kinaz aktivasyonu ile karakterize programlı nekrozdur. Reseptör etkileşimli protein kinazlar, çeşitli hücre yüzey reseptörlerinden makro moleküllere aktive edilerek nekrozomun anahtar bileşenlerini (RIPK1 and RIPK3) oluştururlar (He ve ark, 2009). Nekroptozisde, zar yırtılması ve organel kaybıyla nekrozdaki morfolojik yapıyı ortaya çıkarır. Nekroptozun, lösemi ve kolorektal kanserde tümör hücresi apoptozu bozulduğunda tümör baskılayıcı rol oynayan bir savunma mekanizması olarak hareket ettiği de bildirilmiştir (Feng ve ark, 2015; Höckendorf ve ark, 2016). Bu nedenle, apoptotik olmayan Programlanmış Hücre Ölümü'nü hedeflemek, antitümör tedavisi alanında çok dikkat çekmiştir.

2. PROGRAMSIZ (KONTROLSÜZ) HÜCRE ÖLÜMÜ

Hücre hasarının beklenmedik şekilde meydana geldiği durumlarda programlanmamış hücre ölümü gerçekleşir. Bu durumda plazma zarının parçalanmasına neden olacak, yoğun fiziksel ve kimyasal etkenler nedeniyle hücre, aniden ve kontrol edilemeyecek şekilde kontrolsüz ölüme gider.

2.1. Nekroz

Bir tür programlanmamış veya kontrolsüz hücre ölümü olan nekroz, enfeksiyonlar, fiziksel yaralanmalar, toksinler ve hücre zarının şişip parçalanmasına neden olan hücre iyon dengesizliği gibi bir takım dış faktör tarafından indüklenir (Won, 2002). Nekroz esnasında genellikle çeşitli proinflamatuvar proteinler ve nükleer faktör gibi bileşiklerin işlevsel olması hücre zarının yırtılarak hücre içeriğinin çevredeki alanlara dökülmesine ve enflamasyon ve doku hasarına neden olur. Apoptozun aksine nekroz, hücrenin ani bir şok (radyasyon, ısı, kimyasallar, hipoksi, vb.) ile işlev göremeyecek kadar ciddi şekilde hasar gördüğü, enerjiden bağımsız bir hücre ölümü şeklindedir.

Tablo 1. Hücre ölüm şekilleri ve morfolojik belirteçleri

Meydana geliş şekli	Hücre ölüm modeli		Hücrede meydana getirdiği değişiklikler
Programlanmış hücre Ölümü-	Apoptotik	Apoptoz (İntrinsic A., Extrinsic A.)	Hücre sitoplazması büzülür; hücre zarı şişer; sitoplazmada organeller konumlarını kaybeder; DNA yoğun.
	Apoptotik olmayan	Otofaji	Büyük hücre içi veziküllerin oluşması; zar kabarması; büyümüş organeller; sitoplazmik organellerin parçalanması
		Entozis	Hücre içinde hücre oluşumu
		Mitoptoz	Mitokondri kaybolması; mitokondriyal retikulumun küçük küresel organellere ayrışması
		Ferroptoz	Çökmüş ve yırtılmış membran, azalan krista ile küçülmüş mitokondri
		Piroptoz	Hücre şişmesi; zar yırtılması; DNA yoğunlaşması ve parçalanması
		Nekroptozis	Hücre şişer; membran yırtılır; organeller kaybolur; mitokondri şişer
Programlı olmayan	Nekroz		Hücre şişmesi; zar yırtılması; organel kaybı

SONUÇ

Her ne kadar hücre ölüm şekilleri belli başlıklar altında sınıflandırılrsa da, anahtar molekülleri ve morfolojik belirteçleri nedeniyle, keskin sınırlarla birbirinden ayıramamaktadır. Hücre ölümlerinin genelinde görülen zar yırtılması sonucunda bazı yangı moleküllerinin salınması piroptoz, nekroz ve nekroptozda gözlemlendiği gibi inflamasyona yol açabilir. Apoptotik hücreler hızla fagosite edilmeleri nedeniyle inflamasyona yol açmasalar da, uygun şekilde yok edilmezlerse ikincil nekroz geliştirebilir. Diğer birçok karmaşık hücreyel yol gibi, hücre ölümünün çeşitli biçimlerinin anormal aktivasyonu nedeniyle patoloji potansiyeli vardır. Bir hücrede ölüm programı zamanından önce başlatılırsa, bir dizi dejeneratif hastalık meydana gelebilir. Kanser ve hücre ölümünün düzenlenmesindeki anormallikler ile karakterize edilen diğer hastalıklar için etkili tedaviler geliştirmek amacıyla, hücrelerin canlılığını kaybedebileceği ve sonunda ölebileceği farklı yolların anlaşılması hedeflenmelidir. Hücre ölüm şekillerinin ve moleküler bağlantılarının etkisinin, bu alanda yapılacak çalışmalarla aydınlatılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Bassoy, E. Y., Kasahara, A., Chiusolo, V., Jacquemin, G., Boydell, E., Zamorano, S., ... & Martinvalet, D. (2017). ER-mitochondria contacts control surface glycan expression and sensitivity to killer lymphocytes in glioma stem-like cells. *The EMBO journal*, 36(11), 1493-1512.
- Bergsbaken, T., Fink, S. L., & Cookson, B. T. (2009). Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nature Reviews Microbiology*, 7(2), 99-109.
- Bertheloot, D., Latz, E. & Franklin, B.S. (2021). Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cell Mol Immunol* **18**, 1106–1121.
- Brumatti, G., Salmanidis, M., & Ekert, P. G. (2010). Crossing paths: interactions between the cell death machinery and growth factor survival signals. *Cellular and molecular life sciences*, 67(10), 1619-1630.
- Chiong M, Wang ZV, Pedrozo Z, Cao DJ, Troncoso R, Ibacache M, Criollo A, Nemchenko A, Hill JA and Lavandero S, (2011), Cardiomyocyte death: Mechanisms and translational implications. *Cell Death Dis* 2: e244
- Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(1), 49-63.
- Chipuk, J. E., Bouchier-Hayes, L., & Green, D. R. (2006). Mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis: the innocent bystander scenario. *Cell Death & Differentiation*, 13(8), 1396-1402.
- D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. (2019) *Cell Biol Int.*;43(6):582-592
- Del Re, D. P., Amgalan, D., Linkermann, A., Liu, Q., & Kitsis, R. N. (2019). Fundamental mechanisms of regulated cell death and implications for heart disease. *Physiological reviews*, 99(4), 1765-1817.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
- Feng, X., Song, Q., Yu, A., Tang, H., Peng, Z., & Wang, X. (2015). Receptor-interacting protein kinase 3 is a predictor of survival and plays a tumor suppressive role in colorectal cancer. *Neoplasma*, 62(4), 592-601.

- Galluzzi, L., Pedro, B. S., Manuel, J., Levine, B., Green, D. R., & Kroemer, G. (2017). Pharmacological modulation of autophagy: therapeutic potential and persisting obstacles. *Nature reviews Drug discovery*, *16*(7), 487-511.
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., ... & Turk, B. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*, *25*(3), 486-541.
- Gao, W., Wang, X., Zhou, Y., Wang, X., & Yu, Y. (2022). Autophagy, ferroptosis, pyroptosis, and necroptosis in tumor immunotherapy. *Signal transduction and targeted therapy*, *7*(1), 1-26.
- Gillies, L. A., Du, H., Peters, B., Knudson, C. M., Newmeyer, D. D., & Kuwana, T. (2015). Visual and functional demonstration of growing Bax-induced pores in mitochondrial outer membranes. *Molecular biology of the cell*, *26*(2), 339-349.
- Gümüş, A., Okumuş, V., & Gümüş, S. (2018). Synthesis of 2-substituted 8-propargyloxyquinoline derivatives and determination of their antioxidant, antibacterial, and DNA binding activities. *Turkish Journal of Chemistry*, *42*(5), 1358-1369.
- Höckendorf, U., Yabal, M., Herold, T., Munkhbaatar, E., Rott, S., Jilg, S., ... & Jost, P. J. (2016). RIPK3 restricts myeloid leukemogenesis by promoting cell death and differentiation of leukemia initiating cells. *Cancer cell*, *30*(1), 75-91.
- He, S., Wang, L., Miao, L., Wang, T., Du, F., Zhao, L., & Wang, X. (2009). Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF- α . *Cell*, *137*(6), 1100-1111.
- Ishikawa, F., Ushida, K., Mori, K., & Shibamura, M. (2015). Loss of anchorage primarily induces non-apoptotic cell death in a human mammary epithelial cell line under atypical focal adhesion kinase signaling. *Cell death & disease*, *6*(1), e1619-e1619.
- Jangamreddy, J. R., & Los, M. J. (2012). Mitoptosis, a novel mitochondrial death mechanism leading predominantly to activation of autophagy. *Hepatitis monthly*, *12*(8).
- Julien, O., & Wells, J. A. (2017). Caspases and their substrates. *Cell Death & Differentiation*, *24*(8), 1380-1389.
- Kaiser, W. J., Daley-Bauer, L. P., Thapa, R. J., Mandal, P., Berger, S. B., Huang, C., ... & Mocarski, E. S. (2014). RIP1 suppresses innate immune necrotic as well as apoptotic cell death during mammalian

- parturition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(21), 7753-7758.
- Latunde-Dada, G. O. (2017). Ferroptosis: role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1861(8), 1893-1900.
- Lee Y and Gustafsson AB. (2009) Role of apoptosis in cardiovascular disease. *Apoptosis* 14: 536-548.
- Li, K., Li, Y., Shelton, J. M., Richardson, J. A., Spencer, E., Chen, Z. J., ... & Williams, R. S. (2000). Cytochrome c deficiency causes embryonic lethality and attenuates stress-induced apoptosis. *Cell*, 101(4), 389-399.
- Liu X, Zhang Z, Ruan J, Pan Y, Magupalli VG, Wu H and Lieberman J: Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature* 535: 153-158, 2016.
- Llambi, F., Moldoveanu, T., Tait, S. W., Bouchier-Hayes, L., Temirov, J., McCormick, L. L., ... & Green, D. R. (2011). A unified model of mammalian BCL-2 protein family interactions at the mitochondria. *Molecular cell*, 44(4), 517-531.
- Lyamzaev, K. G., Nepryakhina, O. K., Saprunova, V. B., Bakeeva, L. E., Pletjushkina, O. Y., Chernyak, B. V., & Skulachev, V. P. (2008). Novel mechanism of elimination of malfunctioning mitochondria (mitoptosis): formation of mitoptotic bodies and extrusion of mitochondrial material from the cell. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-Bioenergetics*, 1777(7-8), 817-825.
- McIlwain, D. R., Berger, T., & Mak, T. W. (2015). Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(4).
- Menzies, F. M., Fleming, A., & Rubinsztein, D. C. (2015). Compromised autophagy and neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 345-357.
- Mizushima, N. (2018). A brief history of autophagy from cell biology to physiology and disease. *Nature cell biology*, 20(5), 521-527.
- Moldoveanu, T., Follis, A. V., Kriwacki, R. W., & Green, D. R. (2014). Many players in BCL-2 family affairs. *Trends in biochemical sciences*, 39(3), 101-111.
- Pardee AB. A restriction point for control of normal animal cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71: 1286-1290.

- Schulze-Osthoff, K., Ferrari, D., Los, M., Wesselborg, S., & Peter, M. E. (1998). Apoptosis signaling by death receptors. *European journal of biochemistry*, 254(3), 439-459.
- Singh, R., Letai, A., & Sarosiek, K. (2019). Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nature reviews Molecular cell biology*, 20(3), 175-193.
- Tang, D., Kang, R., Berghe, T. V., Vandenabeele, P., & Kroemer, G. (2019). The molecular machinery of regulated cell death. *Cell research*, 29(5), 347-364.
- Vanlangenakker, N., Vanden Berghe, T., & Vandenabeele, P. (2012). Many stimuli pull the necrotic trigger, an overview. *Cell Death & Differentiation*, 19(1), 75-86.
- White, E. (2007). Entosis: it's a cell-eat-cell world. *Cell*, 131(5), 840-842.
- Won, S. J., Kim, D. Y., & Gwag, B. J. (2002). Cellular and molecular pathways of ischemic neuronal death. *BMB Reports*, 35(1), 67-86.
- World Health Organization. (2020). WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all.
- Yan, G. E., Elbadawi, M., & Efferth, T. (2020). Multiple cell death modalities and their key features. *World Academy of Sciences Journal*, 2(2), 39-48.
- Yüksek, V., Dede, S., & Taşpınar, M., (2017). The effects of vitamin D onto the expression of caspase enzymes in osteoblastic cell line treated with sodium fluoride (NaF). *Febs journal*, vol.284, 254.

BÖLÜM 12

KUDRET NARI (*Momordica charantia* L.)

VE KULLANIMI

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN¹

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN²

¹ Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Fizyoloji
ABD/Siirt.Türkiye.email:turanakkoyun@hotmail.com, ORCID 1: 0000-0002-4547-8003

² Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya
ABD/Siirt.Türkiye.email:mahireakkoyun@siirt.edu.tr, ORCID 2: 0000-0001-5150-5402

1.KUDRET NARI (*Momordica charantia* L.)

Momordica kelimesi, ısırarak anlamına gelen Latince *Mordeo* kelimesinden türetilmiştir. Tür adı ise antik Yunancada güzel çiçekli anlamına gelir (Megala ve ark., 2019). *Momordica charantia* L., *Cucurbitaceae* familyasının bir üyesidir (Tan ve ark., 2016). Momordica bitki cinsi, tropik ve subtropikal bölgelere dağılmış neredeyse altmış türden oluşan *Cucurbitaceae* familyasına ait küçük bir çalı veya çok yıllık tırmanıcıdır (Poolperm ve Jiraungkoorskul, 2017). *Momordica charantia* L., tropikal bölgelere özgü bir sebzedir (Abd El Sattar ve ark., 2006). En yaygın iki ismi, bitkinin her parçası acı olduğu için acı kavun ve acı kabaktır (Grover ve Yadav, 2004; Aminah ve Anna, 2011). Ayrıca balsam armudu (İngilizce), Karella (Hintçe veya Urduca), Nigauri veya Goya (Japonca), Ku gua (Mandarin), Ko guai (Tayvanca), Kho qua (Vietnamca) gibi dünya çapında farklı isimlerle anılır (Grover ve Yadav, 2004; Jia ve ark., 2017; Habicht ve ark., 2011). *Momordica charantia* Türkiye'de "Kudret Narı" olarak bilinir. Meyveleri dikdörtgen şeklinde, 5-15 cm uzunluğunda, sarkık, olgunlaştığında turuncu renkli, olgunlaşmadığında yeşil veya beyazımsı, meyve eti ayrıldıktan sonra kan kırmızısı veya kırmızıdır (Özbakiş ve ark., 2005).[Şekil 1-a-b-c]. *Momordica charantia*'nın, biri küçük yuvarlak veya oval meyve ve diğeri daha uzun ve salatalık benzeri olan iki çeşidi vardır (Megala ve ark., 2019).



(a)



(b)



Şekil 1. *M. charantia*: (a) Yaprak ve Çiçekleri , (b) Olgunlaşmamış ve (c) olgunlaşmış kudret narı meyvesi (Habicht ve ark., 2011; Özbakiş ve ark., 2005; Kole ve ark., 2020).

Genel de, bitki, tek evcikli, ince, yıllık bir asmadır. Bitki, tipik olarak ısırsık gibi bir görünüm veren tırtıklı kenarlara sahip karakteristik yapraklara sahiptir. Her bitkinin ayrı sarı renkli erkek ve dişi çiçekleri vardır. Farklı acı su kabağı çeşitleri, diskoid veya oval veya elipsoid olmak üzere dikdörtgen ve uca doğru uzayan farklı meyve şekillerine sahiptir (Kole ve ark., 2020; Gayathry ve John, 2022). Sıcak mevsimde, yani Nisan-Temmuz ayları arasında bir çukura tohum ekerek yetiştirilir. Tohumlar yarım metre mesafeye ekilir ve gübre verilir. Sadece bir bitki tutulur ve bitki fideleri haftada bir veya iki kez sulanır. Bitkiler ekimden 30-35 gün sonra çiçek açmaya başlar ve meyveler 15-20 gün çiçek açtıktan sonra hasata hazır hale gelir (Gupta ve ark., 2007). *M. charantia*; alkaloidler, charantin, charine, kriptoksantin, cucurbitins, cucurbitacins, cucurbitanes, sikloartenoller, diosgenin, elaeostearik asitler, eritrodiol, galakturonik asitler, hidroksisinaposidojenin, goyaglyamins, hidroksikositin, guaglyamins, dahil olmak üzere; karounidioller, lanosterol, laurik asit, momordenol, momorcharins, momordicinin, momordicilin, momordicin, momordicosides, momordin, momordolo, nerolik asit, peptidik asit, oleik asit, peptid, oleik asit, petroselinik asit, polipeptitler, proteinler, ribozomu inaktive eden proteinler, rubiksantin, stigmasterol, tarakserol, trehaloz, urasil, v-insülin, verbascoside, vicin zeatin ribozit, zeaksantin, zeinoksantin amino asitler-aspartik asit, pipekolik asit, askorbigen, b-sitosterol-d-glukozit, sitrülin, elasterol, flavokrom, likopen, pipekolik asit gibi kimyasal bileşenleri içerir. Kudret narı meyvesinde özellikle cucurbitane tipi triterpenoidler bulunmaktadır (Jozeph ve Jini, 2013). Ayrıca kudret narı iz elementler ve yağ asitleri yönünden de oldukça zengindir (Zhang ve ark., 2016). Kudret narının aynı zamanda besleyici kalsiyum, magnezyum, potasyum, fosfor ve demir içerdiği; meyvelerin yüksek miktarda C vitamini, A vitamini, E vitamini, B₁, B₂ ve B₃ vitaminleri ile B₉ vitamini ihtiva ettiği, kudret narı yağında da Palmitik asit (C16:0), Palmitoleik asit (C16:1), Stearik asit (C18:0), Oleik asit (C18:1), Linoleik asit (C18:2), Linolenik asit (C18:3) oranlarının oldukça iyi olduğu rapor edilmiştir (Bakare ve ark., 2010).

1.1.Kudret Narının (*Momordica charantia* L.) Antioksidan Özelliği ve Sağlık Üzerine Etkileri

Oksidatif stres; oksidan üretimi ve antioksidan aktivite arasındaki dengenin bozulduğu bir durumdur. Oksidanların kaynakları oldukça fazladır (Moylan ve Reid, 2007). Süperoksit anyonu (O^{*-}), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (HO^{*}) gibi radikallere maruz kalmak hücre zarlarına,

nükleik asitlere, proteinlere vb. metabolizma bileşenlerine zarar veren oksidatif strese neden olur. Reaktif oksijen radikallerinin sebep olduğu kümülatif hasarın oldukça fazla sayıda hastalığa neden olabileceği ile ilgili kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır (Storz ve Imlayt, 1999). Oksidatif stres, hipertansiyon, diyabet, obezite kardiyovasküler hastalıklar kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik böbrek hastalığı, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi çeşitli yaşam tarzı hastalıklarının gelişmesinin ana nedenidir (Liguori ve ark., 2018). Bitkilerden ve besin öğelerinden hastalıkların tedavisinde faydalanılması uzun yıllardan beri süre gelmektedir. Son zamanlarda tedavi amaçlı doğal bileşiklerin kullanımı önemli düzeyde artmıştır. Sentetik ilaçlarının yan etkilerinin fazla olması ve hastalıkların tedavisinde yetersiz kalmaları bu durumun temel sebepleri arasındadır. Aynı zamanda sentetik ilaçlar lokal etki gösterirken, bitkisel kökenli bileşenler zengin içerikleri ve geniş etki alanlarının yanı sıra kolay erişilebilir ve daha ucuz olmaları sebebi ile geniş kitleler tarafından ilgi odağı haline gelmiştir (Ekizce, 2019). Yerel halk tıbbının endüstriyel ilaçlara tercih edilmesinin temel sebepleri arasında geleneksel yaşam tarzına bağlılık gelmektedir. Bitki türevli ürünlerin daha “doğal” ve buna bağlı olarak çok daha az toksik etki göstermeleri batı ülkelerinin bir çoğunda kullanımı artırmaktadır. *M. charantia* ve içindeki spesifik bileşenlerin oksidatif strese karşı etkisi ve potansiyel antioksidan özellikleri üzerine pek çok araştırma yürütülmektedir (Hamissou ve ark., 2013). Birçok çalışmada, *M. charantia*'nın deneysel koşullar altında iyi bir doğal antioksidan kaynağı olduğu; in vitro ve in vivo oksidan hasara karşı iyi bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2010; Bajpai ve ark., 2005; Thenmozhi ve Subramanian., 2011). Kudret narının farklı ülkelerde geleneksel olarak pek çok hastalıkta kullanıldığı rapor edilmiştir. **Brezilya**; yanık, kolik, dermatoz, egzama, diyabet, ateş, kabızlık ishal, hemoroid, kaşıntı, iktidarsızlık, cüzzam, lösemi, libido, grip, karaciğer iltihabı, sıtma, adet sorunları, ağrı, romatizma, uyuz,cilt, tümör, vajinal akıntı, vajinit, **Çin**; Diyabet, Göğüs kanseri, cinsel iktidarsızlık, ateş, ağız kokusu, böbrek problemleri, Böbrek yetmezliği, **Küba**; Kolit, Kansızlık, ateş, hiperglisemi, şeker hastalığı, bağırsak parazitleri, böbrek taşları, karaciğer sorunları, adet sorunları, kısırlık. **Hindistan**; doğum kontrolü, kabızlık, şeker hastalığı, egzama, yağ kaybı, yemek, ateş, gut, hemoroid, hidrofobi, hiperglisemi, süt akışının artması, bağırsak parazitleri, sarılık, böbrek taşları, cüzzam, karaciğer, adet bozuklukları, zatürree, romatizma, uyuz, cilt, sedef hastalığı, vajinal akıntı, yılan ısırığı, **Meksika**; Bağırsak fonksiyonu, yanıklar, iktidarsızlık, diyabet, libido, uyuz, dizanteri, yaralar, solucanlar. **Nikaragua**;

kansızlık, doğum, soğuk algınlığı, kabızlık, öksürük, şeker hastalığı, ateş, baş ağrısı, hipertansiyon, enfeksiyonlar, akciğer rahatsızlıkları, sıtma, ağrı, hamilelik, kızarıklıklar, cilt sorunları (Kumar ve Bhowmik, 2010)

1.2. Kudret Narı (*Momordica charantia* L.)'nın Antidiyabetik Etkileri

Diabetes mellitus, hiperglisemi ile karakterize olan metabolik bir hastalıktır (Gayathry ve John, 2022). *M. charantia*, diyabet tedavisi için kapsamlı bir şekilde araştırılan bitkilerden biri olup *M. charantia* faydalı işlevine dair modern bilimsel kanıtlarla desteklenen geleneksel kullanımıyla, günümüzde diyabet için en umut verici bitkilerden biridir (Joseph ve Jini, 2013). *M. charantia*'nın, içerdiği biyoaktif bileşikler ve antioksidan kapasitesi nedeniyle, binlerce yıldır farklı ülkelerde antidiyabetik bir ilaç olarak yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Raman ve Lau, 1996; Bailey ve ark., 1986; Day ve ark., 1990). Kudret Narı (*Momordica charantia* L.)'nın anti-diyabetik özelliklerini gösteren çalışmalarda; kudret narı ile beslenmenin diyabetik sıçanlarda %30'luk bir iyileşme sağladığı görülmüştür (Shetty ve ark., 2005). Farklı bir çalışmada, *Momordica charantia*'nın tip 2 diyabetik hastalarda hipoglisemik olarak etkileri değerlendirilmiş, oral olarak *M. charantia*'nın insülün tedavisinde ortalama 7 hafta uygulama sonucunda hipoglisemide etkili olduğu rapor edilmiştir (Salam ve ark., 2015). Bu bağlamda Poovitha ve ark., (2016)'nın yapmış oldukları çalışmada, iki acı kabak çeşidinin meyvelerinden elde edilen protein ekstraktlarının, α -amilaz ve α -glukosidaz enzimlerini in vitro olarak inhibe ettiğini ve Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlara oral yoldan uygulama yapıldığında kan glikoz seviyesini in vivo olarak, tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan anti-diyabetik bir ilaç olan Akarboz ile eşit düzeyde düşürdüğünü gözlemlenmiştir (Poovitha ve Parani, 2016). Yine birçok çalışmada, çeşitli *M. charantia* ekstraktlarının diyabet tedavisi için kullanılabileceği belirtilmektedir (Raman ve Lau, 1996; Xu ve ark., 2015; Arafat ve ark., 2016; Ahmed ve ark., 2001; Czompa ve ark., 2017; Thent ve ark., 2017; Welihinda ve ark., 1986).

1.3. Antikanserojenik ve Antitümör Etkisi

Kanser, nükleer genomdaki dinamik değişikliklerle elde edilen kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize edilebilir (Feitelson ve ark., 2015; Hanahan ve Weinberg, 2011; Vogelstein ve ark., 2004). Dünyanın birçok yerinde kanser büyük bir halk sağlığı sorunudur ve önde gelen ölüm nedenlerinden birini temsil eder (Siegel ve ark.,2013). Başlıca kanser türleri

akciğer, meme ve kolorektal kanserler olup, en çok ölüme neden olanlar akciğer (1,6 milyon ölüm), karaciğer (745,000 ölüm) ve mide (723,000 ölüm) kanserleridir (Ferlay ve ark., 2015). Yapılan farklı çalışmalarda Kudret narı meyvesinin kötü tümörlere karşı önemli düzeyde antikanserojenik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Yasui ve ark., 2005). Yine bu bağlamda yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, kudret narı özütlerinin ya da elde edilen bileşenlerin kolon, göğüs, deri, pankreas, prostat, idrar kesesi, ve lenfoma gibi hastalıklara apoptozu indükleyerek kanser hücrelerinin büyümesini engellediği böylece antikanserojenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Dandawate ve ark., 2016). Bai ve ark. MCF 7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre dizilerinde bir in vitro deney gerçekleştirerek, *M. charantia*'nın bir triterpenoidin meme kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe etme potansiyeli olduğunu belirlemişlerdir (Bai ve ark., 2016). Kudret narından elde edilen özüt ve BG-4 peptidinin, kolon kanseri hücrelerinde (HCT-116 ve HT-29) Bcl-2 ekspresyonunu düşürüp, Bax ve kaspaz-3 ekspresyonlarını ise yükselterek apoptozu indüklediği de rapor edilmiştir (Day ve ark., 1990; Feitelson ve ark., 2015). Kudret narı özütünün, mTOR/Akt sinyal yolağında inhibisyona sebep olarak meme kanseri hücrelerinde antikanser aktivite sergilediği tespit edilmiştir (Hanahan ve Weinberg, 2011). Ayrıca bitki özütünün prostat, mide, karaciğer, göğüs, yumurtalık, kolon ve akciğer kanser hücre hatlarında sitotoksik etkiye neden olduğu belirlenmiştir (Top ve ark., 2019). Günümüzde artık modern biyotıp, düşük toksisite ve yüksek verimliliğe sahip anti-tümör ilaçları bulmaya odaklanmıştır. Şifalı bitkilerden ve doğal kaynaklardan elde edilen biyoaktif polisakkaritlerin yan etkileri olmaksızın nispeten toksik olmadığı kanıtlanmıştır. Birçok polisakkarit ve türevleri genellikle çeşitli tıbbi uygulamalarda ve kanserli hastalarda immün stimülasyon için kullanılmıştır. Kudret narının farelerde tümörün büyümesini engellediği dolayısıyla *M. charantia* polisakkaritlerinin anti-tümör etkiye sahip olabileceği rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2016).

1.4. Yara iyileşmesine Etkisi

Araştırmacılar, merhem formundaki *M. charantia* meyve tozunun (basit merhem bazında %10 w/w kurutulmuş toz), yara büzülme kabiliyeti, yara kapanma süresi, epitelizasyon periyodu açısından statik olarak anlamlı bir tepki gösterdiğini bulmuşlardır (Sankaranarayanan ve Jolly, 1993). Diyabetik sıçanlarda *M. charantia*'nın meyvelerinden elde edilen merhem ile yapılan tedavinin, yara kapanmasını artırıcı yönde etkili olduğu, aynı zamanda hücre büyüme ve farklılaşmasını düzenlemede önemli göreve sahip olan yara

dokusunda TGF- β ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. Kudret narı meyveleri ve zeytin yağı ile hazırlanan maseratın yara iyileşmesinde etkili olduğu, bu maseratın yeniden epitelizasyon, dermal fibroblastların proliferasyonu, vaskülarizasyon, inflamasyon gibi önemli parametreler yönünden BP (bepanten) ve FR (Furacin) ile kıyaslanabileceği rapor edilmiştir (Pişkin ve ark., 2014). Kudret narından elde edilen ve tropikal olarak uygulanan ekstraktların, yara iyileştirici etkisinin incelendiği çalışmalarda ise, bitkinin geniş spekturumlu antibakteriyel aktivite, antioksidan, antienflamatuar, analjezik ve antiülser etkilere sahip olması nedeniyle özellikle yara iyileşmesinde etkin role sahip olduğu belirlenmiştir (Prasad ve ark., 2009; Prashanthi ve ark., 2012; Satar ve ark., 2013; Sharma ve ark., 2010; Teoh ve ark., 2009; Kisacik ve ark., 2017).

1.5. Antimikrobiyal Etkisi

Yapılan birçok araştırmada *M. charantia*'nın yaprak ekstraktlarının, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Streptobacillus* ve *Streptococcus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Leelaprakash ve ark., 2011; Omoregbe ve ark., 1996). Kudret narının tohumlarından elde edilen uçucu yağların *E. coli*, *C. albicans* ve *S. aureus* türleri üzerinde antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bir çalışma sonucunda kudret narından elde edilen uçucu yağın *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Ekizce, 2019; Braca ve ark., 2008). Yine *M. charantia*'nın yaprak ekstreleri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin varlığını klinik olarak göstermiştir (Sankaranarayanan ve Jolly, 1993). Kudret narının (*Momordica charantia*) farklı çözümler kullanılarak hazırlanan ekstrelerinin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* gibi farklı bakterilere karşı antibakteriyel; *Aspergillus niger* mantarına karşı antifungal aktivitesi incelenmiştir. *Momordica charantia* bitkisinin etanol, metanol ve su ile hazırlanan ekstrelerinin *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel, *Aspergillus niger* mantarı içinde güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Beşen ve ark., 2022). Acı kavunun tüm bitki kısımlarının, incelenen mikrobiyal suşlar üzerinde güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bu güçlü antimikrobiyal aktivite göz önüne alındığında, *M. charantia*'nın tıbbi bir bitki olarak kullanılabilmesi rapor edilmiştir (Yaldız ve ark., 2015). *M. charantia*'nın dört gram pozitif bakteri (*B. cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis* ve *S. aureus*), ve dört gram negatif bakteri (*E. coli*, *K. pnömoni*, *P. aeruginosa* ve *Serratia* spp.) üzerine antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir (Yeo ve ark., 2014). *M. charantia*'nın antimikrobiyal

aktivitesinin içeriğindeki antimikrobiyal proteinler, tohum yağı, tanenler, triterpenoidler, alkaloidler, kardiyak glikozitler ve steroidler gibi temel bileşenlerinden kaynaklandığı bilinmektedir (Villarreal-La Torre ve ark., 2020).

1.6. Antiülser Etkisi

Mide ülseri, alkol tüketimi, sigara, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, stres ve spesifik olmayan nonsteroid antiinflatuar ilaçlarla ilişkili yaygın bir gastrointestinal bozukluktur. Bu bozukluk yüksek insidans oranları sunar ve komplikasyonlar nedeniyle ölümlerle sonuçlanabilir (Ramalhete ve ark., 2022). Türkiye'de taze meyve ve kuru meyvelerin zeytinyağı veya bal ile karıştırılarak hazırlanan ekstresi peptik ülser tedavisinde kullanılmaktadır. *M. charantia* meyvelerinin mide ve onikiparmak bağırsağı ülserlerinin önlenmesinin yanı sıra *Helicobacter pylori*, organizmasında büyümesini engellediği belirtilmiştir (Ekizce ve Ekici, 2019).

1.7. Antiviral Etkisi

Son yıllarda, yapılan çalışmalarda, *Momordica charantia*'nın ribozom fonksiyonunu inaktive ettiği (Feng ve ark., 1990; Leung ve ark., 1997) ve MAP30'u (*Momordica* anti-HIV proteini) üretimi, sırayla HIV (insan immün yetmezlik virüsü) aktivitesini baskıladığı bildirilmiştir. (Lee-Huang ve ark., 1990; Lee-Huang ve ark., 1995). *M. charantia*'nın yapraklarından ve gövdesinden elde edilen etanolik ekstraktlar, HSV-1 ve SINV virüslerini yüksek oranda inhibe ettiği ayrıca antiviral aktivitenin momordisin I veya II'den ziyade ışığa duyarlılaştırıcılara yakın bir bağımlılığı yansıttığı bildirilmiştir (Beloin ve ark., 2005). *M. charantia* bitkisinden saflaştırılan proteininin H1N1 ve H3N2', aynı zamanda H5N1 virüslerini inhibe ettiği belirlenmiştir. Antiviral aktivitesinin geniş spektrumunun bir sonucu olarak, bu yenilebilir bitki, influenza A'nın çeşitli ve hatta yeni ortaya çıkan alt tiplerine karşı etkili bir terapötik ajan olarak geliştirilebileceği rapor edilmiştir (Pongthanapisith ve ark., 2013). *M. charantia*'nın yapraklarından ve gövde bileşenlerinden elde edilen etanolik ekstraktların, HSV-1 ve SINV virüslerini yüksek oranda inhibe ettiği belirtilmiştir. Benzer şekilde, araştırmalar, acı kabak proteinlerinin MAP30'unun H9 hücrelerinde hücre DNA veya protein sentezi üzerine daha az etkiye sahipken, HIV aktivitesini inhibe edebildiğini, virüs çekirdek proteini p24 ve viral ilişkili ters transkriptazın (HIV-RT) ekspresyonunu baskılayabildiğini rapor etmişlerdir (Jia ve ark., 2017).

SONUÇ

Günümüzde acı kavun, karela ve pare olarak bilinen *Cucurbitaceae* familyasına ait *M. charantia* ve bileşenlerinin biyoaktiviteleri üzerine araştırmalar hızla artmaktadır. Bitkiden biyoaktif bileşenlerin ayrılması ve tanımlanması daha fazla dikkat çekmiş ve hala yükseliş eğilimini sürdürürken, birçok çalışmada mekanizmalar hala geliştirilmeyi beklemektedir. Bileşenlerin, klinik çalışmaları, uzun vadede araştırmaların odak noktası olmalıdır. Biyoaktif bileşenlerle ilgili mevcut çalışmaların büyük çoğunluğu hayvanlarda ve hücre seviyelerinde gerçekleştirildiğinden, insanlar üzerindeki etkileri henüz kanıtlanmamış, potansiyel yan etkileri de araştırılmamıştır. Bitkinin özellikle uzun süreli tüketim olmak üzere insan vücudu üzerindeki olası yan etkileri araştırılmalıdır. Bu nedenle, daha kapsamlı klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abd El Sattar El Batran, S., El-Gengaihi, S.E., El Shabrawy, O.A.(2006). Some toxicological studies of *Momordica charantia* L. on albino rats in normal and alloxan diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 24,108(2),236-42.
- Ahmed, I., Lakhani, M.S., Gillett, M., John, A., Raza, H.(2001). Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res. Clin. Pract*,51,155–161.
- Aminah, A., Anna, P.K.(2011). Influence of ripening stages on physicochemical characteristics and antioxidant properties of bitter gourd (*Momordica charantia*). *Int. Food Res. J*, 18, 895– 900.
- Arafat, S.Y., Nayeem, M., Jahan, S., Karim, Z., Reza, H.M., Hossain, M.H., Alam, M.A.(2016). Ellagic acid rich *Momordica charantia* fruit pulp supplementation prevented oxidative stress, fibrosis and inflammation in liver of alloxan induced diabetic rats. *Orient. Pharm. Exp. Med*,16,267–278.
- Bai, L.Y., Chiu, C.F., Chu, P.C., Lin, W.Y., Chiu, S.J., Weng, J.R. (2016). A triterpenoid from wild bitter gourd inhibits breast cancer cells. *Scientific Reports*, 6(1), 1–10.
- Bailey, C.J., Day, C., Leatherdale B.A.(1986). Traditional treatments for diabetes from Asia and the West Indies. *Pract. Diabetes*,3,190–192.
- Bajpai, M., Pande, A., Tewari, S.K., Prakash, D.(2005). Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *Int. J. Food Sci. Nutr*,56, 287–291.
- Bakare, R.I., Magbagbeola, O.A., Akinwande, A.I., Okunowo, O.W.(2010). Nutritional and chemical evaluation of *Momordica charantia*. *J Med Plant Res*,4(21),2189–2193
- Beloin, N., Gbeassor, M., Akpagana, K., Hudson, J., de Soussa, K., Koumaglo, K., Arnason, J.T.(2005). Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. *J. Ethnopharmacol*,96, 49–55.
- Beşen, B.S., Karahan, L.E., Parlakyığıt, P., Kırılmış, C., Erdoğan, S.(2022). Bazı Bitki Kaynaklarının Farklı Çözgenlerde Hazırlanan Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 37(2), 543-554.
- Braca, A., Siciliano, T., D'Arrigo, M., Germanò, M.P.(2008). Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. *Fitoterapia*, 79(2), 123–125.
- Czompa, A., Gyongyosi, A., Szoke, K., Bak, I., Csepanyi, E., Haines, D.D., Lekli, I.(2017). Effects of *Momordica charantia* (Bitter Melon) on Ischemic Diabetic Myocardium. *Molecules*,22,488.

- Dandawate, P.R., Subramaniam, D., Padhye, S.B., Anant, S. (2016). Bitter melon: A panacea for inflammation and cancer. *Chin. J. Nat. Med*, 7,14(2),81-100.
- Day, C., Cartwright, T., Provost, J., Bailey, C.J.(1990). Hypoglycaemic effect of *Momordica charantia* extracts. *Planta Medica*,56,426–429.
- Ekizce, E.(2019). Deneysel Olarak Tip II Diyabet Oluşturulmuş Ratlardaki Yara Modelinde Kudret Narı (*Momordica Charantia*) Meyvesi Yağının Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri. Farmakoloji Ve Toksikoloji Anabilim Dalı (Veteriner) Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Kırıkkale.
- Ekizce, E., Ekici, H.82019). The Pharmacological Effects of Bitter Melon. *Dairy and Vet Sci J*,8(5), 555747.
- Feitelson, M. A., Arzumanyan, A., Kulathinal, R. J., Blain, S. W., Holcombe, R. F., Mahajna, J., Nowsheen, S. (2015). Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. In *Seminars in cancer biology*, 35, S25-S54.
- Feng, Z., Li, W.W., Yeung, H.W., Chen, S.Z., Wang, Y.P., Lin, X.Y., Wang, J.H. (1990). Crystals of α -momorcharin: A new ribosome-inactivating protein. *Journal of molecular biology*, 214(3), 625-626.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in Globocan 2012. *Int. J. Cancer*, 136(5),E359-E386.
- Gayathry, K.S., John, J.A.(2022). A comprehensive review on bitter gourd (*Momordica charantia* L.) as a gold mine of functional bioactive components for therapeutic foods. *Food Prod Process and Nutr*, 4, 10.
- Grover, J.K., Yadav, S.P.(2004). Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *J. Ethnopharmacol*, 93, 123–132.
- Gupta, M., Sharma, S., Gautam, A. K., Bhadauria, R. (2011). *Momordica charantia* Linn.(Karela): Nature's silent healer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 11(1), 32-37.
- Habicht, S.D., Kind, V., Rudloff, S., Borsch, C., Mueller, A.S., Pallauf, J., Yang, R.Y., Krawinkel, M.B.(2011). Quantification of antidiabetic extracts and compounds in bitter gourd varieties. *Food Chem*,126,172–176.
- Hamissou, M., Smith, A.C., Carter Jr., R.E., Triplett II, J.K. (2013). Antioxidative properties of bitter gourd (*Momordica charantia*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 641–647.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A.(2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*,144,646–674.

- Jia, S., Shen, M., Zhang, F., Xie, J. (2017). Recent Advances in *Momordica charantia*: Functional Components and Biological Activities. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2555..
- Joseph, B., Jini, D. (2013). Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian pacific journal of tropical disease*, 3(2), 93-102.
- Kumar, K.S., Bhowmik, D. (2010). Traditional medicinal uses and therapeutic benefits of *Momordica charantia* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4(3), 23-28.
- Kisacik Gürlü, Ö., Güneş, Ü.(2017). Yara iyileşmesinde kudret narının etkisi. *Spatula DD*, 7(2), 53-59.
- Kole, C., Matsumura, H., Behera, T. K. (Eds.) (2020). The bitter gourd genome. Cham, Switzerland, Springer.
- Lee-Huang, S., Huang, P. L., Nara, P. L., Chen, H.C., Kung, H.F., Huang, P., Huang, P.L.(1990). MAP 30: a new inhibitor of HIV-1 infection and replication. *FEBS letters*, 272(1-2), 12-18.
- Lee-Huang, S., Huang, P.L., Huang, P.L., Bourinbaiar, A.S., Chen, H.C., Kung, H.F. (1995). Inhibition of the integrase of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 by anti-HIV plant proteins MAP30 and GAP31. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(19), 8818-8822.
- Leelaprakash, G., Rose, J. C., Gowtham, B. M., Javvaji, P. K., & Prasad, S. A. (2011). In vitro antimicrobial and antioxidant activity of *Momordica charantia* leaves. *Pharmacophore*, 2(4), 244-252.
- Leung, K.C., Meng, Z.Q., Ho, W.K. (1997). Antigenic determination fragments of alpha-momorcharin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1336(3), 419-424.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.4
- Liu, C.H., Yen, M.H., Tsang, S.F., Gan, K.H., Hsu, H.Y., Lin, C.N. (2010). Antioxidant triterpenoids from the stems of *Momordica charantia*. *Food chemistry*, 118(3), 751-756.
- Megala, S., Radha, R., Nivedha, M.(2019). Review On *Momordica Charantia* Linn. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*,8(4),247-260.
- Moylan, J.S., Reid, M.B. (2007). Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electromyography and Clinical Neurophysiology*, 35(4), 411-429.
- Omogbe, R.E., Ikuebe, O.M., Ihimire, I.G. (1996). Antimicrobial activity of some medicinal plants extracts on *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi* and *Shigella dysenteriae*. *African Journal of Medicine and Medical Sciences*, 25(4), 373-375.

- Özbakış Dengiz, G., Gürsan, N.(2005). Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats. *Turk J Gastroenterol*,16(2), 85-88.
- Pişkin, A., Altunkaynak, B.Z., Tümentemur, G., Kaplan, S., Yazıcı, Ö.B., Hökelek, M.(2014). The beneficial effects of *Momordica charantia* (bitter gourd) on wound healing of rabbit skin. *Journal of Dermatological Treatment*,25,350–357
- Pongthanapisith, V., Ikuta, K., Puthavathana, P., Leelamanit, W.(2013). Antiviral protein of *Momordica charantia* L. inhibits different subtypes of Influenza A. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Poolperm, S., Jiraungkoorskul, W. (2017). An Update Review on the Anthelmintic Activity of Bitter Gourd, *Momordica charantia*. *Pharmacognosy reviews*, 11(21), 31–34
- Poovitha, S., Parani, M.(2016). In vitro and in vivo α -amylase and α -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter gourd (*Momordica charantia* L.). *BMC Complement Altern Med*, 16, 185.
- Prasad, V., Jain, V., Girish, D., Dorle, A.K.(2009). Wound-healing property of *momordica charantia* l. fruit powder. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*,6(3-4),105-115.
- Prashanthi, R., Mohan, N., Siva, G.V.(2012). Wound healing property of aqueous extract of seed and outer layer of *momordica charantia* l. on albino rats. *Indian Journal of Science and Technology*, 5(1),1936-40. 43.
- Ramalhete, C., Gonçalves, B.M., Barbosa, F., Duarte, N., Ferreira, M.J.U. (2022). *Momordica balsamina*: phytochemistry and pharmacological potential of a gifted species. *Phytochemistry Reviews*, 1-30.
- Raman, A., Lau C.(1996). Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L.(Cucurbitaceae) *Phytomedicine*,2,349–362.
- Salam, M.A., El-Gengaihi, S.E.,Zikry, E.N. (2015). Preliminary clinical trials of karela, *Momordica charantia*, on non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 14(1), 69.
- Sankaranarayanan, J., Jolly, C.(1993). Phytochemical, antibacterial and pharmacological investigations on *Momordica charantia* Linn., *Emblca officinalis* Gaertn and *Curcuma longa* Linn. *Ind. J. Pharm. Sci*, 55, 6-13.
- Satar, N.Y., Topal, A., Yanık, K., Oktay, A., Batmaz, E., İnan, K.(2013). Comparison of the effects of bitter melon (*momordica charantia*) and gotu kola (*Centella asiatica*) extracts on healing of open wounds in rabbits. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*,19,A161-A166.

- Sharma, S., Sharma, M.C., Kohli, D.V.(2010). Wound healing activity of the ether-chloroform extract of momordica charantia fruits in rats. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5(1),123-26.
- Shetty, A.K., Kumar, G.S., Sambaiah, K., Salimath, P.V. (2005). Effect of bitter gourd (*Momordica charantia*) on glycaemic status in streptozotocin induced diabetic rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3),109-112.
- Siegel, R., Naishadham, D., Jemal, A.(2013). Cancer statistics, CA. *Cancer J. Clin*, 63(1),11-30.
- Storz, G.,Imlay, J.A.(1999). Oxidative stress. *Current opinion in microbiology*, 2(2), 188-194.
- Tan, S.P., Kha, T.C., Parks, S.E., Roach, P.D.(2016). Bitter melon (*Momordica charantia* L.) bioactive composition and health benefits: A review. *Food Reviews International*, 32(2), 181-202.
- Teoh, S.L., Latif, A.A., Das, S.(2009). The effect of topical extract of momordica charantia (bitter gourd) on wound healing in nondiabetic rats and in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Clinical and Experimental Dermatology*, 34(7),815-22
- Thent, Z.C., Das, S., Zaidun, N.H.(2017). Emerging Trends on Drug Delivery Strategy of *Momordica charantia* against Diabetes and its Complications. *Curr. Drug Deliv*,14.
- Thenmozhi, A.J., Subramanian, P.(2011). Antioxidant potential of *Momordica charantia* in ammonium chloride-induced hyperammonemic rats. *Evid. Based Complement. Altern. Med*, 8, 1–7.
- Top, R., Erden, Y., Tekin, S.(2019). Bazı önemli tıbbi bitkilerin antioksidan ve antikanser etkilerinin araştırılması. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 435-442.
- Villarreal-La Torre, Ve., Sagástegui Guarniz, W., Silva-Correa, C., Cruzado-Razco, L., Siche, R.(2020). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Momordica Charantia*: A Review. *Pharmacog J*,12(1),213-22.
- Vogelstein, B., Kinzler, K.W.(2004). Cancer genes and the pathways they control. *Nat. Med*,10,789–799.
- Welihinda, J., Karunanayake, E.H., Sheriff, M.H.H., Jayasinghe, K.S.A.(1986). Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset. *J. Ethnopharmacol*, 0378-8741(86)90116-9.
- Xu, X., Shan, B., Liao, C.H., Xie, J.H., Wen, P.W., Shi, J.Y.(2015). Anti-diabetic properties of *Momordica charantia* L. polysaccharide in alloxan-induced diabetic mice. *Int. J. Biol. Macromol*,81,538–543.
- Yasui, Y., Hosokawa, M., Sahara, T., Suzuki, R., Ohgiya, S., Kohno, H.(2005). Bitter gourd seed fatty acid rich in 9c, 11t, and 13tconjugated linolenic acid induces apoptosis and upregulates the

GADD45, p53 and PPAR gamma in human colon cancer Caco-2 cells. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids*,73(2),113-119.

- Yaldız, G., Sekeroglu, N., Kulak, M., Demirkol, G. (2015). Antimicrobial activity and agricultural properties of bitter melon (*Momordica charantia* L.) grown in northern parts of Turkey: a case study for adaptation. *Natural product research*, 29(6), 543-545.
- Yeo, Y.L., Chia, Y.Y., Lee, C.H., Sow, H.S., Yap, W.S. (2014). Effectiveness of Maceration Periods with Different Extraction Solvents on in-vitro Antimicrobial Activity from Fruit of *Momordica charantia* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(10), 016-023.
- Zhang, F., Lin, L., Xie, J. (2016). A mini-review of chemical and biological properties of polysaccharides from *Momordica charantia*. *International journal of biological macromolecules*, 92, 246-253.

BÖLÜM 13

MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KAYNAKLI EKSOZOMLAR

Öğr. Gör. Dr. Dilek KAAAN^{1,2}

¹ Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kök Hücre Birimi, Kayseri/Türkiye

² Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri MYO, Radyoterapi Programı, Kayseri/Türkiye, email: drdlkkaan@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-3622-2249

GİRİŞ

Mezenkimal kök hücreler (MKH) ilginç hücre biyolojileri, geniş kapsamlı klinik potansiyelleri ve hızla büyüyen doku mühendisliği alanında merkezi bir yapı taşı olmaları nedeniyle son 30 yılda geniş çapta çalışılmıştır. MKH ve MKH terimleri, yaygın olarak mezenkimal kök hücreler, multipotansiyel stromal hücreler, mezenkimal stromal hücreler ve mezenkimal progenitör hücreler olarak adlandırılan çok potansiyelli kök/progenitör hücrelerin bir hücrelerini ve hücre popülasyonunu tanımlamak için tercih edilen kısaltma haline gelmiştir. Genişleyen ve büyüyen MKH araştırma alanı, bize temel insan hücre biyolojisinin yanı sıra bu tür hücrelerin çeşitli klinik ortamlarda hücresel terapi için nasıl kullanılacağını öğretiyor ve çok fazla umut vaat ediyor olsa da, dikkatli yeni çalışmalara hala ihtiyaç vardır (Fagioli ve Ferrero, 2015). Yıllar boyunca MKH'leri anlamada çok ilerleme kaydedilmiştir ve gelecekteki bilimsel araştırmalar ve klinik uygulamalar için güçlü bir temel, ancak bazı önemli sorular da yanıtlanmayı bekliyor. Bu nedenle yeni rejeneratif tıp şekli olan eksozom tedavisi ilgi kazanmıştır. Eksozom tedavisi aldıktan sonra, eksozomlar hücrelere yeni, iyileştirici mesajlar iletacaktır. Bu, hücrelerin kendi rejeneratif süreciyle kendini iyileştirmesini sağlar (Badday, 2022) Eksozomların hücre içi iletişim sağlayabilmeleri, onların bir hastalığı hedeflemede üstün rejeneratif potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. İlerleyen zaman içerisinde rejeneratif tıpta gelişen teknolojiler ile eksozomları mezenkimal kök hücrelerden izole etmek hem daha kolay hem de daha büyük klinik fırsatlar sağlayacaktır (Muthu ve ark., 2021).

1. KÖK HÜCRELER

Kök hücreler, diğer hücre tiplerine farklılaşma ve kendi kendini yenileme kapasitesine sahip farklılaşmamış hücreler topluluğudur. Kök hücreler: bir organizmadaki herhangi bir hücreye ve ekstra embriyonik yapıları oluşturuyorsa **totipotent**, embriyonik hücreler gibi germ katmanlarında herhangi bir hücreye farklılaşabiliyorsa **pluripotent**, belirli soylar içinde hematopoietik kök hücreler gibi farklı hücre tiplerine farklılaşabiliyorlarsa **multipotent**, sadece bazı hücre tiplerine farklılaşma kapasitesine sahip ise **oligopotent**, ve sadece belirli bir hücre tipine farklılaşabiliyorsa **unipotent** kök hücreler olarak adlandırılırlar. Yetişkinlerde, organizma boyunca dağılmış multipotent, oligopotent ve unipotent kök hücreler vardır. İşlevleri, doku homeostazını ve rejenerasyonunu korumayı içerir. Bunlar mezenkimal, hematopoietik, nöral ve dermal kök hücreleri içerir (Casado ve Diaz, 2022). Son on yılda kök

hücreler, sayısız hastalık için terapötik bir yöntem olarak giderek daha fazla uygulanmaktadır (Aly, 2020).

1.1. Mezenkimal Kök Hücreler

Mezenkimal kök hücreler, ilk olarak Alexander Friedenstein tarafından kemik iliğini incelerken keşfedilen multipotent, hematopoietik olmayan yetişkin hücrelerdir. Kemik iliğine ek olarak, MKH'ler yağ dokusu, amniyotik sıvı, diş özü, plasenta, göbek kordonu kanı, Wharton jölesi (jeli) ve hatta beyin, böbrek, karaciğer, akciğer, dalak, pankreas ve timus gibi diğer yetişkin dokularından izole edilebilmektedir (Akbari ve ark., 2020). MKH'ler farklılaşma, kendini yenileme ve koloni oluşturma yetenekleri ile adipositler, endotel hücreleri, kardiyomyositler, kondrositler ve osteoblastlar dahil olmak üzere mezenkimal kaynaklı farklı soylara, hepatositler ve nöron benzeri hücreler gibi çok sayıda mezenkimal kaynaklı olmayan soylara farklılaşabilir (Crapnell ve ark., 2013). Mezodermden kaynaklanan MKH'ler CD73, CD90 ve CD105 plazma membran belirteçlerini eksprese ederken CD14, CD34 ve CD45 moleküllerini eksprese etmemektedir (Teixeira ve ark., 2013). MKH'lerin in vitro çoğalma ve çeşitli hücre fenotiplere farklılaşma konusundaki benzersiz kapasitesi, bağ dokusunun nekrotik veya apoptotik hücrelerini iyileştirmek için terapötik ajanlar olarak büyük avantaj sağlamaktadırlar (Crapnell ve ark., 2013).

1.2. Mezenkimal Kök Hücrelerin Potansiyel Riskleri

MKH tedavisinin potansiyel/teorik riskleri birçok risk faktörüne bağlıdır. Bu faktörler; (I) içsel hücresel özellikler (kullanılan kök hücrelerin tipi veya sınıfı); (II) dışsal risk faktörleri (manipülasyonun türü ve seviyesi, ön koşul, kültürlenme geçmişi, hücrelerin işlenmesi veya saklanması); (III) klinik özellikler (cerrahi operasyonun tipi, bağışıklığın baskılanması, uygulama bölgesi ve şekli)'dir. Diğer bir deyişle, MKH tedavisinin potansiyel riskleri; tümörjenik potansiyel, bağışıklık tepkileri, MKH'ler tarafından patojen iletimi olabilmektedir. İmmün reddine ve malign transformasyona ek olarak, MKH'lerin uygulanmasının adipojenik farklılaşma ve protrombotik olaylar gibi başka olumsuz etkileri vardır. Bunlar dışında ise MKH uygulamasının akut problemler (immün aracılı reaksiyon ve embolik fenomen olarak), ara problemler (graft versus host hastalığı ve sekonder enfeksiyon gibi) ve uzun vadeli (maligantite riski olarak) potansiyel risklere de sebebiyet verebilmektedir. Potansiyel riskler muhtemelen istenmeyen bağışıklık tepkilerini, tümör oluşumunu ve tesadüfi ajanların bulaşmasını içerecektir (Eirin ve Lerman, 2014). Hücre tedavisinde MKH'lerle ilgili diğer potansiyel sorunlar, farklı MKH popülasyonlarının heterojen farklılaşma yeteneklerini

içerir. Neyse ki, MKH'den salınan eksozomların kullanımı, MKH'leri klinik amaçlarla kullanmanın bazı sınırlamalarını atlayabilir. Eksozomların rejeneratif tıptaki avantajları arasında şunlar yer alır: kolayca saklanabilir-depolanabilir olması, büyük miktarlarda hücre üretimine gerek duyulmaması, farmasötik ajanlar olarak güvenlik, dozaj ve aktivite açısından geleneksel değerlendirilmesi, uzun bir yarı ömre ve stabiliteye sahip olması, klinikte proliferatif hücrelere göre daha kolay uygulanabilir olması, kan-beyin bariyerini geçerek en küçük kılcal damarlarda dahi dolaşabilir olması, hücresel tedavilere göre daha düşük bağışıklık reddi, tümör oluşumu veya hücresel farklılaşma risklerini en aza indirmeye yeteneğine sahip olmasıdır (Vizoso ve ark., 2017). MKH'ler tarafından salgılanan eksozomlar, MKH'lerin terapötik özelliklerinin çoğunu taşıdıkları için çok sayıda hastalık için yeni rejeneratif stratejiler geliştirmek için artık yaygın olarak kullanılmaktadır (Yang ve ark., 2022)

1.3. Mezenkimal Kök Hücre Kaynaklı Eksozomlar

Eksozomlar keşfedilmesinden sonra uzun yıllar boyunca son derece uzmanlaşmış bir hücre tipi olan retikülositlerin benzersiz bir hücre üretilmesi olarak algılanmıştır ve transferrin reseptörleri gibi eskimiş zar proteinlerinin atılmasının ötesinde çok az işlevi olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte, artan sayıda hücre tipinin normal fizyolojik aktiviteler sırasında eksozom salgıladığı gözlemlendiğinden, eksozomların bu algısı değişerek, bu nedenle eksozomların hücresel süreçleri modüle etmek veya aracılık etmek için her yerde bulunan bir hücresel araç olduğu kabul edilmiştir (Rieu ve ark., 2000). MKH'lerden salınan eksozomlar ve bu özelliklerin bir sonucu olarak, eksozomlar, bir immünomodülatör yapı, immün baskılama, düşük immünojenisite ve onkojenisite dahil olmak üzere MKH özelliklerini sergiledikleri için klinik uygulamalar için de düşünülmektedir. Bu nano boyutlu parçacıklar, karmaşık bir molekül yelpazesi taşır, tüm hücreler tarafından salgılanır ve tüm biyolojik sıvılarda bulunur, bu da onları potansiyel olarak ilaç verme ve teşhis amaçları için uygun bir aday olarak belirler. MKH'den türetilen eksozomlar, kardiyovasküler hastalık, karaciğer hastalığı, nörolojik bozukluklar, böbrek hastalıkları vb. gibi geniş bir hastalık yelpazesinde uygulanmaktadır. Son zamanlarda, COVID-19 salgını, MKH'den türetilmiş eksozomları rejeneratif ve iyileştirici özellikleriyle de ön plana çıkarmıştır. (Panda ve ark., 2021) MKH kaynaklı eksozomların proteomu, kütle spektrometrisi, antikor dizisi ile profillendirilmiş ve 857 benzersiz gen ürünü içerdiği bulunmuştur (<http://www.exocarta.org>). Bu proteinler, iletişim, yapı ve mekanik, alevlenme, eksozom biyogenez, doku

onarımı, rejenerasyon ve metabolizma gibi çok çeşitli biyokimyasal ve hücrenel süreçlere dağılmıştır. Taşıdıkları proteinler her türlü fonksiyonel, yapısal, veya enzimatik aktiviteleri sağlarlar (Lai ve ark., 2012). MKH'ler kısmen eksozomların salgılanmasıyla bir parakrin mekanizması yoluyla işlev görür. Bu küçük veziküller, çok çeşitli hastalık ve rahatsızlıklarda terapötik ve rejeneratif yeteneklerine yardımcı olan geniş bir kargo yelpazesi taşır. MKH'den türetilen eksozomların terapötik aktivitelerine, daha sonra bir dizi mekanizma ile alıcı hücrelerin davranışını düzenleyen ve modüle eden kargo bileşenlerinin transferi yoluyla büyük ölçüde aracılık edilir (Fujita ve ark., 2018). MKH kaynaklı eksozomlar, lipitler, DNA, uzun kodlayıcı mRNA, tRNA vb. diğer biyoaktif moleküllerin yanı sıra, spesifik olarak taşıdıkları proteinler ve miRNA'lar sayesinde bazı önemli etkiler gösterirler. MKH'den türetilen eksozomlar tarafından oluşturulan miRNA'lar, çeşitli gelişimsel ve düzenleyici süreçleri etkileyebilir ve ayrıca tümörjenez ve tümör ilerlemesinde rol oynayabilir (Cheng ve ark., 2017). MKH'den türetilmiş eksozomlar tarafından taşınan kargo, MKH'lerin türetildiği dokulara göre farklılık gösterir. Kemik iliği, yağ dokusu ve göbek kordonundan türetilen MKH eksozomlarının ayrıntılı bir proteomik karakterizasyonu, tüm kaynaklarda ortak olan 355 proteini ortaya çıkarmıştır ("ExoCarta: Home - Exosome Database," n.d, <http://www.exocarta.org>).

1.3.1 Kemik İliği Kaynaklı Eksozomlar

İskelet, hayati organları koruyan, mineralleri depolayan ve vücut ve hareket için mekanik bir destek sağlayan temel bir destek organı olarak kabul edilir. Kemik iliğinde (Kİ) bulunan otolog yenilenme kapasitesine sahip bir stromal kök hücre, MKH'ler sınıfı vardır. Osteoblastlara, kondrositlere ve adipositlere ve böylece kemik oluşumunu, bakımını ve yeniden yapılanmasını etkileyebilirler (Nakajima ve ark., 2018). Ortaya çıkan kanıtlar, Kİ-MKH'lerin kemik dokusu hasarını onarma ve kemik yenilenmesini destekleme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir, ancak buna dahil olan spesifik mekanizma açıklığa kavuşturulmamıştır. Nakledilen MKH'lerin kalıcı olarak in vivo olarak var olamayacakları, ancak MKH'lerin ortadan kaldırılmasından sonra bile terapi etkisinin devam ettiği bildirilmiştir. Bu kemik koruyucu etkinin, Kİ-MKH'ler tarafından salgılanan eksozomlara çok benzer şekilde, parakrin veziküllerle ilişkili olabileceği keşfedilmiştir (Ng ve ark., 2015). Kİ-MKH eksozomlarındaki proteinlerin, büyük ölçüde granülositlerin aktivasyonunda, hücre göçünün düzenlenmesinde, protein kompleksleri ve integrinlerin bağlanması işlev gördüğü bulunmuştur.

Kemik iliği kaynaklı eksozomlar, çok çeşitli proteinler, lipidler ve nükleik asitler içeren, kemik iliği stromal hücreleri, osteoklastlar, osteoblastlar ve osteositler gibi çeşitli hücreler tarafından salgılanan, doğal olarak var olan nano boyutlu hücre dışı kesecik olduğu ve hücreler arası iletişim ile malzeme transferini modüle ederek iskelet metabolizmasının ve ekstraosseöz hastalıkların düzenlenmesinde etkin rol göstermektedir (Lyu ve ark., 2020).

1.3.2. Yağ Dokusu Kaynaklı Eksozomlar

Adipoz doku (AD), adipokinlerin, hormonların ve son zamanlarda açıklanan salgı mikro-parçacıklarının, yani eksozomların salgılanması yoluyla enerji metabolizmasının yönetiminde yer alan endokrin bir organdır. Eksozomlar, proteinler, lipidler ve RNA gibi olası biyolojik olarak aktif faktörler açısından zengindir. Eksozomların proteom analizinden elde edilen yeni veriler, hücre dışı veziküllerin bileşiminin, beyaz yağ dokusunun (BYD) potansiyel endokrin fonksiyonları hakkında yeni bir bakış açısı sunan klasik BYD protein sekretomundan daha zengin olduğunu göstermektedir. BYD'nin insülin direnci (İR) gelişimindeki merkezi rolü nedeniyle, yağ dokusundan türetilen eksozomlardan gelen proteinler, lipidler ve RNA molekülleri, İR ve tip iki diyabet (T2D) için potansiyel biyobelirteçler olarak hizmet edebilir (Kahn ve ark., 2006). Ayrıca, yağdan türetilmiş eksozomlarda bulunan RNA'lar, hedef hücre proteinlerinin ekspresyonunun düzenlenmesinde doğrudan yer alabilir, bu da sinyal yollarının modifikasyonuna yol açar ve uzak dokuların metabolizmasını hem pozitif hem de negatif olarak etkiler. Membrana bağlı ve çözünür proteinler, lipidler, DNA ve RNA dizileri, küçük nükleer RNA (snRNA), transfer RNA (tRNA) ve mikroRNA'yı (miRNA) içeren BYD'den türetilen eksozomal kargo, insülin duyarlılığı üzerinde hem yararlı hem de olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Ying ve ark., 2021). Örneğin çeşitli dokularda, yağ dokusundan türetilen eksozomal miRNA'lar, miR-29a, miR27a, miR-34, miR-155 ve miR-223, PPAR γ ve IRS1'in baskılanması veya makrofajların M1 polarizasyonu yoluyla metabolik süreçleri etkiler ve insülin direncine neden olabilmektedir (Liu ve ark., 2019). Adipozdan türetilen eksozomlar, BYD depolarının fizyolojik işlevi için, hem in vivo hem de in vitro modellerde D-MKH'lerin uyarılması yoluyla adipogenez destekleyebileyerek eksozomların adipoz doku rejenerasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (Dai ve ark., 2017). Yağ dokusundan türetilen eksozomlar söz konusu olduğunda, proteinler maksimum düzeyde lökositlerin aktivasyonunda ve hücre adezyon moleküllerinin bağlanması yer almıştır. Bu nedenle, MKH'den türetilen eksozomların sadece hazır terapötik ajanlar

sağlamakla kalmayıp aynı zamanda bunların düzenlenmesi için mekanizmalar sağladığı söylenebilir. Bu özellikleri sayesinde mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozom ile kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik bozukluklar, böbrek hastalıkları, karaciğer hastalıkları, kanser ve akciğer hastalıklarının modüle edilmesinde kullanılabilir (Eirin ve ark., 2016).

1.3.3. Umbilikal Kord Dokusu Kaynaklı Eksozomlar

Anne ile fetüsü birbirine bağlayan ve hamilelik sırasında fetüsün beslenmesini sağlayan göbek bağı plasenta kökenlidir ve umbilikal kord dokusu olarak adlandırılmaktadır (Kupcova ve Skalnikova, 2013). Umbilikal kord (UK) dokusunu MKH kaynağı olarak kullanmanın, ağrısız bir toplama işlemi dahil olmak üzere birçok önemli avantajı vardır ve türetilen MKH'ler daha hızlı kendi kendini yenileme kapasitesine sahiptir. Ek olarak, UK-MKH'ler, üç germ tabakasındaki anahtar hücre tiplerine farklılaşma, iltihaplı doku bölgelerine göç etme, doku hasarlarını onarma ve bağışıklık tepkisini düzenleme yeteneğini göstermiştir (Choi ve ark., 2012). İnsan, göbek kordonu dokusundan türetilen MKH'ler, diğer dokulardan türetilen MKH'lere oranla daha güçlü in vitro genişleme ve çok yönlü farklılaşma yeteneklerine sahiptir. UK-MKH'lerden izole edilen eksozomlar, in vitro olarak insan kutanöz damar endotel hücreleri ile birlikte kültürlendiğinde, endotel hücrelerinin tübüler yapısı daha belirgin hale gelebilir ve endotel hücreleri daha iyi göç özellikleri gösterir. UK-MKH eksozomları yeni kan damarı büyümesini destekleyebilir (Zhao ve ark., 2015). İnsan UK kan MKH'lerinin intravenöz enjeksiyonu, spiral ganglion nöronlarının (SGN'ler) sayısını artırarak nörodejeneratif hastalıklarda etkin olduğu ve UK-MKH eksozomlarının daha yüksek seviyelerde fibronektin, galektin-3 ve belirli büyüme faktörleri içeriğinin olduğu bildirilmiştir (Choi ve ark., 2012). UK-MKH'den türetilen eksozomlar, hipoksinin neden olduğu patolojik hasarı düzenleyebilir. Hem koku alma kılıflama hücrelerinin hem de UK-MKH'den türetilmiş eksozomların kombinasyonu da sinir rejenerasyonunu destekler (Li ve ark., 2020).

SONUÇ

Hücre rejenerasyon tedavisini güncelleyen gelecekteki MKH araştırmaları, kişiselleştirilmiş yaklaşım lehine immünolojik veya güvenlik hususlarını ele almalı, farklılaşma ve farklılaşmada büyüme düzenleyicilerinin tam olarak anlaşılması ve bölgeye özgü göç etme, büyük ölçekte biyo-bankacılık stratejileri, daha uygun kaynağa özgü MKH'leri izole etmek için

işaretleyiciler geliştirmelidir. Ek olarak, onkojenik transformasyon riskini en aza indirmek için MKH'lerin uzun vadeli güvenliğine odaklanmak gereklidir (Saeedi ve ark., 2019). Ayrıca, transplantasyondan sonra MKH'lerin hayatta kalmasını iyileştirmek için ön koşullama stratejileri ve genetik manipülasyon bulmak için daha fazla araştırma yapılması önemlidir. MKH'lerin karmaşık biyolojisi ve terapötik potansiyeli daha iyi anlaşıldıkça, bilimsel bilgi ve klinik fayda açısından kazanılacak çok tecrübe olacaktır (Pittenger ve ark., 2019). Mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomlar terapötik ajanlar olarak daha kesin etkiler için manipüle edilebilirler (Nikfarjam ve ark., 2020) Eksozomlar, farklı MKH türlerinden türetilir ve farklı kaynaklardan gelen eksozomların benzersiz özellikleri vardır. Öte yandan, AT-MKH eksozomları yara iyileşmesi için kullanılabilirken (Tofino ve ark., 2017, Tang ve ark., 2021) UK-MKH'den salınan eksozomlar tümör barındırma yeteneğine sahiptir ve ayrıca viral enfeksiyonu ve replikasyonu inhibe edebilir. Yine UK-MKH'den türetilen eksozomların, KI-MKH'den türetilmiş eksozomlardan daha yüksek nörolizin aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir. Bu etki farklılığının, farklı kaynaklardan gelen bu eksozomların işlevi olduğu açıktır. Bununla birlikte, MKH'lerdeki eksozomların fonksiyonel mekanizmaları ve hedef hücreleri hakkındaki detaylar açıklanmaya devam etmektedir. Hastalıkların tedavisinde eksozomların mekanizmasını incelemek, gelecekteki klinik araştırmalar için önemlidir. Yeni bir tedavi konsepti olarak eksozomların özel avantajları vardır. Bir sinyal molekülü olarak, MKH eksozomları yalnızca MKH'lerle aynı etkileri göstermezler, aynı zamanda MKH'lerden daha kararlı bir zar yapısına sahiptirler. Tüm hücre tedavisi ile karşılaştırıldığında, MKH türevli eksozomlar düşük immünojeniteye sahiptir. Bu avantajlar, hastalık tedavisi için daha fazla umut vaat etmektedir (Tang ve ark., 2021),

KAYNAKÇA

- Akbari, A., Jabbari, N., Sharifi, R., Ahmadi, M., Vahhabi, A., Seyedzadeh, S. J., Rezaie, J. (2020). Free and hydrogel encapsulated exosome-based therapies in regenerative medicine. *Life Sciences*, 249, 117447. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117447>
- Aly, R. M. (2020). Current state of stem cell-based therapies: An overview. *Stem Cell Investigation*, 7, 8–8. <https://doi.org/10.21037/sci-2020-001>
- Casado-Diaz, A. (2022). Stem cells in regenerative medicine. *Journal of Clinical Medicine*, 11(18), 5460. <https://doi.org/10.3390/jcm11185460>
- Cheng, L., Zhang, K., Wu, S., Cui, M., & Xu, T. (2017). Focus on mesenchymal stem cell-derived exosomes: Opportunities and challenges in cell-free therapy. *Stem Cells International*, 2017, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/6305295>
- Choi, M. Y., Yeo, S. W., & Park, K. H. (2012). Hearing restoration in a deaf animal model with intravenous transplantation of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 427(3), 629–636. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.09.111>
- Crapnell, K., Blaesius, R., Hastings, A., Lennon, D. P., Caplan, A. I., & Bruder, S. P. (2013). Growth, differentiation capacity, and function of mesenchymal stem cells expanded in serum-free medium developed via combinatorial screening. *Experimental Cell Research*, 319(10), 1409–1418. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2013.04.004>
- Dai, M., Yu, M., Zhang, Y., & Tian, W. (2017). Exosome-Like vesicles derived from adipose tissue provide biochemical cues for adipose tissue regeneration. *Tissue Engineering Part A*, 23(21–22), 1221–1230. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2017.0045>
- Eirin, A., & Lerman, L. O. (2014). Mesenchymal stem cell treatment for chronic renal failure. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(4). <https://doi.org/10.1186/scrt472>
- Eirin, A., Zhu, X.-Y., Puranik, A. S., Woollard, J. R., Tang, H., Dasari, S., ... Lerman, L. O. (2016). Comparative proteomic analysis of extracellular vesicles isolated from porcine adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep36120>
- ExoCarta: Home - Exosome database. (n.d.). Retrieved December 7, 2022, from Exosome database website: <http://www.exocarta.org>

- Fagioli, F., & Ferrero, I. (2015). Mesenchymal stem cell manufacturing for clinical use. In *Progress in Stem Cell Transplantation*. InTech. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.5772/61370>
- Fujita, Y., Kadota, T., Araya, J., Ochiya, T., & Kuwano, K. (2018). Clinical application of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle-based therapeutics for inflammatory lung diseases. *Journal of Clinical Medicine*, 7(10), 355. <https://doi.org/10.3390/jcm7100355>
- Kahn, S. E., Hull, R. L., & Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840–846. <https://doi.org/10.1038/nature05482>
- Kupcova Skalnikova, H. (2013). Proteomic techniques for characterisation of mesenchymal stem cell secretome. *Biochimie*, 95(12), 2196–2211. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.07.015>
- Lai, R. C., Yeo, R. W. Y., Tan, S. S., Zhang, B., Yin, Y., Sze, N. S. K., Lim, S. K. (2012). Mesenchymal stem cell exosomes: The future MSC-based therapy? In *Mesenchymal Stem Cell Therapy* (pp. 39–61). Totowa, NJ: Humana Press. Retrieved from http://dx.doi.org/10.1007/978-1-62703-200-1_3
- Li, C., Shi, M., Zhang, Y., Wang, W.-T., & Gong, C.-R. (2020). Combination of olfactory ensheathing cells and human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes promotes sciatic nerve regeneration. *Neural Regeneration Research*, 15(10), 1903. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.280330>
- Liu, T., Sun, Y.-C., Cheng, P., & Shao, H.-G. (2019). Adipose tissue macrophage-derived exosomal miR-29a regulates obesity-associated insulin resistance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 515(2), 352–358. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.05.113>
- Lyu, H., Xiao, Y., Guo, Q., Huang, Y., & Luo, X. (2020). The role of bone-derived exosomes in regulating skeletal metabolism and extrasosseous diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00089>
- Muthu, S., Bapat, A., Jain, R., Jeyaraman, N., & Jeyaraman, M. (2021). Exosomal therapy—a new frontier in regenerative medicine. *Stem Cell Investigation*, 8, 7–7. <https://doi.org/10.21037/sci-2020-037>
- Nakajima, K., Kunimatsu, R., Ando, K., Ando, T., Hayashi, Y., Kihara, T., Tanimoto, K. (2018). Comparison of the bone regeneration ability between stem cells from human exfoliated deciduous teeth, human

- dental pulp stem cells and human bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 497(3), 876–882. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.156>
- Ng, K. S., Kunczewicz, T. M., & Karp, J. M. (2015). Beyond hit-and-run: Stem cells leave a lasting memory. *Cell Metabolism*, 22(4), 541–543. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.019>
- Nikfarjam, S., Rezaie, J., Zolbanin, N. M., & Jafari, R. (2020). Mesenchymal stem cell derived-exosomes: A modern approach in translational medicine. *Journal of Translational Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02622-3>
- Panda, B., Sharma, Y., Gupta, S., & Mohanty, S. (2021). Mesenchymal stem cell-derived exosomes as an emerging paradigm for regenerative therapy and nano-medicine: A comprehensive review. *Life*, 11(8), 784. <https://doi.org/10.3390/life11080784>
- Pittenger, M. F., Discher, D. E., Péault, B. M., Phinney, D. G., Hare, J. M., & Caplan, A. I. (2019). Mesenchymal stem cell perspective: Cell biology to clinical progress. *Npj Regenerative Medicine*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s41536-019-0083-6>
- Rieu, S., Géminard, C., Rabesandratana, H., Sainte-Marie, J., & Vidal, M. (2000). Exosomes released during reticulocyte maturation bind to fibronectin via integrin $\alpha4\beta1$. *European Journal of Biochemistry*, 267(2), 583–590. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01036.x>
- Saeedi, P., Halabian, R., & Imani Fooladi, A. A. (2019). A revealing review of mesenchymal stem cells therapy, clinical perspectives and Modification strategies. *Stem Cell Investigation*, 6, 34–34. <https://doi.org/10.21037/sci.2019.08.11>
- Tang, Y., Zhou, Y., & Li, H.-J. (2021). Advances in mesenchymal stem cell exosomes: A review. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02138-7>
- Teixeira, F. G., Carvalho, M. M., Sousa, N., & Salgado, A. J. (2013). Mesenchymal stem cells secretome: A new paradigm for central nervous system regeneration? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(20), 3871–3882. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1290-8>
- Tofiño-Vian, M., Guillén, M. I., Pérez del Caz, M. D., Castejón, M. A., & Alcaraz, M. J. (2017). Extracellular vesicles from adipose-derived mesenchymal stem cells downregulate senescence features in osteoarthritic osteoblasts. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2017/7197598>

- Vizoso, F., Eiro, N., Cid, S., Schneider, J., & Perez-Fernandez, R. (2017). Mesenchymal stem cell secretome: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9), 1852. <https://doi.org/10.3390/ijms18091852>
- What is exosome therapy?: Hasan Badday, MD: Pain management specialist. (n.d.). Retrieved December 7, 2022, from <https://www.drhasanbaddaymd.com/blog/what-is-exosome-therapy>
- Yang, Z., Li, Y., & Wang, Z. (2022). Recent advances in the application of mesenchymal stem cell-derived exosomes for cardiovascular and neurodegenerative disease therapies. *Pharmaceutics*, 14(3), 618. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030618>
- Ying, W., Gao, H., Dos Reis, F. C. G., Bandyopadhyay, G., Ofrecio, J. M., Luo, Z., Olefsky, J. M. (2021). MiR-690, an exosomal-derived miRNA from M2-polarized macrophages, improves insulin sensitivity in obese mice. *Cell Metabolism*, 33(4), 781-790.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.12.019>
- Zhao, Y., Sun, X., Cao, W., Ma, J., Sun, L., Qian, H., Xu, W. (2015). Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells relieve acute myocardial ischemic injury. *Stem Cells International*, 2015, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/>

BÖLÜM 14
MİKORİZA YARDIMCI BAKTERİLER

Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK PALA¹

¹ Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye
E-mail: ckucuk@harran.edu.tr Orcid No: 0000-0001-5688-5440

GİRİŞ

Çoğu bitki kökü, mikoriza tarafından kolonize edilmektedir. Mikorizal mantarlar, genellikle bitki büyümesini uyarıcı zorunlu biyotroflardır. Konak kökleri ile simbiyotik ortaklık oluşturduktan sonra, mikoriza çok sayıda spor, ekstraradikal miselyum ve endofitik intraradikal miselyum vb. enfektif propagül üretir. Bu propagüller, mikorizal ortaklıkta inokulum kaynağıdır. Saf kültürlerde, bunların yaşayabilirliği başarılı bir uygulama için oldukça önemlidir. Mantar yapıları, kökler tarafından oluşturulan farklı özelliklere sahip habitata ilave olarak bir "mikorizosfer" oluşturur. Bu habitat seçici olarak bazı bakterilerin varlığını etkilemektedir (Marschner ve Timonen, 2005). Mikorizal yapılar ile bağlantılı olarak hem kültürlenebilir hem de kültürlenemez bakteriler izole edilmiştir ve moleküler yöntemlerle tespit edilmiştir (Xavier ve Germida, 2003; Roesti ve ark., 2005; Scheublin ve ark., 2010). Mikoriza hiflerinin yüzeyinde bakteriyel biyofilm benzeri yapıların oluşumu (Silvani ve ark., 2008; Lecomte ve ark., 2011), bakterilerin mikorizal spor duvarlarına tutunduğu yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir (Cruz ve Ishii, 2012).

Bakterilerin mikorizal propagülleri ile ilişkisi, başarılı mikoriza oluşumunu da büyük ölçüde etkiler. Rizosferdeki mikrobiyal aktivite, esas olarak kök eksüdatları olarak organik materyal salan bitki köklerinin doğrudan etkisi altındadır. Öte yandan, hem serbest hem de simbiyotik olarak yaşayan bitki kökleriyle ilişkili mikroorganizmalar, konukçu bitkinin su ve mineral beslenmesi ve toprak kaynaklı bitki patojenleri ile ilgili stres koşullarına uyum sağlamasına yardımcı olmaktadır (Barea ve ark., 2005).

Mikorizasyona yardımcı olan bu bakteriler, doğrudan veya dolaylı olarak mikorizal simbiyozu teşvik etme yeteneğine sahiptirler. Mikorizasyona yardımcı bakteriler, propagül çimlenmesini ve hif büyümesini artırabildiği gibi spor üretimini de uyarabilir (Xavier ve Germida, 2003). Mikorizasyona yardımcı birçok bakteri bitki besin alımını artıran bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerdir. Fosfat çözücü bakteriler ayrıca mikoriza mantarları ile sinerjik etkileşimler gösterir (Fernandez Bidondo ve ark., 2012). Mikorizasyona yardımcı bakteriler, sadece bitki dokularının farklılaşmasını ve büyümesini uyarabilen değil, aynı zamanda pre-simbiyotik mikorizanın miselyum gelişimini de teşvik edebilen oksinler üretir (Fernandez Bidondo ve ark., 2011). Fungal patojenlerine karşı antagonistik aktiviteye sahip rizosferik bakteriler, mikorizal birliktelik oluşumunu teşvik edebilir (Budi ve ark., 1999). Mikorizal aşılama, rizosferde kitinolitik aktiviteyi uyarır ve *Glomus*

spp.'nin spor duvarına bağlanan çoğu bakteri selüloz ve kitini parçalayabilir (Roesti ve ark., 2005).

Sürdürülebilir tarım, biyolojik etkileşimler ve süreçler yoluyla bitkisel verimliliği, toprak verimliliğini korur ve artırır. Sürdürülebilir tarımsal yönetimde, mikoriza mantarları ile bitki büyümesini teşvik eden mikorizasyona yardımcı bakteri; biyogübreler, biyolojik kontrol ajanları ve toprak stabilizatörleri olarak birlikte aşılabilir. Aktif bir rizosferik topluluğun gelişimi optimal bitki üretkenliği için gerekli olduğundan, fonksiyonel mikroorganizma grupları arasındaki etkileşimlerin bilgisi bitki-toprak dinamiklerini daha iyi anlamak için anahtardır (Barea ve ark., 2005). Uzun bir süre, mikorizal simbiyotik ilişkinin iki taraflı bir etkileşim olduğuna inanılmıştı. Bununla birlikte, doğal koşullar altında, birkaç bakteri ve mantar topluluğunun bu simbiyotik birliktelik ile etkileşime girdiği ve metabolik düzeyde etkilendiği bilinmektedir (Bidondo ve ark., 2016). Mikoriza mantarlarının başlıca üreme biçiminin spor olmasıyla, spor duvarlarının içinde veya üzerinde, sitoplazmasında bakteri barındıran mikoriza sporlarının önemi araştırılmaktadır. Çeşitli cinslere ait olan mikorizasyona yardımcı bu bakteriler, mikoriza-bitki simbiyozunda üçüncü ortak olarak kabul edilmekte, mikoriza ve mikorizasyona yardımcı bakteri içeren aşılarda formüle ederek sürdürülebilir tarımda agronomik verimliliği artırmak için kullanılabilir (Fernandez Bidondo ve ark., 2016). Bu bölümde, biyolojik güçlendiriciler olarak mikorizanın işleyişini olumlu yönde etkiledikleri ve mikorizal simbiyozda kilit roller oynayan mikorizasyona yardımcı bakteriler ile ilgili çalışmalar özetlenmiştir.

1. MİKORİZA

Mikoriza terimi, Yunanca "mantar" ve "kök" kelimelerinden gelmekte ve birçok farklı kök-mantar birlikteliğini tanımlamaktadır. Mikorizalar birçok ortamda bulunur, ekolojik başarıları; mantar endofitlerinin genetik ve fizyolojik yeteneklerindeki yüksek derecede çeşitliliğini yansıtır. Glomeromycotina, Ascomycotina ve Basidiomycotina'da yaklaşık 6000 mikorizal tür kaydedilmiş, moleküler tekniklerin ortaya çıkışı bu sayıyı artırmaktadır (Cruz ve Ishii, 2012).

Bitki ve mantar ortaklarının taksonomik konumu, temel ayrımın endomikorizalar ve ektomikorizalar arasında olduğu mikoriza türlerini tanımlamaktadır. Ağaçlar ve çalılar ile etkileşimli özelliği olan ektomikorizalarda (ECM'ler), hifler hücre dışı kalır ve kök morfogenezinde önemli değişikliklere neden olurken, bunların varlığı epidermal veya kortikal

hücrelerde sadece küçük değişikliklere yol açmaktadır (Barea ve ark., 2005). Endomikorizalarda, yani arbusküler (AM'ler), erikoid ve orkide mikorizalarında hifler; bitki konakçısından bağımsız olarak hücre içi bir simbiyoz oluşturmak için kök hücrelerine nüfuz eder. AM'ler çeşitli bitki taksonları arasında yaygınken (Cruz ve ark., 2008), erikoid ve orkide mikorizaları sırasıyla Ericales takımı ve Orchidaceae familyası ile sınırlıdır (Cruz ve ark., 2008). Erikoid mikorizalarda kolonizasyon basittir: Mantar epidermal hücrelerin içinde gelişir ve bağımsız enfeksiyon birimlerine yol açan sarmallar oluşturur. Orkide mikorizalarında, hifler çoğunlukla kökün iç katmanlarında üretilir (Cruz ve ark., 2008).

Klasik olarak bir mikoriza, her iki partnerin de fayda sağladığı bir etkileşim olarak tanımlanır. Genel olarak, mikorizal mantarların, bitki besin alımını iyileştirdiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Fernandez-Bidondo ve ark., 2012). Hif tarafından rizosferden, mantar yaşam döngüsünün tamamlanması için gerekli olan bitki karbonhidratları alınır. AM mantarları, topraktan inorganik fosfat (Pi) alan ve bitki tarafından alımını sağlayan aktif fosfat taşıyıcılarına sahiptir (Fernandez-Bidondo ve ark., 2012). Bitkiler ayrıca mikorizaya özgü fosfat taşıyıcılara da sahiptir. Görevleri, mantardan Pi almak ve bitki hücrelerine iletmektir. *Medicago truncatula* ile AM simbiyozu sırasında özel olarak ifade edilen ve periarbusküler membranda bulunan bir Pi taşıyıcısı, yalnızca AM mantarı tarafından verilen Pi sadece bitki için gerekli değil, aynı zamanda arbuskül canlılığını korumak ve mantarın gelişimini sürdürmek için de gereklidir (Fernandez-Bidondo ve ark., 2012). Bu nedenle Pi taşınması, kök içinde mantar büyümesini sürdürmek için bir sinyal ve arbuskül morfogenezinin bir belirleyicisi gibi görünmektedir (Fernandez-Bidondo ve ark., 2012). Azot, çoğu mikorizal mantar tarafından alınan diğer önemli elementtir. Mikorizal mantarlarda organik ve inorganik azot alımında yer alan genler tanımlanmıştır (Barea ve ark., 2005). Birçok moleküler ve fizyolojik veri, bitki azot taşıyıcılarının mikorizasyon sırasında aktive olduğunu göstermektedir, bu da mikorizal mantarların konaklarına önemli miktarda azot kazandırdığını gösterir (Barea ve ark., 2005).

2. MİKORİZASYONA YARDIMCI BAKTERİLER

Dupunnois ve Garbaya (1991) tarafından yapılan çalışmada; *Pseudomonas fluorescens* BBC6'nın ektomikorizal ortaklıkta önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Mikoriza oluşumunda rol oynayan bakteriler bu nedenle Garbaya (1994) tarafından mikoriza yardımcı bakteriler (MHB) olarak tanımlanmıştır ve şu anda mikorizalarla etkileşime giren bakteriler

arasında en çok araştırılan gruptur (Frey-Klett ve ark., 2007). Mikorizal ortaklıkta görev alan bazı bakteriler ve konukçu bitkileri Tablo 1 verilmiştir.

Mikorizasyona yardımcı bakterilerin uyarıcı etkisi, çoğunlukla simbiyotik birliktelikler arasında Pb, Zn ve Cd(II) gibi ağır metallerle kontaminasyon gibi değişen streslere maruz kaldığında da değerlendirilmiştir (Bonfante ve Anca, 2009). Frey-Klett ve ark. (2007); mikorizasyona yardımcı bakterilerin başarısını açıklayabilecek bazı mekanizmalar öne sürmüşlerdir. Bu mekanizmalar; mantar sporlarının çimlenmesini, misel büyümesini, artan kök dallanmasını ve daha fazla kök kolonizasyonunu uyarabilen büyüme faktörlerinin üretimini, antagonistik maddelerin detoksifikasyonu ve antagonistlerin inhibisyonu yoluyla toprak aracılı stresin azaltılmasını içermektedir. Yardımcı etkiyi gösteren bir örnek, 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz üreten rizobia tarafından verilir; bu molekül, bitki etilen seviyelerini modüle ederek bitkinin çevresel strese karşı toleransını artırır ve nodülasyonu uyarır (Ma ve ark., 2002). ACC deaminaz üreten *Pseudomonas putida* UW4, hıyar bitkilerine aşılandığında *Gigaspora rosea* ile mikorizasyonu desteklemiştir (Bonfante ve Anca, 2009). Bu arada, bakteriler tarafından üretilen uçucu metabolitler, mikorizal olanlar da dahil olmak üzere toprak mantarlarını etkileyebilmiştir (Bonfante ve Anca, 2009). Bazı mikorizasyona yardımcı bakterilerin faydalı etkileri, mikorizal mantarın gen ekspresyonundaki değişikliklerle ilişkili bulunmuştur. *L.bicolor* S238N ve *P.fluorescens* BBc6R8'i içeren çalışmada, bakteriler mantar büyümesini ve gelişimini uyarılmış, mantar gen ekspresyonunu değiştirmiştir; tanıma süreçlerinde, transkripsiyon düzenlemesinde ve birincil metabolizma proteinlerinin sentezinde potansiyel olarak yer alan genlerin aktivasyonuna yol açmıştır (Battini ve ark., 2016a). *Streptomyces* sp. AcH 505, temel hücre büyüme süreçlerine etki ederek *Amanita muscaria*'da hif büyümesini ve ladinde simbiyoz oluşumunu desteklemiştir (Sangwan ve Prasanna, 2022).

3. MİKORİZA İLE MİKORİZASYONA YARDIMCI BAKTERİ İLİŞKİSİ

Mikorizanın bitki kökleri ile simbiyotik ilişkisi, bu karmaşık birliktelikteki üçüncü ortaktan, yani mikorizal simbiyozunun işleyişini, hissel büyümesini, spor çimlenmesini, kök kolonizasyonunu ve mikorizanın metabolik uygunluğunu destekleyebilen mikorizasyona yardımcı bakteri adı verilen bir bakteri grubu tarafından etkilenir. Yardımcı bakterilerin bu özelliklerinin ilk belirlenmesi, *Pseudomonas fluorescens* BBc6'da tanımlanmış, mikorizasyona yardımcı bakteri teriminin ortaya çıkmasına yol

açmıştır (Garbaye, 1994). Frey-Klett ve ark. (2007), fonksiyon modlarına göre iki mikorizasyona yardımcı bakteri grubunu sınıflandırmıştır: halihazırda kurulmuş bir mikorizal simbiyozunun işleyişini etkileyen mikoriza yardımcı bakteriler ve mikorizanın konukçu bitki kökleriyle simbiyotik ilişkisinin oluşumunu uyarayan mikoriza yardımcı bakteriler (Deveau ve Labbe, 2017).

Bugüne kadar tanımlanan mikorizasyona yardımcı bakteri, Gram-negatif Proteobakteriler (*Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* ve *Rhizobium*), Gram-pozitif Actinobacteria (*Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Arthrobacteria*) ve Firmicutes (*Bacillus*, *Brevibacillus* ve *Paenibacillus*) olarak kategorize edilmiştir (Sangwan ve Prasanna, 2022).

Bazı mikorizasyona yardımcı bakteriler, mikoriza oluşumunu daha az spesifik olarak uyarayan diğer mikorizasyona yardımcı bakteri gruplarının aksine, mantar partnerleriyle birlikte gelişen oldukça spesifik etkileşim mekanizmalarını kullanır. Ancak, çeşitli raporlar mikorizasyona yardımcı bakterinin bitki büyümesini teşvik edici aktivitelerini de belgelemiştir (Deveau ve Labbe, 2017); bu nedenle mikorizasyona yardımcı bakterinin faydalı etkileri her zaman mikorizal birlikteliklerin oluşumu ve işleyişi ile sınırlı olmayabilir. Son zamanlarda, mikorizasyona yardımcı bakteri ve arbüsküler mikoriza arasındaki sinerjinin, kirlenmiş tarım topraklarında yetişen bitkilerle ve ayrıca fitoremediasyon faaliyetleriyle etkileşimi yakın zamanda rapor edilmiştir (Guarino et al., 2020). Petrol hidrokarbonları ile kirlenmiş toprağın fitoremediasyonu, iki bitki türünde, *Oloptum miliaceum* ve *Pennisetum setaceum*'da değerlendirilmiştir. Bu hidrokarbon parçalama işlemi, enzimatik aktivitelerin rizosferde arbüsküler mikoriza (AM) tarafından uyarılmasına ilave olarak, iyi emülsifikasyon aktivitesine sahip rizobakteriler tarafından gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, lipolisakkarit, ACC deaminaz üretimi olan ve sideroforları sentezleyebilen bakterilerin seçilmesinin, petrol hidrokarbonları gibi inatçı molekülleri ayırtırmak için etkili bir strateji olacağını ileri sürmüştür (Hidri ve ark., 2019).

Tablo 1: Mikorizal ortaklıkta bazı mikoriza yardımcı bakteriler

Mikorizasyona yardımcı bakteri	Mikorizal fungi	Konukçu bitki	Kaynak
<i>Agrobacterium rhizogenes</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Rhizobium leguminosarum</i>	<i>Glomus intraradices</i>	arpa, buğday	Fester ve ark. (1999)

<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Glomus mosseae</i>	domates	Gamalero ve ark. (2004)
<i>Paenibacillus brasilensis</i>	<i>Glomus mosseae</i> , <i>Glomus intraradices</i>	yonca	Artursson ve ark. (2005)
<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> <i>Variovorax paradoxus</i>	<i>Glomus</i> sp.	bezelye	Belimov ve ark. (2020)
<i>Pseudomonas reactans</i> <i>Pantoea alli</i>	<i>Rhizoglomus irregulare</i>	Mısır	Moreira ve ark. (2020)
<i>Alcaligenes</i> sp. <i>Brevibacterium</i> sp.	<i>Glomus mosseae</i>	Havuç	Nepomuceno ve ark. (2019)
<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Azospirillum lipofrum</i>	<i>Glomus mosseae</i> <i>G.etunicatum</i>	ceviz	Behrooz ve ark. (2019)

Bitki büyümesini teşvik eden bir rizobakteri (*Variovorax paradoxus* 5C-2), azot sabitleyici bir *Rhizobium* suşu (*Rhizobium leguminosarum* by *viciae* RCAM1066) ve bir AM mantarından (*Glomus* sp. 1Fo) oluşan mikrobiyal konsorsiyum bezelye bitkilerinde (*Pisum sativum* L.) kadmiyum birikimi ve toleransını stimüle etmeyi başarmıştır. (Belimov ve ark., 2020). Ceviz bitkilerinde su stresi üzerine etkilerini araştırmak için AM ve mikorizasyona yardımcı bakteri karışımı Behrooz ve ark. (2019) tarafından değerlendirilmiştir. Araştırmacılar; *Glomus mosseae* ve *G.etunicatum* ile birlikte *Azotobacter chroococcum* ve *Azospirillum lipofrum* bakteri karışımları ile mikroorganizmaların tek inokulumlarını kullanmışlardır. Sonuçlar, mikrobiyal konsorsiyumun birlikte aşılmasının, her bir mikroorganizmanın ayrı aşılmasıyla karşılaştırıldığında, kuraklık stresinin ceviz fideleri üzerindeki olumsuz etkilerini (azalmış büyüme ve N, P ve Zn gibi yaprak besin içeriği) hafiflettiğini göstermiştir. Bu nedenle, AM ve mikorizasyona yardımcı bakterinin aynı anda uygulanması, toplam fenolik içerik, prolin seviyesi, toplam çözünür şeker ve nişasta içeriği gibi su stresi toleransında yer alan bazı metabolitlerin üretimini arttırmıştır. Benzer şekilde, aşılınmış bitkiler peroksidaz enzim aktivitelerini iyileştirmiştir (Behrooz ve ark., 2019; Vivas ve ark., 2003).

Tuz stresinin tarımsal üretim üzerinde ciddi olumsuz etkileri vardır. Toprak tuzluluğunun etkileri, bitkilerdeki kuraklığa benzer etkilere sahiptir ve bu nedenle tepkiler de benzerdir (Forni ve ark., 2017). Örneğin, hem kuraklık hem de yüksek tuz, ozmoprotektanların biyosentezinin uyarılmasına ve antioksidan enzimlerin aktivasyonuna neden olur. Ancak tuzlu su stresi, su

stresinden farklı olarak, tuzların (Na^+ , Cl^-) konsantrasyonunu artırarak bu iyonların dengesizliğine neden olmakta, sonuçta gen ekspresyonunda ve hücrel metabolizmada değişikliklere neden olur (Hu ve Schmidhalter, 2005). AM ve bakterinin birlikte aşılama üzerine ayrı ayrı yapılan çalışmalarda; bitkilerde aşırı tuzun neden olduğu toksik etkilerin hafifletilmesinde iyileşmeler göstermiştir (Porcel ve ark., 2012; Ilangumaran ve Smith, 2017; Orozco-Mosqueda ve ark., 2020). Bununla birlikte, her iki mikroorganizma grubunun aynı anda aşılmasının sinerjik olabileceğine dair kanıtlar da vardır (Lee ve ark., 2015; Santoyo ve ark., 2021). *Rhizoglossus* ile birlikte *Pseudomonas* ve *Pantoea* cinsi bakterilerin birlikte aşılmasının, mısır bitkilerinin (*Zea mays*) azot ve magnezyum dahil besin içeriği üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir. Araştırmacılar karışık aşının (*Rhizoglossus*, *Pseudomonas* sp. ve *Pantoea* sp.) mısır bitkilerinde tuz stresini gidermenin etkili bir yolu olduğu sonucuna varmışlardır (Moreira ve ark., 2020).

Glomus mosseae ve *G.fasciculatum* bazlı aşı değerlendirilmiş, kimyasal gübrelerin uygulanmasını %50-100 oranında azaltmış ve diğer büyümeyi teşvik eden bakteri (*Alcaligenes* sp., *Lichtheimia* sp. ve *Brevibacterium* sp.) ile birlikte, soğan bitkilerini toprak kaynaklı patojen *Sclerotium rolfsii*'nin zararına karşı korumuştur (Nepomuceno ve ark., 2019). Elde edilen sonuçlar; ne mikoriza ne de bakterilerle yapılan aşılamanın soğan bitkilerine ayrı ayrı koruma sağlamadığını ve hastalık oranını % 20'den % 40'a düşürmek için her iki mikroorganizmanın birlikte kullanımının gerekli olduğunu göstermiştir.

Garbaye ve Bowen (1989) mikorizal funginin çevresinde bulunan bakteriyal kolonilerin çoğunluğunun floresan *Pseudomonas* grubuna karşılık geldiğini belirlemişlerdir, bakterilerin % 80'i mikoriza oluşumuna olumlu etki yaparken, sadece % 20'si etkisiz veya inhibe edici özellik göstermiştir (Garbaye, 1994). Garbaye'e (1994) göre, mikorizasyona yararlı bakterinin bitkiye özgü olmadığı, ancak mantar türleri konusunda seçici olduğu açıklanmıştır. Doğal ekosistemlerde mikorizasyona yararlı bakteriler, arbüsküler mikorizal funginin işleyişini olumlu yönde etkileyen çeşitli ve aktif bakteri topluluklarından oluşur. Mikorizosferde, mikorizal mantarları çevreleyen bölge, kolonize kökler, sporlar ve ilgili biyofilm benzeri yapılar dahil toprakta bulunan ilişkili miselyumda belgelenmiştir (Cruz ve Ishii, 2012). Farklı mikorizal taksonlarının sporları, hem kültüre bağımlı hem de kültürden bağımsız yöntemlerle α -, β - ve γ -Proteobacteria, Actinobacteria, Bacillales, Burkholderiales, Actinomycetales, Rhizobiales ve Pseudomonadales olarak; *Pseudomonas*, *Flexibacter*, *Cellvibrio*,

Chondromyces ve *Lysobacter* gibi spesifik cinslere ait olduğu tanımlanmış çok sayıda ilişkili bakterileri içermektedir (Sangwan ve Prasanna, 2022; Bonfante ve Anca, 2009). Araştırmacılar; *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* gibi cinslerin varlığını belgelemiştir (Sangwan ve Prasanna, 2022; Scheublin ve ark., 2010). *Gigaspora margarita* sporlarının sitoplazmalarında endobakteriler olarak *Burkholderia*'ı barındırdığı rapor edilmiştir, *Candidatus Glomeribacter gigasporarum* olarak yeniden adlandırılmıştır (Jargeat ve ark., 2004). Mikorizasyona yararlı bakterinin *Glomus clarum* NT4, *Glomus versiforme*, *Gigaspora margarita*, *Funneliformis mosseae* ve *Rhizophagus intraradices*'in spor hücre duvarının katmanlarına entegre olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Battini ve ark., 2016b; Cruz ve ark., 2008; Fernandez Bidondo ve ark., 2011; Sangwan ve Prasanna, 2022).

Mikoriza sporları ile ilişkili mikorizasyona yararlı bakterinin, spor çimlenmesini, mikoriza hiflerinin büyümesini ve kök kolonizasyonunu teşvik ederek mikorizanın konakçısı ile simbiyotik ilişkisini kurmada önemli bir role sahip olduğu, bunun yanı sıra hücrenin metabolik profilini genişlettikleri gösterilmiştir (Bidondo ve ark., 2016; Garbaye, 1994). Mikorizasyona yararlı bakterinin, arbüsküler mikorizal fungi ile kök kolonizasyonunu, Simbiyotik ortaklık öncesi mikorizanın misel büyümesini teşvik ederek, AMF ile bitki konakçısı arasındaki sinyal iletişimini artırdığı böylece kök alıcılığını iyileştirdiği saptanmıştır. Ayrıca bakterilerin çeşitli enzimler üreterek, örn. kitinaz, proteaz, selüloz ve EPS, sporlarla olası etkileşim alanlarını arttırmakta, sporların hayatta kalmasını/olgunlaşmasını ve çimlenmesini teşvik etmekte, konak bitki ile simbiyotik ilişkiyi geliştirmek için AMF'nin protein ve lipid profillerini modüle ettiği bildirilmiştir. Ayrıca mikorizasyona yardımcı bakterinin; topraktan besinlerin mobilizasyonunu arttırdığı, fosfor çözünürlüğünü ve alımını teşvik ettiği, antibiyotik üretimi yoluyla patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiği, etilen üretimini teşvik ettiği, kuraklık, tuzluluk, ağır metallerle kirlenmiş alanlar gibi abiyotik stresinin etkilerini hafiflettiği rapor edilmiştir (Sangwan ve Prasanna, 2022).

Glomus intraradices adıyla bilinen *Glomus clarum* ve *Rhizophagus* sporları ile ilişkili mikoriza yardımcı bakterinin etkileri, bezelye-AMF simbiyozunda spor çimlenmesi ile ilgili olarak incelenmiştir, bu da mikorizasyona yararlı bakterinin çeşitli uçucu ve uçucu olmayan bileşikler ürettiğini, sporların çimlenmesini düzenlediğini göstermiştir (Battini ve ark., 2016b). Hildebrandt ve ark. (2006), *Rhizophagus* sporlarının çimlenmesini hızlandıran *Paenibacillus validus*'un bir karbon kaynağı olarak rafinozun

ortamda bulunmasının etkili olduğunu tespit etmiştir. *Bradyrhizobium japonicum*'un, *Funneliformis mosseae*-soya fasulyesi endomikorizal simbiyozunu uyaran birkaç nod faktörü ürettiği bilinmektedir (Xie ve ark., 1995). *Glomus fistulosum* hiflerinin büyüme hızı, *Pseudomonas putida* veya onun kültür süpernatantı ile birlikte aşılandığında önemli ölçüde artmıştır (Vosatka ve Gryndler, 1999). Mikorizasyona yararlı bakteriler; fosforu çözme, etilen üretme ve antagonistik etkinlikleri aracılığıyla mikorizal hif büyümesine katkıda bulunmaktadır (Sangwan ve Prasanna, 2022). Mikorizofirik *Paenibacillus* sp. B2 suşunun *Sorghum bicolor*'da *Funneliformis mossee*'nin kök kolonizasyonunu uyardığı ve toprak kaynaklı patojenlerden *Phytophthora parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp.'nin gelişimini baskıladığı incelenmiştir (Budi ve ark., 1999; Sangwan ve Prasanna, 2022). Mikorizasyona yardımcı bakteriler, mikorizal gelişimi teşvik edip, mikoriza ile simbiyoz oluşumunu teşvik eder, antagonistik patojenlerinin etkisini azaltırlar (Singh ve ark., 2019). Mikorizasyona yararlı bakteri olarak tanımlanan birçok mikorizal tür ile ilişkili bakteri, toprak kaynaklı patojenlere karşı antagonistik aktivite göstermiştir (Toro ve ark., 1997).

Mikoriza yüzeyine yapışan mikorizasyona yardımcı bakterilerin biyofilmleri sadece metabolik aktiviteleri açısından fayda sağlamakla kalmaz, aynı zamanda ekolojik sağlığın korunmasına da yardımcı olur. Mikorizasyona yardımcı bakterilerin çoğu, biyofilm oluşturan filamentli hiflerin yüzeyini kolonize eder, çünkü hiposfer zengin bir beslenme bölgesidir ve mikroorganizmalar için tercih edilen bir niştir (Frey-Klett ve ark., 2011). Bu biyofilmler, mikorizadan besinlere erişimin yanı sıra çeşitli biyotik ve abiyotik streslerden korunan ilişkili bakteriler için güvenli bir niş oluşturdukları için doğal bir avantaja sahiptir. Havuç köklerinde, *Pseudomonas fluorescens* tarafından *Rhizophagus irregularis*'in ekstraradikal miselleri üzerinde biyofilm oluşturulmuştur (Bianciotto ve ark., 2001). Omirou ve ark. (2016), *Vigna unguiculata*'da (börülce) bir mikoriza mantarı ve bir *Bradyrhizobium* izolatının birlikte aşılmasının, tek bir aşılama işlemine göre mikoriza kolonizasyonunda ve bitki büyümesinde önemli artışa neden olduğunu bildirmiştir.

4. SONUÇ

Mikorizasyona yardımcı bakteriler tarafından indüklenen ve mikobiyantın büyümesini teşvik etmede rol oynayan moleküler mekanizmalar hakkında çok az şey bilinmektedir. Moleküler yaklaşımların kombinasyonu

mikoriza ile ilişkili bakterilerin tanımlanmasına ve fonksiyonel karakterizasyonuna izin verebilir, ancak mikorizasyona yardımcı bakterilerin etkilerini göstermek ve mekanizmalarını incelemek için kültüre dayalı yöntemler gerekli olmaya devam etmektedir. Mikoriza ile ilişkili bakterilerin besin alımı, köklerin fitopatojenlere karşı korunması ve bitkinin büyüme faktörleri ile beslenmesi gibi mikorizal fonksiyonlara katkısı daha fazla araştırılmalıdır. Bu araştırmalar şüphesiz mikorizal simbiyozların fizyolojisine, ekolojisine ve evrimsel biyolojisine yeni bir boyut sağlayacaktır. Tarım ve ormancılıkta mikorizasyon uygulamaları yeniden gözden geçirilmelidir: yardımcı bakteriler, mantar aşularının etkinliğini düşük bir maliyetle artırabilir, çünkü bakterilerin ticari miktarlarda üretilmesi çoğu mikorizal mantardan daha kolaydır. Toprak kirliliğine ilişkin artan endişe ve bunun sonucunda bitki üretiminde kimyasal girdiyi azaltmaya yönelik eğilim, kontrollü mikorizasyon veya mikrobiyal biyoremediasyon gibi daha çevre dostu uygulamaları, örneğin kirletici bakterilerin taşıyıcıları olarak mikorizal mantarların kullanılması teşvik edilmelidir. Genomik gelişimin desteklediği bu bilimsel ve pratik uygulamaların birleşmesi, mikorizasyona yararlı bakterinin gelecekteki mikoriza araştırmalarının ön safhalarına yerleştirmek ve ekosistemlerdeki mantar-bakteriyel etkileşimlerin alanını artırmak için eşsiz bir fırsatı sunabilir.

Kültürlenemeyen bakterilerin çeşitliliğini ortaya çıkarmak, mikoriza ile doğrudan ilişkili yeni bakteriyom/mikrobiyomun tam belirlenebilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır, çünkü bugüne kadar literatürde bildirilen mikorizasyona yardımcı bakterilerin çoğu kültürlenebilir temsilcilerdir. Bu tür birlikler arasındaki moleküler etkileşimler, biyofilm oluşumu sürecinde yer alan genler üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bakteri-biyofilm etkileşimleri ve biyofilm-kök biyolojisi hakkındaki detaylı bilgiler seçilmiş bakteri ve mikoriza türlerinin bitki konakçıları ile derinlemesine çalışmalarıyla elde edilebilir. Geleneksel kültüre bağlı yaklaşımların ve metagenomik analizlerin bir kombinasyonu, bu tür biyo-filmelerin işlevsel rollerinin anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Bu durum, mikoriza-bakteri-bitki simbiyozlarına yararlı ve umut verici katkılar olarak hizmet edebilecek, ekolojik sağlığı iyileştirme veya bozulmuş habitatların restorasyonu veya kirli habitatların biyolojik olarak iyileştirilmesi girişimlerinde değerli olacaktır.

KAYNAKÇA

- Artursson, V. 2005. Bacterial–fungal interactions highlighted using microbiomics: potential application for plant growth enhancement. PhD thesis, University of Uppsala, Uppsala, Sweden
- Barea, J.M., Azcon, R., Azcon-Aguilar, C. (2005). Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. In: Buscot, F., Varma, A. (Eds.), *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 195–252.
- Battini, F., Bernardi, R., Turrini, A., Agnolucci, M., Giovannetti, M. (2016a). *Rhizophagus intraradices* or its associated bacteria affect gene expression of key enzymes involved in the rosmarinic acid biosynthetic pathway of basil. *Mycorrhiza*. 26: 699–707
- Battini, F., Cristani, C., Giovannetti, M., Agnolucci, M. 2016b. Multifunctionality and diversity of culturable bacterial communities strictly associated with spores of the plant beneficial symbiont *Rhizophagus intraradices*. *Microbiol Res*. 183:68–79
- Behrooz, A., Vahdati, K., Rejali, F., Lotfi, M., Sarikhani, S., Leslie, C. 2019. Arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting bacteria alleviate drought stress in walnut. *HortScience*. 54:1087–1092.
- Belimov, A. A., Shaposhnikov, A. I., Azarova, T. S., Makarova, N.M., Safronova, V.I., Litvinskiy, V.A., Nosikov, V.A., Zavalin, A.A., Tikhonovich, I.A. 2020. Microbial consortium of PGPR, rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungus makes pea mutant SGECdt comparable with indian mustard in cadmium tolerance and accumulation. *Plants*. 9: 1–21.
- Bianciotto, V., Andreotti, S., Balestrini, R., Bonfante, P., Perotto, S. 2001. Mucoid mutants of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0 show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots. *Mol Plant Microbe Interact*. 14:255–260
- Bidondo, L.F., Colombo, R., Bompadre, J., Benavides, M., Scorza, V., Silvani, V., Pergola, M., Godeas, A. 2016. Cultivable bacteria associated with infective propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. Implications for mycorrhizal activity. *Appl Soil Ecol*. 105: 86–90
- Bonfante, P., Anca, J.A. 2009. Plants, Mycorrhizal Fungi, and Bacteria: A Network of Interactions. *Annu. Rev. Microbiol*. 63: 363–83
- Budi, S.W., van Tuinen, D., Martinotti, G., Gianinazzi, S. 1999. Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular. *Appl. Environmen. Microbiol*. 65:5148–5150.
- Cruz, A.F., Horii, S., Ochiai, S., Yasuda, A., Ishii, T. 2008. Isolation and analysis of bacteria associated with spores of *Gigaspora margarita*. *J Appl Microbiol*. 104:1711–1717

- Cruz, A.F., Ishii, T. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal spores host bacteria that affect nutrient biodynamics and biocontrol of soil-borne plant pathogens. *Biol. Open.* 1: 52–57.
- Deveau, A., Labbe, L. 2017. Mycorrhiza helper bacteria. In: Martin F (ed) *Molecular Mycorrhizal Symbiosis*. John Wiley & Sons Inc, Hoboken, pp. 437–450
- Duponnois, R., Garbaye, J. 1991. Mycorrhization helper bacteria associated with the Douglas fir–*Laccaria laccata* symbiosis: effects in aseptic and in glasshouse conditions. *Ann. Sci. For.* 48: 239–51
- Fernandez Bidondo, L., Bompadre, J., Pergola, M., Silvani, V., Colombo, R., Bracamonte, F., Godeas, A. 2012. Differential interaction between two *Glomus* intraradices strains with different extraradical mycelium architecture and a phosphate solubilizing bacterium in maize rhizosphere. *Pedobiologia* 55: 227–232.
- Fernandez Bidondo, L., Silvani, V., Colombo, R., Pergola, M., Bompadre, J., Godeas, A. 2011. Pre-symbiotic and symbiotic interactions between the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus intraradices* and two *Paenibacillus* species associated with AM intraradical mycelia and spores. *Soil Biol. Biochem.* 43: 1866–1872.
- Fester, T., Maier, W., Strack, D. 1999. Accumulation of secondary compounds in barley and wheat roots in response to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus and co-inoculation with rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza.* 8: 241–246
- Forni, C., Duca, D., Glick, B.R. 2017. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil.* 410: 335–356.
- Frey-Klett, P., Burlinson, P., Deveau, A., Barret, M., Tarkka, M., Sarniguet, A. 2011. Bacterial-fungal interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. *Microbiol Mol Biol Rev.* 75: 583–609
- Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M. 2007. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* 176: 22–36
- Gamalero, E., Trotta, A., Massa, N., Copetta, A., Martinotti, M.G., Berta, G. 2004. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza.* 14: 185–192.
- Garbaye, J. (1994). Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol* 128:197–210
- Garbaye, J.; Bowen, G.D. 1989. Stimulation of mycorrhizal infection of *Pinus radiata* by some microorganisms associated with the mantle of ectomycorrhizas. *New Phytol.* 112: 383–388
- Guarino, C., Marziano, M., Tartaglia, M., Prigioniero, A., Postiglione, A., Scarano, P., Sciarrillo, R. 2020. Poaceae with PGPR bacteria and

- arbuscular mycorrhizae partnerships as a model system for plant microbiome manipulation for phytoremediation of petroleum hydrocarbons contaminated agricultural soils. *Agronomy*. 10: 1–17.
- Hildebrandt, U., Ouziad, F., Marner, F.J., Bothe, H. 2006. The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores. *FEMS Microbiol Lett.* 254: 258–267
- Hu, Y., Schmidhalter, U. 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168: 541–549.
- Jargeat, P., Cosseau, C., Ola'h, B., Jauneau, A., Bonfante, P., Batut, J., Becard, G. 2004. Isolation, free living capacities, and genome structure of “*Candidatus Glomeribacter gigasporarum*”, the endocellular bacterium of the mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *J Bacteriol.* 186: 6876–6884
- Ilangumaran, G., Smith, D.L. 2017. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. *Front. Plant Sci.* 8: 1768.
- Lecomte, J., St-Arnaud, M., Hijri, M. 2011. Isolation and identification of soil bacteria growing at the expense of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Lett.* 317: 43–51.
- Lee, Y., Krishnamoorthy, R., Selvakumar, G., Kim, K., Sa, T. 2015. Alleviation of salt stress in maize plant by co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* CBMB20. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 58: 533–540.
- Hidri, R., Mahmoud, O.B., Farhat, N., Cordero, I., Pueyo, J.J., Debez, A., Barea, J.M., Abdelly, C., Azcon, R. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungus and rhizobacteria affect the physiology and performance of *Sullo coronaria* plants subjected to salt stress by mitigation of ionic imbalance. *Plant Nutr. Soil Sci.* 182: 451–462.
- Ma, W., Penrose, D.M., Glick, B.R. 2002. Strategies used by rhizobia to lower plant ethylene levels and increase nodulation. *Can. J. Microbiol.* 48: 947–54
- Marschner, P., Timonen, S. 2005. Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere. *Appl. Soil Ecol.* 28: 23-36
- Moreira, H., Pereira, S.I.A., Vega, A., Castro, P.M.L., and Marques, A.P.G.C. 2020. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria benefit maize growth under increasing soil salinity. *J. Environ. Manage.* 257: 109982.
- Nepomuceno, R.A., Brown, C.M.B., Mojica, P.N., Brown, M.B. 2019. Biological Control Potential of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Root Inoculant (VAMRI) and associated phosphate solubilizing bacteria,

- Pseudochrobactrum asaccharolyticum* against soilborne phytopathogens of Onion (*Allium cepa* L. var. Red Creole). Arch. Phytopathol. Plant Prot. 52: 714–732.
- Omirou, M., Fasoula, D.A., Ioannides, I.M. 2016. *Bradyrhizobium* inoculation alters indigenous AMF community assemblages and interacts positively with AMF inoculum to improve cowpea performance. Appl. Soil Ecol. 108: 381-389
- Orozco-Mosqueda, M.D.C., Glick, B.R., Santoyo, G. 2020. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops. Microbiol. Res. 235:126439.
- Porcel, R., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M. 2012. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. Agron. Sustain. Dev. 32: 181–200.
- Roesti, D., Kurt, I., Olivier, B., Dirk, R., Andres, W., Michel, A. 2005. Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. Applied and Environ. Microbiol. 71: 6673-6679.
- Sangwan, S., Prasanna, R. 2022. Mycorrhiza helper bacteria: Unlocking their potential as bioenhancers of plant arbuscular mycorrhizal fungal associates. Microbial Ecology. 84: 1-10.
- Santoyo, G., Guzman-Guzman, P., Parra-Cota, F.I., Santos-Villalobos, S., de los Orozco-Mosqueda, M., del, C., Glick, B. R. 2021. Plant growth stimulation by microbial consortia. Agron. 11: 219.
- Scheublin, T.R., Sanders, I.R., Keel, C., van de Meer, J.R. 2010. Characterisation of microbial communities colonising the hyphal surfaces of arbuscular mycorrhizal fungi. ISME J. 4:752–763.
- Silvani, V.A., Fracchia, S., Fernandez, L., Pergola, M., Godeas, A. 2008. A simple method to obtain endophytic microorganisms from field-collected roots. Soil Biol. Biochem. 40:1259-1263.
- Singh, A., Kumar, R., Singh, D. 2019. Mycorrhizal fungi as biocontrol agent for soil borne pathogens: a review. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 1:281–284
- Toro, M., Azcon, R., Barea, J.M. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (P32) and nutrient cycling. Appl Environ. 63: 4408–4412
- Vivas, A., Marulanda, A., Ruiz-Lozano, J.M., Barea, J.M., Azcon, R. 2003. Influence of a *Bacillus* sp. on physiological activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEG- induced drought stress. Mycorrhiza. 13: 249–256
- Vosatka, M., Gryndler, M. 1999. Treatment with culture fractions from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation.

Appl Soil Ecol. 11: 245–251

Xavier, L.J.C., Germida, J.J. 2003. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. Soil biology and Biochem. 35: 471-478.

Xie, Z.P., Staehelin, C., Vierheilig, H., Wiemken, A., Jabbouri, S., Broughton, W.J., Vogeli-Lange, R., Boller, T. 1995. Rhizobial nodulation factors stimulate mycorrhizal colonization of nodulating and nonnodulating soybeans. Plant Physiol 108: 1519–1525

BÖLÜM 15

MOLEKÜLER TÜR TANIMLAMASINDA BİR ARAÇ OLARAK DNA BARKODLAMA

Dr. Ayşe Nur PEKTAŞ¹

Dr. Öğr. Üyesi Şeyda BERK^{1,2}

¹ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Sivas, Türkiye. e-posta:aysenurpektas@cumhuriyet.edu.tr
ORCID ID: 0000-0001-5621-2844

² Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Fen Fakültesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, 58140, Sivas, Türkiye.e-posta:sberk@cumhuriyet.edu.tr
ORCID ID: 0000-0003-4687-0223

GİRİŞ

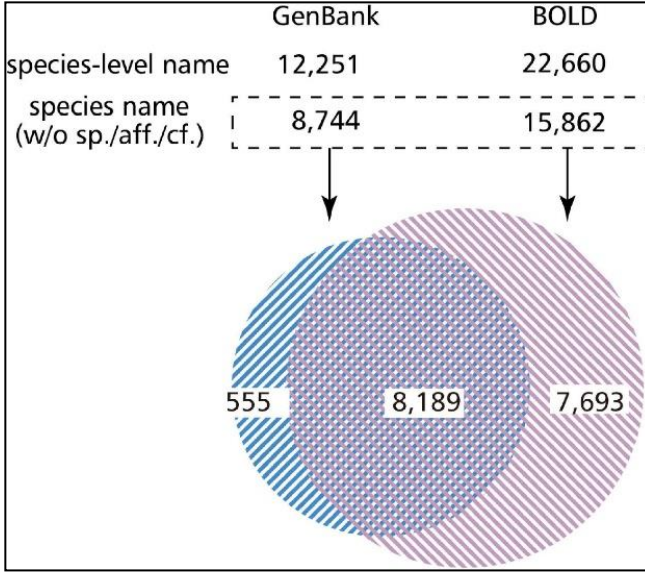
Türlerin taksonomik tanımlamasında DNA kullanma kavramı ilk olarak Hebert ve Gregory tarafından önerilmiştir (P. D. Hebert ve ark., 2003). DNA barkodlama kavramı, türleri birbirinden ayırmak için kullanılabilen "küçük standart DNA dizisi" anlamına gelir. Genomda seçilmiş spesifik bölgelerin PCR amplifikasyonuna dayanan ve tür tanımlaması için kullanılan bir tekniktir. İlk barkodlama çalışmasından bu yana 6000'in üzerinde barkodlama makalesi yayınlanmıştır (Dormontt ve ark., 2018). Türlerin yaşam formlarını birbirinden ayırt edebildiği bir barkodlama bölgesi fikri hızla benimsenmiştir. Daha sonra diğer organel bölgelerinin, işaretleyicilerin ve ilgili primer setlerinin de barkodlama için kullanılabileceği düşüncesiyle barkodlama çalışmaları genişlemiştir (Bohmann ve ark., 2020).

Temel olarak, barkodlama, moleküler karakterizasyon yoluyla kesin tanımlamaya izin vermede her biri diğeri kadar dolaylı olarak hayati önem taşıyan iki temel öge içerir. Bunlar bilinmeyen ve hedeftir. Bilinmeyen, normalde kaynağı bilinmeyen (yaklaşık 650 baz çifti) kısmi bir COI dizisiyle temsil edilirken, hedef önceden belirlenmiş (tipik olarak morfoloji ve tercihen tür düzeyine göre) veri tabanında veya başka bir depoda bulunan bir COI dizisidir. DNA barkodlamanın amacı, ekosistemimizdeki türlerin çeşitliliğini tanımaya yardımcı olmaktır ve bu amaca ulaşmak için tür düzeyinde tanımlama çok önemlidir (Kvist, 2013).

1. BARKODLAMA VERİ TABANLARI

DNA barkodlama, genetik işaretleyiciler olarak DNA barkod dizilerini ve DNA barkodu tarafından tanımlanan tür bilgilerini (veya türleri tanımlamak için gereken numune bilgilerini) sorgulamak için bir veri tabanı gerektirir. **BOLD**, hayvanlar ve bitkiler için popüler bir DNA barkod veri tabanıdır (Ratnasingham & Hebert, 2007) ve **UNITE3** de mantarlar için kullanılır (Nilsson ve ark., 2019). DNA barkodları ayrıca DNA sekansı özelliklerini içerir; bu nedenle DNA barkodları, **NCBI** (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi, ABD) **GenBank Nucleotide** veri tabanında da depolanmıştır. **BOLD** ve **GenBank Nucleotide**, DNA barkod verilerini ayrı ayrı toplar ve verileri birbirinden alır. Ancak arka planlarındaki farklılıktan dolayı içerikleri farklıdır. Örneğin bir türün barkod bilgisi hem **BOLD** hem de **GenBank** veritabanında olabilir ya da sadece tek bir veri tabanına kaydedilmiş de olabilir. Şekil 1 de balık türlerinin barkod verisi ile ilgili iki veri tabanındaki barkodların paylaşımı gösterilmiştir. Nakazato ve Jinbo (2022), çalışmalarında balık türlerinde **BOLD** ve **GenBank**'ın kaç türü kapsadığını ve

bu veri tabanlarında kaç türün örtüştüğünü araştırmışlardır. Veri tabanlarında türler genellikle tür düzeyinde tanımlanmaz (örneğin, sp. veya aff.). GenBank'ın kapsadığı türlerin çoğu aynı zamanda BOLD kapsamındadır, bunun nedeni GenBank verilerinin BOLD sisteminden alınmış olabilir (Nakazato & Jinbo, 2022).



Şekil 1. GenBank ve BOLD veri tabanlarının kapsadığı balık türlerinin Venn diyagramı (Nakazato & Jinbo, 2022)

BOLD, DNA barkod kayıtlarının alınmasına, saklanmasına, analiz edilmesine ve yayınlanmasına yardımcı olan bir bilişim altyapısıdır; 2005 yılında piyasaya sürülmüştür (Ratnasingham & Hebert, 2007). BOLD, yaklaşık 11 milyon DNA barkod sağlayarak Mayıs 2022 itibarıyla 239.000 hayvan, 71.000 bitki ve 24.000 mantar ve diğer türü indekslemektedir (Nakazato & Jinbo, 2022). BOLD, örneklerin resmi bir DNA barkod statüsüne sahip numune kaydı olarak nitelendirilebilmesi için aşağıdaki yedi öğeyi içeren verileri talep eder; tür adı, (ii) belge verileri (katalog numarası ve saklanan kurum), (iii) toplama kaydı (toplayıcı, toplama tarihi ve konumu, GPS koordinatları), (iv) örneğin tanımlayıcısı, (v) barkod dizisi, (vi) amplicon oluşturmak için kullanılan PCR primerleri ve (vii) trace dosyaları (Ratnasingham & Hebert, 2007). BOLD, özellikle taksonomistler ve filogenetikçiler tarafından, kanıt örneklerinin kapsamlı fotoğrafik veri arşivi ve kullanıcıya tür tanımlama veya incelemeye olanak tanıyan örnekler

üzerindeki bilgi zenginliği nedeniyle ve DNA barkodlamasında kullanılan biyoçeşitlilik bilgilerine atıfta bulunmak için yaygın olarak kullanılmaktadır.

DNA dizileri, NCBI, Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (**EBI**) ve Japonya DNA Veri Bankası'ndan (**DDBJ**) oluşan Uluslararası Nükleotid Dizisi Veritabanı İşbirliği **INSDC**, (Arita ve ark., 2021) tarafından 30 yılı aşkın bir süredir toplanmaktadır ve sırasıyla **NCBI GenBank** (Sayers ve ark., 2022), **Avrupa Nükleotid Arşivi (ENA)** ve **DDBJ** veri tabanlarında sunulmaktadır. Son yıllarda çeşitli organizmalar için DNA barkodları, mitokondriyal genomlar, tüm genomlar ve diğer gen dizileri elde edilmekte ve dizi bilgileri bu veri tabanlarında arşivlenmektedir. Ek olarak, NGS verileri (metagenomik ve metabarkodlama dahil) INSDC tarafından Dizi Okuma Arşivi (SRA) biçiminde toplanır. Moleküler biyologlar ve biyoinformatikçiler araştırmalarını genellikle DNA dizisi üzerinden gerçekleştirirler ve DNA dizileriyle ilgilenen NCBI hizmetlerini kapsamlı bir şekilde kullanırlar.

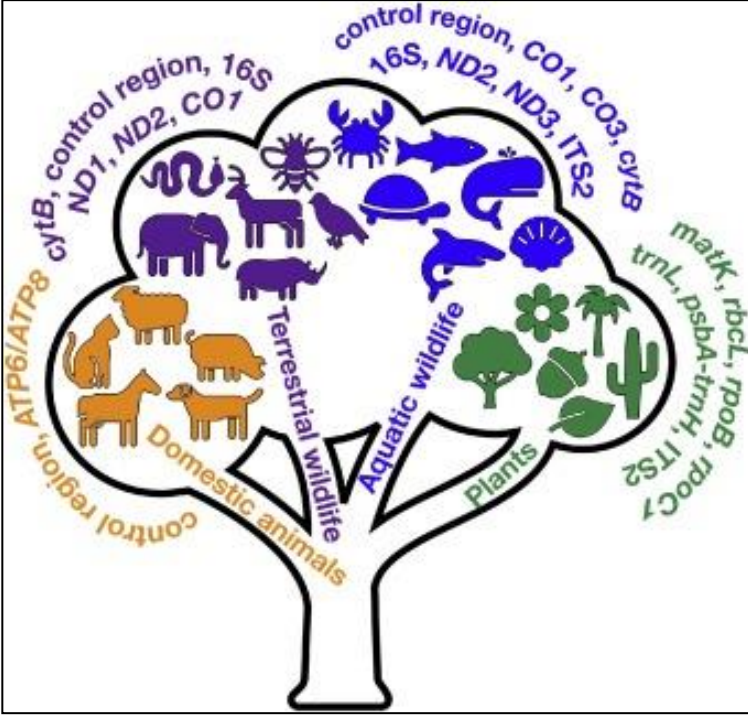
Son zamanlarda, **Küresel Biyoçeşitlilik Bilgi Tesisi'nde (GBIF)**, biyoçeşitlilik bilgilerinin ana veritabanı) çevresel DNA (**eDNA**) gibi dizilere dayalı oluşum bilgilerini kaydetmek mümkün hale gelmiştir (Andersson ve ark., 2020). Ayrıca GenBank artık birçok biyolojik çeşitlilik bilgisini de kaydedebilir durumdadır.

1.1. Taksonomik Sınıflandırmada Barkodlama

Taksonomik sınıflandırma, ölçülen özelliklerin altında yatan gözlemlenen benzerliklere (veya farklılıklara) dayalı olarak organizmaları kategorize etmek için insan yapımı bir olgudur. Yeni bilgilerin edinilmesiyle taksonomi anlayışımız değişse ve yerleşik adlarda revizyonlara yol açabilse de, tür kategorizasyonlarının genel olarak "gerçek" olduğu kabul edilmelidir. Morfolojik sınıflandırma, biyolojik materyallerin taksonomik tanımlaması için temel yöntemdir. Morfolojik inceleme, yeterli teşhis özellikleri mevcut olduğunda ve uygulama uzmanlığı ve uygun karşılaştırmalı referans materyali mevcut olduğunda taksonomik grupları belirlemek için güvenilir, ucuz bir yöntemdir. Bu koşullar karşılanmadığında ve genetik materyal mevcut olduğunda, taksonomik tanımlama için genellikle DNA kullanılır.

Nükleotid bazlarının bilgilendirici bölgelerdeki konumu ve sırası tanı için kullanılan sınıf karakterleridir. Şirket içi ve/veya halka açık veri tabanlarından alınan diziler, referans karşılaştırmaları olarak kullanılır ve numune tanımlaması, bilinmeyen dizi ile referans arasındaki benzerlik derecesine dayanır. Bu tür tanımlamalar, belirli bir genetik bölge için karakterize edilen tüm yakından ilişkili taksonlara sahip iyi ayrılmış gruplar

için basittir, ancak takson örnekleme tamamlanmamış ve sığ birleşme derinliklerine sahip gruplarda zorlaşır. Yaban hayatı çalışmalarında taksonomik gruplandırma ve analiz için kullanılan gen bölgelerinin şematik gösterimi şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Yaban hayatı taksonomik tanımlamasında kullanılan dört ana takson grubunun ve genlerin şematik gösterimi. **1) Mitokondriyal bölgeler** – 12S, 12S ribozomal RNA; 16S, 16S ribozomal RNA; *cytB*, sitokrom b; *CO1*, sitokrom c oksidaz alt birim 1; *CO3*, sitokrom c oksidaz alt birim 3; *ND1*, NADH alt birim 1; *ND2*, NADH alt birim 2; *ND3*, NADH alt birim 3; *ATP6*, ATP sentaz membran alt birimi 6; *ATP8*, ATP sentaz zar alt birimi 8. **2) Nükleer bölgeler** – *ITS2*, dahili transkripsiyonlu ayırıcı alt birim 2. **3) Kloroplast bölgeleri** – *MatK*, maturaz K; *RbcL*, ribuloz bifosfat karboksilaz; *rpoB*, DNA'ya yönelik RNA polimeraz alt birim beta; *rpoC1*, plastid kodlu RNA polimeraz alt birim beta (Meiklejohn ve ark., 2021).

2. HAYVANLARDA BARKODLAMA ÇALIŞMALARI

DNA barkodlama tekniği standardizasyon, minimalizm ve ölçeklenebilirlik gibi üç önemli ilkeye dayanır. Bu ilkeler göz önüne alındığında, uygun barkodlamanın seçilmesi, bir türü diğerinden ayırt etmek için veri setlerini kolayca karşılaştırılabilir hale getirmek için çok kapsamlı ve çeşitli bir numune setinde en yüksek güvenilirlikle rutin dizileme için tek veya çoklu standart lokusların seçilmesine bağlıdır. 600 ila 1000 baz çifti DNA dizilerine sahip Sitokrom C oksidaz alt birimi 1'in (*cox-1*, COXI, COI veya COI-5P) 5'-ucu genel olarak türler arası değişkenlik amacına uygundur ve hayvanlar için evrensel tür düzeyinde barkod olarak kabul edilir (Kress & Erickson, 2007). Haploit, anneden kalıtsal, hücre başına yüksek kopya sayısına sahip protein kodlama bölgesi olan tek lokus, kötü korunmuş örneklerden sekans geri kazanımını garanti eder (Fazekas ve ark., 2009; P. D. Hebert ve ark., 2003; Hollingsworth ve ark., 2011). COI primerlerinin son derece spesifik, sağlam olması ve hedef DNA'nın 5' ucunu almak için en yüksek doğruluk derecesini göstermesi nedeniyle COI, diğer mitokondriyal genlere göre önceliklidir (Folmer ve ark., 1994).

DNA'daki mutasyon oranı, genomun boyutuyla ters bir ilişki gösterdiğinden, mitokondriyal DNA, nükleer DNA'ya kıyasla daha küçük boyutu için nispeten yüksek mutasyona uğrar ve bu, mitokondriyal COI'yi evrensel bir hayvan barkodu olarak nükleer *RbcL*, *MatK*'den ya da başka nükleer barkodlardan daha yetenekli kılar (Drake ve ark., 1998; Waugh, 2007). COI'nin tür içi varyasyonu genellikle, insersiyon ve delesyonların nadir olduğu türler arası varyasyondan %10'dan daha azdır (Blaxter, 2004).

Morfolojik çeşitliliğin derecesi, anatomik özellikler hakkında bilgi eksikliğinden kaynaklanan zayıf filogenetik bilgi ve kriptik türlerin oluşumu, tanımlamada kesinlik getirmek ve hayvanlar dünyasının mevcut sorunlarını çözmek için morfo-moleküler bir yaklaşıma olan ihtiyacı artırmaktadır (Wang ve ark., 2020). Türlerin kriptik biyoçeşitliliğini (morfolojik olarak benzer ancak genetik olarak farklı türler) anlamak ve kaydetmek, fenotipik benzerliğin maskesini düşürerek ve çevresel değişikliklere biyolojik çeşitliliğin tepkilerini tahmin ederek etkili türlerin korunmasını sağlamak için kritik öneme sahiptir. Örneğin, kurbağalar kriptik tür araştırması için bir hedef grup olarak kabul edildiğinden, amfibi *Limnonectes kuhlii*'nin mtDNA verilerini kullanan modern bir moleküler sistematiği çalışması, 22 farklı evrimsel soy ortaya çıkarmıştır; bunlardan 16'sı şu anda tarihsel olarak tek bir tür olarak kabul edilen *L. kuhlii* altında yer almaktadır (McLeod ve ark., 2011). Türleşme her zaman morfolojik değişikliklerle görülemediğinden,

moleküler araçların uygulanmaması tür çeşitliliğinin hafife alınmasına neden olur (D. Bickford ve ark., 2007) (McLeod ve ark., 2011).

DNA barkodlama yaklaşımı, kriptik türlerin ve yeni keşfedilen türlerin ortaya çıkması nedeniyle farklı hayvan cinslerinin taksonomik revizyonuna duyulan ihtiyacı önemli ölçüde vurgulamaktadır. Bir biyolojik çeşitlilik sıcak noktası olan Qinghai-Tibet Platosu'nda Triplophysa cinsi, 1630 örneğin DNA barkodlaması ile 2 kriptik tür olan *T. robusta* ve *T. minxianensis* ile 24 yerli türü bulmak için incelenmiştir (Wang ve ark., 2020). Ayrıca, hassas tanımlama amaçları için yüksek verimli teknolojilerin uygulanması artmaktadır. İstilacı böceklerin gelişini kontrol etmeye yönelik geleneksel tuzak tabanlı sürveyans stratejileri, yalnızca DNA metabarkodlamanın eşlik ettiği zamandan daha az verimlidir çünkü ikincisi, karışık popülasyonların eş zamanlı, çok-türlü tanımlanmasına yardımcı olur (Piper ve ark., 2019). Böceklerin, kısa yaşam döngüleri nedeniyle sıcaklığa duyarlı hale gelmeleri beklenmektedir, örneğin, Avrupa'da göçmen olmayan kelebeklerin önemli ölçüde kutuplara doğru kaymasında sıcaklık büyük ölçüde hakimdir (Parmesan ve ark., 1999).

Böcek topluluğundaki değişiklikler, ayrışma modelleri, besin döngüsü, birincil üretkenlik ve biyolojik çeşitlilik değerlendirmesi dahil olmak üzere ekolojik parametrelerdeki değişiklikleri anlamak için kritik öneme sahiptir. Çoklu grup veri setlerini yüksek verimli DNA barkodlama teknolojileriyle birleştirmek, büyük ölçekli gözlemin önündeki çeşitli lojistik, finansal ve sistematik engelleri en aza indirme potansiyeline sahiptir. Arktik Eklembacaklı Topluluğu, Arachnida, Collembola ve Insecta'ya odaklanarak toplanan 24.198 örneğin (MN665381'den MN683476'ya değişen GenBank erişim numaralarına sahip), BIN'lere atanacak mitokondriyal COI kullanan 18.096 (%75) adet barkodunu geliştirmişlerdir (Pentinsaari ve ark., 2020).

Bir primat çalışmasında, tür tanımlaması için uygun bir belirteç önermek amacıyla, 12 mitokondriyal protein kodlayan genin etkinliği test edilirken, barkodların tür düzeyinde daha muhafazakar doğasına işaret eden COI'den ziyade, NADH alt birimi 5 (ND5) ve sitokrom c oksidaz alt birimi II (COII)'nin cins ve aile içinde türler arasında olduğundan daha büyük barkod boşluklarını ürettiğini keşfetmişlerdir (Jackson & Nijman, 2020).

Yasadışı kaçak avlanma, zehirlenme ve habitat kaybı nedeniyle tehdit altında olan memelilerin en ilginç ailelerinden biri olan Canidae'nin 3 türü, COI barkodunu doğrulamak ve genetik sapmayı tespit etmek için DNA barkodlama yaklaşımı ile araştırılmıştır. Türler arasındaki ve içindeki ortalama dizi farklılığı, sırasıyla %12,32 ve %0,61 olup; bu, daha önce

bildirilen çalışmalardan nispeten daha yüksek genetik çeşitliliğe işaret etmektedir (Aksöyek ve ark., 2017).

Belirli bir tür için DNA barkodlama ve morfolojik tanımlama arasındaki tutarlılık, morfolojik ve genetik olarak benzer olan kardeş türlerin varlığına veya yokluğuna bağlıdır. Aynı DNA barkodunu paylaşan belirli barkodların olmaması, daha düşük operasyonel taksonomik birimleri (OTU'lar) tanımlamak için belirsizlik yaratabilir. Buna ek olarak, numunelerin yanlış tanımlanması ve yanlış etiketlenmesi, daha sonraki araştırmalarda olası hata ve tereddütlere neden olur (Pleijel ve ark., 2008; Dixon, 2012).

Yumuşakçaların en bol bulunan grubu olan gastropodlar, çeşitli büyüme evrelerinde farklı morfolojik karakterleri nedeniyle morfolojik olarak farklılaşırlar ve dünya çapında 80.000 türle deniz biyoçeşitliliğinin önemli bir parçasını oluştururlar, ekonomik açıdan önemli oldukları için aşırı kullanım nedeniyle tehditlerle karşı karşıyadırlar (Bieler, 1992). Doğru tür tespiti, flora ve faunanın korunmasında çok önemli bir rol oynar. COI genini potansiyel bir mitokondriyal DNA barkodu olarak kullanarak verimli bir balıkçılık kaynak araştırması ve doğal kaynak yönetimi yapmak ve COI geninin etkinliğini barkod dizisi olarak doğrulamak için, Çin'de 35 aileye ve 7 takıma ait, 3 yeni kayıt içeren 120 türden elde edilen, MN388943 ile MN389209 arasında değişen GenBank erişim numaraları olan 306 barkod dizisi içeren bir barkod referans kitaplığı geliştirilmiştir (Ran ve ark., 2020).

Moleküler araçların yardımı olmadan ornitologlar, bazen kuşların doğru kimliğini sağlamak için zorluklarla karşılaşılırlar. Yararlı bir araç olarak DNA barkod referans kitaplıkları, COI dizileri için coğrafi örneklemeyi genişletmelerine yardımcı olabilir. Bir çalışmada 10 familyaya ait 18 türden kuş kanı örneklerinden toplam 26 COI dizisi elde edildi. Bir kuzey göçmen kuşu, moleküler çalışmadan sonra farklı bir tür olarak yeniden tanımlanmıştır (Pulgarin ve ark., 2021).

Köpekbalığı etlerinin çoğunluğu Asya'dan ithal eden Brezilya'da bu balıkların aşırı avlanması büyüyen bir sorundur. Feitosa ve diğerleri, (2018), Brezilya'nın Kuzey Kıyısında nesli tükenmekte olan köpekbalığı türlerinin yasa dışı ticaretini ortaya çıkarmak için bir çalışma yürüterek ve COI (260) ve NADH2 (167) ile incelenen 427 örnekten 17 tür belirledi. Tespit edilen türlerin %53'ü yok olma tehdidi altındaki kategorilerde ve %76'sı da yakın tehdit altındaki kategoriler altında listelenmiştir (Feitosa ve ark., 2018).

3. BİTKİLERDE BARKODLAMA ÇALIŞMALARI

Dünyadaki bitki çeşitliliğinin çoğu, yok olma tehdidi altındaki yüksek oranda endemik bitki türleri içeren tanınmış biyolojik çeşitlilik sıcak noktalarında yoğunlaşmıştır (Myers ve ark., 2000). Bu aşırı çeşitlilikteki floralar, insan faaliyetlerinden kaynaklanan artan tehditlere karşı savunmasız olduğundan, koruma çabalarına yardımcı olmak için türlerin hızlı bir şekilde tanımlanmasını ve miktarının belirlenmesini sağlayan yöntemlere ihtiyaç vardır (Brooks ve ark., 2006; Gonzalez ve ark., 2009). Geleneksel biyoçeşitlilik envanteri yöntemleri zaman alıcıdır ve azalmakta olan bir kaynak olan taksonomik uzmanlığın mevcudiyetine bağlıdır. Tropikal yağmur ormanlarındaki bitkilerin tanımlanması çoğu durumda uzmanlar için bile bir sorun olmaya devam etmektedir (Gonzalez ve ark., 2009). DNA barkodlama konusu başlangıçta bilim adamları arasında pek çok tartışmayı teşvik etse de, teknolojinin daha yeni ve ilginç uygulamalarının düzenli olarak tasarlanmasıyla artık kabul gören bir taksonomik araçtır. DNA barkodları artık çeşitli biyolojik uygulamalar için kullanılmakta ve tanıtılmaktadır bu uygulamalar: şifreli türlerin tanımlanması (Burns ve ark., 2008; Smith ve ark., 2006), ağaç kökleri gibi türlerin parçaları (Jackson ve ark., 1999; Kesanakurti ve ark., 2011), ekosistemlerdeki istilacı türlerin tespiti (Armstrong & Ball, 2005; Cross ve ark., 2011), tür keşfi (David Bickford ve ark., 2007), taksonomik revizyon (Lara ve ark., 2010), besin ağlarının çözülmesi ve avcı-av ilişkileri (Kaartinen ve ark., 2010), karantina (Bonants ve ark., 2010) ve nesli tükenmekte olan türlerin yasa dışı ticaretine (Eaton ve ark., 2010) ve yasa dışı olarak kesilmiş keresteye (Lowe & Cross, 2011) karşı mücadele. DNA barkodlama, genellikle, biyolojik çeşitlilik envanteri ve türlerin sahada tanımlanması gibi, bilimsel verilerin ve yeni teknolojilerin genel halka ve uzman olmayanlara (Kress & Erickson, 2008) erişilebilirliğini artırma kabiliyeti nedeniyle desteklenir. Bilinmeyen bölgelerdeki türlerin geleneksel yöntemlerle doğru bir şekilde tanımlanması, flora bilgisi eksikliği ve/veya tanımlama için gerekli olan mevsimsel çiçek ve meyve karakterlerinin eksikliği nedeniyle uzun yıllar alabilir. Mevcut olduğunda bile, birçok tür için gölgelikte yüksek olabileceğinden, verimli materyali toplamak genellikle zordur ancak, DNA ekstraksiyonu için yaprak veya kambiyum dokusunun toplanması çok daha az çaba gerektirmektedir (Colpaert ve ark., 2005).

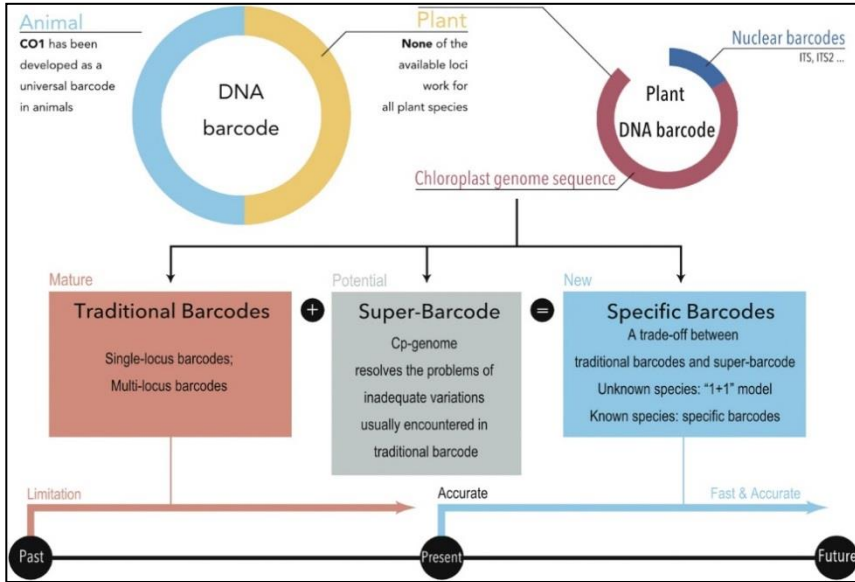
Yüzyıllarca süren taksonomik çabaya rağmen, bitki türleri çeşitliliğinin karakterizasyonu önemli ve önemli bir zorluk olmaya devam etmektedir. Bitkiler, böcekler gibi çok çeşitli gruplara kıyasla şüphesiz iyi anlaşılmış olsa da, son tahminler yaklaşık 70.000 çiçekli bitki türünün keşfedilmeyi

beklediğini göstermektedir (Bebber ve ark., 2010). Yeni türler bulmanın ötesinde, mevcut taksonomik hesapların uzlaştırılması ve güncellenmesi gerekir ve tanımlanamayan örnekleri bilinen türlere atamanın daha geniş pratik zorluğu da vardır. Bu son nokta, özellikle mevcut materyalin optimumun altında olduğu (örneğin genç, parçalanmış, işlenmiş) veya mevcut taksonomik uzmanlık seviyelerinin düşük olduğu durumlarda geçerlidir. DNA barkodlama, türleri ayırt etmek için bir veya birkaç DNA bölgesinin standartlaştırılmış kullanımını içermektedir (Paul DN Hebert ve ark., 2003).

3.1. Standart Bitki Barkodları

Hayvanlarda Sitokrom oksidazın (COI) evrenselliği ve çözme gücü ile eşleşen tek bir bitki barkodu yoktur (Paul DN Hebert ve ark., 2003). Numune tabanlı bitki barkodlama çalışmalarının çoğunda, bir veya birkaç plastid bölgesini (örneğin, “ana barkodlar” olan *RbcL* ve *MatK*'yı kodlayan protein ve kodlamayan aralayıcı *TrnH-psbA*) ve nükleer ribozomal DNA'nın (*ITS*—ya tamamı ya da sadece *ITS2* bölgesi) dahili kopyalanmış ayırıcı (*ITS*) bölgelerini kullanılmaktadır (Group, 2009; Hollingsworth, 2011; Kress & Erickson, 2007). Karışık şablonlara ve/veya bozulmuş DNA'lara (örn. çevresel numuneler) odaklanan bitki çalışmaları, tipik olarak, kısa uzunluk ve korunmuş primer dizileri, onu yeni nesil dizileme yoluyla amplifikasyona ve yeni nesil dizileme (NGS) teknolojileri aracılığıyla kısa okumalı dizilemeye uygun hale getiren plastid *trnL* intronun P6 halkasını kullanmaktadır (Taberlet ve ark., 2007; Valentini ve ark., 2009). Birçok hayvan grubunda, türlerin barkod dizisi kümeleri ile yakın uyumluluğu, tür çeşitliliğinin yarı otomatik olarak ölçülmesini sağlamaktadır (Hebert ve ark., 2016; Ratnasingham & Hebert, 2013). Bununla birlikte, bitki-plastid ve ribozomal-DNA barkodları tipik olarak daha düşük ayırt etme gücüne sahiptir (Hollingsworth ve ark., 2011) ve dizi uzayında diğer türlerden net süreksizliklerle ayrılan türdeşlerin sıkı bir şekilde kümelenmesine yol açmaz. Bunun yerine, tipik olarak ilgili türler arasında yaygın olarak paylaşılan barkodlarla tür içi ve türler arası mesafelerin dereceli bir sürekliliği vardır (Hollingsworth ve ark., 2011). Bunun iki ana sonucu var. İlk olarak, standart bitki barkodları, tür düzeyinde bir çerçeve tanımlamak için bağımsız bir şekilde hareket etme çözme gücüne sahip olmak yerine, mevcut sınıflandırmalara moleküler güçlendirmeler olmaya en uygun olanlardır. İkinci olarak, bitki barkodlarının kullanımında, tekniğin çözme gücü ile çalışmadan istenen bilgiler arasında bir uyum sağlanmasına en baştan dikkat edilmelidir (Hollingsworth ve ark., 2016).

Küresel DNA barkodlama başlangıçta "büyük bilim" programı (Gregory, 2005) ve hatta taksonominin rönesansı (Miller, 2007) olarak görülüyordu. Ancak hayvanlarda evrensel bir barkod olarak geliştirilen sitokrom c oksidaz 1 (CO1) dizisi, çok daha yavaş mutasyon hızı nedeniyle çoğu bitkiyi ayırt edememektedir (Kress & Erickson, 2007). Birçok çalışma evrensel bir bitki barkodu aramış olsa da, mevcut lokusların hiçbiri tüm türlerde çalışmamaktadır (Chase & Fay, 2009; Chen ve ark., 2010). Yaşam-Bitki Çalışma Grubu Barkodu Konsorsiyumu (CBOL) kısa süre önce *MatK+RbcL*'nin iki lokuslu kombinasyonunu yalnızca %72'lik bir ayırım etkinliğiyle en iyi bitki barkodu olarak önermiştir (Plant, 2009). Taksonomistler, bitki türlerini ayırt etmek için çok lokuslu bir yöntemin gerekli olabileceğini öne sürmüşlerdir (Chase ve ark., 2007; Erickson ve ark., 2008; Hebert ve ark., 2004; Kane ve ark., 2012; Kane & Cronk, 2008; Kress & Erickson, 2007; Lahaye ve ark., 2008). Ancak CBOL, birden fazla lokus kullanımının bu tekniklerin tür düzeyinde ayırım yapma yeteneğini açıkça geliştirmediğini göstermiştir (Group, 2009). Şekil 3'te bitki barkod seçiminin geçmişini ve bitkilerde DNA barkodlaması için gelecekteki beklentileri özeti gösterilmektedir.



Şekil 3. Bitki barkodlama tarihinin şematik zaman çizelgesi ve olası gelişmeler. CO1, sitokrom c oksidaz 1; cp, kloroplast; ITS, dahili transkripsiyonlu ayırıcı (Li ve ark., 2015).

3.2. Tek Lokuslu DNA barkodları

Geleneksel barkodlar geniş çapta incelenmiştir ancak yine de önemli sınırlamaları vardır. Yaygın olarak kullanılan bu tek konumlu barkodlardan bazıları aşağıda açıklanmıştır.

- **MatK**

MatK, yüksek bir evrim hızına, uygun uzunluğa ve bariz türler arası ayrışmanın yanı sıra düşük bir geçiş/dönüşüm oranına sahiptir (Min & Hickey, 2007; Selvaraj ve ark., 2008). CBOL Bitki Çalışma Grubu, tek bir primer çifti kullanarak anjiyosperm DNA'sının çoğaltılmasında yaklaşık %90'lık bir başarı oranı ortaya koymuştur (Group, 2009). Bununla birlikte, çoklu primer setleriyle bile başarı açık tohumlularda sınırlı (%83) ve kriptogamlarda çok daha kötü (%10) olmuştur. Farklı taksonomik gruplarda farklı primer çiftleri gerekli olduğu öne sürülmüştür (Chase ve ark., 2007; Hollingsworth, 2008). Lahaye ve ark. 1667 kapalı tohumlu bitki örneğinin *MatK* genini çoğaltmak için spesifik primerler (Cuénoud ve ark., 2002) kullanarak %100'lük bir başarı oranı elde etmişlerdir (Lahaye ve ark., 2008). Diğer bir zorluk ise, farklı taksonomik gruplardaki farklı ayırım oranlarıdır. *MatK*, Orchidaceae'deki türlerin %90'ından fazlasını ayırt edebilmektedir (Kress & Erickson, 2007), küçük hindistan cevizi ailesinde ise %49'dan daha azını ayırt edebilmektedir (Newmaster ve ark., 2006). Fazekas ve ark. *MatK* barkodunu kullanarak 32 cinse ait 92 türün teşhisini denemiş ancak başarı oranı sadece %56 olarak elde etmişlerdir (Fazekas ve ark., 2008). Bu bulgular *MatK* barkodunun tek başına uygun bir evrensel barkod olmadığını göstermektedir.

- **RbcL**

RbcL, Genbank'ta bulunan 50000'den fazla dizi ile filogenetik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu genin avantajları, çoğu kara bitkisinde amplifikasyonunun, sekanslanmasının ve hizalanmasının kolay olması ve familya ve cins seviyelerinde bitkiler için iyi bir DNA barkodlama bölgesi olmasıdır. Bununla birlikte, *RbcL* dizileri yavaş gelişir ve bu lokus, çiçekli bitkilerde plastid genlerinin açık ara en düşük ayrışmasına sahiptir (Kress ve ark., 2005). Sonuç olarak, orta düzey ayırım gücü nedeniyle tür düzeyinde uygun olmadığı sonucu elde edilmiştir (Chen ve ark., 2010; Fazekas ve ark., 2008; Group, 2009; Lahaye ve ark., 2008). Tüm gen dizisinin çift sarmal dizilimi dört primer gerektirebileceğinden, genin uzunluğu da

sorun olabilmektedir. Bu sınırlamalara rağmen, *RbcL*, gen dizisinin basit bir şekilde geri kazanılmasına, büyük miktarda kolay erişilebilir veriye ve daha önce tür tanımlaması için bir hedef olarak reddedilmesine rağmen (Gielly & Taberlet, 1994; Renner, 1999; Salazar ve ark., 2003) iyi, ancak olağanüstü olmayan ayırım gücüne dayalı olarak hala en iyi potansiyel aday bitki barkodlarından biri olarak önerilmiştir (Blaxter, 2004; Group, 2009; Hollingsworth ve ark., 2011). *RbcL* tek başına bir barkod lokusunun istenen özelliklerini karşılamasa da, *RbcL*'nin çeşitli plastid veya nükleer lokuslarla kombinasyonunun doğru tanımlamalar yapabileceği kabul edilmektedir (Chase ve ark., 2007; Group, 2009; Hollingsworth ve ark., 2009; Kress & Erickson, 2007; Newmaster ve ark., 2008).

• *TrnH-psbA*

TrnH-psbA şu anda en yaygın kullanılan plastid barkodudur. Her iki tarafta yüksek oranda korunmuş kodlama dizilerinin varlığı, neredeyse tüm kapalı tohumluları büyüme olasılığı bulunan tek bir primer çifti ile evrensel primerlerin tasarımını mümkün kılmaktadır (Shaw ve ark., 2005). Kodlamayan genler arası bölge, çoğu dizi farklılığını sergiler ve yüksek ekleme/silme oranlarına sahiptir (Kress & Erickson, 2007). Bu özellikler, *TrnH-psbA*'yı tür ayrımcılığı için bir bitki barkodu olarak son derece uygun hale getirmektedir (Kress & Erickson, 2007; Shaw ve ark., 2005) ve kapsamlı barkodlama çalışmaları, Hydrocotyle, Dendrobium ve Pteridophytes gibi bazı kara bitki gruplarında *trnH*'nin *-psbA* bölgesi neredeyse tüm türleri tanımlayabilmektedir (Ma ve ark., 2010; Van De Wiel ve ark., 2009; Yao ve ark., 2009). *TrnH-psbA* ayırıcısının hizalanması, karmaşık moleküler evrimi, önemli uzunluk varyasyonları (Chang ve ark., 2006) ve daha büyük anjiyosperm ailelerinde yüksek ekleme/silme oranları nedeniyle oldukça belirsiz olabilmektedir (Chase ve ark., 2007). Ayrıca, duplike lokusların ve bir sözde genin varlığı nedeniyle, *TrnH-psbA* dizisi bazı kozalaklı ağaçlarda ve tek çeneklilerde çok daha uzun [>1000 baz çifti (bp)] iken, diğer gruplarda aşırı derecede kısadır, 300 bp'den azdır ve briyofitlerde 100 bp'den daha kısa. Ek olarak, duplike lokusların ve bir sözde genin varlığı nedeniyle, *TrnH-psbA* dizisi bazı kozalaklı ağaçlarda ve tek çeneklilerde çok daha uzunken [>1000 baz çifti (bp)] (Chase ve ark., 2007; Hollingsworth ve ark., 2009), diğer gruplarda aşırı derecede kısadır- 300 bp'den az (Kress ve ark., 2005), briyofitlerde 100 bp'den daha kısadır (Stech & Quandt, 2010). *TrnH-psbA*'nın standart bir barkod olarak kullanılmasıyla ilgili temel sorunlardan biri, bazı bitki soylarında sık sık meydana gelen tersine çevirmelerdir; bu da, genetik

farklılığın büyük ölçüde fazla tahmin edilmesine ve yanlış filogenetik atamaya yol açabilmektedir (Whitlock ve ark., 2010). Ek olarak, mononükleotit tekrarlarının neden olduğu dizileme okumalarının erken sonlandırılması nedeniyle, yüksek kaliteli çift yönlü diziler elde etmek için tasarlanmış taksonlara özgü dahili dizileme primerleri olmadan daha uzun *TrnH-psbA* bölgelerinin alınması zor olabilmektedir (Devey ve ark., 2009; Ebihara ve ark., 2010). Daha kısa *TrnH-psbA* ayırıcılar, Solidago cinsinde olduğu gibi tür ayrımcılığı için yeterli dizi varyasyonuna sahip olmayabilir (Kress ve ark., 2005). Sonuç olarak, Kress ve ark. ve Chase ve ark. sırasıyla, *TrnH-psbA*'nın yeterli çözünürlük sağlamak için iki veya üç lokuslu barkod sistemlerinde kullanılabileceğini önermiştir (Chase ve ark., 2007; Kress ve ark., 2005).

• ITS

ITS ayırıcı, türler düzeyinde yüksek düzeylerde türler arası sapma gösteren güçlü bir filogenetik belirteçtir (Alvarez & Wendel, 2003). Düşük taksonomik seviyelerde *ITS*'nin plastid bölgeleri üzerindeki daha büyük ayırt edici gücü, özellikle plastid barkodlarından daha az çözünürlük sunan parazitik bitkilerde bir bitki barkodu olarak önerilmesine yol açacak şekilde geniş çapta incelenmiştir (Hollingsworth, 2011; Kress ve ark., 2005; Sass ve ark., 2007; Stoeckle, 2003). Bununla birlikte, CBOL, *ITS*'yi yalnızca tamamlayıcı bir yer olarak kabul etmiştir (Group, 2009). Eksik uyumlu evrim, mantar kontaminasyonu ve amplifikasyon ve dizileme zorlukları gibi bazı sınırlamalar, bunun ana bir barkod olmasını engellemektedir (Hollingsworth, 2011). Farklı bir görüş sunan China Plant BOL Group yakın zamanda, doğrudan dizileme mümkün olduğunda, plastid barkodlardan daha yüksek ayırım gücü nedeniyle *ITS* bölgesinin ana barkodlara dahil edilmesi gerektiğini savunmuştur (Li ve ark., 2011). Tüm *ITS*'nin sekanslanmasıyla ilgili zorlukları çözmek için, amplifikasyon ve sekanslama problemlerini azaltan korunmuş sekans karakterleri nedeniyle *ITS2*'yi yedek olarak önermişlerdir. *ITS2*'nin, DNA'sı bozulmuş herbaryum örneklerinden bile (Chiou ve ark., 2007) daha geniş bir bitki takson yelpazesinin tanımlanması için yeni bir evrensel barkod olarak kullanılabileceği kabul edilmiştir (Chen ve ark., 2010; Gao, Yao, Song, Liu, ve ark., 2010; Gao, Yao, Song, Zhu, ve ark., 2010; Luo ve ark., 2010; Pang ve ark., 2010; Pang ve ark., 2011). *ITS2* barkodu, *ITS* de dahil olmak üzere diğer aday lokuslara göre bazı avantajlar gösterse de, araştırmacılar bu bölgeye fazla ilgi göstermemiştir. Önemli bir endişe, genomda yüksek düzeyde tür içi ve hatta bireysel dizi farklılaşmasına sahip çoklu kopyaların

varlığı olmuştur (Yamaguchi ve ark., 2006), bu da yanlış veya yanıltıcı sonuçlara yol açabilmektedir (Alvarez & Wendel, 2003). Song ve ark. yakın zamanda, *ITS2* genom içi mesafelerinin, çok çeşitli bitki familyalarındaki tür içi veya türler arası varyantlarınkinden belirgin şekilde daha küçük olduğunu göstermiştir (Song ve ark., 2012). *ITS2*'nin kullanımı düşük polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) etkinliğini engellese de, daha az karaktere erişimin tüm *ITS* bölgesine kıyasla ayırım gücünü ne ölçüde azalttığını değerlendirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Hollingsworth ve ark., 2011). Örneğin, *ITS2* dizileri *Fritillaria*'da genellikle 300 bp'den azdır ve türlerin çözünürlüğü için yeterli türler arası ayrışmaya sahip olmadığı saptanmıştır (Li ve ark., 2015).

Günümüzde DNA barkodlama teknolojisi, nükleer lokuslarla karşılaştırıldığında nispeten düşük evrim hızları nedeniyle büyük ölçüde kloroplast lokuslarına dayanmaktadır (Dong ve ark., 2012). Yukarıda açıklanan aday barkodların ötesinde, *rpoB*, *rpoC1*, *atpF-atpH*, *psbK-psbI*, *ycf5* ve *trnL* (P6) gibi yaygın olarak kullanılan birçok başka plastid barkodlama belirteçleri vardır ve özellikleri, Hollingsworth ve ekip arkadaşları ve Vijayan & Tsou tarafından ayrıntılı olarak tartışılmıştır (Hollingsworth ve ark., 2011; Vijayan & Tsou, 2010). Bu kloroplast bölgeleri, daha yüksek taksonomik seviyelerde filogenetik analizler ve barkodlama çalışmaları için değerlidir ancak yetersiz varyasyon nedeniyle daha düşük taksonomik seviyelerde bitki DNA barkodlaması için uygun olmadığı ileri sürülmüştür (Li ve ark., 2015).

3.3. Aday Çoklu Lokus DNA Barkodları

Hayvanlarda CO1 ile karşılaştırılabilir evrensel bir bitki barkodu tanımlamaya yönelik kapsamlı çabalara rağmen, tek lokuslarda yeterli varyasyon olmaması nedeniyle görevin zor olduğu kanıtlanmıştır (Chase ve ark., 2007; Fazekas ve ark., 2008; Kress & Erickson, 2007; Kress ve ark., 2005; Lahaye ve ark., 2008; Newmaster ve ark., 2006; Sass ve ark., 2007). Pek çok araştırmacı, yeterli tür ayrımı elde etmek için çok lokuslu bir yöntemin gerekli olacağını öne sürmüştür (Chase & Fay, 2009; Erickson ve ark., 2008; Group, 2009; Hebert ve ark., 2004; Kane & Cronk, 2008; Kress & Erickson, 2007; Lahaye ve ark., 2008). *RbcL+TrnH-psbA* (Kress & Erickson, 2007), *rpoC1+rpoB+MatK* veya *rpoC1+MatK+TrnH-psbA* (Chase ve ark., 2007) ve *MatK+atpF-atpH+psbK-psbI* veya *MatK+atpF-atpH+TrnH-psbA* dahil olmak üzere çeşitli plastid lokus kombinasyonları önerilmiştir (Pennisi, 2007). Bu birleştirilmiş barkodlar, tek lokuslu yaklaşımlardan daha yüksek tür

ayırımı sergilemektedir. Farklı araştırma grupları, evrensel bir barkod seçmeye çalışırken farklı taksonlar kullanarak farklı kombinasyonları test edilmiş, ancak evrensel bir anlaşmaya henüz ulaşılmamıştır. Fazekas ve ark. aynı büyük ölçekli taksonomik örnekleri kullanarak bu barkod kombinasyonlarını karşılaştırdı, ancak hiçbiri test edilen türlerin %70'inden fazlasını tanımlayamamıştır (Fazekas ve ark., 2008).

CBOL Çalışma Grubu, *RbcL* bölgesinin basit bir şekilde geri kazanılması ve *MatK* dizisinin ayırt edici gücü nedeniyle yakın zamanda *MatK* + *RbcL*'yi evrensel barkod kombinasyonu olarak önermiştir (Group, 2009). *RbcL*+*MatK* seçimi, diğer kombinasyonlardan biraz daha yüksek tanımlama verimliliği sunsa da, *RbcL*+*MatK* barkodu, orijinal evrensel DNA barkodu hedefini hala karşılayamamıştır. İlk olarak, *RbcL*+*MatK* kombinasyonu, *MatK*'nin düşük PCR etkinliğini önleyemez ve ikinci olarak, *RbcL*+*MatK*'nin bitkileri ayırt etmedeki başarısı tipik olarak hayvanlardaki COI'inkinden daha düşüktür. Kombine barkodlar, özellikle hedef lokuslardan biri amplifiye olmadığında, tek lokuslu işaretleyicilere kıyasla analitik zorlukları artırmaktadır. Dahası, CBOL, yedi aday lokus kullanımının, *RbcL*+*MatK* ile karşılaştırıldığında tür düzeyinde ayırım yapma yeteneğini önemli ölçüde geliştirmediğini göstermiştir. Bazı araştırmacılar, çoklu lokuslu barkodların tür ayrımcılığını arttırmadaki başarısızlığının sadece varyasyon eksikliğinden kaynaklanmadığını düşünmüşlerdir; bunun yerine plastid gen ağacı ve tür sınırları arasındaki tutarsızlıkları yansıtmaktadır (Fazekas ve ark., 2008; Hollingsworth ve ark., 2011). Bu nedenle, aday lokusların kombinasyonları, bitkilerin mevcut DNA barkodlamasının doğal eksikliklerini ortadan kaldırmaktadır (Li ve ark., 2015).

SONUÇ

Moleküler sistematiğe önemli bir gelişme olan DNA barkodlama, morfolojik çalışmanın zahmetli bir şekilde zor olduğu ve toplam tür sayısının çok fazla olduğu çeşitli grupları tanımlamak için oldukça elverişlidir. Metagenomik ve yeni nesil yüksek verimli dizileme teknolojisinin ortaya çıkmasıyla, DNA barkodlama çok hızlı ilerlemektedir. Taksonomik bilginin DNA barkodlama yaklaşımıyla entegrasyonu, yüksek düzeyde doğruluk sağlamak için daha tatmin edicidir.

Biyoeçeşitlilik izlemenin ötesinde, DNA barkodlama bilgisi, doğal kaynak yönetimini iyileştirerek, ekolojik değerlendirmeleri birbirine bağlayarak ve ortak kitle arasında farkındalığı artırarak küresel biyoeçeşitliliğe yönelik tehditleri önemli ölçüde azaltabilir.

KAYNAKÇA

- Aksöyek, E., İbiş, O., Özcan, S., Moradi, M., & Tez, C. (2017). DNA barcoding of three species (*Canis aureus*, *Canis lupus* and *Vulpes vulpes*) of Canidae. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*, 28(5), 747-755. <https://doi.org/10.1080/24701394.2016.1180512>
- Alvarez, I., & Wendel, J. F. (2003). Ribosomal *ITS* sequences and plant phylogenetic inference. *Mol Phylogenet Evol*, 29(3), 417-434. [https://doi.org/10.1016/s1055-7903\(03\)00208-2](https://doi.org/10.1016/s1055-7903(03)00208-2)
- Andersson, A. F., Bissett, A., Finstad, A. G., Fossøy, F., Grosjean, M., Hope, M., Jeppesen, T. S., Køljalg, U., Lundin, D., & Nilsson, R. (2020). Publishing DNA-derived data through biodiversity data platforms. version 1.0.
- Arita, M., Karsch-Mizrachi, I., & Cochrane, G. (2021). The international nucleotide sequence database collaboration. *Nucleic acids research*, 49(D1), D121-D124.
- Armstrong, K., & Ball, S. (2005). DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1813-1823.
- Bebber, D. P., Carine, M. A., Wood, J. R., Wortley, A. H., Harris, D. J., Prance, G. T., Davidse, G., Paige, J., Pennington, T. D., & Robson, N. K. (2010). Herbaria are a major frontier for species discovery. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(51), 22169-22171.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K., & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol Evol*, 22(3), 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004>
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K., & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in ecology & evolution*, 22(3), 148-155.
- Bieler, R. (1992). Gastropod Phylogeny and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23(1), 311-338. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.23.110192.001523>
- Blaxter, M. L. (2004). The promise of a DNA taxonomy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 359(1444), 669-679. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1447>

- Bohmann, K., Mirarab, S., Bafna, V., & Gilbert, M. T. P. (2020). Beyond DNA barcoding: The unrealized potential of genome skim data in sample identification. *Mol Ecol*, 29(14), 2521-2534. <https://doi.org/10.1111/mec.15507>
- Bonants, P., Groenewald, E., Rasplus, J. Y., Maes, M., De Vos, P., Frey, J., Boonham, N., Nicolaisen, M., Bertacini, A., & Robert, V. (2010). QBOL: a new EU project focusing on DNA barcoding of quarantine organisms. *Eppo Bulletin*, 40(1), 30-33.
- Brooks, T. M., Mittermeier, R. A., Da Fonseca, G. A., Gerlach, J., Hoffmann, M., Lamoreux, J. F., Mittermeier, C. G., Pilgrim, J. D., & Rodrigues, A. S. (2006). Global biodiversity conservation priorities. *science*, 313(5783), 58-61.
- Burns, J. M., Janzen, D. H., Hajibabaei, M., Hallwachs, W., & Hebert, P. D. (2008). DNA barcodes and cryptic species of skipper butterflies in the genus *Perichares* in Area de Conservacion Guanacaste, Costa Rica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(17), 6350-6355.
- Chang, C. C., Lin, H. C., Lin, I. P., Chow, T. Y., Chen, H. H., Chen, W. H., Cheng, C. H., Lin, C. Y., Liu, S. M., Chang, C. C., & Chaw, S. M. (2006). The chloroplast genome of *Phalaenopsis aphrodite* (Orchidaceae): comparative analysis of evolutionary rate with that of grasses and *ITS* phylogenetic implications. *Mol Biol Evol*, 23(2), 279-291. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj029>
- Chase, M. W., Cowan, R. S., Hollingsworth, P. M., van den Berg, C., Madrinan, S., Petersen, G., Seberg, O., Jorgensen, T., Cameron, K. M., Carine, M., Pedersen, N., Hedderson, T. A. J., Conrad, F., Salazar, G. A., Richardson, J. E., Hollingsworth, M. L., Barraclough, T. G., Kelly, L., & Wilkinson, M. (2007). A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *TAXON*, 56(2), 295-299. <https://doi.org/10.1002/tax.562004>
- Chase, M. W., & Fay, M. F. (2009). Barcoding of plants and fungi. *science*, 325(5941), 682-683.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., & Pang, X. (2010). Validation of the *ITS2* region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS one*, 5(1), e8613.
- Chiou, S. J., Yen, J. H., Fang, C. L., Chen, H. L., & Lin, T. Y. (2007). Authentication of medicinal herbs using PCR-amplified *ITS2* with

- specific primers. *Planta Med*, 73(13), 1421-1426. <https://doi.org/10.1055/s-2007-990227>
- Colpaert, N., Cavers, S., Bandou, E., Caron, H., Gheysen, G., & Lowe, A. (2005). Sampling tissue for DNA analysis of trees: trunk cambium as an alternative to canopy leaves. *Silvae Genetica*, 54(6), 265-269.
- Cross, H. B., Lowe, A. J., & Gurgel, C. F. D. (2011). DNA barcoding of invasive species. *Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton, 1*, 289-300.
- Cuénoud, P., Savolainen, V., Chatrou, L. W., Powell, M., Grayer, R. J., & Chase, M. W. (2002). Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *RbcL*, *atpB*, and *MatK* DNA sequences. *Am J Bot*, 89(1), 132-144. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.1.132>
- Devey, D. S., Chase, M. W., & Clarkson, J. J. (2009). A stuttering start to plant DNA barcoding: microsatellites present a previously overlooked problem in non-coding plastid regions. *TAXON*, 58(1), 7-15. <https://doi.org/10.1002/tax.581003>
- Dixon, A. (2012). Conservation of the Saker Falcon *Falco cherrug* and the use of hybrids for falconry. *Aquila*, 119, 9-19.
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L., & Zhou, S. (2012). Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *PLoS one*, 7(4), e35071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035071>
- Dormontt, E. E., van Dijk, K.-j., Bell, K. L., Biffin, E., Breed, M. F., Byrne, M., Caddy-Retalic, S., Encinas-Viso, F., Nevill, P. G., Shapcott, A., Young, J. M., Waycott, M., & Lowe, A. J. (2018). Advancing DNA Barcoding and Metabarcoding Applications for Plants Requires Systematic Analysis of Herbarium Collections—An Australian Perspective [Perspective]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00134>
- Drake, J. W., Charlesworth, B., Charlesworth, D., & Crow, J. F. (1998). Rates of spontaneous mutation. *Genetics*, 148(4), 1667-1686. <https://doi.org/10.1093/genetics/148.4.1667>
- Eaton, M. J., Meyers, G. L., Kolokotronis, S.-O., Leslie, M. S., Martin, A. P., & Amato, G. (2010). Barcoding bushmeat: molecular identification of Central African and South American harvested vertebrates. *Conservation Genetics*, 11(4), 1389-1404.

- Ebihara, A., Nitta, J. H., & Ito, M. (2010). Molecular species identification with rich floristic sampling: DNA barcoding the pteridophyte flora of Japan. *PLoS one*, 5(12), e15136. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015136>
- Erickson, D. L., Spouge, J., Resch, A., Weigt, L. A., & Kress, W. J. (2008). DNA Barcoding In Land Plants: Developing Standards To Quantify And Maximize Success. *Taxon*, 57(4), 1304-1316.
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., Percy, D. M., Hajibabaei, M., & Barrett, S. C. (2008). Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PLoS one*, 3(7), e2802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002802>
- Fazekas, A. J., Kesanakurti, P. R., Burgess, K. S., Percy, D. M., Graham, S. W., Barrett, S. C., Newmaster, S. G., Hajibabaei, M., & Husband, B. C. (2009). Are plant species inherently harder to discriminate than animal species using DNA barcoding markers? *Mol Ecol Resour*, 9 *Suppl s1*, 130-139. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02652.x>
- Feitosa, L. M., Martins, A. P. B., Giarrizzo, T., Macedo, W., Monteiro, I. L., Gemaque, R., Nunes, J. L. S., Gomes, F., Schneider, H., Sampaio, I., Souza, R., Sales, J. B., Rodrigues-Filho, L. F., Tchaicka, L., & Carvalho-Costa, L. F. (2018). DNA-based identification reveals illegal trade of threatened shark species in a global elasmobranch conservation hotspot. *Scientific reports*, 8(1), 3347. Retrieved 2018/02//, from <http://europepmc.org/abstract/MED/29463851>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 3(5), 294-299.
- Gao, T., Yao, H., Song, J., Liu, C., Zhu, Y., Ma, X., Pang, X., Xu, H., & Chen, S. (2010). Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode *ITS2*. *J Ethnopharmacol*, 130(1), 116-121. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.026>
- Gao, T., Yao, H., Song, J., Zhu, Y., Liu, C., & Chen, S. (2010). Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family. *BMC Evol Biol*, 10, 324. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-324>

- Gielly, L., & Taberlet, P. (1994). The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *RbcL* sequences. *Mol Biol Evol*, 11(5), 769-777. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040157>
- Gonzalez, M. A., Baraloto, C., Engel, J., Mori, S. A., Pétronelli, P., Riéra, B., Roger, A., Thébaud, C., & Chave, J. (2009). Identification of Amazonian trees with DNA barcodes. *PLoS one*, 4(10), e7483.
- Gregory, T. R. (2005). DNA barcoding does not compete with taxonomy. *Nature*, 434(7037), 1067-1067.
- Group, C. P. W. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 12794-12797.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Hebert, P. D., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H., & Hallwachs, W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(41), 14812-14817. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406166101>
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., Zakharov, E. V., Telfer, A. C., Levesque-Beaudin, V., Milton, M. A., Pedersen, S., Jannetta, P., & DeWaard, J. R. (2016). Counting animal species with DNA barcodes: Canadian insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1702), 20150333.
- Hollingsworth, M. L., Andra Clark, A., Forrest, L. L., Richardson, J., Pennington, R. T., Long, D. G., Cowan, R., Chase, M. W., Gaudeul, M., & Hollingsworth, P. M. (2009). Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven candidate loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants. *Mol Ecol Resour*, 9(2), 439-457. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02439.x>
- Hollingsworth, P. M. (2008). DNA barcoding plants in biodiversity hot spots: progress and outstanding questions. *Heredity (Edinb)*, 101(1), 1-2. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.16>

- Hollingsworth, P. M. (2011). Refining the DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), 19451-19452.
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS one*, 6(5), e19254.
- Hollingsworth, P. M., Li, D. Z., van der Bank, M., & Twyford, A. D. (2016). Telling plant species apart with DNA: from barcodes to genomes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 371(1702). <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0338>
- Jackson, A. S., & Nijman, V. (2020). DNA barcoding of primates and the selection of molecular markers using African Great Apes as a model. *J Anthropol Sci*, 98. <https://doi.org/10.4436/jass.98017>
- Jackson, R., Moore, L., Hoffmann, W., Pockman, W., & Linder, C. (1999). Ecosystem rooting depth determined with caves and DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(20), 11387-11392.
- Kaartinen, R., Stone, G. N., Hearn, J., Lohse, K., & Roslin, T. (2010). Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. *Ecological entomology*, 35(5), 623-638.
- Kane, N., Sveinsson, S., Dempewolf, H., Yang, J. Y., Zhang, D., Engels, J. M., & Cronk, Q. (2012). Ultra-barcoding in cacao (*Theobroma* spp.; Malvaceae) using whole chloroplast genomes and nuclear ribosomal DNA. *Am J Bot*, 99(2), 320-329. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100570>
- Kane, N. C., & Cronk, Q. (2008). Botany without borders: barcoding in focus. *Mol Ecol*, 17(24), 5175-5176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03972.x>
- Kesanakurti, P. R., Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Percy, D. M., Newmaster, S. G., Graham, S. W., Barrett, S. C., Hajibabaei, M., & Husband, B. C. (2011). Spatial patterns of plant diversity below-ground as revealed by DNA barcoding. *Molecular Ecology*, 20(6), 1289-1302.
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *RbcL* gene complements the non-coding *TrnH-psbA* spacer region. *PLoS one*, 2(6), e508.
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2008). DNA barcoding: A windfall for tropical biology? *Biotropica*, 40(4), 405-408.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A*, 102(23), 8369-8374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503123102>
- Kvist, S. (2013). Barcoding in the dark? A critical view of the sufficiency of zoological DNA barcoding databases and a plea for broader integration of taxonomic knowledge. *Mol Phylogenet Evol*, 69(1), 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.05.012>
- Lahaye, R., van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T. G., & Savolainen, V. (2008). DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(8), 2923-2928. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709936105>
- Lara, A., Ponce de León, J. L., Rodriguez, R., Casane, D., Cote, G., Bernatchez, L., & García-Machado, E. (2010). DNA barcoding of Cuban freshwater fishes: evidence for cryptic species and taxonomic conflicts. *Molecular ecology resources*, 10(3), 421-430.
- Li, D. Z., Gao, L. M., Li, H. T., Wang, H., Ge, X. J., Liu, J. Q., Chen, Z. D., Zhou, S. L., Chen, S. L., Yang, J. B., Fu, C. X., Zeng, C. X., Yan, H. F., Zhu, Y. J., Sun, Y. S., Chen, S. Y., Zhao, L., Wang, K., Yang, T., . . . China Plant, B. O. L. G. (2011). Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (*ITS*) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(49), 19641-19646. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104551108>
- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 90(1), 157-166. <https://doi.org/10.1111/brv.12104>
- Lowe, A. J., & Cross, H. B. (2011). The Application of DNA methods to Timber Tracking and Origin Verification. *IAWA journal*, 32(2), 251-262.
- Luo, K., Chen, S., Chen, K., Song, J., Yao, H., Ma, X., Zhu, Y., Pang, X., Yu, H., Li, X., & Liu, Z. (2010). Assessment of candidate plant DNA barcodes using the Rutaceae family. *Sci China Life Sci*, 53(6), 701-708. <https://doi.org/10.1007/s11427-010-4009-1>
- Ma, X. Y., Xie, C. X., Liu, C., Song, J. Y., Yao, H., Luo, K., Zhu, Y. J., Gao, T., Pang, X. H., Qian, J., & Chen, S. L. (2010). Species identification of medicinal pteridophytes by a DNA barcode marker, the chloroplast psbA-trnH intergenic region. *Biol Pharm Bull*, 33(11), 1919-1924. <https://doi.org/10.1248/bpb.33.1919>

- McLeod, D., Horner, S., Husted, C., Barley, A., & Iskandar, D. T. (2011). "Same-same, but different": An unusual new species of the *Limnionectes kuhlii* Complex from West Sumatra (Anura: Dicroglossidae). *Zootaxa*, 2883, 52-64. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2883.1.4>
- Meiklejohn, K. A., Burnham-Curtis, M. K., Straughan, D. J., Giles, J., & Moore, M. K. (2021). Current methods, future directions and considerations of DNA-based taxonomic identification in wildlife forensics. *Forensic Science International: Animals and Environments*, 1, 100030. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsiae.2021.100030>
- Miller, S. E. (2007). DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(12), 4775-4776.
- Min, X. J., & Hickey, D. A. (2007). Assessing the effect of varying sequence length on DNA barcoding of fungi. *Mol Ecol Notes*, 7(3), 365-373. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01698.x>
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853-858.
- Nakazato, T., & Jinbo, U. (2022). Cross-sectional use of barcode of life data system and GenBank as DNA barcoding databases for the advancement of museomics [Systematic Review]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.966605>
- Newmaster, S. G., Fazekas, A. J., & Ragupathy, S. (2006). DNA barcoding in land plants: evaluation of *RbcL* in a multigene tiered approach. *CANADIAN JOURNAL OF BOTANY-REVUE CANADIENNE DE BOTANIQUE*, 84(3), 335-341. <https://doi.org/10.1139/B06-047>
- Newmaster, S. G., Fazekas, A. J., Steeves, R. A., & Janovec, J. (2008). Testing candidate plant barcode regions in the Myristicaceae. *Mol Ecol Resour*, 8(3), 480-490. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.02002.x>
- Nilsson, R. H., Larsson, K.-H., Taylor, A. F. S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T. S., Schigel, D., Kennedy, P., Picard, K., Glöckner, F. O., & Tedersoo, L. (2019). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic acids research*, 47(D1), D259-D264.

- Pang, X., Song, J., Zhu, Y., Xie, C., & Chen, S. (2010). Using DNA barcoding to identify species within Euphorbiaceae. *Planta Med*, 76(15), 1784-1786. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1249806>
- Pang, X., Song, J., Zhu, Y., Xu, H., Huang, L., & Chen, S. (2011). Applying plant DNA barcodes for Rosaceae species identification. *Cladistics*, 27(2), 165-170. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00328.x>
- Parmesan, C., Ryrholm, N., Stefanescu, C., Hill, J. K., Thomas, C. D., Descimon, H., Huntley, B., Kaila, L., Kullberg, J., Tammaru, T., Tennent, W. J., Thomas, J. A., & Warren, M. (1999). Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*, 399(6736), 579-583. <https://doi.org/10.1038/21181>
- Pennisi, E. (2007). Taxonomy. Wanted: a barcode for plants. *science*, 318(5848), 190-191. <https://doi.org/10.1126/science.318.5848.190>
- Pentinsaari, M., Blagoev, G. A., Hogg, I. D., Levesque-Beaudin, V., Perez, K., Sobel, C. N., Vandenbrink, B., & Borisenko, A. (2020). A DNA Barcoding Survey of an Arctic Arthropod Community: Implications for Future Monitoring. *Insects*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/insects11010046>
- Piper, A. M., Batovska, J., Cogan, N. O. I., Weiss, J., Cunningham, J. P., Rodoni, B. C., & Blacket, M. J. (2019). Prospects and challenges of implementing DNA metabarcoding for high-throughput insect surveillance. *Gigascience*, 8(8). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz092>
- Plant, C. (2009). Group W. A DNA barcode for land plants. *Proc Natl Acad Sci US A*, 106(12794), 7.
- Pleijel, F., Jondelius, U., Norlinder, E., Nygren, A., Oxelman, B., Schander, C., Sundberg, P., & Thollesson, M. (2008). Phylogenies without roots? A plea for the use of vouchers in molecular phylogenetic studies. *Mol Phylogenet Evol*, 48(1), 369-371. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.03.024>
- Pulgarin, P., Olivera-Angel, M., Ortíz, L., Nanclares, D., Velásquez-Restrepo, S., & Díaz-Nieto, J. (2021). DNA barcodes of birds from northern Colombia. *Biodiversity Data Journal*, 9. <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e64842>
- Ran, K., Qi, L., Li, W., & Kong, L. (2020). DNA barcoding for identification of marine gastropod species from Hainan island, China. *Fisheries Research*, 225, 105504. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2020.105504>

- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364.
- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. (2013). A DNA-based registry for all animal species: the Barcode Index Number (BIN) system. *PloS one*, 8(7), e66213.
- Renner, S. S. (1999). Circumscription and phylogeny of the Laurales: evidence from molecular and morphological data. *Am J Bot*, 86(9), 1301-1315.
- Salazar, G. A., Chase, M. W., Soto Arenas, M. A., & Ingrouille, M. (2003). Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *Am J Bot*, 90(5), 777-795. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.5.777>
- Sass, C., Little, D. P., Stevenson, D. W., & Specht, C. D. (2007). DNA barcoding in the cycadales: testing the potential of proposed barcoding markers for species identification of cycads. *PLoS one*, 2(11), e1154. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001154>
- Sayers, E. W., Cavanaugh, M., Clark, K., Pruitt, K. D., Sherry, S. T., Yankie, L., & Karsch-Mizrachi, I. (2022). GenBank 2023 update. *Nucleic acids research*.
- Selvaraj, D., Sarma, R. K., & Sathishkumar, R. (2008). Phylogenetic analysis of chloroplast *MatK* gene from Zingiberaceae for plant DNA barcoding. *Bioinformation*, 3(1), 24-27. <https://doi.org/10.6026/97320630003024>
- Shaw, J., Lickey, E. B., Beck, J. T., Farmer, S. B., Liu, W., Miller, J., Siripun, K. C., Winder, C. T., Schilling, E. E., & Small, R. L. (2005). The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am J Bot*, 92(1), 142-166. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
- Smith, M. A., Woodley, N. E., Janzen, D. H., Hallwachs, W., & Hebert, P. D. (2006). DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(10), 3657-3662.
- Song, J., Shi, L., Li, D., Sun, Y., Niu, Y., Chen, Z., Luo, H., Pang, X., Sun, Z., Liu, C., Lv, A., Deng, Y., Larson-Rabin, Z., Wilkinson, M., & Chen, S. (2012). Extensive pyrosequencing reveals frequent intra-

- genomic variations of internal transcribed spacer regions of nuclear ribosomal DNA. *PLoS one*, 7(8), e43971. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043971>
- Stech, M., & Quandt, D. (2010). 20,000 species and five key markers: The status of molecular bryophyte phylogenetics. *PHYTOTAXA*, 9, 196-228.
- Stoeckle, M. (2003). Taxonomy, DNA, and the bar code of life. *BIOSCIENCE*, 53(9), 796-797. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0796:TDATBC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0796:TDATBC]2.0.CO;2)
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., Vermat, T., Corthier, G., Brochmann, C., & Willerslev, E. (2007). Power and limitations of the chloroplast trn L (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic acids research*, 35(3), e14-e14.
- Valentini, A., Miquel, C., Nawaz, M. A., Bellemain, E., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Cruaud, C., Nascetti, G., & Wincker, P. (2009). New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Molecular ecology resources*, 9(1), 51-60.
- Van De Wiel, C. C. M., Van Der Schoot, J., Van Valkenburg, J., Duistermaat, H., & Smulders, M. J. M. (2009). DNA barcoding discriminates the noxious invasive plant species, floating pennywort (*Hydrocotyle ranunculoides* L.f.), from non-invasive relatives. *Molecular ecology resources*, 9(4), 1086-1091. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02547.x>
- Vijayan, K., & Tsou, C. H. (2010). DNA barcoding in plants: taxonomy in a new perspective. *CURRENT SCIENCE*, 99(11), 1530-1541.
- Wang, T., Zhang, Y. P., Yang, Z. Y., Liu, Z., & Du, Y. Y. (2020). DNA barcoding reveals cryptic diversity in the underestimated genus *Triplophysa* (Cypriniformes: Cobitidae, Nemacheilinae) from the northeastern Qinghai-Tibet Plateau. *BMC Evol Biol*, 20(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s12862-020-01718-0>
- Waugh, J. (2007). DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *Bioessays*, 29(2), 188-197. <https://doi.org/10.1002/bies.20529>
- Whitlock, B. A., Hale, A. M., & Groff, P. A. (2010). Intraspecific inversions pose a challenge for the *TrnH-psbA* plant DNA barcode. *PLoS one*, 5(7), e11533. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011533>
- Yamaguchi, A., Kawamura, H., & Horiguchi, T. (2006). A further phylogenetic study of the heterotrophic dinoflagellate genus,

Protopteridinium (Dinophyceae) based on small and large subunit ribosomal RNA gene sequences. *PHYCOLOGICAL RESEARCH*, 54(4), 317-329. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2006.00438.x>

Yao, H., Song, J. Y., Ma, X. Y., Liu, C., Li, Y., Xu, H. X., Han, J. P., Duan, L. S., & Chen, S. L. (2009). Identification of *Dendrobium* species by a candidate DNA barcode sequence: the chloroplast psbA-trnH intergenic region. *Planta Med*, 75(6), 667-669. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1185385>

BÖLÜM 16

ÖNEMLİ BİR FLAVONOİD: NARİNGİN

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN¹

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN²

¹ Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya
ABD/Siirt.Türkiye.email:mahireakkoyun@siirt.edu.tr, ORCID 2: 0000-0001-5150-5402

² Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Fizyoloji
ABD/Siirt.Türkiye.email:turanakkoyun@hotmail.com, ORCID 1: 0000-0002-4547-8003

1.SERBEST RADİKALLER VE ANTIOKSİDANLAR

Son yörüngesinde bir yada daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran ve bağımsız olarak var olabilen (dolayısıyla serbest terimi) bileşikler serbest radikal olarak tanımlanırlar (Dio-Meo ve Vinditi 2020; Lobo ve ark.,2010; Halliwel, 2006). Serbest radikaller eşleşmemiş elektron içerdiklerinden dolayı kararsız ve oldukça reaktif yapıdadırlar. Bu nedenle farklı maddelerle tepkimeye girerek kararlı hale geçme eğilimi gösterirler (Karabulut ve Gülay, 2016). Tarihsel olarak bakıldığında 1900'lü yıllarda ünlü organik kimya profesörü Moses Gomberg tarafından Michigan Üniversitesinde (1866-1947) organik serbest radikal formundaki trifenilmetil radikalinin keşfi, serbest radikaller üzerine olan ilgiyi arttırarak farklı araştırmaların başlamasına sebebiyet vermiştir (Ruthenberg,2015). Serbest radikaller; reaktif oksijen ve nitrojen türleri olarak incelenir. Reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri; farklı nonradikal reaktif türlere kolaylıkla dönüşebilirler (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikallerle bağlantılı olarak tarihte ilk kez 'Antioksidan' kavramı 19. yüzyılda ortaya atılmıştır (Lobo ve ark., 2010; Egbojur ve ark., 2020). 'Antioksidanlar' serbest radikal tepkimelerini engelleyen bununla bağlantılı olarak hücrel hasarı geciktiren veya önleyen moleküller olarak tanımlanırlar. Bu önemli bileşikler serbest radikalleri nötralize ederek metabolizmanın bu zararlı bileşenlerden etkilenmesini önleyerek aynı zamanda metabolizmanın yenilemesini sağlarlar. Hücrelerde hasara sebep olan serbest radikalleri ve reaktif oksijen çeşitlerini indirgeyerek toksik olmayan ürünlere çevirirler (Aruoma 1999). Antioksidanlar, organizmaların korunmasında farklı seviyelerde etki gösterirler. Antioksidan savunma sistemleri türden türe farklılık gösterse de, antioksidan savunmanın varlığı evrenseldir (Young ve Woodside, 2001; Nimse ve Pal, 2015). Serbest radikallere karşı ilk savunma mekanizması, demir ve bakır ile zincirleme reaksiyonların inhibisyonu sonucu oluşumlarının engellenmesidir. Antioksidanlar, hücrel metabolizma veya eksojen kaynaklar tarafından üretilen serbest radikalleri durdurarak, lipitlere, amino asitlere, çoklu doymamış yağ asitlerinin ve DNA bazlarının çift bağlarına yönelik saldırıyı önleyerek, lezyon oluşumunu ve hücre bütünlüğü kaybını önleyebilirler (Marcadenti ve Coelho, 2015; Moller ve Loft, 2002). Antioksidan özellikteki maddeler dört farklı şekilde etki mekanizması sergilerler. Bunlar;

1) Serbest oksijen radikallerini tutarak zayıf yeni bileşenlere dönüştürürler. Antioksidan olarak gören enzimler, ayrıca trakeobronşiyal mukus bu şekilde etki gösterirler.

2) Radikal türlerine hidrojenin aktarılmasını sağlayarak bu radikallerin etkinliklerini azaltırlar veya pasif forma dönüştürürler. Baskılama etkisi olarakta bilinen bu etki flavanoidler ve vitaminlerin çalışma mekanizmasını açıklar.

3) Serbest radikalleri bağlayarak zincirler kırıcı etkiye sebep olurlar ve radikallerin fonksiyonlarını engelleyici etki gösterirler. Zincir kırıcı etki genel olarak E vitamini, hemoglobin, ve seruloplazmin tarafından sergilenen etkilerden birisidir.

4) Onarma Etkisi (Johns ve Latts, 2014; Yellon, 1994; Dusak, 2015; Atasoy 2019).

1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Kendi aralarında Antioksidanlar; endojen (doğal) ve eksojen kaynaklı olarak 2 gruba ayrılırlar (Bouayed ve Bohn, 2010).

1. Endojen Antioksidanlar (Pisoschi ve ark., 2021; Mates ve ark., 1999).

1.1. Enzimatik Antioksidanlar

- Süperoksit dismutaz (SOD),
- Katalaz (CAT),
- Glutatyon peroksidaz (GPx),
- Glutatyon redüktaz (GR),
- Glutatyon S Transferaz (GST),
- Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar (Mironczuk-Chodakowska, 2018)

- Glutatyon,
- Ürik asit
- Seruloplazmin,
- Bilirubin,
- Metallothioneins,
- Transferin,
- Albumin,
- Laktoferrin
- Koenzim Q10
- Ferritin

2.Eksojen Antioksidanlar (Aslani ve Ghobadi, 2016; Karabulut ve Gülay, 2016; Bouayed ve Bohn, 2010)

Vitaminler; vitamin A, vitamin E

İz elementler; selyum, çinko

Karotenoidler; b-karoten, likopen, lutein, zeaksanthin

Fenolik Asitler; klorjenik asit, gallik asit, kafeik asit,

Flavonollar; quercetin, kaempferol, myricetin

Flavanollar; proantosyanidinler and kateşinler

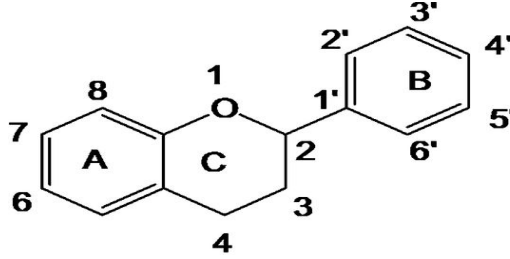
İzoflavonlar; genistein, daidzein ve glycitein

Antosiyanidinler: siyanidin ve pelagonidin

2.FLAVONOIDLER VE NARINGİN

Bitkisel kaynaklı bileşiklerin biyolojik yönden aktiviteleri yüzyıllardır bilinmesine karşın 50 yıl öncesine kadar flavonoidlerin çalışma prensipleri ile ilgili ulaşılabilen bilginin çok az olduğu göze çarpmaktadır. Szent-Gyorggyi tarafından 1930 yılında portakaldan yeni bir madde izole edilmiş bu yeni madde ‘P vitamini’ olarak adlandırmıştır. Ancak takip eden yıllarda bu maddenin aslında bir vitamin değil flavonoid olduğu belirlenmiştir (Juca ve ark., 2020). Flavonoidler yoğun olarak meyve, sebze, çay ve kabuklu yemişlerde bulunan polifenolik metabolitler olarak tanımlanırlar. Bitkilerin bütün kısımlarında yer almamakla birlikte yaprak ve çiçek gibi kısmında yoğunlukları fazladır. Antikarsinojen ve antitümör aktiviteye sahip olan flavonoidler, heterojen polifenollerin büyük bir grubu olarak bilinir (Pei ve ark.,2020). Çeşitli biyoaktivitelere sahip doğal olarak oluşan fenolik bileşikler sınıfında incelenen flavonoidlerin şu ana kadar çoğunlukla meyve, sebze ve bitkilerden olmak üzere yaklaşık 4000 farklı çeşidi keşfedilmiştir. Temel flavonoid yapısı 15 karbon atomundan ve 2'si 3 karbonlu bir zincirle bağlı benzen halkası olan 3 halkadan oluşur (Cook ve Samman, 1996; Croft 1998). Flavonoidler, vasküler bitkilerden izole edilen her yerde bulunan polifenolik sekonder metabolitlerdir (Sharma ve ark., 2019). Flavonoidler, fenolik bitki bileşenlerinin büyük bir grubudur. Flavonoidlerin biyoaktif potansiyele sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir, ancak biyoyararlanımları, metabolik akıbetleri ve sağlık üzerine etkileri hakkındaki verilerin 1990'larda, bu bileşiklere olan ilginin artmaya başlamasıyla giderek büyümektedir (Erlund, 2004). Flavonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler, flavanoller ve flavanonlar, bitki özlerinde bulunan flavonoid çeşitleridir. Tüm bu flavonoidler, serbest radikallerin temizlenmesinde ve oksidatif stresin önlenmesinde temel ve güçlü bir rol oynamaktadır (Rath ve ark., Croft, 1998; Ross ve Kasum, 2002).

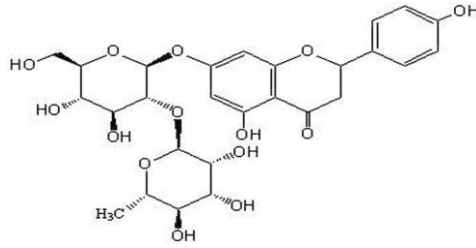
Flavonoidler ayrıca antioksidan enzimlerin uyarılmasından da sorumludurlar. İnsan vücudunda antioksidan enzimlerin üretimini tetikleme yeteneğine sahip oldukları da bildirilmiştir (Banjarnahor ve Artanti, 2014). Flavonoid bileşiklerinin, kanser önleme, kardiyovasküler hastalıklar ve diabetes mellitus için, çoğunlukla antioksidan etkilerinden kaynaklandığı düşünülen önemli potansiyel avantajlar gösterdiği bildirilmiştir (Raffa ve ark., 2017; Ravishankar ve ark., 2013; Wang ve ark., 2000; Moghaddam ve ark., 2020).



Şekil 1. Flavonoidlerin temel yapısı (Karak, 2019)

Çalışmalar, in vivo ve in vitro sistemlerde flavonoidlerin yüksek antioksidan aktivitelerinden dolayı çeşitli farmakolojik etkilerden sorumlu olduğunu da göstermiştir (Moller ve Loft, 2002). Antioksidan kapasite eylemi, enzimlerin inhibisyonu veya serbest radikal oluşumunda görev alan iz elementlerin şelatlanması yoluyla reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun baskılanması'nda içerir (Alrawaiq, 2014; Mishra ve ark., 2013; Raja Kumar ve ark., 2019).

Flavanoid sınıfına ait olan Naringin (Manchope ve ark., 2017), ilk 1857 yılında De Vry tarafından greyfurt çiçeklerinde bulunmuştur. Naringin adı "turuncu" anlamına gelen "narangi" kelimesinden türetilirken, Naringin'in kimyasal yapısı ilk olarak 1928'de Asahina ve Inubuse tarafından karakterize edilmiştir (Ahmed ve ark., 2019). Naringin (4',5,7-trihidroksiflavon-7-rhamnoglukozit) moleküler ağırlığı 580.4 g/mol olan üzüm ve turunçgillerde bulunan önemli bir flavanon glikozittir (Alam ve ark., 2014; Salehi ve ark., 2019). 110°C'de kurutulduğunda naringinin erime noktası 171°C olup $C_{27}H_{32}O_{14} \cdot 2H_2O$ molekül formülüne sahiptir. Suda çözünüp tekrar kristallenme eğilimi gösterdiğinde 6 mol kristal suyunu katarak erime noktasının aşağı doğru inmesini sağlar. Genel olarak bakıldığında naringin eter, benzen ve kloroform gibi çözücülerde çözünme göstermezken özellikle su, glasiyel asetik asit, aseton gibi maddelerin içerisinde çözünme özelliği gösterir (Altan 1983).



Şekil 2. Naringinin kimyasal yapısı (Alam ve ark., 2014; Salehi ve ark., 2019).

Naringin, ağırlıklı olarak narenciye türleri *Citrus paradise* (greyfurt), *Citrus unshu*, *Citrus sinensis* (portakal), *Citrus junos*, *Citrus nobilis*, *Citrus tachibana*, *Artemisia stolonifera*'nın meyvelerinde, *Artemisia selengensis*, *Cudrania cochincinensis*'in köklerinde, *Poncirus* çeşitlerinin meyvelerinde, *Mabea fistulifera*, *Swartzia polyphylla*'nın meyvelerinde yoğun olarak yer almaktadır (Jagetia ve Reddy, 2002; Mbaveng ve ark., 2014; Jadeja ve Devkar, 2014; Soltana ve ark., 2018; Chen ve ark., 2014). Ayrıca misk limonu, çin greyfurtu ve mandalina kabuğu, suyu ve tohumundan elde edilen acı bileşen (naringin) etmeni flavanoidlerden en önemlisi olarak bilinir (Yusof ve ark., 1990). Naringin, acılık veren neohesperidos (glikoz+rhamnose, 2-pozisyonda) şekere sahipken, acı olmayan izomeri narirutin, rutinose (glikoz+rhamnose, 6-pozisyonda) içerir (Braddock 1999).

Tablo1. Narenciye türleri ve naringin konsantrasyonları (Ooghe ve ark., 1994; Kawaii ve ark., 1999; Menichini ve ark., 2016; Bilbao ve ark., 2007; Dhuique-Mayer ve ark., 2005).

Kaynak bitki	Naringin içeriği (µg/ml)
<i>C. aurantium</i>	19.7
<i>Citrus (C.) sinensis</i>	21.3
<i>C. bergamia</i>	22.3
<i>C. reticulata</i>	3383.6
<i>C. clementina</i>	8.0

Çok yaygın bir diyet bileşeni olan Naringin, insanlar tarafından tüketilen birçok diyet ürünüde her zaman mevcuttur Böylece, bir insan şu veya bu şekilde naringin alımına maruz kalır (Bharti ve ark., 2014). Naringinin, çok çeşitli sinyal molekülleri ile etkileşime girdiği ve çeşitli sinyal yollarını modüle ettiği ve dolayısıyla antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik, antitümör ve antiviral özellikler gibi çoklu farmakolojik

etkilerinin yanı sıra metabolik sendrom, kemik rejenerasyonu, kardiyovasküler hastalıklar, genetik hasar ve nörodejeneratif bozukluklar üzerinde etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Chen ve ark., 2015; Joshi ve ark., 2018; Rivoira ve ark., 2020; Ghanbari ve ark., 2021; Lin ve ark., 2017). Dahası, naringinin karaciğer hasarı üzerinde koruyucu etkiler sergilediği ve IR ile ilgili hepatik VLDL üretimi, obezite ve hepatik steatoz dahil birçok metabolik bozukluğu iyileştirebileceğini göstermektedir (Lin ve ark., 2017; Assini ve ark., 2015). Naringinin çeşitli hastalıklarda terapötik potansiyel gösterdiği belirtilmiştir. NRG'nin hipokolesterolemik etkileri, antiadipojenik ve antiaterojenik etkileri oldukça önemlidir. Ayrıca naringinin Na⁺ -K⁺ -ATPase modülasyonu yoluyla miyokardın enfarktüs boyutunu azalttığı da gösterilmiştir (Ahmed ve ark., 2019). Naringinin, glikosilasyon, ksantin oksidaz enzimini inhibe etme etkinliğini zayıflattığı ve aglikon, glikozitten daha aktif bir metalik iyon şelatörü gibi davrandığı, doza bağlı bir şekilde lipidlerin oksidatif hasarına karşı korumada daha büyük bir etkinlik gösterdiği ve DNA hasarını azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark., 2015; Venkatesvara ve ark., 2017). Son zamanlarda naringinin renoprotektif rolü üzerine yapılan araştırmalar umut verici sonuçlar sağlamıştır. Naringinin asetaminofen tarafından yönlendirilen hepatik ve renal toksisiteye karşı iyileştirici etkisi olduğunda bildirilmiştir (Sehravat ve ark., 2021). Naringinin, lipid peroksidasyon biyobelirteçlerinde ve protein karbonilasyonunda bir azalmayı içeren insan sağlığı üzerinde geniş biyolojik etkilere sahip olduğu ve antioksidan savunmayı arttırarak, reaktif oksijen türlerini temizlediği, bağışıklık sistemini modüle ederek anti-inflamatuar etkiler sergilediği belirlenmiştir. Naringinin farklı hastalıklarda antiinflamatuar etkilerinin spesifik mekanizmaları halen araştırılmaktadır (Zhao ve Liu, 2021; Salehi ve ark., 2019).

SONUÇ

Naringin için; geniş erişilebilirliği, düşük maliyeti, farmakolojik etkilerinin çeşitliliği ve uzun kullanım geçmişi nedeniyle çeşitli hastalıkların tedavisi için umut verici olduğu söylenebilir. Bu sebeple, naringinin farklı etkilerinin belirlenebilmesi için klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, S., Khan, H., Aschner, M., Hasan, M.M., Hassan, S.T. (2019). Therapeutic potential of naringin in neurological disorders. *Food and Chemical Toxicology*, 132, 110646.
- Alam, M.A., Subhan, N., Rahman, M.M., Uddin, S.J., Reza, H.M., Sarker, S.D. (2014). Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*, 5(4), 404-417.
- Alrawaiq, N.S., Abdullah, A.(2014). A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *International Journal of PharmTech Research*, 6(3), 933-941.
- Altan, A. (1983). Turunçgil Sularında Acılık Ögesi Olarak Naringin. *Gıda*, 8(1).
- Assini, J.M., Mulvihill, E.E., Burke, A.C., Sutherland, B.G., Telford, D.E., Chhoker, S.S., Huff, M.W.(2015). Naringenin prevents obesity, hepatic steatosis, and glucose intolerance in male mice independent of fibroblast growth factor 21. *Endocrinology*, 156(6), 2087-2102.
- Aslani, B.A., Ghobadi, S. (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*, 146, 163-173.
- Atasoy, N. (2019). Melatonin ve antioksidan etkileri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 196-201.
- Aruoma, O. I. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific Journal of clinical nutrition*, 8(1).
- Banjarnahor, S.D.,Artanti, N.(2014). Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 239-44.
- Bharti, S., Rani, N., Krishnamurthy, B., Arya, D.S.(2014). Preclinical evidence for the pharmacological actions of naringin: a review. *Planta medica*, 80(06), 437-451.
- Bilbao, M.D.L.M., Andrés-Lacueva, C., Jáuregui, O., Lamuela-Raventos, R.M. (2007). Determination of flavonoids in a Citrus fruit extract by LC–DAD and LC–MS. *Food chemistry*, 101(4), 1742-1747.
- Bouayed, J., Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3(4), 228-237.

- Braddock, R.J. (1999). Wiley: Handbook of Citrus By-Products and Processing Technology Rober J. Braddock <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0471190241.html> Accessed March 17, 2017.
- Chen, F., Zhang, N., Ma, X., Huang, T., Shao, Y., Wu, C., Wang, Q. (2015). Naringin alleviates diabetic kidney disease through inhibiting oxidative stress and inflammatory reaction. *PLoS One*, 10(11), e0143868.
- Cook, N.C., Samman, S.(1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem*, 7, 66–76.
- Croft, K.D. (1998). The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids, in: Annals of the New York Academy of Sciences. *New York Academy of Sciences*, 854, 435-442.
- Dhuique-Mayer, C., Caris-Veyrat, C., Ollitrault, P., Curk, F., Amiot, M.J. (2005). Varietal and interspecific influence on micronutrient contents in citrus from the Mediterranean area. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 2140-2145.
- Di Meo, S., Venditti, P. (2020). Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.
- Dusak, A.(2015). Kolon kanserli hastalarda bazı antioksidant enzim aktivitelerinin incelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü.
- Egbujor, M.C., Egu, S.A., Okonkwo, V.I., Jacob, A.D., Ekwuatu, P. I., Amasiatu, I. S. (2020). Antioxidant Drug Design: Historical and Recent Developments. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(41), 36-56.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition research*, 24(10), 851-874.
- Ghanbari-Movahed, M., Jackson, G., Farzaei, M.H., Bishayee, A. (2021). A Systematic Review of the Preventive and Therapeutic Effects of Naringin Against Human Malignancies. *Front. Pharmacol*, 12,639840.
- Halliwell, B.(2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant Physiology*, 141, 312-322.

- Jadeja, R.N., Devkar, R.V.(2014). Polyphenols in Human Health and Disease. Academic Press; San Diego, CA, USA: *Polyphenols and flavonoids in controlling non-alcoholic steatohepatitis*, 615–623.
- Jagetia, G.C., Reddy, T.K. (2002). The grapefruit flavanone naringin protects against the radiation-induced genomic instability in the mice bone marrow: a micronucleus study. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 519,37–48.
- Johns, J.R., Latts, J.A.(2014). Theoretical insight into the antioxidant properties of melatonin and derivatives. *Org. Biomol. Chem*,12(39), 7820-7.
- Joshi, R., Kulkarni, Y.A., Wairkar, S.(2018). Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: an update.*Life Sci*, 215, 43.
- Jucá, M.M., Cysne Filho, F.M.S., de Almeida, J.C., Mesquita, D.D.S., Barriga, J.R.D.M., Dias, K.C.F., Vasconcelos, S.M.M. (2020). Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural product research*, 34(5), 692-705.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Serbest radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1).
- Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(4), 1567-1574.
- Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Yano, M. (1999). HL-60 differentiating activity and flavonoid content of the readily extractable fraction prepared from citrus juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 128-135.
- Kim, J.H., Lee, J.K. (2015). Naringenin enhances NK cell lysis activity by increasing the expression of NKG2D ligands on Burkitt's lymphoma cells. *Archives of pharmacal research*, 38(11), 2042-2048.
- Lin, H.J., Ku, K.L., Lin, I., Yeh, C.C. (2017). Naringenin attenuates hepatitis B virus X protein-induced hepatic steatosis. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-10.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
- Manchope, M.F., Casagrande, R., Verri, W.A.(2017). Naringenin: An analgesic and anti-inflammatory citrus flavanone. *Oncotarget*, 8, 3766–3767.

- Marcadenti, A., Coelho, R.C.L.A. (2015). Dietary antioxidant and oxidative stress: Interaction between vitamins and genetics. *J Nutrition Health Food Sci*, 3(1), 1-7.
- Matés, J. M., Sánchez-Jiménez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 4(4), 339-345.
- Mbaveng, A.T., Zhao, Q., Kuete, V.(2014). Toxicological Survey of African Medicinal Plants. Elsevier; New York, NY, USA: Chapter 20—Harmful and protective effects of phenolic compounds from African medicinal plants, 577–609.
- Menichini, F., Tundis, R., Loizzo, M.R., Bonesi, M., D’Angelo, D., Lombardi, P., Mastellone, V. (2016). Citrus medica L. cv Diamante (Rutaceae) peel extract improves glycaemic status of Zucker diabetic fatty (ZDF) rats and protects against oxidative stress. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(6), 1270-1276.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
- Mishra, A., Kumar, S., Pandey, A.K. (2013). Scientific validation of the medicinal efficacy of *Tinospora cordifolia*. *The Scientific World Journal*, 8.
- Moghaddam, R.H., Samimi, Z., Moradi, S.Z., Little, P.J., Xu, S., Farzaei, M.H. (2020). Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review. *European Journal of Pharmacology*, 887, 173535.
- Møller, P., Loft, S. (2002). Oxidative DNA damage in human white blood cells in dietary antioxidant intervention studies. *The American journal of clinical nutrition*, 76(2), 303-310.
- Nimse, S.B., Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
- Ooghe, W.C., Ooghe, S.J., Detavernier, C.L.M., Huyghebaert, A. (1994). Characterization of orange juice (*Citrus sinensis*) by flavanone glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(10), 2183-2190.
- Pei, R., Liu, X., Bolling, B. (2020). Flavonoids and gut health. *Current Opinion in Biotechnology*, 61, 153-159.

- Pisoschi, A.M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., Serban, A.I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891.
- Raffa, D., Maggio, B., Raimondi, M.V., Plescia, F., Daidone, G. (2017). Recent discoveries of anticancer flavonoids. *European journal of medicinal chemistry*, 142, 213-228.
- Ravishankar, D., Rajora, A.K., Greco, F., Osborn, H.M. (2013). Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45(12), 2821-2831.
- Rath, D., Kar, B., Pattnaik, G. Preventive Role Of Naringin In Diabetes Mellitus And Its Mechanism Of Action: A Review.
- Raja Kumar, S., Mohd Ramli, E.S., Abdul Nasir, N.A., Ismail, N.H.M., Mohd Fahami, N.A. (2019). Preventive effect of naringin on metabolic syndrome and its mechanism of action: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Ross, J.A., Kasum C.M. (2002). Dietary Flavonoids/ : Bioavailability, Metabolic Effects and Safety. *Annu. Rev. Nutr.*, 22, 19-34.
- Rivoira, M.A., Rodriguez, V., Talamoni, G., de Talamoni, N. T. (2021). New perspectives in the pharmacological potential of naringin in medicine. *Current Medicinal Chemistry*, 28(10), 1987-2007.
- Ruthenberg, K. (2015). Radicals, reactions, realism. In *Philosophy of Chemistry* (183-199). Springer, Dordrecht.
- Salehi, B., Fokou, P.V.T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., Sharifi-Rad, J. (2019). The therapeutic potential of naringenin: a review of clinical trials. *Pharmaceuticals*, 12(1), 11.
- Sehrawat, N., Upadhyay, S.K., Sharma, A.K., Kumar, S., Yadav, M. (2021). Emerging renoprotective role of citrus flavonoid naringin: Current pharmaceutical status and future perspectives. *Current Pharmacology Reports*, 7(3), 96-101.
- Sharma, P., Kumar, V.,Guleria, P. (2019). Naringin: Biosynthesis and pharmaceutical applications. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(6), 988-999.
- Soltana H., De Rosso M., Lazreg H., Vedova A.D., Hammami M., Flamini R.(2018). LC-QTOF characterization of non-anthocyanic flavonoids in four Tunisian fig varieties. *J. Mass Spectrom.* JMS,53,817–823.

- Şen M.(2011). Üvez Meyvalarının Antioksidan Aktivitesi. Kimya Anabilim Dalı. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.Yüksek Lisans Tezi.
- Venkateswara Rao, P., Kiran, S. D. V. S., Rohini, P., Bhagyasree, P. (2017). Flavonoid: A review on Naringenin. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 6(5), 2778-2783.
- Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 11(4-5), 152-160.
- Yellon, S.M.(1994). Acute 60Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. *J Pineal Res*, 16(3), 136-44.
- Young, I.S., Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
- Yusof, S., Ghazali, H.M., King, G.S. (1990). Naringin content in local citrus fruits. *Food Chemistry*, 37(2), 113-121.
- Zhao, Y., Liu, S. (2021). Bioactivity of naringin and related mechanisms. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76(8), 359-363.



ISBN: 78-625-6380-86-8