T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ENDÜSTRİYEL HİDROLİTİK ENZİMLERİN ŞAPKALI MANTARLARDAKİ AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Burçak TUNÇAKIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. FİGEN ERTAN

EDİRNE-2015

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Yılmaz ÇAMLITEPE
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Figen ERTAN
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Figen ERTAN	
Doç. Dr. Şebnem Selen İŞBİLİR	
Yrd. Doç. Dr. Bilal BALKAN	

Tarih: 02/03/2015

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

02/03/2015

Burçak TUNÇAKIN

Yüksek Lisans Tezi

Bazı Endüstriyel Hidrolitik Enzimlerin Şapkalı Mantarlardaki Aktivitelerinin Araştırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada Trakya Bölgesi'nde doğal olarak yetişen ve yenilebilen *Boletus edulis, Craterellus cornupioides, Hydnum repandum, Cantharellus cibarius, Amanita caesarea, Lactarius deliciosus, Agaricus campestris, Pleurotus eryngii* türü yabanıl mantarlar ile kültürü yapılan *Pleurotus ostreatus* ve *Agaricus bisporus* mantarlarının endüstriyel açıdan önemi olan amilaz, selülaz, ksilanaz, pektinaz, kitinaz ve β-glukozidaz enzim aktiviteleri incelendi. Bu amaçla, öncelikle her bir enzimatik reaksiyona özgü standart grafikler hazırlandı, daha sonra tüm mantar örneklerinin asetat tamponunda hazırlanan doku homojenatlarından kaba enzimleri elde edildi. Elde edilen kaba enzimler spesifik substratları ile inkübe edilerek ürünlerin oluşumu sağlandı. Açığa çıkan ürün miktarı spektrofotometrik olarak ölçülüp, standart grafiklerin yardımı ile enzim aktiviteleri hesaplandı.

Elde edilen bulgulara göre, *Pleurotus ostreatus* (istiridye) mantarının test edilen mantarlar içinde en yüksek ksilanaz (230±1.89 U/mL), pektinaz (173±2.6 U/mL) aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Maksimum, selülaz (CMCaz) (148±1.25 U/mL), kitinaz (128±2.52 U/mL) ve β-glukozidaz (74±0.305 U/mL) aktivitelerine, *Boletus edulis* (çörek)'in sahip olduğu gözlendi. En yüksek amilaz (156.6±0.51 U/mL) enzim aktivitesi ise, *Lactarius deliciosus* (kanlıca) mantarında saptandı. Selülaz, ksilanaz, β-glukozidaz, pektinaz, kitinaz ve amilaz enzimlerinin çalışılan tüm mantar türlerinde değişen oranlarda aktivite gösterdiği belirlendi. Kitinaz enziminin sadece *Hydnum repandum* (sığırdili), *Craterellus cornupioides* (borazan) ve *Agaricus bisporus* (kültür) mantarlarında aktivite göstermediği, ancak diğer mantar türlerinde aktivite gösterdiği saptandı.

Yıl : 2015
Sayfa Sayısı : 72
Anahtar Kelimeler : Şapkalı mantarlar, hidrolitik enzimler, amilaz, selülaz, ksilanaz, pektinaz, kitinaz, β-glukozidaz, enzim aktivitesi, endüstri.

Master'sThesis
Investigation of Some Industrial Hydrolytic Enzymes Activity of Mushrooms
Trakya University Institute of Natural Sciences
Department of Biology

ABSTRACT

In this study, amylase, cellulase, xylanase, pectinase, chitinase and β-glucosidase enzyme activities that are important from an industrial point of *Boletus edulis, Craterellus cornupioides, Hydnum repandum, Canthrellus cibarius, Amanita caesarea, Lactaricus delicious, Agaricus campestris, Pleurotus eryngii* which are edible mushrooms grows wild in the Thrace Region and of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus* were investigated. For this purpose, first, an enzymatic reaction-spesific standart charts were prepared, then the crude enzymes prepared from homogenates of all mushroom samples were obtained in acetate buffer. The obtained crude enzymes were incubated with spesific substrates and the formation of products were achieved. The amount of product emitted measured spectrophotometrically and their enzyme activities were calculated with the help of standard graphics.

According to the findings, *Pleurotus ostreatus* (oyster) were determined to have the highest xylanase (230±1.89 U/mL), pectinase (173±2.6 U/mL) activity among the tested mushrooms. Maximum cellulase (CMCase) (148±1.25 U/mL), chitinase (128±2.52 U/mL) and β-glucosidase (74±0.305 U/mL) activity of *Boletus edulis* (muffin) owned was observed. The highest amylase activitiy (156.6±0.51 U/mL) was detected in the mushroom *Lactarius deliciosus* (bloody). Cellulase, xylanase, pectinase, β-glucosidase, chitinase and amylase enzymes were determined in varying proportions studied in all mushroom species. Chitinase activity wasn't observed only *Hydnum repandum* (anchusa), *Craterellus cornupioides* (trumpet) and *Agaricus bisporus* (cultivated mushroom), but was detected to be active in other mushroom species.

Year : 2015
Number of Pages : 72
Keywords : Mushrooms, hydrolytic enzymes, amylase, cellulase, xylanase, pectinase, chitinase, β-glucosidase, enzyme activities, industry

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgilerini, önerilerini ve ilgisini esirgemeyen değerli tez hocam Sayın Prof. Dr. Figen ERTAN'a,

Tez çalışmalarımda bilgilerinden ve fikirlerinden faydalandığım Trakya Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden hocalarım, Sayın Prof. Dr. Hülya YAĞAR ve Sayın Doç. Dr. Şebnem Selen İŞBİLİR'e,

Tez çalışmamda kullandığım mantarların temininde bana katkıları olan Akya Mantar Ltd. Şti.'ne ve Sayın Mehmet Akif İNCEOĞLU'na,

Eğitim hayatım boyunca üzerimde emeği olmuş bütün öğretmenlerime,

Bugüne kadar attığım her adımda maddi ve manevi olarak beni destekleyen ve bana güvenen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 2013-157 no'lu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT iii
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
SİMGELER VE KISALTMALAR ix
ŞEKİLLER LİSTESİ x
TABLOLAR LİSTESİ xii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Enzimler 3
2.1.1. Enzimlerin Tarihçesi 3
2.1.2. Enzimlerin Yapısı ve İşleyişi 3
2.1.3. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması 5
2.2. Hidrolazlar 6
2.3. Endüstriyel Açıdan Önemli Hidrolazlar 8
2.3.1. Selüloz ve Selülazlar 8
2.3.2. Ksilan ve Ksilanazlar 10
2.3.3. Nişasta ve Amilazlar 12
2.3.4. Pektin ve Pektinazlar 14
2.3.5. Kitin ve Kitinazlar. 15
2.4. Hidrolazların Endüstrideki Uygulamaları 16
2.4.1. Gıda Endüstrisi 18
2.4.1.1. Meyve İşlenmesi ve Meyve Suyu Üretimi 18
2.4.1.2. Zeytinyağı Ekstraksiyonu 19
2.4.1.3. Unlu Mamullerin İşlenmesi 20
2.4.1.4. Bira ve Şarap Üretimi 20
2.4.2. Tekstil Endüstrisi 21
2.4.3. Kâğıt Endüstrisi 22
2.4.4. Yem Endüstrisi 23

2.4.5. Deterjan Endüstrisi 23
2.5. Mantarların Genel Özellikleri 26
2.5.1. Şapkalı Mantarlar 27
2.6. Endüstriyel Hidrolazların Kaynakları 29
3. MATERYAL VE METOD 31
3.1. Materyal 31
3.1.1. Mantar Örnekleri 31
3.1.1.1. *Boletus edulis* (Çörek Mantarı) 31
3.1.1.2. *Hydnum repandum* (Sığırdili Mantarı) 32
3.1.1.3. *Craterellus cornucopioides* (Borazan Mantarı) 33
3.1.1.4. *Cantharellus cibarius* (Kazayağı Mantarı) 33
3.1.1.5. *Amanita caesarea* (İmparator Mantarı) 34
3.1.1.6. *Lactarius deliciosus* (Kanlıca Mantarı) 35
3.1.1.7. *Pleurotus ostreatus* (İstiridye Mantarı) 35
3.1.1.8. *Pleurotus eryngii* (Kulacık Mantarı) 36
3.1.1.9. *Agaricus campestris* (Çayır Mantarı) 37
3.1.1.10. *Agaricus bisporus* (Kültür Mantarı) 38
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve Ekipmanlar 38
3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 39
3.2. Metod 41
3.2.1. Mantarların Homojenizasyonu 41
3.2.2. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi 41
3.2.3. Protein Tayini 43
4. BULGULAR 45
4.1. Standart grafikler 45
4.2. Mantarların Enzim Aktiviteleri 49
4.2.1. *Boletus edulis* (Çörek)'in Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 49
4.2.2. *Hydnum repandum* (Sığırdili)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 50
4.2.3. *Craterellus cornupioides* (Borazan)'in Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 51
4.2.4. *Cantharellus cibarius* (Kazayağı)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 51
4.2.5. *Amanita caesarea* (İmparator)'nın Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 52
4.2.6. *Lactarius deliciosus* (Kanlıca)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 53

4.2.7. *Pleurotus ostreatus* (İstiridye)'nin Hidrolitik Enzim Aktiviteleri.....53
4.2.8. *Pleurotus eryngii* (Kulacık)'nin Hidrolitik Enzim Aktiviteleri 54
4.2.9. *Agaricus campestris* (Çayır)'in Hidrolitik Enzim Aktiviteleri.....55
4.2.10. *Agaricus bisporus* (Kültür)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri.....55
4.3. Mantarların Protein İçerikleri 56
5. TARTIŞMA.....57
6. KAYNAKLAR.....61
7. ÖZGEÇMİŞ.....72

SİMGELER VE KISALTMALAR

C	Karbon
CMCaz	Karboksimetil selülaz
EC	Enzim Komisyonu
GlcNAc	N-asetilglukozamin
H	Hidrojen
N	Azot
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
O	Oksijen
pNPG	*p*-nitrofenil-β-D-glukopiranozid
RNA	Ribonükleik Asit
SmF	Derin Kültür Fermantasyonu
SSF	Katı Substrat Fermantasyonu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Apoenzim, Koenzim ve Holoenzim Yapısı 4
Şekil 2.2. Anahtar-kilit enzim modeli ve indüklenmiş uyum enzim modeli 5
Şekil 2.3. Tipik bir glikozid hidrolaz tepkimesi 7
Şekil 2.4. Selülozun kimyasal yapısı 8
Şekil 2.5. Selülaz enzimleri etki mekanizması 9
Şekil 2.6. Ksilanın kimyasal yapısı 10
Şekil 2.7. Ksilanaz etki mekanizması 11
Şekil 2.8. Amiloz ve amilopektin kimyasal yapısı 12
Şekil 2.9. Amilaz enzimleri etki mekanizması 13
Şekil 2.10. Poligalakturonik asit omurgası 14
Şekil 2.11. Kitin yapısı, kitin molekülünün α ve β formları 15
Şekil 2.12. Şapkalı mantarın hif ve misel yapıları 28
Şekil 3.1. *Boletus edulis* 32
Şekil 3.2. *Hydnum repandum* 32
Şekil 3.3. *Craterellus cornucopioides* 33
Şekil 3.4. *Cantharellus cibarius* 34
Şekil 3.5. *Amanita caesarea* 34
Şekil 3.6. *Lactarius deliciosus* 35
Şekil 3.7. *Pleurotus ostreatus* 36
Şekil 3.8. *Pleurotus eryngii* 37
Şekil 3.9. *Agaricus campestris* 37
Şekil 3.10. *Agaricus bisporus* 38
Şekil 4.1. Maltoz standart grafiği 46
Şekil 4.2. Glukoz standart grafiği. 46
Şekil 4.3. Ksiloz standart grafiği 47
Şekil 4.4. D-Galakturonik asit standart grafiği 47
Şekil 4.5. N-asetil glukozamin standart grafiği 48
Şekil 4.6. 4-Nitrofenol standart grafiği 48

Şekil 4.7. Protein Standart Grafiği 49
Şekil 4.8. *Boletus edulis* mantarı enzim aktiviteleri 50
Şekil 4.9. *Hydnum repandum* mantarı enzim aktiviteleri 50
Şekil 4.10. *Craterellus cornupioides* mantarı enzim aktiviteleri 51
Şekil 4.11. *Canthrellus cibarius* mantarı enzim aktiviteleri 52
Şekil 4.12. *Amanita caesarea* mantarı enzim aktiviteleri 52
Şekil 4.13. *Lactarius deliciosus* mantarı enzim aktiviteleri 53
Şekil 4.14. *Pleurotus ostreatus* mantarı enzim aktiviteleri 54
Şekil 4.15. *Pleurotus eryngii* mantarı enzim aktiviteleri 54
Şekil 4.16. *Agaricus campestris* mantarı enzim aktiviteleri 55
Şekil 4.17. *Agaricus bisporus* mantarı enzim aktiviteleri 56

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Enzimlerin sınıflandırılması 6
Tablo 2.2. Hidrolazlar sınıfının alt üniteleri ve açıklamaları 7
Tablo 2.3. Bazı endüstiyel hidrolazlar ve kullanımları özeti 24
Tablo 4.1. Mantarların protein içerikleri.....56

GİRİŞ

Organizmalar yerkürede muazzam ölçüde biyokimyasal aktivitenin merkezi konumundadırlar. Canlılarda gerçekleşen bu fiziksel ve kimyasal süreçlerin tümü metabolizma olarak adlandırılmaktadır. Yeni doku inşası, gıdaların enerjiye dönüştürülmesi, üreme, hareket, büyüme-gelişme gibi daha birçok aktivite yaşam adını almaktadır. Bu büyük ölçekteki biyokimyasal reaksiyonlar gelişi güzel gerçekleşmemektedir. Canlı organizmalarda neredeyse tüm kimyasal reaksiyonların meydana gelmesinden enzimler sorumludur [1].

Enzimler biyolojik prosesleri katalizleyen protein yapılı moleküllerdir. Organizmaların yaşamları için elzem olan bu biyomoleküllerin katalizlediği reaksiyonlar, katalizlenmeyenlere göre 10^7 - 10^{16} kez daha hızlı gerçekleşmektedir. Enzimler substratlarına oldukça özgül olup organizmanın yaşam boyu ihtiyaçlarına göre hücrelerde sentezlenerek hücre içinde veya hücre dışında etkili olmaktadır [2].

Enzimler modern biyoteknolojideki gelişmeler sayesinde organizmaların bünyesindeki işlevlerinin yanında başka birçok kullanım alanlarıyla gündelik ve ekonomik hayata girmiştir. Çünkü enzimler hızlıdır, substratına spesifiktir, fazla miktarda elde edilebilir, reaksiyon sonrası uygun koşullarda yok olmamakta ve tekrar kullanılabilmektedir. Özellikle üretime yönelik süreçlerde enzimlerin kullanımı ürün kalitesi, zaman, maliyet ve çevrenin korunması bakımından üretici kuruluşlara birçok avantaj sağlamaktadır [3].

Günümüzde endüstriyel enzim şirketleri çeşitli uygulamalar için enzimler üretmekte ve satmaktadır. Fakat bilinen bütün enzimlerin sadece sınırlı bir miktarı ticari olarak uygundur. Bunlardan hidrolazlar grubu, endüstriyel enzimlerin %75'inden daha fazla bir bölümünü oluşturmaktadır. Deterjan, tekstil, gıda, unlu mamül, kâğıt, hayvan yemi endüstri kuruluşları hidrolazların kullanıldığı temel alanlardır. Özellikle amilaz, selülaz, pektinaz gibi çeşitli karbonhidrolazlar bu endüstri alanlarında çeşitli doğal maddelerin degredasyonundan sorumludur. [4].

Endüstriyel kullanım amaçlı enzim kaynakları genel olarak bakteri ve funguslardır [5,6]. Funguslar diğer birçok organizmanın kaçındığı zorlu ortamlarda yetişmektedirler. Kendi besinlerini üretemedikleri ve hayvanlar gibi avlanamadıkları için canlılığın gereklerini yerine getirmek için gerekli olan maddeleri, dış ortamdaki kompleks organik maddeleri salgıladıkları çeşitli enzimlerle parçalamak ve bunları absorbe etmek suretiyle temin etmektedirler. Funguslar yetiştikleri ortamdaki maddelere bağlı olarak geniş çapta farklı enzimler üretebilmektedirler. Hidrolitik enzimler mantarların metabolizmasının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır [7,8].

Mantarlar alemi çok geniş cins ve türlere ev sahipliği yapmaktadır. Bunlar arasında şapkalı mantarlar en gelişmiş gruptur. Çürükçül ve parazit yaşayan birçok cins ve tür içermektedir. Bunlardan bir kısmı yenilebilirken diğer bölümü zehirlidir. Yenilebilir şapkalı mantarlar eşsiz tatları ve yüksek besin değerleri nedeniyle dünyanın birçok yerinde en popüler yiyeceklerden biridir ve insanlar tarafından yüzyıllardır kullanılmaktadır [9]. Yetişme mevsimine göre doğadan doğal olarak toplanabildiği gibi bazı türlerin ticari olarak kültürleri de yapılmaktadır. Mantarlar besleyici, tıbbi ve biyolojik öneme sahip çeşitli biyoaktif bileşenler içermektedirler. Bu nedenle mantarlar önemli bir gıda olarak bilinmesinin yanında bilim çevrelerince de ilgi ve araştırma konusu olmuştur [10].

Günümüzde endüstriyel enzim çalışmaları, farklı kaynaklardan ve daha az maliyetle üretim stratejisi üzerine devam etmektedir. Endüstriyel enzimler funguslar bazında değerlendirildiğinde daha çok filamentöz funguslarda çalışıldığı görülmektedir [6]. Yenilebilir mantarların sahip oldukları çeşitli değerli bileşenler nedeni ile bugüne kadar daha çok antioksidan ve antitümör etkileri çalışılmıştır [11]. Diğer taraftan, yenilebilir mantarların kompleks yapıdaki karbonhidratları parçalamak için çeşitli hidrolazları üretme yetenekleri üzerine ülkemizde ve dünyada çok az çalışma vardır. Bu nedenle bu tez çalışmasında Trakya Bölgesi'nde yetişebilen ve yenilebilen 8 farklı doğal mantar türünde ve 2 farklı kültür mantarı türünde endüstriyel açıdan önemi olan bazı hidrolaz enzimlerinin aktiviteleri araştırıldı. Çalışmanın mevcut eksikliği gidermede yarar sağlayacağı umulmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enzimler

Enzimler, canlı hücreler tarafından sentezlenen ve ilgili tepkime dizilerini katalizleyen biyomoleküllerdir. Katalitik güçleri ve substratlarına spesifik oluşları en önemli özelliklerindendir [12]. Enzimler her biyokimyasal süreçte merkez durumunda olup hücrelerde çok önemli görevleri hızlı bir şekilde yerine getirmektedirler [13].

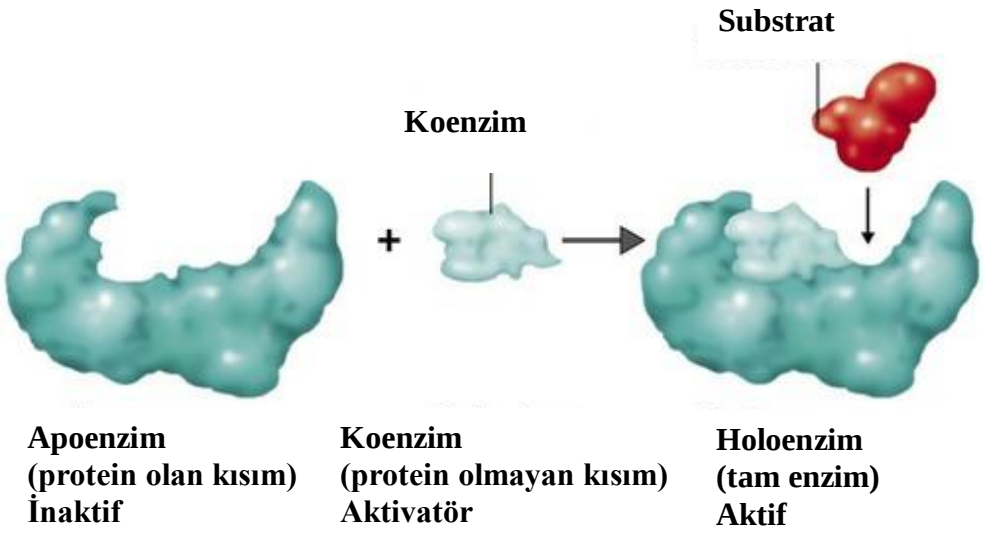
2.1.1. Enzimlerin Tarihçesi

İnsanlar binlerce yıldır enzim aktivitelerinden farkında olmadan yararlanmışlardır. Fermantasyonla şekerin alkole dönüştürülmesinde, peynir, ekmek, maya yapımında kullanmışlardır. Ancak enzimlerin özelliklerinin tam olarak anlaşılması ve bilim insanlarının farkındalığı son iki yüz yıl içerisinde gerçekleşmiştir. Biyokimya tarihine bakıldığında, büyük bir bölümünü enzim araştırmalarının oluşturduğu görülmektedir. İlk biyolojik kataliz 1700'lerin sonunda mide salgısının etin sindirimi üzerine yapılan çalışmalarla başlamıştır. 1850'lerde Louis Pasteur, şekerin maya ile alkole fermente olmasının "fermenterler" tarafından katalizlendiği kanısına varmıştır. Daha sonra 1897'de Eduard Buchner maya özütlerinin şekeri alkole fermente ettiğini ve fermantasyon olayının hücre dışına taşındığında da işlevine devam eden birtakım moleküller tarafından sağlandığını keşfetmiştir. Frederic W. Kühne bu molekülleri enzim olarak adlandırmıştır [13,14].

2.1.2. Enzimlerin Yapısı ve İşleyişi

Yapısında RNA molekülü içeren küçük bir grup hariç bütün enzimler protein yapısındadır. Enzimin bu protein yapıdaki kısmına apoenzim adı verilmektedir. Protein yapılarının doğal konformasyonu nedeni ile enzimler substratlarına özgüllük göstermektedirler. Enzimlerin bir bölümü sadece kendilerine has protein yapıları

sayesinde katalitik aktivitelerini göstermektedir. Bunun yanı sıra, enzimlerin etkinlik kazanmasını ve aktivite göstermesini sağlayan yardımcı moleküllere koenzim adı verilmektedir. Bu moleküller tek başına etkili değildir. Etkinlik gösterebilmeleri için apoenzime ihtiyaç duymaktadır. Bazı enzimler ise aktivatör olarak metal iyonlarına gereksinim göstermektedir (kofaktör). Apoenzim ile koenzimin birlikte oluşturduğu grup holoenzim (tam enzim) olarak adlandırılmaktadır [15].

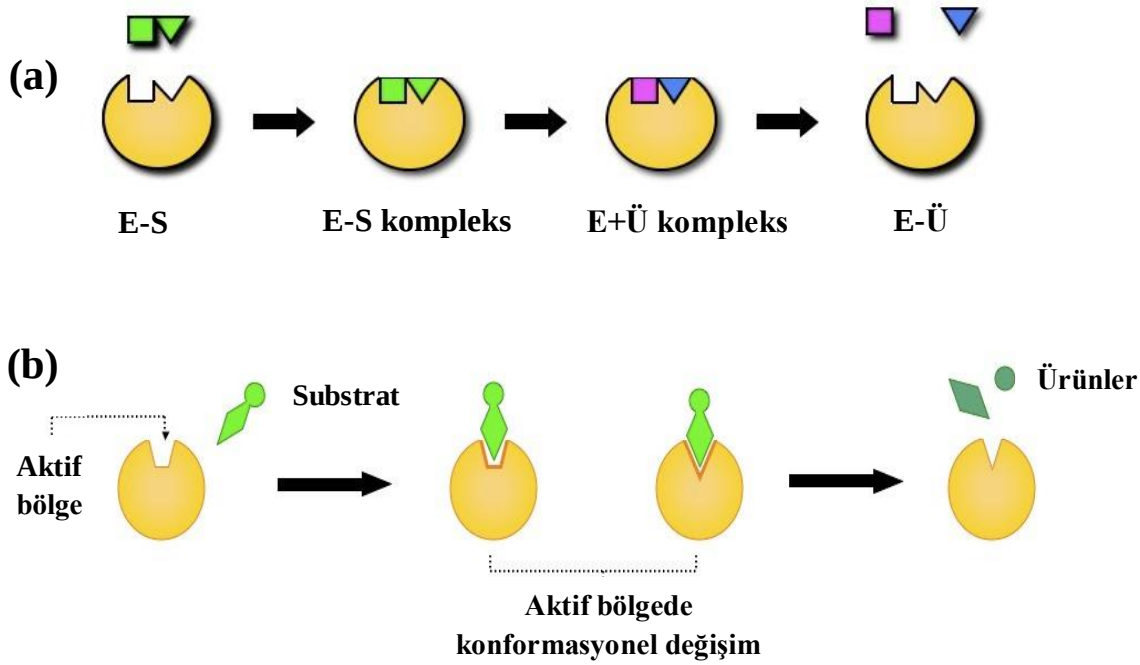


Şekil 2.1. Apoenzim, Koenzim ve Holoenzim Yapısı [16]

Her enzim, yüzeyinde susbtrat molekülünün bağlanabileceği etkin bir bölge veya bölgelere sahiptir. Substratın bağlanacağı bu kısım aktif bölge olarak adlandırılmaktadır. Enzim ile substrat bağlanması sonucu enzimin katalitik aktivitesi, substratı tepkimenin ürününe dönüştürmektedir. Reaksiyon sonunda enzim yeni bir reaksiyonu katalizlemeye hazır durumdadır [17].

Enzim ile substratın birbirine bağlanması ile ilgili iki model ileri sürülmüştür. 1894'te Emil Fisher tarafından ileri sürülen anahtar–kilit modeline göre, enzim üzerinde yer alan aktif bölgenin, substratın konformasyonuna bire bir uyum gösterir şekilde olduğu kabul edilmektedir. Ancak enzim üzerindeki aktif bölgenin ve bir bütün olarak enzimin aminoasit kimyası gereği substratla aktif bölge arasında bir uyum

sağlanmaktadır. Bunu bir anahtar kilit ilişkisine benzetmek doğru gibi görünse de tam olarak bu şekilde gerçekleşmemektedir. Aktif bölge katı bir yapıda olmayıp esnek özelliktedir. Substrat aktif bölgeye girdiğinde enzimin konformasyonunu bir miktar değiştirecek ölçüde etki yaratmaktadır. Böylece daha verimli bir enzim-substrat kompleksi meydana gelmektedir. 1958'de Daniel Koshland tarafından ileri sürülen bu modele indüklenmiş uyum modeli adı verilmektedir [15,18].



Şekil 2.2. (a) Anahtar-kilit enzim modeli (b) İndüklenmiş uyum enzim modeli [19]

2.1.3. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması

Enzimlerin aktif ya da inaktif olmalarına göre adlandırılmaları farklıdır. Enzim inaktif durumda ise sonuna "jen" eki getirilerek, aktif durumda ise "az" eki getirilerek adlandırılmaktadır. Ayrıca, enzimler etki gösterdikleri substratın sonuna "litik" eki getirilerek de adlandırılmaktadır. Örneğin; proteolitik enzimler proteinleri parçalayan enzimlerdir ve bu nedenle proteazlar olarak da isimlendirilebilmektedir.

Enzimler katalizledikleri reaksiyon çeşidine göre sınıflandırılmışlardır. Uluslararası Biyokimya Birliği'nin Enzim Komisyonunca 1961 yılında yayımlanan kararına göre enzimler 6 temel sınıfa ayrılmıştır ve bunlar rakamsal kodlarla ifade

edilmiştir. Her enzimin başına EC unvanını aldığı 4 rakamlı bir numarası vardır. Bu numaraların anlamları sırasıyla:

(i) birinci numara enzimin 6 temel sınıftan hangisine ait olduğunu göstermekte,

(ii) ikinci numara alt sınıfını belirtmekte,

(iii) üçüncü numara grubunu ifade etmekte,

(iv) dördüncü numara da enzimin kendi grubundaki sıra numarasını vermektedir [20].

Örneğin; Sınıflandırma numarası; EC 1.1.1.1 Alkol dehidrojenaz enzimi açıklanacak olursa; ilk 1 sayısı, enzimin oksido-redüktaz sınıfına dahil olduğunu; ikinci 1 sayısı, verici maddenin CH-OH grubu üzerine etki yaptığını; üçüncü 1 sayısı, akseptör olarak NAD ve NADP'den yararlanıldığını göstermektedir. Dördüncü 1 sayısı, doğrudan enzimin sistematik adı olan Alkol-NAD Oksidoredüktazı açıklamaktadır [21].

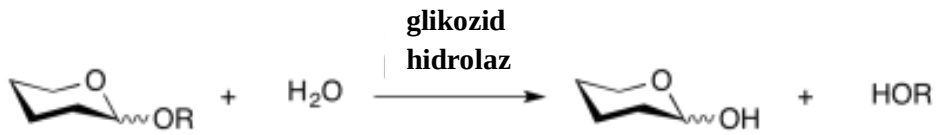
Tablo 2.1. Enzimlerin sınıflandırılması [22]

1. Oksidoredüktazlar	Redoks reaksiyonlarını katalizler.
2. Transferazlar	Fonksiyonel grupların transferini gerçekleştirir.
3. Hidrolazlar	Hidroliz reaksiyonlarını katalizler.
4. Liyazlar	Hidroliz ve oksidasyon harici yollarla bağ kırılmasını veya oluşturulmasını katalizler.
5. İzomerazlar	İzomerleşme reaksiyonlarını katalizler.
6. Ligazlar	ATP gibi enerji varlığında iki molekülün birleşmesi yani sentez reaksiyonlarını katalizler.

2.2. Hidrolazlar

Hidrolazlar polisakkaritlerdeki glikozidik bağların, proteinlerdeki peptid bağlarının ve lipidlerdeki ester bağlarının katalitik kesiminden sorumlu enzim grubudur.

Hidrolaz enzimleri C-O, C-N, C-C ve bazı diğer bağların su katılması suretiyle kesildiği hidroliz reaksiyonlarını, belirli grupların uzaklaştırılmasını ve benzer şekilde bu grupların uygun alıcı moleküllere transferini katalizlemektedir. Glikozid hidrolazlar veya diğer ismiyle glikozidazlar, glikozitlerin glikozidik bağlarının hidrolizini katalizleyerek hemiasetal veya hemiketal formda şeker veya serbest aglikon oluşumuna neden olan enzimlerdir. Selüloz, pektin, nişasta gibi polisakkaritleri veya oligosakaritleri hidroliz etmektedirler [23, 24].



Şekil 2.3. Tipik bir glikozid hidrolaz tepkimesi [24]

Hidrolazlar EC sınıflandırma sisteminde üçüncü sınıfta yer almakta olup EC 3 olarak ifade edilmektedir.

Tablo 2.2. Hidrolazlar sınıfının alt sınıfları ve açıklamaları [23]

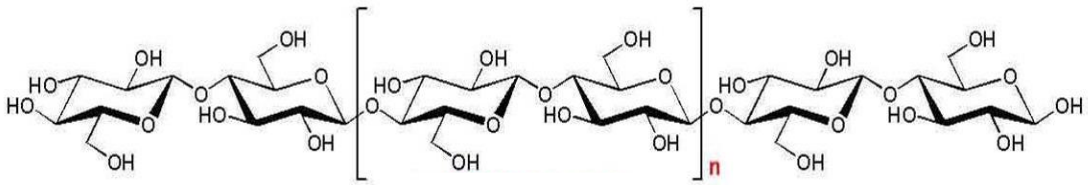
EC 3.1.-.-	Ester bağlarına etki ederler
EC 3.2.-.-	Glikozidazlar
EC 3.3.-.-	Eter bağları üzerine etki ederler
EC 3.4.-.-	Peptid bağları üzerine etki ederler (peptidhidrolazlar)
EC 3.5.-.-	Peptid bağları dışındaki C-N bağlarına etki ederler
EC 3.6.-.-	Asit anhidritlerin üzerine etki ederler
EC 3.7.-.-	Karbon-karbon bağları üzerine etki ederler
EC 3.8.-.-	Halid bağları üzerine etki ederler
EC 3.9.-.-	Fosfor-azot bağları üzerine etki ederler
EC 3.10.-.-	Kükürt-azot bağları üzerine etki ederler
EC 3.11.-.-	Karbon-fosfor bağları üzerine etki ederler
EC 3.12.-.-	Kükürt-kükürt bağları üzerine etki ederler
EC 3.13.-.-	Karbon-kükürt bağları üzerine etki ederler

2.3. Endüstriyel Açıdan Önemli Hidrolazlar

2.3.1. Selüloz ve Selülazlar

Yaygın olarak bitki hücre duvarında yer alan selüloz, dünyada en çok bulunan ve yenilenebilir özellikte olan polisakkarittir. Lignin ve hemisellüloz karbonhidrat polimerleri ile karışmış bir kompleks halinde bulunmaktadır. Selüloz binlerce glukoz molekülünün β-1,4 glikozidik bağlarla birbirine bağlandığı düz yapıda ve suda çözünmeyen bir polimerdir [25].

Selüloz polimerinde her bir glukan zincirinin uzunluğu 25000 glukoz kalıntısına ulaşabilmektedir. Selüloz zincirleri birbirine hidrojen bağları ve zayıf van der Walls kuvvetleriyle tutunmuş durumdadır. Mikroskobik düzeyde 15-45 glukan zinciri bir mikrofibril düzenlenmesi meydana getirmektedir. Ardından bu mikrofibriller makrofibril formunu oluşturmaktadır. Bu şekildeki kristalize yapısı, selülozun bozunmaya karşı dirençli olmasını sağlamaktadır [26].



Şekil 2.4. Selülozun kimyasal yapısı [27]

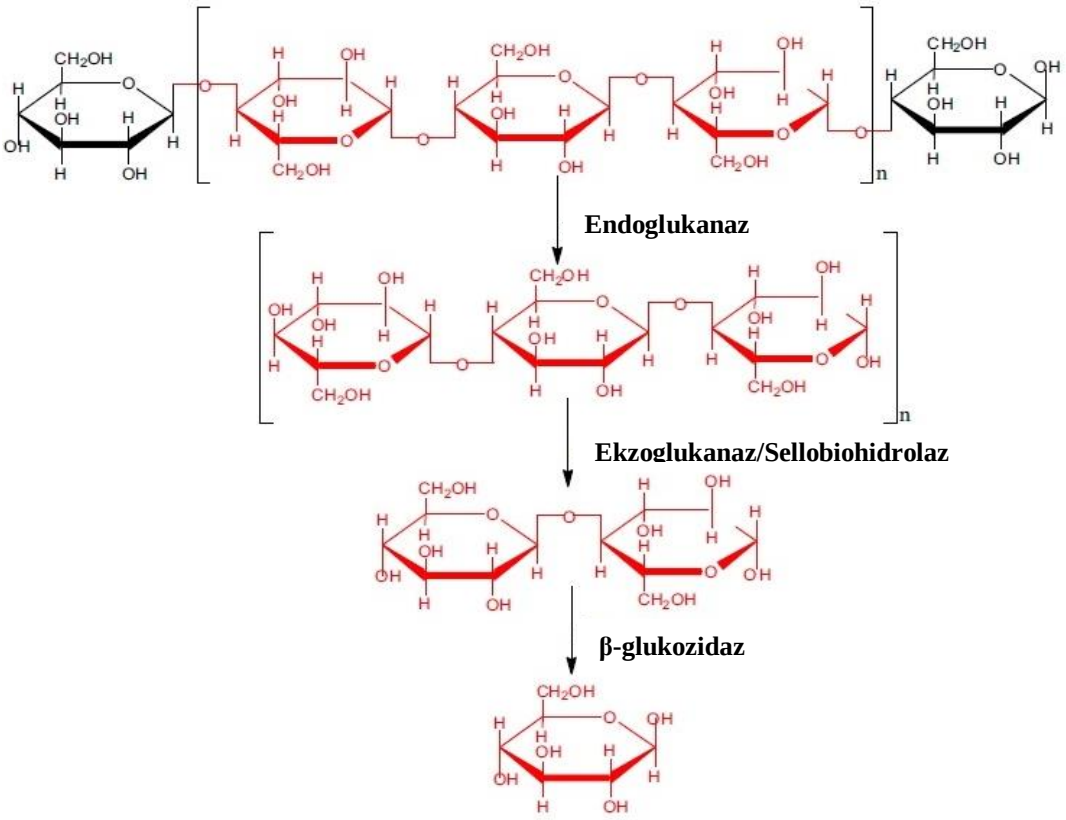
Selülazlar, glikozid hidrolazlar grubundan enzimlerdir. Selülozun monomerleri olan şekerlere parçalanması için üç selülozik enzim sisteminin sinerjik etkisine gereksinim duyulmaktadır. Bunlar Endo-1,4-β-glukanazlar (EC 3.2.1.4) veya CMCaz (karboksimetil selülazlar), Ekzo-1,4-β-glukanazlar (EC 3.2.1.91) ve 1,4-β-glukozidazlardır (EC 3.2.1.21). Selüloz polimerleri bu üç enzimin sırasıyla ve sinerjik etkisiyle glukoz monomerine kadar parçalanmaktadır.

a) Endoglukanazlar selüloz molekülünde zincirin iç bölgelerinde rastgele hidroliz yapmakta ve selülozun polimerizasyon derecesini azaltarak değişik uzunluklarda oligosakkaritler meydana getirmektedir [28, 29].

b) Ekzoglukanazlar ise selüloz molekülünde veya endoglukanazlar tarafından parçalanan kısımlardaki ara ürünlerin indirgen veya indirgen olmayan serbest ucundan hidroliz yaparak glukoz ya da sellobiozu açığa çıkarmaktadır [28,29].

c) β-glukozidazlar, sellobioz ara ürününü glukoza parçalamaktadır [28,29]. Substrat özgüllüğüne dayanarak β-glukozidazlar sellobiazlar, aril-β-glukozidazlar (*p*-nitrofenil-β-D-glukopiranozid (pNPG) molekülüne yüksek özgüllük) ve geniş özgüllüğe sahip β-glukozidazlar olmak üzere gruplandırılabilmektedir. Birçok β-glukozidaz son kategori içerisinde yer almaktadır [30].

β-glukozidazlar genel olarak bütün selülozik basamakların düzenlenmesinden sorumludur ve selülozun enzimatik hidrolizi sürecinde gerektiğinde endoglukanaz ve ekzoglukanaz aktivitelerini inhibe edici faktör olarak çalışmaktadır. Böylece, β-glukozidaz sadece glukoz son ürünü oluşturmakla kalmamakta aynı zamanda endoglukanaz ve ekzoglukanaz enzimlerinin daha verimli çalışmasına da yardımcı olmaktadır [31].



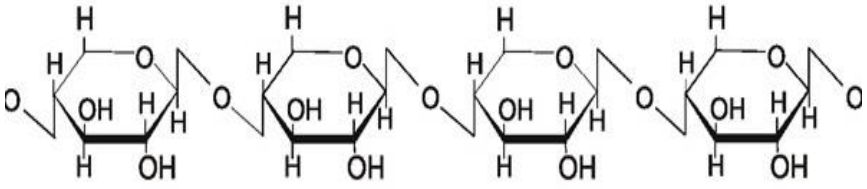
Şekil 2.5. Selülaz enzimleri etki mekanizması [32]

Birçok organizma selülozun glikozidik bağlarını kırabilecek enzimlere sahiptir. Bu enzimlerin çoğu, filamentöz fungus, bakteri gibi mikroorganizma kaynaklıdır; bir bölümü ise çürükçül mantarlardır. Bunların dışında *Agaricus bisporus* [33], *Pleurotus ostreatus* ve *Lentinus edodes* [34,22], *Pleurotus sajor-caju* [35,36,37,38,39], *Grifola frondosa* [40] gibi yenilebilir şapkalı mantar türlerinin de selülaz enzimleri sentezlediği belirlenmiştir.

2.3.2. Ksilan ve Ksilanazlar

Ksilan, β-1,4 glikozidik bağlı ksilopiranozil birimlerinin oluşturduğu omurgaya arabinozil, glukoronil ve asetil kalıntılarının eşlik ettiği kompleks bir polisakkarittir [41]. Hemiselülozun temel bileşeni olup, doğadaki toplam biyokütlenin yarısına yakın bir kısmını oluşturmaktadır. Kullanılabilirlik bakımından selülozdan sonra doğada en fazla bulunan ikinci kaynaktır [42,43].

Hemiselüloz, bitki hücrelerinin çeperlerinde selüloz ve pektinlerle birlikte bulunan bazı karmaşık polisakkaritlerin ortak adıdır. Hemiselüloz, tek ve çok yıllık bitkilerin hücre duvarında selüloz ve ligninle beraber bulunmakta ve bunlar toplu olarak lignoselülozik maddeler olarak adlandırılmaktadır. Farklı şeker ünitelerinin farklı şekillerde bağ yapması ile oluşmuş dallı bir heteropolisakkarittir [44].



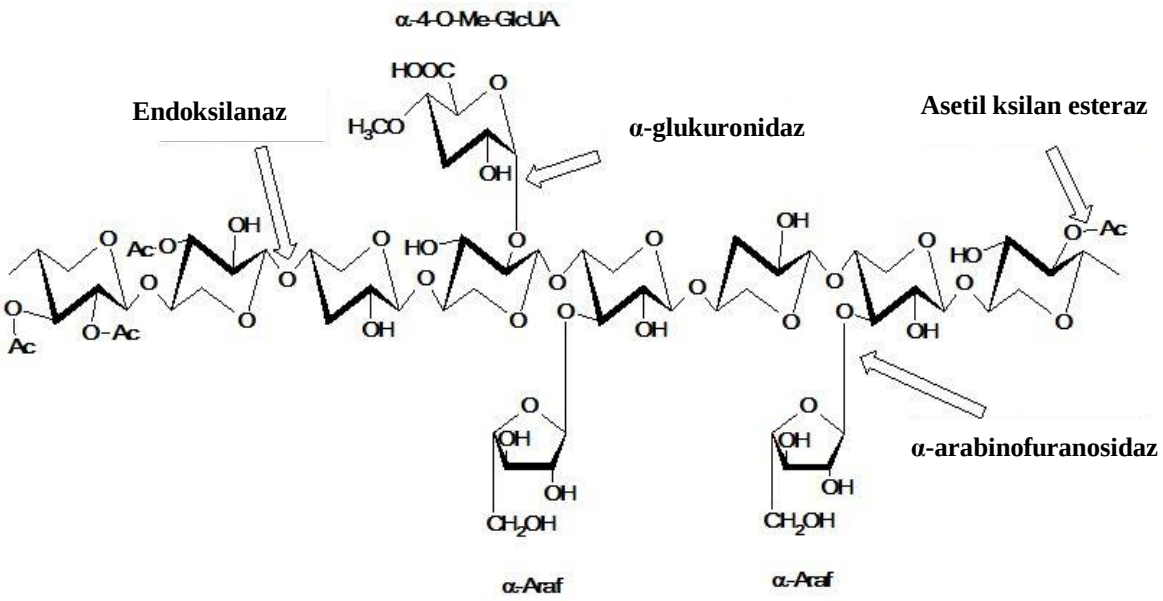
Şekil 2.6. Ksilanın kimyasal yapısı [44]

Ksilanaz, D-ksilopiranozid birimlerini oluşturan β-1,4 glikozidik bağlarını kesen hidrolitik enzimdir. Ksilan omurgasının karmaşık yapılı olması nedeniyle, tam hidrolizi için birkaç enzimin sinerjik etkisine ihtiyaç duyulmaktadır [45,46].

a) Endo-1,4-β-ksilanaz (EC 3.2.1.8) ksilan üzerine etki ederek çeşitli ksilo-oligosakkarit karışımlarını açığa çıkarmaktadır.

b) Ekzo-1,4-β-D-ksilozidaz (EC 3.2.1.37) ise endo-1,4-β-ksilanaz enziminin açığa çıkardığı oligosakkaritleri D- ksiloz birimlerine parçalamaktadır [47,48].

c) Bunların dışında ksilan ana zincirine bağlı yan dallardaki oligosakkaritleri parçalayan α-L-arabinofuranosidaz, α-glukuronidaz, asetilksilanesteraz gibi enzimler görev almaktadır [49].

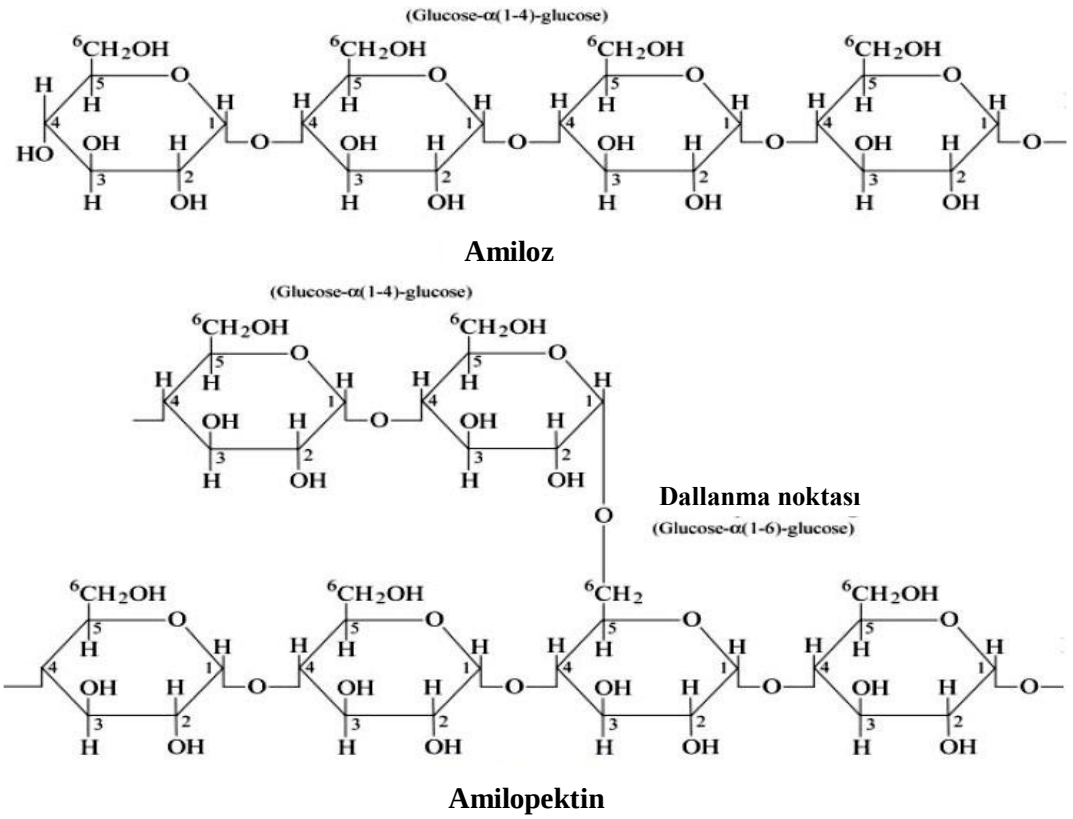


Şekil 2.7. Ksilanaz etki mekanizması [50]

Ksilanazlar, genellikle saf ksilan veya ksilanca zengin ortamlarda gelişen organizmalarda bulunan enzimlerdir. Bakteriler, funguslar, algler, protozoalar gibi bir grup organizma tarafından üretildikleri bildirilmiştir [51]. Bunların yanı sıra ksilan kaynaklarını kullanan *Termitomyces clypeatues* [52], *Flamulina velutipes* ve *Pleurotus eryngii* [53], *Pleurotus ostreatus* [54,55], *Grifola frondosa* [56], *Lentinula edodes* [57], *Volvariella volvacea* [58] *Agaricus spp.* [58] yenilebilir şapkalı mantar türlerinin ksilanaz ürettiği gösterilmiştir.

2.3.3. Nişasta ve Amilazlar

Nişasta, bitkilerde depo formunda bulunan önemli bir karbonhidrattır. Nişasta molekülü, amiloz ve amilopektin olmak üzere glukoz birimlerinin oluşturduğu iki polimer grubundan oluşmaktadır. Amiloz, glukoz birimlerinin α-1,4-glikozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşan ve dallanma göstermeyen düz bir yapıda iken, amilopektin glukoz birimlerinin α-1,4 bağlantısına ek olarak α-1,6-glikozidik dallanma noktalarını da içermektedir [59].



Şekil 2.8. Amiloz ve amilopektin kimyasal yapısı [60]

Amilaz enzimleri nişasta üzerinde gösterdikleri etki mekanizmasına göre; α-amilazlar, β-amilazlar, glukoamilazlar, pullulanazlar şeklinde sınıflandırılabilmektedir.

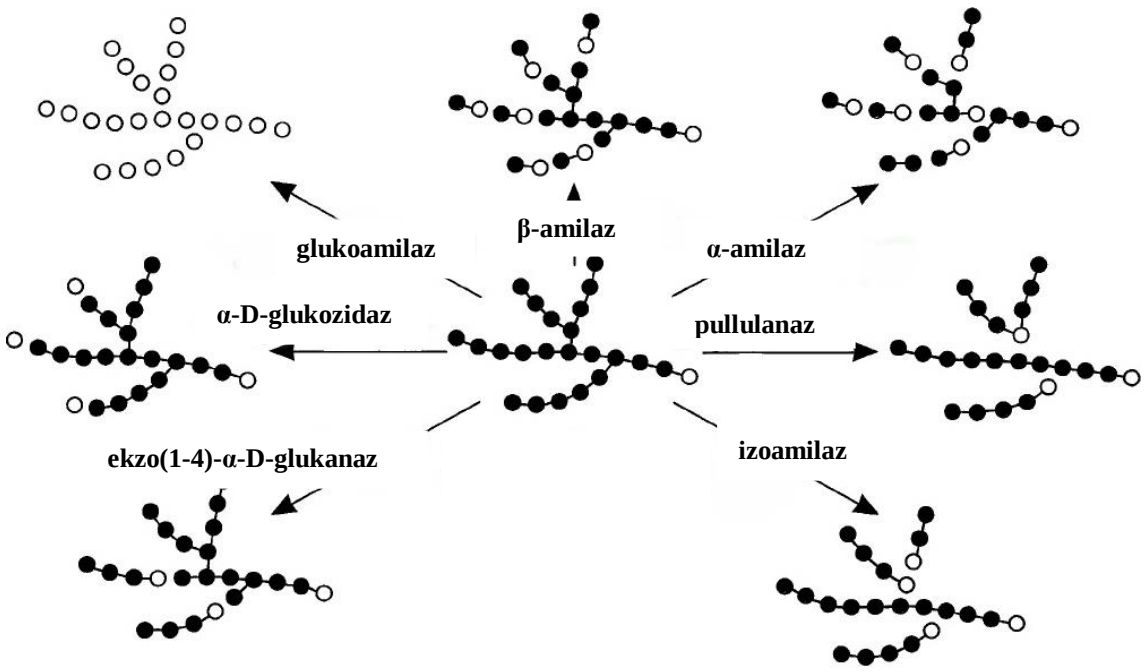
a) α-amilazlar (1,4-α-D-glukanohidrolaz; EC 3.2.1.1), amiloz ve amilopektindeki α-1,4 glikozidik bağları kesmektedir. Amilopektindeki α-1,6 bağlarına etki edememektedir. Nişastanın iç kısımlarındaki α-1,4 bağlarına etki yaptıkları için birer

endoenzimdir. Enzimin son ürünü farklı oranlardaki glukoz, maltoz ve dekstrin karışımıdır. Nişastanın hidrolizi sonunda oluşan ürünler α-optik konformasyonu gösterdiğinden bu enzimlere α-amilazlar denilmektedir [61,62].

b) β-amilazlar (1,4-α-glukanmaltohidrolaz; EC 3.2.1.2) α-amilazlar gibi aynı substrata etki eder; fakat β-amilazlar nişastanın dış kısmındaki 1,4 bağlarına etki eden ekzoenzimlerdir. β-1,6 bağlarına gelince etkileri durmaktadır. α-amilazlar ile birlikte son ürün maltoz ve beta limit dekstrini oluşturmaktadır [61,62].

c) Glukoamilazlar (α-1,4; 1,6-glukan glukohidrolaz; E.C. 3.2.1.3) nişasta zincirinin indirgen olmayan ucundan glukoz birimlerini ardışık olarak uzaklaştıran bir ekzoenzimdir. Hem α-1,4 bağlarını hem de yavaş hızda α-1,6 bağlarını hidroliz etmektedir. Son ürün olarak sadece glukoz oluşturmaları glukoamilazları α ve β-amilazdan ayırmaktadır [61,62].

d) Pullulanaz (EC 3.2.1.41) ve izoamilaz (EC 3.2.1.68) dallanmayı kırıcı enzimlerdir. α-1,6 glikozidik bağlarını hidrolize etmektedirler. Endüstride α-amilaz, β-amilaz ve glukoamilaz ile kombine edilerek kullanılmaktadırlar [61,62].

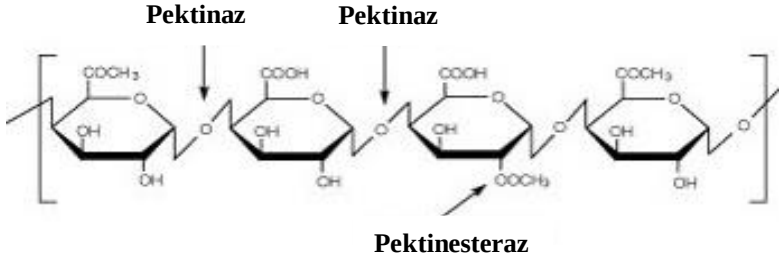


Şekil 2.9. Amilaz enzimleri etki mekanizması [63]

Amilazlar memeliler, bazı bitki ve bakteriler, funguslar ve mayalar gibi çeşitli organizmalar tarafından üretilmektedir [64]. *Pleurotus ostreatus* [65], *Termitomyces clypeatus* [66], *Hericium erinaceum* [67], *Tricholoma matsutake* [68], *Grifola frondosa* [69] türü yenilebilir şapkalı mantarlarda amilaz enzimleri üretildiği gösterilmiştir.

2.3.4. Pektin ve Pektinazlar

Pektin, yüksek yapılı bitkilerin hücre çeperlerinde bulunan ve α-D-galakturonik asit moleküllerinin α-1,4 glikozidik bağlarla birbirine bağlanmasıyla oluşan düz zincir yapıda heteropolisakkarittir. Galakturonik asit ünitelerinin bir kısmı metanol ile esterleşmiş haldedir. Pektin, pektik maddeler adı verilen ve özellikleri birbirine benzeyen bir madde grubu içinde yer almaktadır. Pektik maddeler pektinik asit, pektin, pektik asit ve bunların tuzlarını içeren maddelerdir. Çoğu zaman bu maddelerin tamamı için de pektin ifadesi kullanılabilmektedir [70].



Şekil 2.10. Poligalakturonik asit omurgası [71]

Pektinolitik enzimler veya pektinazlar, pektik maddelere etki mekanizmalarına göre hidrolazlar sınıfından olan poligalakturonaz, pektinesteraz ve liyazlar sınıfından olan pektin liyaz, pektat liyaz olmak üzere sınıflandırılmaktadır [72,73]. Mantar, bakteri, maya gibi birçok mikroorganizma ve bitki pektinolitik enzimler üretebilmektedir.

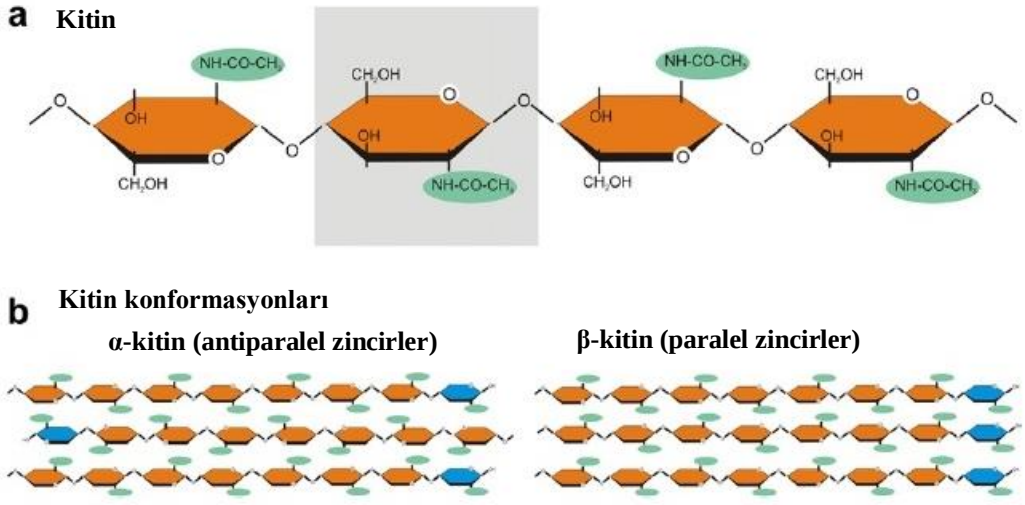
a) Endopoligalakturonaz (EC 3.2.1.15) pektin polimerleri arasındaki α-1,4 glikozidik bağlarının hidrolizini katalizlemektedir [74].

b) Ekzopoligalakturonaz (EC 3.2.1.67) pektin polimerini uçlarından kırarak galakturonik asit monomerlerine parçalamaktadır [74].

c) Pektin esteraz (EC 3.1.1.11) galakturonik asit kalıntılarındaki metil grupları ve karboksil asitleri arasındaki ester bağlarını kırarak pektinin de-esterifikasyonunu katalizlemektedir [74].

2.3.5. Kitin ve Kitinazlar

Kitin, doğada en çok bulunan polisakkaritlerden biridir. N-asetilglukozamin (GlcNAc) bakiyelerinin, β-1,4 glikozidik bağlanmasıyla oluşan suda çözünmeyen bir poliasakkarittir. Böcek dış iskeleti, fungal hücre duvarları, kabuklu canlıların dış iskeleti kitinin bulunduğu temel kaynaklardır. Doğal olarak suda çözünmeyen yapısının aksine, geliştirilen stratejilerle kitin suda çözünebilen küçük kitooligosakkaritlere çevrilebilmektedir. Böylece tıpta, tarımda ve endüstrinin çeşitli alanlarında kullanılabilir hale getirilmiştir [75]. Kitin, N-asetilglukozamin zincirlerinin düzenlenmesine göre doğada α-kitin ve β-kitin olmak üzere iki farklı formda bulunmaktadır [76].



Şekil 2.11. (a) Kitin yapısı. (b) Kitin molekülünün α ve β formları [76]

Kitin molekülünün hidrolizini endokitinazlar ve N-asetilglukozaminidazlar olmak üzere iki temel enzim katalizlemektedir. Kitinazlar organizmalar arasında bakterileri, mantarları, yüksek bitkileri, böcekleri, kabukluları ve bazı omurgalıları içerecek şekilde oldukça yoğun bir dağılım göstermektedir [77,78].

a) Endokitinazlar (EC 3.2.1.14) kitin yapısındaki β-1,4 glikozidik bağlarının polimer zincirinin iç bölgesi boyunca herhangi bir noktadan hidrolizini gerçekleştirmektedir. Son ürün olarak farklı uzunluklarda kısa oligosakkaritler açığa çıkmaktadır [76].

b) N-asetilglukozaminidazlar (kitobiaz, EC 3.2.1.30) küçük kitooligomerlere afinitesi yüksek olan enzimlerdir. Hidrolitik aktivitesi sonucu zincirin indirgen olmayan terminal ucundan N-asetilglukozamin (GlcNAc) kalıntıları açığa çıkarmaktadır [76].

2.4. Hidrolazların Endüstrideki Uygulamaları

İnsanlığın, ihtiyaçları doğrultusunda tüketim malzemesi üretmek için enzimleri kullanması yaklaşık 2000 yıl öncesine dayanmaktadır. Fakat doğal olarak enzimlerin ne olduğu hakkında bir bilgi mevcut değildi. Enzimlerden yararlanma ekmek, bira yapımı gibi geleneksel yöntemlerden ibaretti. Enzimlerin mekanizması 1877'de Moritz Traube'nin "fermantasyonu ve diğer kimyasal reaksiyonları katalizleyen protein-benzeri materyaller" tarifini kullanmasına kadar bilinmiyordu. Sonraları, 1897'de Buchner tarafından alkol fermantasyonunun hücre dışı maya ekstraktları kullanarak gerçekleşebildiğini göstermesi ile biyokataliz kavramının ilk uygulaması ortaya çıkmıştır [79]. İlerleyen yıllarda bilim insanları çeşitli bitki, hayvan, fungus kaynaklarından ürettikleri proteaz, amilaz, pektinaz, selülaz, lipaz gibi enzimlerle biyokatalizi geliştirmişler ve bu enzimlerin endüstride kullanımları başlamıştır [80]. Enzimatik işlemler, geleneksel yöntemlere göre daha uygun ve ekonomik şartlarda gerçekleştirilebilmektedir. Enzimlerin bu özellikleri birçok alanda enzimlerden faydalanılmasını sağlamış ve enzim araştırmalarına olan ilginin artmasını sağlamıştır. Geçen yüzyılın son yarısı boyunca enzim fermantasyon süreçlerindeki ilerlemeler yerini daha spesifik çalışmalar üzerine yoğunlaştırmıştır. Bundan sonra enzim üretiminde amaç, seçilmiş suşlardan ve yeni canlılardan daha saf ve iyi karakterize edilmiş preparatlar üretmek olmuştur [81].

Günümüzde enzimler kimyasal metotlara göre daha etkili, hızlı, kullanışlı, ucuz olması, yüksek kalitede ürün verebilmesinden dolayı biyoteknolojinin ve endüstrinin çekirdeği olarak görülmektedir [82]. Başta gıda, eczacılık, deterjan, tekstil, kozmetik, enerji üretimi, petrokimya, medikal uygulamalar olmak üzere birçok alanda kullanımları ve araştırmaları gerçekleştirilmiştir [6].

Hâlihazırda kullanılan endüstriyel enzimlerin başında, çeşitli doğal maddelerin bozunumunu ve parçalanmasını sağlayan hidrolitik enzimler gelmektedir. Başta selülazlar ve amilazlar olmak üzere çeşitli enzimler, nişasta, tekstil, deterjan, hamur ve fırıncılık endüstrisi gibi alanlarda oldukça sık kullanılmaktadırlar. Dünya üzerinde endüstriyel enzimlere harcanan parasal miktar milyar dolarlarla ifade edilmektedir [81].

Bugüne kadar 5500 kadar enzim tanımlanmış olup, bunların çok az bir bölümü endüstriyel kullanıma uygundur [83]. Endüstride kullanılan enzimlerin yaklaşık % 75'ini hidrolitik enzimler oluşturmaktadır. Proteaz grubundaki enzimler kullanımda ilk sırayı alırken, karbonhidratları parçalayanlar ikinci sırada yer almaktadır [84].

1980'lerin başında ilk olarak hayvan yemlerinde kullanılmaya başlanan selülaz enzimleri daha sonraları, gıda endüstrisi ile birlikte çok geniş uygulama alanlarına yayılmıştır [85]. En temel uygulamalar gıda, hayvan beslenmesi, tekstil, kâğıt, petrol ve kimya endüstrileridir. Diğer uygulama alanları ilaç endüstrisi ve atık yönetimi çalışmalarıdır [86].

Ksilanazların 1980'lerde ilk olarak yem endüstrisi ile başlayan kullanımını gıda, tekstil ve kâğıt endüstrileri izlemiştir. Son yıllarda ksilanazlar, sellülazlar ve pektinazlarla birlikte uygulamaları dünya enzim piyasasının yaklaşık % 20'sini oluşturmaktadır [87].

Pektinazlar özellikle gıda, meyve suyu ve kâğıt endüstrisine sağladıkları faydalarından dolayı bu sektörde büyük öneme sahiptir. Bunların dışında tekstilde, bazı bitki liflerinin mumsu yapılardan temizlenmesinde, atık suların iyileştirilmesinde, kâğıt ve kâğıt hamuru işlenmesinde, yağ üretiminde, şarapçılıkta, yem sanayisinde kullanılmaktadır [6].

Endüstride enzimlerin kullanımı amilazlar ile başlamıştır. Endüstriyel olarak üretilen ilk enzim 1894 yılında tedavi amaçlı kullanılan amilazdır. Tüm dünyada enzim pazarının yaklaşık % 25'ini oluşturan amilazlar günümüzde büyük öneme sahip enzimler arasındadır [88]. Nişastanın ve meyve suyunun işlenmesinde, tekstil, kâğıt, deterjan, bira ve şarap, unlu mamul ve kimya endüstrilerinde kullanılmaktadır [6].

Kitinazların endüstride uygulama alanları diğer hidrolazlara nazaran daha azdır. Kitinazlar özellikle tarım alanlarındaki istilacılar ve patojenleri kontrol etmede, farmasötik ve tıbbi çalışmalar, biyo atık kontrolü gibi birtakım biyoteknolojik uygulamalarla gittikçe önem kazanmaktadır [89].

Endüstride kullanılan hidrolazlar, endüstri alanına ve kullanılan materyallere göre tek tek uygulandığı gibi çoğunlukla birçok enzimin belirli oranlarda karıştırılarak uygulanması söz konusudur. Bu nedenle aşağıda, endüstride kullanılan önemli hidrolazların kullanımları verilirken, enzim bazında değil, endüstriyel alan bazında açıklanmaya çalışılmıştır.

2.4.1. Gıda Endüstrisi

2.4.1.1. Meyve İşlenmesi ve Meyve Suyu Üretimi

Meyve ve sebze suyu, meyve nektarları ve püreleri gibi kolay bozulabilen ürünlerin üretimi ve muhafazası ticari açıdan ve insan sağlığı bakımından büyük önem taşımaktadır. Üretimlerinde ekstraksiyon, temizleme, berraklaştırma ve içerik bakımından sabitleme gibi aşamalar içermektedir. Selülazlar meyve ve sebze suyu üretiminde ürün verimini arttırmak için, ksilanaz, pektinaz ve amilaz gibi diğer bazı hidrolitik enzimlerle birlikte kombine olarak kullanılmaktadır. Bu enzim kombinasyonu genel olarak meyvelerin ezilme aşamasından sonra uygulanmaktadır. Bu sayede meyve sularında viskozite azalmakta, meyve sularının bulanıklığının ve aromatik özelliklerinin stabil durumda korunabilmesi sağlanmakta, elde edilen ürün miktarı artmakta ve meyve-sebzelerin işlenme süreleri kısalmış olmaktadır. Üretim sırasında β-glukozidaz ilavesi, bazı özel meyve ve sebzeler için aroma arttırıcı özellik göstermektedir. Alfa amilaz meyve suyunda bulunan fazla nişastayı hidrolize ederek, pektinaz da viskoziteyi

azaltarak meyve suyunun berraklaştırılmasını sağlamaktadır [90]. Prosesler öncesinde enzim uygulaması meyve suyu filtrasyonunu kolaylaştırıcı etki yapmaktadır. Bazı meyveler şeker içeriği bakımından zengindir ve şeker şurubu üretiminde kullanılmaktadır. Sellülaz ve pektinaz içeren % 1'lik enzim karışımı uygulaması bu meyvelerden elde edilen ürün miktarını arttırmakta, nem içeriğini azaltmakta ve şurup mineral içeriğini zenginleştirmektedir. Nişastanın, amilaz enzimleri ile işlenerek çeşitli şeker şuruplarına (glukoz, maltoz, dekstrin) dönüştürülmesi ve birçok gıdada tatlandırıcı olarak kullanılması da gıda endüstrisinde oldukça yaygındır [90,91,92]. Bunların dışında selülazlardan gıda maddesi olarak kullanılan öğütülmüş lignosellülozik materyallerin parçalanmasında, protein, polisakkarit gibi tat verici maddelerin açığa çıkarılması amacıyla bitki duvarlarının ve bazı bitkilerin dış kabuğunun uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır [6].

2.4.1.2. Zeytinyağı Ekstraksiyonu

Zeytinyağı ekstraksiyonu birbirini izleyen birkaç basmaktan oluşmaktadır. İşlemler sonucu zeytinyağının asiditesinin, berraklığının, kokusunun ve aromasının stabil ve uygun hale getirilmesi zeytinyağının kalitesi bakımından önemlidir. Kaliteli zeytinyağı çıkarmak ve tüketicilerin taleplerini karşılamak için etkili yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Pektinaz enzimi ile az miktarda selülaz enzim içeriğine sahip Olivex adlı enzim preaparatı, zeytinyağı ekstraksiyonun arttırmak amacıyla kullanılan ilk ticari enzim karışımı olmuştur [93]. Zeytinyağı ekstraksiyonunda kullanılan pektinaz, sellülaz ve hemisellülaz üç temel enzim olarak kabul edilmiştir. Bu enzimlerin ekstraksiyon sürecinde uygulanmalarının temel avantajları, daha düşük işleme sıcaklıklarında daha fazla miktarda yağ üretimi sağlaması, daha kolay santrifüjleme yapılabilmesi, işleme sırasında yağın antioksidan ve vitamin içeriklerinin kaybının azalması, aroma, koku gibi özelliklerin iyileşmesi ve atık suya karışan yağ miktarının azalmasıdır [94,95].

2.4.1.3. Unlu Mamullerin İşlenmesi

Enzimler fırıncılıkta önemli bir yere sahiptir. Amilazlar unlu mamul endüstrisinde uzun yıllardır kullanılagelmektedir. Özellikle α-amilaz enzimi ekmeğin bayatlamasını geciktirmesinden ve raf ömrünü uzatmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda selülazlar ve ksilanazlar hamur, ekmek, bisküvi, kek ve diğer unlu mamullerin kalitesini geliştirmek üzere kullanılmaktadır. İşlemlerin ve malzemelerin çeşidine göre enzimler tek tek veya birkaç enzimin kombinasyonu şeklinde kullanılabilmektedir. Kullanılan enzimler ürünün hacmini, tadını, raf ömrünü etkilemektedir [96]. Un önemli miktarda hemiselülozik madde içermektedir. Unda mevcut olan hemiselüloz büyük oranda arabinoksilan formundadır ve kendi ağırlıklarının yaklaşık 10 katı kadar suyu bağlayabilmektedir [97]. Endo-ksilanazın, hamurda bulunan arabinoksilanı hidrolizi sonucu, hamurda arabinoksilanların tuttuğu su serbest kalır ve hamur daha yumuşak hale gelerek makine ile işlenebilme özelliği artar. Böylece hamur hacminin artmasını sağlanır. Bu işlem ksilanazla birlikte amilazın da kullanımı ile daha da iyileştirilmektedir. Buna ek olarak, hidroliz sonucu ekmekte artan ksilo-oligosakkarit konsantrasyonunun insan sağlığı açısından faydalı olacağı tahmin edilmektedir [98]. Hamur işlenmesi sırasında eklenecek olan karboksimetil selülaz da ekmek kalitesi üzerine endo-ksilanaza benzer olumlu sonuçlar ortaya çıkarmaktadır [99].

2.4.1.4. Bira ve Şarap Üretimi

Bira ve şarap yapımı oldukça eski bir geçmişe sahiptir. Basit olarak bira üretimi arpa maltının mayalanması ile yapılırken, şarap üretimi ise üzüm suyunun ekstraksiyonunu izleyen fermantasyon süreci ile gerçekleştirilir. Enzim teknolojisi bu iki süreçte de önemli rol oynamaktadır. Maltlaşma arpa tohumunun çimlendirilmesine bağlıdır. Çimlenme, tohumda α-amilaz, β-amilaz, β-glukanaz biyosentezini aktive etmektedir. Enzimlerin sentezlenmesi sonucu tohumda bulunan karbonhidrat rezervlerinin hidrolizini başlamaktadır. Böylece fermente edilebilir şekerlerin açığa çıkması sağlanmaktadır. Üretimi arttırmak için endüstride bu enzimlerin sırasıyla ve

sinerjik olarak uygulanması gerçekleştirilmektedir. Ayrıca, uygulanan enzimler viskoziteyi düşürmekte ve biranın filtrasyonunu kolaylaştırmaktadır [100,85].

Şarap yapımında β-glukanaz, pektinaz ve hemiselülaz enzimleri temel rol oynamaktadır. Şarabın rengini ve berraklığını ayarlamada, daha kolay filtrasyon işlemleri için kullanılmaktadırlar. Yüksek pektin liyaz ve düşük pektin metil esteraz ile hazırlanan pektinaz preparatı, üretim sırasında metilenmiş galakturonik asitten metanol salınımını azaltmak üzere tercih edilmektedir [101]. β-glukozidaz enzimi ise glukozilatlı öncülleri modifiye ederek şarap aromasını arttırmak üzere kullanılmaktadır [102].

2.4.2. Tekstil Endüstrisi

Tekstil endüstrisinde kullanılan ham pamuk, iplik ve kumaşa dönüşene kadar yıkama, ağartma, boyama gibi birçok işlemden geçmektedir. Bu işlemler fazla miktarda enerji, kimyasal, su tüketmekte ve tekstil endüstrisi için olumsuz bir tablo oluşturmaktadır [103]. Günümüzde tekstil endüstrisindeki işlemlerde ticari enzimlerin geniş bir yelpazesi kullanılmaktadır. Biyo-taşlama ve biyo-parlatma selülazların tekstil endüstrisinde en çok bilinen uygulamalarındandır. Biyo-taşlama sürecinde enzim uygulaması pamuklu kumaşlardaki mikrofibrillerin yıkama sonrasında kolayca uzaklaşmasına yardımcı olmakta ve kot kumaşındaki fazla boyanın uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Böylece kumaşların imalatındaki yıkama evresi kısalarak oluşan yıpranmalar ve yırtılmalar önlenmiş olmaktadır. Kumaş üretimindeki kayıplar azalmaktadır. Taşlama için sünger taşı kullanımı azalmakta ve çalışanlar için daha güvenli çalışma koşulları oluşmaktadır. Kumaş üretiminde kullanılan birçok materyal selülozik fibriller içermektedir. Bu da kumaşta tüylü ve kadifemsi bir yüzeye neden olmaktadır. Biyo-parlatma sürecinde selülazlar, kumaş üzerinden çıkıntı yapan küçük lif uçlarına etki etmekte ve kumaşların parlaklığını sağlamaktadır. Ayrıca selülazlar, pamuklarda ve pamuklu giysilerde işçilikten kaynaklı kirin giderilmesi ve renklerde parlaklığın artması amacıyla çamaşır deterjanlarına eklenmektedir [104]. Ham pamuk pektin bileşenlerine bağlı mum ve mineral kirleticileri içerebilmektedir. Fabrikada ovma benzeri işlemlerle uzaklaştırılan bu unsurlar, pamuklu kumaşın boyanmasını engellemektedir. Klasik arındırma yöntemleri büyük miktarda enerji, su ve kimyasal

tüketimine neden olmaktadır. Endüstrinin bu basamağında pektinazlar daha düşük enerji tüketimiyle yıkama ve ovma işlemlerini gerçekleştirmede yardımcı olmaktadır [105].

Tekstil endüstrisinde dokuma sırasında ipliklerin sağlam düzgün olması, kopmaması için iplikler dokuma öncesi nişasta içeren bir çözelti ile muamele edilmektedirler. Bu işleme haşıllama adı verilmektedir. Kumaş dokunduktan sonra, kumaştaki fazla nişastanın uzaklaştırılması için yaygın olarak α-amilaz enzimi kullanılmaktadır [106]. Amilaz enzimi kullanılmadığı zamanlarda ise bu işlemler kumaşın yüksek sıcaklıktaki kostik sodada uzun süre bekletilmesi şeklinde yapılmaktaydı. Ancak bu tip kimyasal ajanlar nişastanın uzaklaştırılma işleminde yeterince etkili olmamaktadır [107].

2.4.3. Kâğıt Endüstrisi

Kâğıt ve mukavva üretimi hammadde kaynaklı veya geri dönüşüm maddesi kaynaklı olabilmektedir. Kâğıt hamuru işlenmesi süreci, tüketim ve çevre için olumsuz çeşitli kimyasal ve fiziksel işlemler içermektedir. Günümüzde kâğıt endüstrisinde geniş ölçekte enzim uygulamalarıyla bu olumsuz durumların önüne geçilebilmektedir. Selülazlar ve ksilanazlar kâğıt endüstrisinde, biyo-mekanik uygulama, lif özelliklerinin modifikasyonu, geri dönüştürülmüş materyallerdeki boyayı uzaklaştırma, kâğıt fabrikalarının boşaltım ve işleyişini iyileştirmek gibi çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır [85]. Odunsu ham maddelerin ezilmesi ve inceltilmesi işlemleri yüksek enerji gerektiren zorlu işlemlerdir. Materyallerin işlenmesi öncesinde selülaz uygulamaları sayesinde bu materyaller yumuşatılarak kolay işlenebilir hale getirilebilmektedir [108]. Kâğıt hamurunun içerdiği mürekkep ve boyaların yeni kâğıt üretimi öncesi uzaklaştırılması gerekmektedir. Selülazların ve pektinazların kullanımı kâğıt hamurunu yumuşatarak boyanın ve mürekkebin salınmasını kolaylaştırmaktadır. Boyanın uzaklaştırılması için kullanılan kimyasallara nazaran enzim uygulaması kâğıttaki liflere zarar vermemekte ve liflerin sağlamlığı korunmaktadır. Enzimatik işlemlerle zamandan ve kullanılan kimyasaldan kazanç sağlanmaktadır [109]. Kâğıt ve kâğıt hamurundan boya ve mürekkebin uzaklaştırılması işleminden ayrı olarak bir de kâğıt ağartma işlemleri vardır. Ağartma işleminde kullanılan klor, zararları nedeniyle

kısıtlanmıştır. Kâğıt hamurunun ksilanaz enzimi kullanılarak ağartılması işlemi bu sorunların azaltılmasına katkı sağlamıştır [110]. Tekstil endüstrisindeki gibi kâğıdın nişasta ile kaplanması, işlenme sırasında mekanik zararlardan koruma amacıyla yapılmaktadır. Böylece son ürün kalitesi ve kâğıdın elastikliği de arttırılmaktadır. Kaplama için uygulanacak nişastanın uygun kıvama getirilmesi aşamasında α-amilaz enziminden yararlanılmaktadır [111].

2.4.4. Yem Endüstrisi

Arpa, çavdar, süpürge darısı, mısır gibi tahıllar hayvan yemleri olarak kullanılmaktadır. Yemlerdeki bazı karmaşık yapılı bileşenler kümes hayvanları, küçükbaş ve büyükbaş hayvanlar tarafından tam olarak parçalanamamaktadır. Bunun sonucu olarak yemin içerdiği protein, mineral ve enerjiden yeterince faydalanılamamaktadır. Hayvandan alınacak ürün verimini arttırmak için daha fazla miktarda yem kullanmak zorunda kalınmaktadır. Ksilanaz, selülaz gibi bazı hidrolazlar hayvan yemlerindeki karmaşık komponentleri parçalayabilme özelliğindedir ve bu enzimler yemlere eklenmek üzere ticari olarak üretilmektedir [112]. Ksilanazlar yemlerde bulunan ksilanı sindirilebilir daha küçük ünitelere ayırarak besinden daha fazla faydalanabilmeyi sağlamaktadır [113]. Aynı şekilde lignoselülozik materyalleri selülazlar ile muamele ettikten sonra hayvanlara vermek, tek mideli ve geviş getiren hayvanlarda besinlerin sindirilebilirliğini arttırmaktadır [114]. Piliçlerin ve hindilerin çavdar gibi tahıl tabanlı diyetlerine ksilanaz katılması intestinal viskozitenin düşmesini ve böylece hayvanın besin absorbsiyonunu arttırarak ağırlık kazanmasını sağlamaktadır [115].

2.4.5. Deterjan Endüstrisi

α-Amilaz ve selülaz enzimleri, giysilerde bulunan nişastalı, oligosakkarit ve selülozik karakterli kirlere etki ederek bu bileşiklerin glikozidik bağlarını kırmak ve kumaştan daha kolay ayrılabilecek küçük ünitelere ayırmak suretiyle etki

göstermektedir. Enzim katkılı deterjanlar düşük ısılarda çamaşırların yıkanabilmesi ve böylece kumaşta yıpranmayı azaltması bakımından avantajlıdır [116].

Tablo 2.3. Bazı endüstiyel hidrolazlar ve kullanım alanlarının özeti [6,85]

Enzim ismi	Fonksiyonu	Uygulamalar
Selülaz	Hücre duvarındaki selülozik bileşiklerin hidrolizi	Meyvelerin ve zeytinin preslenmesini ve ekstraksiyonunu iyileştirme; aroma, enzim, nişasta ve polisakkaritlerin salınımını iyileştirme; meyve suyunda viskoziteyi azaltma; tahılların fermantasyon öncesi ıslatma işleminde gelişme; fermente gıdalarda besin kalitesinin artış; şaraplık üzümlerde ekstraksiyonunda, filtrasyonunda ve kalitesinde artış
	Glukan bağlarının hidrolizi	Meyve ve sebzelerden antioksidan salınımında artış; fermantasyon öncesi süreçte tahıllardan şeker salınımında artış, biranın filtrasyonu ve kalitesinde artış
	Tahıllardaki lignoselülozik materyallerin kısmi hidrolizi	Tahıl tanelerinin kabuklarını ayırma; hayvanların bağırsak viskozitesinde düşüş ve besin sindiriminde ve absorbsiyonunda artış
	Silaj aşamasında bitki hücre duvarın kısmi hidrolizi	Tek mideli ve geviş getiren hayvan yemlerinde iyileştirme
	Pamuktaki ve kumaştaki selülozik mikrofibrillerin hidrolizi	Kumaşların ve kotların narin temizliği, parlaklığı, biyo taşlama işlemleri ve ürün kalitesinde artış

	Kâğıt hamurundaki selülozik materyallerde kısmi hidroliz	Kâğıt hamurunun mekanik işlenmesinde kolaylık, kağıt fibrillerinin modifikasyonu, kağıttaki fazla boyaların uzaklaştırılmasını iyileştirme, kağıt fabrikalarında verim artışı
Ksilanaz	Tahıllardaki arabinoksilanın modifikasyonu ve hidrolizi	Unlu mamullerin dokusunda, kalitesinde, raf ömründe iyileştirme; undan glutenin ayrıştırılması
	Tahıl tanelerinde hemiselülozik materyallerin kısmi hidrolizi	Hayvanların bağırsak viskozitesinde düşüş; besin sindiriminde ve absorbsiyonunda artış, yemlerin kalitesinde artış ve üretim maliyetinde düşüş
	Kâğıt hamurundaki ksilanın uzaklaştırılması ve hidrolizi	Kâğıdın biyo ağartma işlemleri ve bu işlemler için kimyasal kullanımında azalış, çevre kirliliğinde azalış, kağıt hamurunun işlenmesinde iyileşme
Amilaz	Nişastanın hidrolizi	Meyve suyunda bulanıklık giderme, şeker şurubu üretimi, bira ve şarap fermantasyonu, nişasta bazlı kirleticilerin uzaklaştırılması, hamurun bayatlamasında azalış, hayvan yemlerinde viskozitede azalış, iplik ve kumaşların korunması ve yıpranmasında azalış
Pektinaz	Hücre duvarındaki pektik bileşenlerin hidrolizi	Meyve sularındaki bulanıklığın giderilmesi, viskozitenin düşürülmesi; ürün renk, aroma ve dokusunda iyileştirme; meyvelerin preslenmesinde ve ekstraksiyonunda iyileştirme
	Poligalakturan bağlarında hidroliz	Bira ve şarap filtrasyonunu iyileştirme ve bulanıklığın giderilmesi; tekstilde pamuktan mumsu yapıların uzaklaştırılması

2.5. Mantarların Genel Özellikleri

Mantarlar (funguslar) kök, gövde, yaprak, çiçek ve klorofile sahip olmayan ökaryotik organizmalardır. Küf, şapkalı mantar ve mayaları içeren çok büyük bir gruptur. Mayalar dışındaki grup çok hücreli yapıdadır. Saprofit (çürükçül) veya parazit olarak yaşayan heterotrof canlılardır. Saprofitik mantarlar ölü bitki, hayvan artıkları, canlı organizma artıkları üzerine yaşamakta ve bulundukları ortama salgıladıkları enzimler sayesinde, bu artıkların yapısındaki polisakkarit ve protein yapılarını parçalayıp yapıtaşlarına ayrıştırmaktadırlar. Ortamdaki ayrışmış maddeleri absorblayarak, beslenmelerini gerçekleştirmektedirler. Bitki ve hayvan paraziti olan mantarlar ise canlı hücreleri enfekte ederek bu canlıların besinlerinden faydalanmaktadır [15,117].

Mantarlarda vejetatif yapıyı oluşturan tubuler elementlere hif denilmektedir. Her bir hif hücre çeperi ile sarılmıştır ve uç kısımlarından büyümektedir. Uygun ortam şartlarında, hiflerin uçlarından uzayıp, çoğalıp, dallanmak suretiyle birleşerek oluşan gözle görülür miselyum adı verilen yapılar oluşturmaktadırlar [117]. Miseller karmaşık bir ağ yapısı şeklindedir. Misel ağı içerisinden havaya doğru yükselen hiflerin ucunda konidia denilen sporlar oluşmaktadır. Konidialar eşeysiz spor yapıları olup, mantarların bir yerden başka yere taşınmasını sağlamaktadır. Bazı mantarlarda ise, (şapkalı mantarlar) içerisinde milyonlarca spor barındıran makroskopik üreme yapıları vardır ve bunlar eşeyli üreme yeteneğine sahiptirler [118,119].

Bugüne dek 110.000'den fazla mantar türü saptanmıştır. Bu kadar fazla ve çeşitli canlı türünü ayrıntıları ile saptamak ve sınıflandırmak doğal olarak güçtür. Mantarları sınıflandırmada tam olarak oturmuş bir sistem mevcut olmasa da, temel olarak makroskobik ve mikroskobik morfolojileri, miselyal özellikleri, spor şekilleri, üreme tarzları ve yaşam döngüleri gibi karakterleri dikkate alınmaktadır.

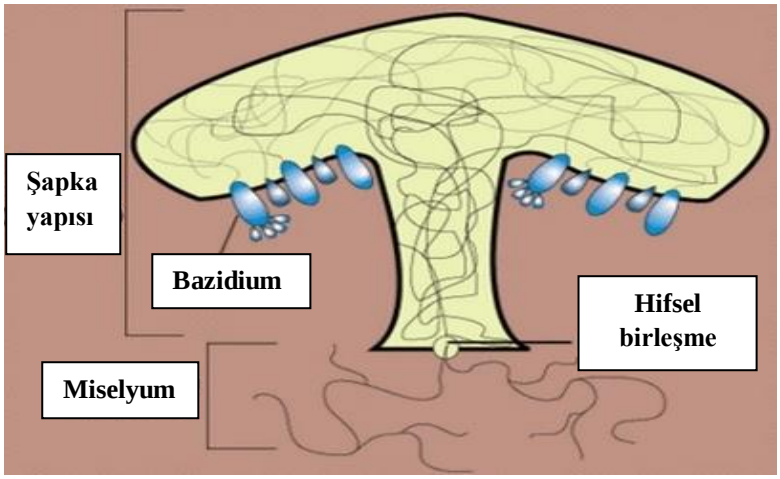
Gelişen moleküler teknikler sayesinde, günümüzde mantarlar ribozomal RNA küçük alt ünitelerine dayalı filogenetik sınıflandırmaya göre Chytridiomycetes, Zygomycetes, Glomeromycetes, Ascomycetes ve Basidiomycetes olmak üzere beş sınıfa ayrılmışlardır [119].

2.5.1. Şapkalı Mantarlar

Şapkalı mantarlar, mantarlar aleminin Ascomycetes ve Basidiomycetes sınıflarında yer almaktadırlar [120]. 30.000 üzerinde tür içeren Basidiomycetes sınıfı, tüm mantarların % 20'sini oluşturmaktadır ve fungusların en gelişmiş türlerini içermektedir. Makrofunguslar olarak da bilinirler, çünkü küf mantarlarının aksine çıplak gözle rahatlıkla görülebilen yapılara sahiptirler. Sınıf isimlerini bu özel yapılarından almaktadırlar. Basidiomycetes sınıf ismi, hiflerin uçlarında farklılaşarak oluşan bazidium yapılarından gelmektedir [121].

Fruktifikasyon organı yani eşeyli üreme yapısı olan şapka kısmına Basidiokarp adı verilmektedir. Tipik bir basidiokarp yapısı sap, lameller ve şapka kısmından oluşmaktadır. Şapka yapısının altında lameller oluşmuştur ve lamellerde basidiosporların üretildiği, özelleşmiş basidium denilen yapılar bulunmaktadır. Her basidium dört basidiospor içermektedir. Her basidiospor haploidtir ve basidiumun ucundaki diploit hücrelerin mayotik bölünmeleri sonucu oluşmaktadır [122].

Mantarlarda sap veya şapka, yeterince besin maddesi toplayarak belli bir noktada yoğunlaşan sekonder misellerden meydana gelmektedir. Yoğunlaşan sekonder misellere tersiyer misel adı verilmektedir. Esas olarak, basidiokarpın yapıtaşı hif adı verilen tüp seklinde iplikçilerdir. Hifler, uç kısımdan gelişen ve lateral dallanma yeteneğine sahip olan tek diziden ibaret ipliklerdir. Hif büyümesi, hücre bölünmesi ile gerçekleşmektedir. Hifler, çevre koşullarının sürekli vejetatif büyüme için uygun olduğu dönemlerde, dallanmış veya dallanmamış olarak besin ortamında tek tek görülmektedirler. Uygun değişiklikler meydana geldiğinde, hifler kümeleşerek daha sonra meyveyi oluşturacak olan misel ipliklerini meydana getirmektedir. Misel iplikleri üzerinde oluşan, küçük nodüller de gelişerek şapkayı meydana getirmektedir [121].



Şekil 2.12. Şapkalı mantarın hif ve misel yapıları [123]

Şapkalı mantarlar, kendilerine has benzersiz lezzeti ve yüksek besin değeri nedeniyle insanlar tarafından yüzyıllardır tüketilmektedir. Bazı mantarlar yüksek besin değeri, lezzeti ve ekonomik değeri için, bazıları ise tıbbi açıdan yararları nedeniyle önem kazanmaktadır. Şapkalı mantarların doğada yenilebilen ve yenilemeyen birçok türü bulunmaktadır. Ayrıca bazı türler uygun ortam koşullarında, talaş, saman, mısır koçanı, çeşitli tohumlu ve kabuklu bitki artıklarından oluşan kompostlarda yetiştirilerek ticareti yapılmaktadır [124]. Ülkemiz, çeşitli iklim özellikleri ve jeolojik yapısı nedeniyle, çeşitli yenilebilir mantar türlerine ev sahipliği yapmaktadır. Özellikle Karadeniz, Batı Anadolu gibi nemli ve yüksek kesimler ile Trakya Bölgesi'nde özellikle Istıranca Dağları'nda ve civarındaki yerleşimlerde çeşitli yenilebilir mantar türleri yetişmektedir [125,126].

Çoğu saprofit olan şapkalı mantarlar, ağaç kabuğu, yapraklar, topraktaki çeşitli bitki örtüsü gibi ölü organik maddeler üzerinde yetişmektedir. Bu organik maddeler yapısında lignin, hemiselüloz, pektin gibi çeşitli karmaşık polisakkaritler barındırmaktadır. Mantarların bu maddeler üzerine tutunup büyümesi sırasında dokularında çeşitli biyokimyasal değişimler gerçekleşir. Organik maddeleri parçalayıcı ksilanaz, selülaz, lakkaz, peroksidaz gibi hidrolitik ve oksidatif enzim setleri sentezlenir ve ortama salınır. Bu nedenle mantarların gelişiminde ve beslenmesinde enzimler önemli rol oynamaktadır [127,128].

2.6. Endüstriyel Hidrolazların Kaynakları

Amilazlar, selülazlar, ksilanazlar, pektinazlar ve kitinazlar endüstriyel açıdan önemi olan hidrolazlardandır. Günümüzde kullanılan hidrolitik enzim kaynakları, kullanım alanlarına göre çeşitlilik göstermekle birlikte, bunların genellikle bakteri ve funguslardan elde edildiği görülmektedir [5,6]. Lignin, selüloz ve hemiselüloz doğada en çok bulunan biyomoleküllerden olup, özellikle bakteri ve fungus olmak üzere çeşitli organizmalar tarafından parçalanıp, karbon kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Enzimatik hidrolizleri sırasında selülaz, ksilanaz gibi endüstriyel önemi olan enzimleri üretebilme yetenekleri onları kullanılabilir ve değerli kılmıştır. Funguslar arasında, *Aspergillus, Trichoderma, Penicillium, Rhizopus, Humicola* cinsleri endüstriyel enzim kaynaklarının % 20'lik kısmını oluşturmaktadır [129]. Selülozu hidrolize eden ve çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmak amacıyla en çok tercih edilen organizmalar arasında *Trichoderma sp., Aspergillus, Penicillium, Basidiomycetes* ve *Bacillus* suşları yer almaktadır [130,131]. Ksilanaz üretiminde kullanılan bakteri olarak *B. subtilis* ve *Bacillus licheniformis*; fungus olarak *A. niger, A. oryzae, Trichoderma longibrachiatum, Trichoderma reseii* ve *Thermoascus aurantiacus* verilebilir [96].

Amilaz enzim kaynakları olarak, *Aspergillus oryzae, Aspergillus niger* türleri ve *Basillus* suşları; pektinaz enzimi üretiminde *A. niger, A. oryzae, A. wentii, A. flavus, Rhizopus liquefaciens* ve *Penicillum* türleri kullanılmaktadır [2,5].

Endüstriyel önemi olan çeşitli enzimler salgılama yetenekleri nedeniyle son zamanlarda, çürükçül ve parazit şapkalı mantarlar üzerine geniş araştırmalar yapılmaktadır [132,133]. Yüksek yapılı çürükçül makrofungus olan şapkalı mantarlar, bitkiler gibi kendi karbonhidratlarını sentezlemekten yoksun oldukları için, karbonhidrat ve diğer besin ihtiyaçlarını çeşitli hayvan ve bitki dokularını parçalayarak elde etmektedirler. Bu nedenle orman, çayır, bitki artıkları, gübre tortuları gibi çürümeye meyilli habitatlarda yetişmektedirler. Hifsel gelişimleri sırasında ürettikleri çeşitli metabolitlerle, bu tür substratlara penetre olarak bunların sindirimini gerçekleştirirler. Ürettikleri değerli enzimler, özellikle hidrolazlar, endüstrinin vazgeçilmez materyalleridir [134,7].

Yenilebilir mantarlar bakımından yapılan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, bu çalışmalar daha çok *Pleourotus* türleri, *Termitomyces* türleri, *Hydnum rependum, Lentinus edodes, Volvariella volvacea, Ramaria botrytis* gibi türler üzerinde yoğunlaşmış ve önemli hidrolitik enzimleri ürettikleri tespit edilmiştir [135,136,137,138,139].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Mantar Örnekleri

Deneylerde kullanılan *Boletus edulis* (çörek), *Craterellus cornupioides* (borazan), *Hydnum repandum* (sığırdili), *Cantharellus cibarius* (kazayağı) türü mantarlar Tekirdağ'ın Saray ilçesindeki Akya Mantarcılık Ltd. Şti.'den temin edildi. *Amanita caesarea* (imparator), *Lactarius delicious* (kanlıca), *Pleurotus eryngii* (kulacık), *Agaricus campestris* (çayır) mantarları sonbahar mevsiminde doğadan toplandı. *Agaricus bisporus* (kültür) ve *Pleurotus ostreatus* (istiridye) kültür mantarları marketten taze olarak temin edildi.

3.1.1.1. *Boletus edulis* (Çörek Mantarı)

Basidiomycetes sınıfına dahil, genellikle porçini, çörek ve ayı mantarı olarak bilinen ekonomik değeri yüksek, oldukça lezzetli yenilebilir bir mantar türüdür. Kaygan, etli ve porlu dokulu, yarımküre şeklinde geniş kahverengi bir şapkaya ve açık kahverengi kalın sap yapısına sahiptir. Şapka yüzeyi normalde kurudur, fakat nemlendiği zaman yapışkan hal almaktadır. Şapkasının alt dokusu, sarımsı yeşil renkte ve porlu süngerimsi yapıdadır. 35 cm çapa, 25 cm uzunluğa ve 2.5 kg ağırlığa ulaşabildiği bildirilmiştir. Genel olarak yetişme alanları Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'dır. İğne yapraklı ve yaprak döken ağaçların bulunduğu ormanlarda ve çeşitli ağaç plantasyonlarında, ağaç yaprakları ve ağaçların altındaki bölgelerde zorunlu veya simbiyotik olarak yaşamaktadır. Tek tek ya da toplu olarak bulunabilmektedirler. Yaz ve sonbahar aylarında yetişmektedir [140,141].



Şekil 3.1. *Boletus edulis* [142]

3.1.1.2. *Hydnum repandum* (Sığırdili Mantarı)

Kirpi mantar ve sığırdili olarak isimlendirilen *Basidiomycetes* sınıfından Hydnaceae ailesine ait yenilebilir bir mantardır. Şapka yapısı 2-17 cm genişliğinde, dışbükey, kuru, düzensiz şekilde ve açık sarımtırak beyaz renktedir. Mantar dokusu beyaz renkte ve baharatlı hoş bir tada sahiptir. 3-10 cm uzunluğunda, 1-3 cm kalınlığında genellikle beyazımsı düz yapıda gövdeye sahiptir. Şapka yapısının altında lamellerden ziyade aşağıya doğru sarkan diken şeklinde yapılarıyla dikkat çekmektedir. Genel olarak Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'nın iğne yapraklı ve yapraklarını döken ormanlık alanlarında tek tek veya küçük gruplar halinde yayılım göstermektedirler. Yaz sonu ve sonbahar mevsiminde yetişmektedir [140,141].



Şekil 3.2. *Hydnum repandum* [141]

3.1.1.3. *Craterellus cornucopioides* (Borazan Mantarı)

Sahip olduğu şekil nedeniyle, kara trompet veya borazan olarak adlandırılan yenilebilir bir mantar türüdür. İsmini, içerisinde çeşitli yiyecekler barındıran ve Yunan mitolojisinde bolluğu ifade eden boynuz şeklinde sepetlerden almaktadır. 2-7 cm genişliğine, 10 cm uzunluğuna erişebilen, düzensiz ve dalgalı, kadife dokudaki şapka yapısı ile gövde-sap yapısı arasında ayrım olmayıp bir bütünlük göstermektedir. Genellikle Kuzey Amerika, Avrupa, Japonya ve Kore'de kayın, meşe ve diğer geniş yapraklı ağaçların altında, nemli ve kalkerli topraklarda, Haziran ve Kasım ayları arasında yetişmektedir [140,141].



Şekil 3.3. *Craterellus cornucopioides* [141]

3.1.1.4. *Cantharellus cibarius* (Kazayağı Mantarı)

Sarımantar ya da kazayağı olarak adlandırılan ve restoranlarca çok talep edilen yenilebilir bir mantar türüdür. 1.5–10 cm genişliğinde sarı renkli, dalgalı–düz yapıda şapkaya sahiptir. 2.5-8 cm uzunluğunda, 1-2 cm kalınlığında açık sarı renkte gövde-sap yapısına sahiptir. Gerçek anlamda lamelleri yoktur. Meyvemsi ve hafif baharatlı tadı ile ünlüdür. Avrupa, Kuzey Amerika, Meksika, Himalayalar ve Afrika'da yosunlu iğne yapraklı ormanlarda ve dağlık ormanlarda ayrı veya kümelenmiş şekilde yetişmeye eğilimlidir. Haziran ve Ekim ayları arasında görülebilmektedir [140,141].



Şekil 3.4. ***Cantharellus cibarius*** **[140]**

3.1.1.5. *Amanita caesarea* (İmparator Mantarı)

İmparator, padişah, yumurta ve sezar mantarı olarak adlandırılan yenilebilir bir mantar türüdür. Zamanında Roma İmparatorları arasında popüler olması bu ismi almasında etkili olmuştur. Portakal renginde, düz fakat kenarları hafif çizgili, dışbükey şapka yapısına sahiptir. Şapka yapıları 15 cm'ye kadar ulaşabilmektedir. Lamelleri sık düzenlenmiştir ve soluk sarı renktedir. Genel olarak Avrupa, Balkanlar, Hindistan ve Çin'de yayılım göstermektedirler. Yaz sonu sonbahar ortalarında meşe, köknar, çam ormanlıklarında rastlanmaktadır [140,141].



Şekil 3.5. ***Amanita caesarea*** **[141]**

3.1.1.6. *Lactarius deliciosus* (Kanlıca Mantarı)

Kanlıca, melki ve çam mantarı olarak isimlendirilen, Russulaceae ailesinden yenilebilir bir mantar türüdür. Şapka yapısı 5-15 cm genişliğinde, kenarları dışbükey ve ortası çukur yapıdadır. Düz, yapışkan ve kaygan bir yüzeye sahiptir. Şapkası turuncu renktedir, fakat temas edildiğinde veya zedelendiğinde parça parça düzensiz koyu yeşil bir renk almaktadır. Lamellerinde turuncu renk hakim olup, yer yer yeşil lekeler bulunmaktadır. İçi boşluklu yapıda, 5-8 cm uzuluğunda 1.5-2 cm kalınlığında, turuncu renkte sapa sahiptir. Genellikle Avrupa'da yetişmekle birlikte çeşitli ülkelerde çam veya meşe ağaçlarının bulunduğu bölgelerde, Ağustos ve Ekim ayları boyunca görülebilmektedir. [140,141].



Şekil 3.6. *Lactarius deliciosus* [141]

3.1.1.7. *Pleurotus ostreatus* (İstiridye Mantarı)

İstiridye veya kayın mantarı olarak adlandırılan, dünyada yetiştirilmesi en kolay mantarlardan biridir. İstiridye veya yelpaze şeklinde 4-20 cm'ye varan pürüzsüz şapka yapılarıyla karakterizedirler. Şapka şekilleri konveks, düz veya huni şeklinde olabilmektedir. Renkleri genellikle beyaz ve gri olmakla birlikte yaşlandıkça sarıya çalan renkler gözlenebilmektedir. Sap ve şapka kısmı birleşiktir. Lameller beyaz, krem renktedir. Koloni halinde yetişirler ve bir noktadan yaprak şeklinde birçok şapka yapısı çıkmaktadır. Dünya çapında birçok ormanda canlı ve ölü ağaçlar üzerinde, geniş yaprak

kümeleri üzerinde, doğal olarak yaşamaktadır. Kavak, meşe, kızılağaç, akağaç, dişbudak, kayın, huş, karaağaç, söğüt ve çınar genel konak ağaçlardandır. Haziran ayından Kış mevsimine kadar görülebilmektedir. Bunlar dışında yüksek besin değeri nedeniyle mantar ticareti için kompostlar üzerinde uygun şartlarda yetiştirilmektedir [140,141].



Şekil 3.7. *Pleurotus ostreatus* [141]

3.1.1.8. *Pleurotus eryngii* (Kulacık Mantarı)

Kral mantarı ve kulacık mantarı olarak adlandırılan *Pleurotus* cinsinin en geniş türü olan yenilebilir bir mantardır. Krem-kahverengi şapka yapısı 4-12 cm çapında, düz, dışbükey ve yaprak şeklindedir. Başta yayvan olan şapkası ileriki dönemde hafif çukurlaşmış hal almaktadır. Kenarları içe doğru kıvrıktır. Krem rengi uzun lameller sap üzerinde ilerleyerek sonlanır. Doğada doğal yetişme alanları Atlantik Okyanusu'ndan Akdeniz Havzası'na, Batı Asya ve Orta Avrupa'ya kadar uzanabilmektedir. Sonbahar ve bahar aylarında ağaç ve ağaç artıkları üzerinde veya çayırlarda yetişmektedir. Daha çok ticari kültür formaları yetiştirilmektedir [143, 144].



Şekil 3.8. ***Pleurotus eryngii*** **[144]**

3.1.1.9. *Agaricus campestris* (Çayır Mantarı)

Çayır mantarı olarak adlandırılan yenilebilir bir mantar türüdür. 2-10 cm çapında, krem rengi-beyaz şapkaya ve 2-6 cm uzunluğunda sap yapısına sahip olup, pembemsi-çikolata renginde lamellere sahiptir. Yaşlandıkça lameller siyaha doğru koyulaşır. Şapka kenarları içe kıvrıktır ve genellikle yayvan şekildedir. Çayır ve mera gibi otsu alanlarda, özellikle yağmur sonrasında görülmektedir. Genellikle küme oluşturmadan yetişmektedirler [140,141].



Şekil 3.9. ***Agaricus campestris*** **[140]**

3.1.1.10. *Agaricus bisporus* (Kültür Mantarı)

Ülkemizde en çok bilinen ve kültürü yapılan şapkalı mantar türüdür. İlk defa ticari kültürünün nasıl yapılabileceği 1707 yılında Fransız botanikçi Joseph Pitton de Tournefort tarafından belirtilmiştir. Fransız tarımcı Olivier de Serres mantarın misel naklinin daha fazla miktarda mantarın oluşmasına yol açacağını kaydetti. Doğada ise çayırlarda otluk alanlarda yetişmektedir. 3-16 cm çapında dışbükey, beyaz-açık kahverengi, şişkin şapka yapısına 2-3 cm uzunluğunda sap kısmına sahiptir. Siyahımsı koyu renkte genellikle kapalı lamelleri vardır [140,141].



Şekil 3.10. *Agaricus bisporus* [140]

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve Ekipmanlar

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler Sigma Aldrich, Merck, Santa Cruz Biotechnology' den satın alınmış olup, analitik saflıktadırlar.

Çalışmada Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarındaki alet ve cihazlar kullanıldı.

Homojenizatör (SchuettHomogen)

Analitik terazi (Sartorius)

pH metre (Hanna –HI 221)

Spektrofotometre (Cecil 5000 series CE55202)

Su banyosu (Wise Circu)

Soğutmalı santrifüj (Heraeus)

Manyetik karıştırıcı

Dağıtıcı ve mikropipetler (Eppendorf, Thermo)

Cam beher, balon joje, erlen, mezür, cam tüpler kullanılan başlıca cihazlar ve aletlerdir.

3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Sodyum Asetat Tamponu

0.05 M asetik asit çözeltisi hazırlamak için 0.572 mL % 99.85'lik asetik asit stok çözeltisi distile su ile 200 mL'ye tamamlandı. 0.05 M NaOH çözeltisi hazırlamak için 0.4 gr NaOH 100mL'de çözülüp distile su ile 200 mL'ye tamamlandı. 0.05 M'lık iki çözelti uygun hacimlerde karıştırılarak pH 5.0 ve pH 4.8 olacak şekilde ayarlandı.

%1'lik nişasta çözeltisi

0.3 g çözünür nişasta 20 mL, pH 5.0, 0.05 M sodyum asetat tamponunda manyetik karıştırıcı üzerinde 2 dakika kaynatıldıktan sonra çözünene kadar karıştırıldı. Aynı tampon ile hacim 30 mL'ye tamamlandı.

%1'lik karboksimetil selüloz çözeltisi

0.3 g karboksimetil selüloz 20 mL, pH 5.0, 0.05 M sodyum asetat tamponuna yavaş yavaş eklenerek ve manyetik karıştırıcıda ısıtılarak çözünmesi sağlanana kadar karıştırıldı. Aynı tampon ile hacim 30 mL'ye tamamlandı.

%1'lik ksilan çözeltisi

0.3 g ksilan 20 mL, pH 5.0, 0.05 M sodyum asetat tamponunda manyetik karıştırıcı üzerinde 2 dakika kaynatıldıktan sonra çözünene kadar karıştırıldı. Aynı tampon ile hacim 30 mL'ye tamamlanarak 5000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek ksilanın çözünür olmayan kısmı uzaklaştırıldı.

%1'lik pektin çözeltisi

0.3 g pektin 20 mL, pH 5.0, 0.05 M sodyum asetat tamponuna yavaş yavaş eklenerek ve manyetik karıştırıcıda ısıtılarak çözünmesi sağlanana kadar karıştırıldı. Aynı tampon ile hacim 30 mL'ye tamamlandı.

Kolloidal kitin çözeltisi

Wen ve ark.'nın (2002), Roberts ve Selitrennikoff'tan modifiye ettikleri metoda göre hazırlandı.

1. 0.5 g kolloidal kitin 6 mL konsantre HCl'e ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra bir gece + 4 °C'de çalkalayıcıda bırakıldı.

2. Karışıma 200 mL % 95'lik soğuk etanol ilave edilerek 25 °C'de bir gece bekletildi.

3. Çökelti toplandı, + 4 °C'de 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır.

4. Çökelti distile su ile alkolünden arınana kadar yıkandı.

5. Kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklandı.

5 mM 4-nitrofenil-β-glukopiranozid çözeltisi

0.0301 g 4-nitrofenil-β-D-glukopiranozid 10 mL, 0.05 M, pH 4.8 sodyum asetat tamponunda manyetik karıştırıcıda ısıtılmadan çözüldü. Aynı tampon ile hacim 20 mL'ye tamamlandı.

DNS (3,5-Dinitrosalisilik) çözeltisi

Enzim aktivitelerinin durdurulması ve reaksiyon sonucu oluşan indirgen şeker miktarının saptanması için kullanıldı. 1g NaOH 60 mL distile suda çözündükten sonra bu karışıma 20 g Na-K tartarat eklendi ve çözüldü. Ardından bu çözeltiye 0.05 g sodyum sülfit ve 0.2 g fenol eklenerek çözüldü. Son olarak hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Kahverengi cam şişede + 4 °C'de saklandı.

0.5 M Na_2CO_3 çözeltisi

1.06 g Na_2CO_3 tartılıp 10 mL distile suda çözüldü ve balon jojede distile su ile hacim 20 mL'ye tamamlandı.

3.2. Metod

3.2.1. Mantarların Homojenizasyonu

-20 °C'de dondurulmuş halde saklanan mantarlardan çalışılacak kadar miktarı alınarak oda sıcaklığında çözdürüldü. Çözülen mantarlar distile su ile yıkandı. Her bir mantarın şapka kısmından bistüri ile örnek kesilip, 2 g olacak şekilde hassas terazide tartımı yapıldı. Tartılan doku, buz üzerinde, cam petri kabında bistüri ile daha küçük parçalara ayrıldı. Homojenizatör'de 10 mL 0.05 M, pH 5.0 sodyum asetat tamponunda 10 dakika homojenize edildi. Son hacim aynı tampon ile 20 mL'ye tamamlandı. Örnekler 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant kaba enzim kaynağı olarak kullanıldı. Kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.2. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Amilaz aktivitesi, nişastanın enzimatik hidrolizi sonucu açığa çıkan maltoz; selülaz (CMCaz) aktivitesi, karboksimetil selüloz substratının enzimatik hidrolizi ile açığa çıkan glukoz; ksilanaz aktivitesi, ksilandan açığa çıkan ksiloz; pektinaz (poligalakturonaz) aktivitesi, pektinin hidrolizi sonucu açığa çıkan D-galakturonik asit; kitinaz aktivitesi ise, kitinden açığa çıkan N-asetilglukozamin miktarının, dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi ile belirlenmesiyle ölçüldü [145].

β-glukozidaz enzim aktivitesi ise 4-nitrofenil-β-glukopiranozid substratının hidrolizi sonucu açığa çıkan 4-nitrofenolün 410 nm'de spektrofotometrik ölçümü ile belirlendi [146].

Amilaz, selülaz, pektinaz, ksilanaz ve kitinaz enzim aktivitelerinin belirlenmesi için aşağıdaki işlemler her bir enzim için uygulandı:

Her bir mantar için kör, kontrol ve örnek tüpleri hazırlandı.

a) Kör tüpü: 0.2 mL tampon + 0.5 mL substrat çözeltisi

b) Kontrol tüpü: 0.2 mL kaba enzim + 0.5 mL substrat çözeltisi

c) 2 Adet Örnek tüpü: 0.2 mL kaba enzim + 0.5 mL substrat çözeltisi

Bütün tüplere enzimlere uygun substratların % 1'lik çözeltisi 0.5 mL hacimde eklendikten sonra, örnek tüplerine 0.2 mL kaba enzim, kör tüplerine ise kaba enzim yerine 0.2 mL 0.05 M pH 5.0 sodyum asetat tamponu eklendi. Kör ve örnek tüpleri vortekslendikten sonra 40 °C'lik su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kontrol tüplerine 0.2 mL kaba enzim eklendi ve reaksiyonun durdurulması ve indirgen şekerlerin belirlenmesi için bütün tüplere 1 mL DNS eklenerek 10 dakika kaynar suda bekletildi. Ardından tüpler 2-3 dakika soğuk suda bekletildi. Üzerlerine 10 mL distile su eklenerek, kontrol ve örnek tüplerinin absorbans değerleri 540 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede kör tüpüne karşı okundu [145]. Örnek tüplerinin absorbans değeri kontrol tüplerinin absorbans değerinden çıkarılarak enzimler tarafından açığa çıkarılan indirgen şekerlerin absorbans değerleri belirlenmiş oldu. Önceden 540 nm dalga boyunda DNS ile hazırlanmış olan indirgen şekerlerin standart grafiklerinden yararlanılarak enzim aktivitesi Ünite/mL olarak hesaplandı.

Tüm enzimler için bir ünite enzim aktivitesi, standart deney koşullarında (pH 5.0, 40 °C) dakikada 1 μmol indirgen şekeri açığa çıkaran enzim miktarı olarak tanımlandı.

Beta glukozidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için aşağıdaki işlemler her bir mantar için uygulandı:

a) Kör tüpü: 0.2 mL tampon + 0.5 mL substrat çözeltisi

b) Kontrol tüpü: 1/10 dilüe edilmiş 0.2 mL kaba enzim + 0.5 mL substrat çözeltisi

c) 2 Adet Örnek tüpü: 1/10 dilüe edilmiş 0.2 mL kaba enzim + 0.5 mL substrat çözeltisi

Bütün tüplere 5 mM, 4-nitrofenil-β-glukopiranozid çözeltisi 0.5 mL hacimde eklendikten sonra, örnek tüplerine 1/10 oranında dilüe edilmiş 0.2 mL kaba enzim, kör tüplerine ise kaba enzim yerine 0.2 mL 0.05 M pH 4.8 sodyum asetat tamponu eklendi. Kör ve örnek tüpleri vortekslendikten sonra 40 °C'lik su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kontrol tüplerine 1/10 oranında dilüe edilmiş 0.2 mL kaba enzim eklendi. Reaksiyonun durdurulması için bütün tüplere 1 mL 0.5 M Na_2CO_3 eklenerek vortekslendi. Absorbans değerleri 410 nm dalga boyunda kör tüpüne karşı okundu.

Önceden 410 nm dalga boyunda 0.5 M Na_2CO_3 ile hazırlanmış olan 4-nitrofenolün standart grafiğinden yararlanılarak enzim aktivitesi Ünite/mL olarak hesaplandı. Bir ünite, standart deney koşullarında dakikada 1 µmol 4-nitrofenolü açığa çıkaran enzim miktarı olarak tanımlandı.

3.2.3. Protein Tayini

Protein tayini Lowry yöntemine göre yapıldı [147]. Bunun için aşağıda içerikleri verilen A, B ve C çözeltileri hazırlandı.

Çözelti A: 0.2 g Na_2CO_3 ve 1 g NaOH distile suda birlikte çözülüp, son hacim 50 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Çözelti B: 0.5 g $CuSO_4$ tartılıp distile suda çözüldü ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı. 1 g sodyum potasyum tartarat tartılıp distile suda çözüldü ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı. İki çözelti eşit hacimlerde bir beherde karıştırıldı.

Çözelti C: 50 mL A çözeltisi ile 1 mL B çözeltisi karıştırılarak hazırlandı.

1) Kör tüpü ve her bir mantar için örnek tüpleri hazırlandı. Bütün tüplere 3 mL C çözeltisi eklendi. Örnek tüplerine sırasıyla her bir mantarın kaba enziminden 100 µl eklendi. Kör tüpüne kaba enzim yerine 100 µl distile su eklendi. Tüpler vortekslendikten sonra 10 dakika beklemeye bırakıldı.

2) Her bir tüpe 100 µl Folin çözeltisi eklendi ve tüpler 10 dakika arayla karıştırılarak 30 dakika beklemeye bırakıldı.

3) Bekleme sonunda örnek tüplerinin sırasıyla spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda kör tüpüne karşı absorbans değerleri okundu.

4) Okunan değerler, önceden % 0.1'lik BSA çözeltisi kullanılarak hazırlanan protein standart grafiği ile karşılaştırılarak örneklerin protein içerikleri mg/mL olarak hesaplandı.

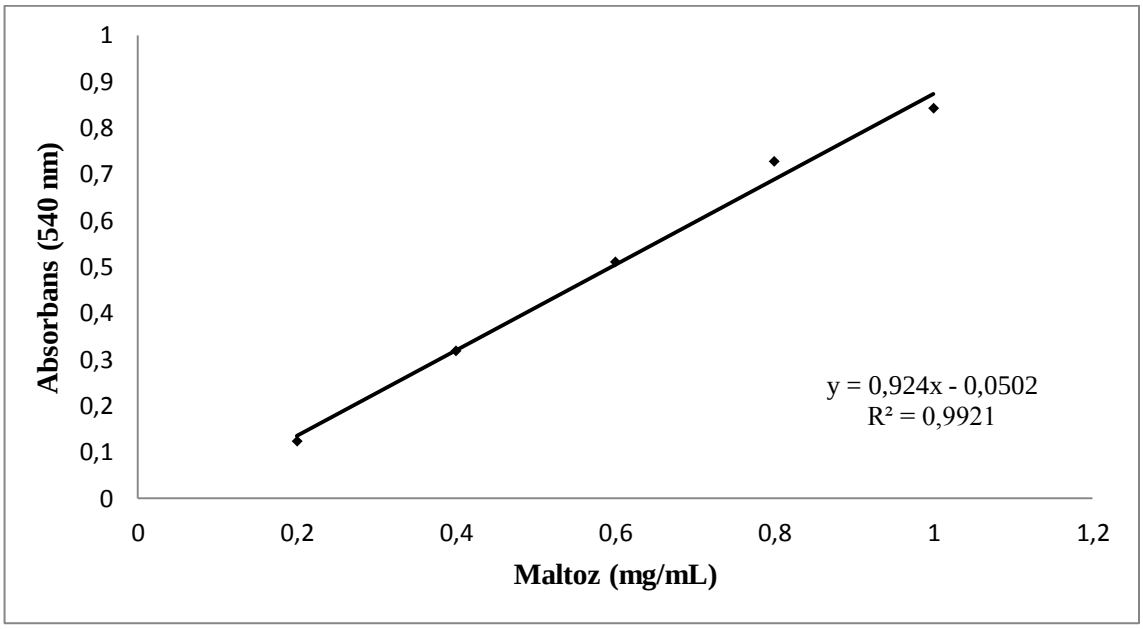
4. BULGULAR

Boletus edulis, Hydnum repandum, Craterellus cornupioides, Cantharellus cibarius, Amanita caesarea, Lactarius delicious, Pleurotus eryngii, Agaricus campestris, Pleurotus ostreatus ve *Agaricus bisporus* mantarları temin edildikten sonra - 20 °C dondurucuda saklandı. Mantarların selülaz, amilaz, ksilanaz, pektinaz, kitinaz ve β-glukozidaz aktivitelerinin belirlenmesi için mantarlar oda sıcaklığında çözdürüldükten sonra mantar örnekleri homojenize edilerek enzim ekstraksiyonları gerçekleştirildi.

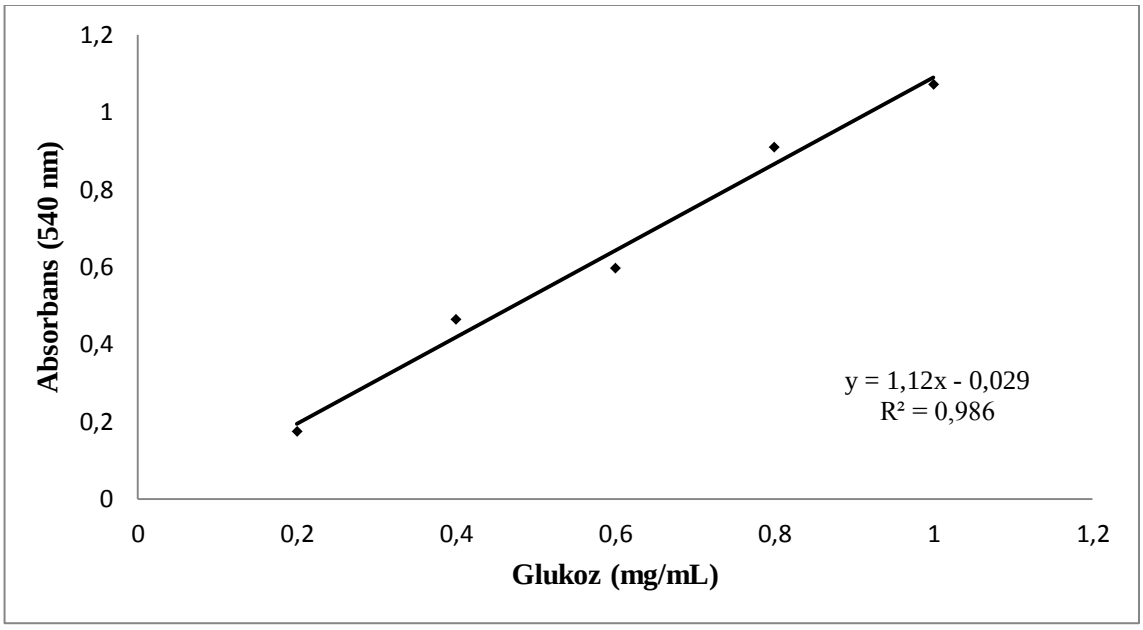
4.1. Standart Grafikler

Amilaz, selülaz, ksilanaz, pektinaz ve kitinaz enzimlerinin katalitik aktiviteleri sonucu sırasıyla nişastadan maltoz şekerleri, karboksimetil selülozdan glukoz şekerleri, ksilandan ksiloz şekerleri, pektinden D-galakturonik asit üniteleri ve kitinden N-asetil glukozamin üniteleri açığa çıkmaktadır. Bu nedenle açığa çıkan her bir karbonhidrat molekülü için DNS reaktifi kullanılarak standart grafikleri çıkarıldı. Bu amaçla, açığa çıkan şekerlerin 0.2 – 1.0 mg/mL arasında değişen çözeltileri hazırlanarak, DNS ile muamele sonucu oluşan renkli çözeltilerin absorbans değerleri ile karşılık gelen konsantrasyonları arasında grafikleri çizildi.

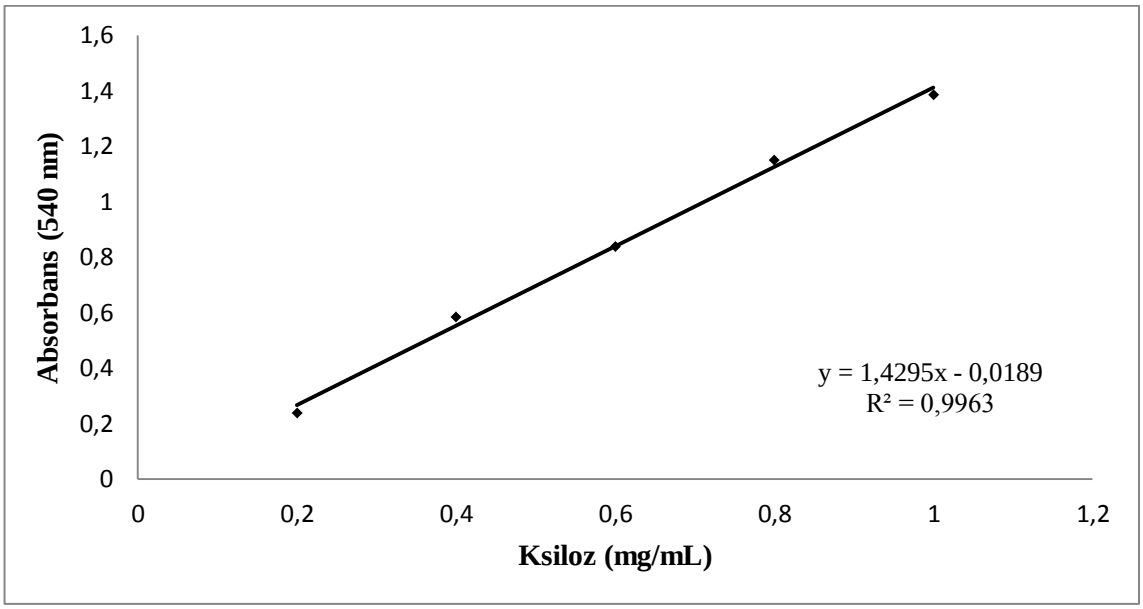
β-glukozidaz enzim aktivite hesaplamasında ise enzimatik reaksiyon sonucu açığa çıkan 4-nitrofenol standart grafiği çıkarıldı. Bu amaçla 4-nitrofenol'ün 0.002-0.012 mM'lık çözeltileri hazırlanarak 410 nm'de absorbans değerlerine karşı grafiklendi.



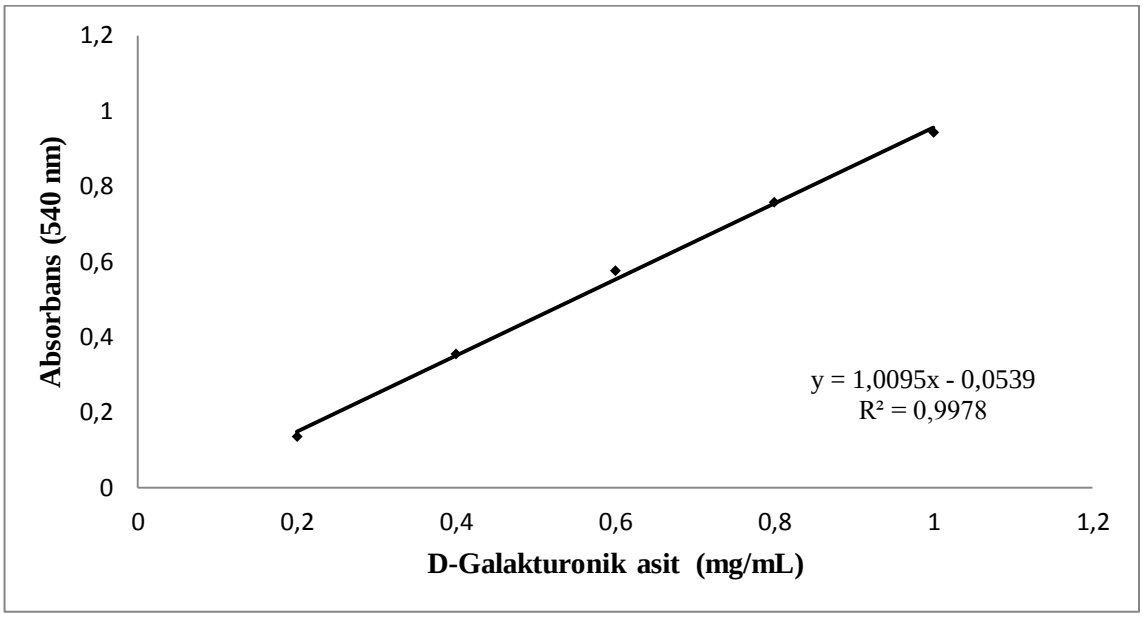
Şekil 4.1. Maltoz standart grafiği



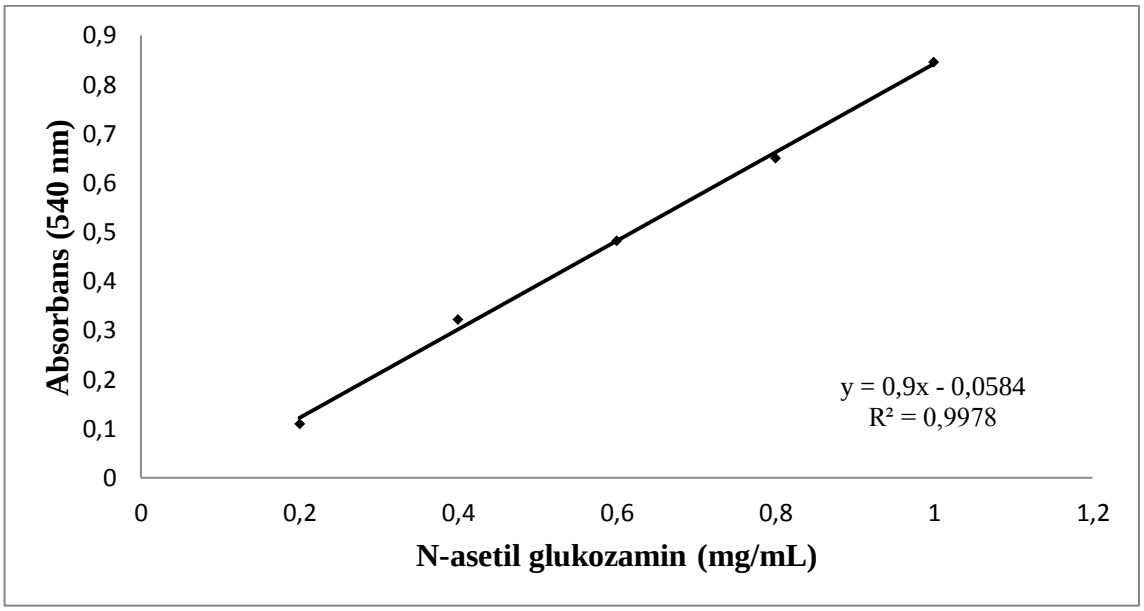
Şekil 4.2. Glukoz standart grafiği



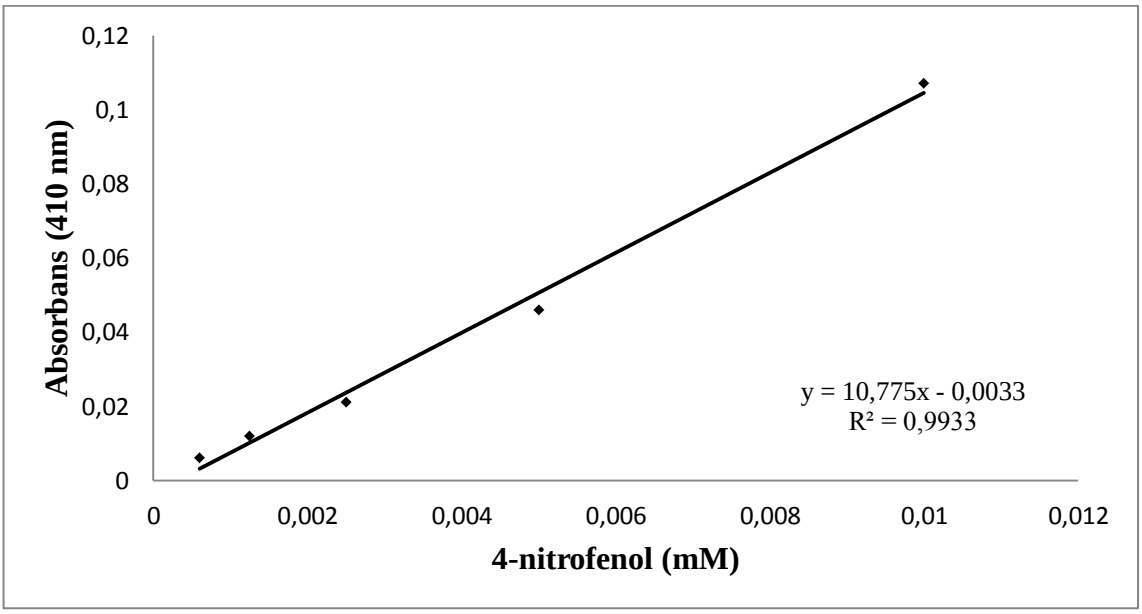
Şekil 4.3. Ksiloz standart grafiği



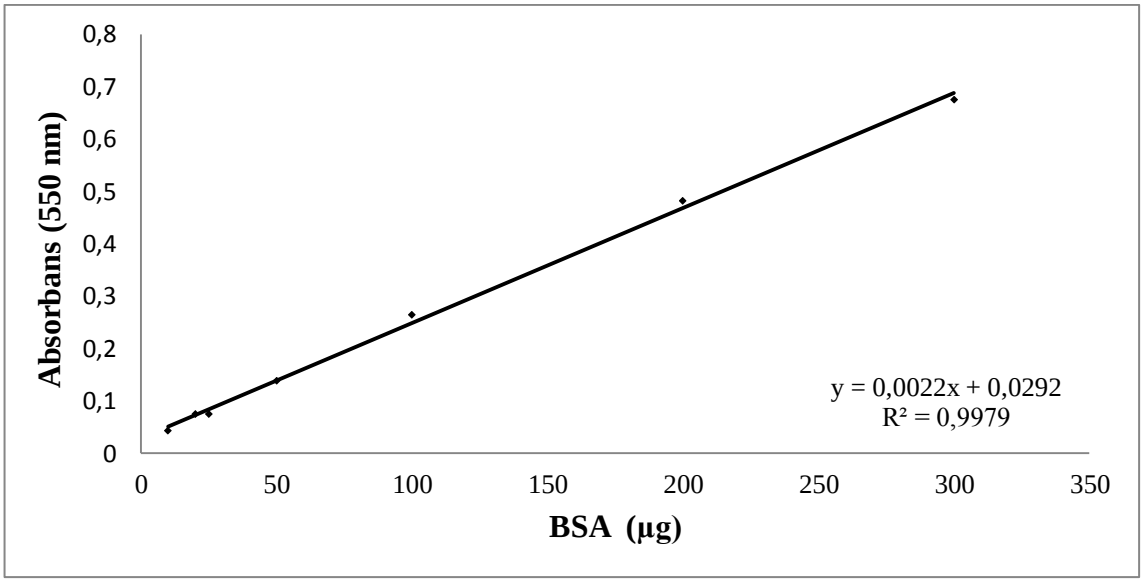
Şekil 4.4. D-Galakturonik asit standart grafiği



Şekil 4.5. N-asetil glukozamin standart grafiği



Şekil 4.6. 4-Nitrofenol standart grafiği



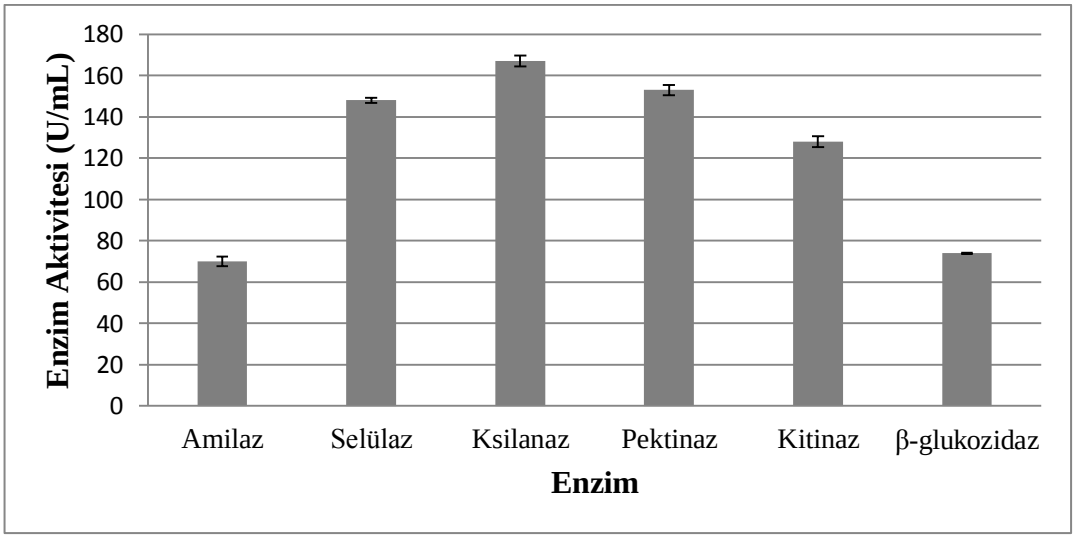
Şekil 4.7. Protein standart grafiği

4.2. Mantarların Enzim Aktiviteleri

Çalışmada Trakya Bölgesi'nde yetişen yenilebilir *Boletus edulis, Craterellus cornupioides, Hydnum repandum, Cantharellus cibarius, Amanita caesare, Pleurotus eryngii, Agaricus campestris* ve *Lactarius delicious* mantarları ile *Pleurotus ostreatus* ve *Agaricus bisporus* kültür mantarlarının amilaz, selülaz, ksilanaz, pektinaz ve kitinaz aktiviteleri Miller'in DNS metodu ile tayin edildi [145]. β-glukozidaz aktivitesi 4-nitrofenil-β-glukopiranozid bileşiğinin hidrolizi sonucu açığa çıkan 4-nitrofenolün spektrofotometrik ölçümü ile belirlendi [146].

4.2.1. *Boletus edulis* (Çörek)'in Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

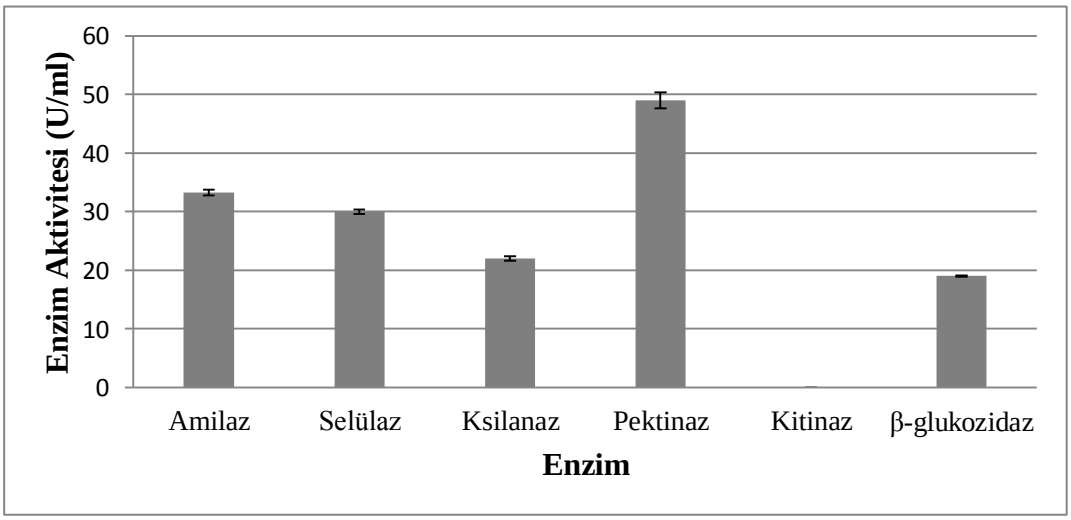
B. edulis mantarında, incelenen bütün enzimlerin varlığı saptandı. Amilaz aktivitesi 70±2.35 U/mL, selülaz (CMCaz) aktivitesi 148±1.25 U/mL, ksilanaz aktivitesi 167±2,65 U/mL, pektinaz aktivitesi 153.3±2.47 U/mL, kitinaz aktivitesi 128±2.52 U/mL, β-glukozidaz aktivitesi 74±0.305 U/mL olarak belirlendi. En yüksek aktivite ksilanaz enziminde gözlenirken en düşük aktivite amilaz enziminde gözlendi.



Şekil 4.8. *Boletus edulis* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.2. *Hydnum repandum* (Sığırdili)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

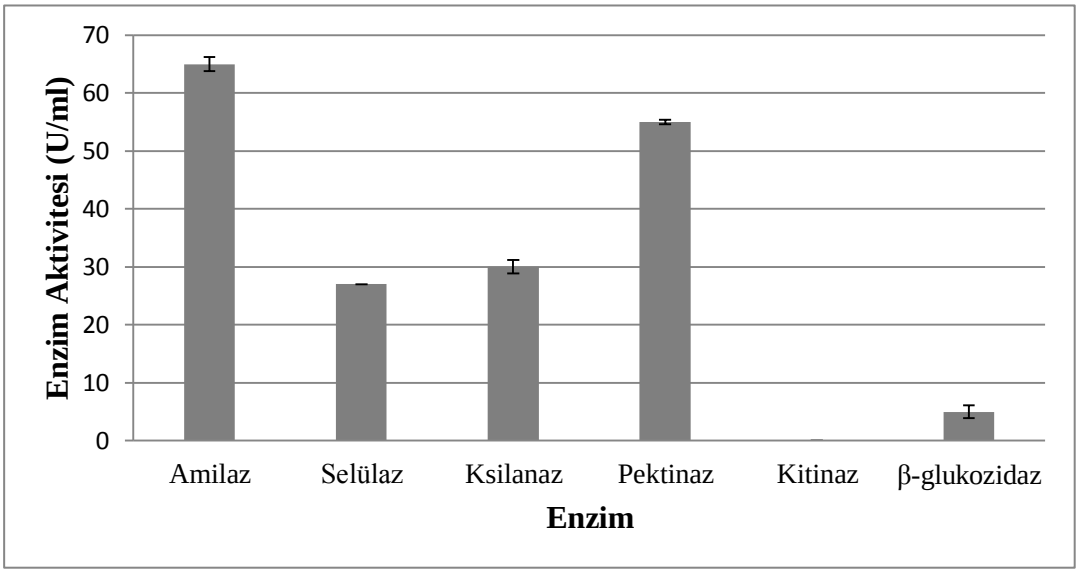
H. repandum mantarında kitinaz enzimi hariç, incelenen diğer tüm enzimlerin aktivitelerinin varlığı tespit edildi. Amilaz aktivitesi 33.3±0.485 U/mL, selülaz (CMCaz) aktivitesi 30±0.415 U/mL, ksilanaz aktivitesi 22±0.385 U/mL, pektinaz aktivitesi 49±1.14 U/mL, β-glukozidaz aktivitesi 19±0.15 U/mL olarak belirlendi. En yüksek aktivite değeri pektinaz enziminde saptanırken, en düşük aktivite değeri β-glukozidaz enziminde gözlendi.



Şekil 4.9. *Hydnum repandum* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.3. *Craterellus cornupioides* (Borazan)'in Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

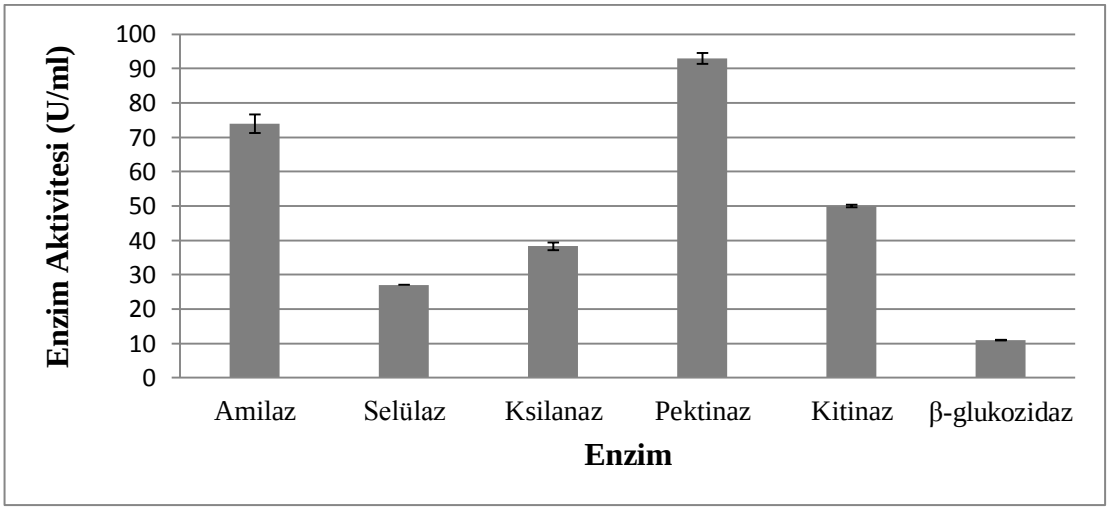
C. cornupioides mantarında kitinaz aktivitesi belirlenemezken, en yüksek aktivite amilaz enziminde 65±1.25 U/mL olarak belirlendi. Amilaz enzimini 55±0.39 U/mL'lik aktivite değeri ile pektinaz enzimi takip etti. Selülaz (CMCaz) 27±0 U/mL ve ksilanaz 30±1.17 U/mL enzim aktivite değerlerinin birbirine çok yakın olduğu gözlendi. En düşük enzim aktivitesi ise 5±1.085 U/mL'lik aktivite değeri ile β-glukozidaz enziminde saptandı.



Şekil 4.10. *Craterellus cornupioides* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.4. *Cantharellus cibarius* (Kazayağı)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

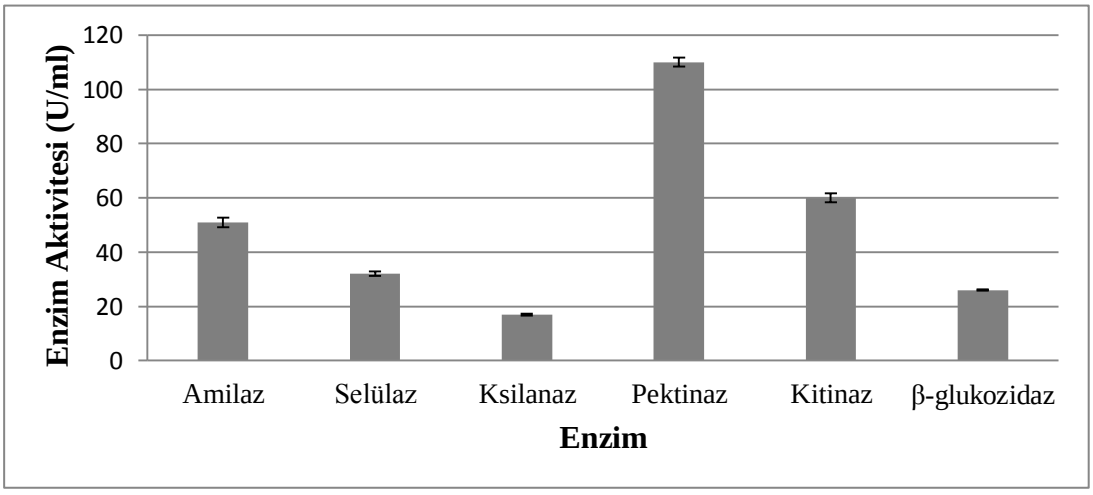
Araştırılan tüm enzimlerin varlığı, *C. cibarius* mantarında saptandı. En yüksek değerden, en düşük değere doğru enzim aktivitelerinin, pektinaz 93±1.57 U/mL, amilaz 74±2.75 U/mL, kitinaz 50±0.415 U/mL, ksilanaz 38.3±1.165 U/mL, selülaz (CMCaz) 27±0 U/mL ve β-glukozidaz 11±0.15 U/mL olarak sıralandığı gözlendi.



Şekil 4.11. *Cantharellus cibarius* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.5. *Amanita caesarea* (İmparator)'nın Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

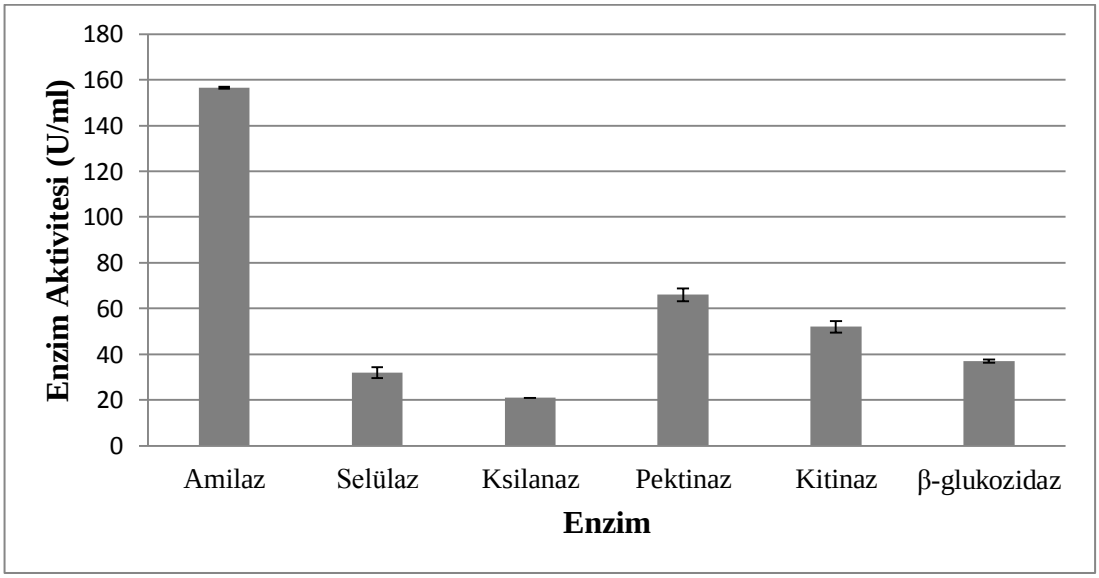
A. caesarea mantarının pektinaz (110±1.575 U/mL) enzim aktivitesinin, diğer enzim aktiviteleri ile karşılaştırıldığında maksimum değere sahip olduğu belirlendi. En düşük enzim aktivitesinin 17±0.39 U/mL'lik aktivite ile ksilanaz enzimine ait olduğu saptandı. Ksilanaz enzimini, 26±0.305 U/mL'lik aktivite ile β-glukozidaz enzimi takip etmekte olup, ikinci en yüksek aktivite 60±1.73 U/mL ile kitinaz enziminde gözlendi. Bu sırayı amilaz (51±1.735 U/mL) ve selülaz (CMCaz) (32±0.835 U/mL) enzimlerinin izlediği belirlendi.



Şekil 4.12. *Amanita caesarea* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.6. *Lactarius deliciosus* (Kanlıca)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

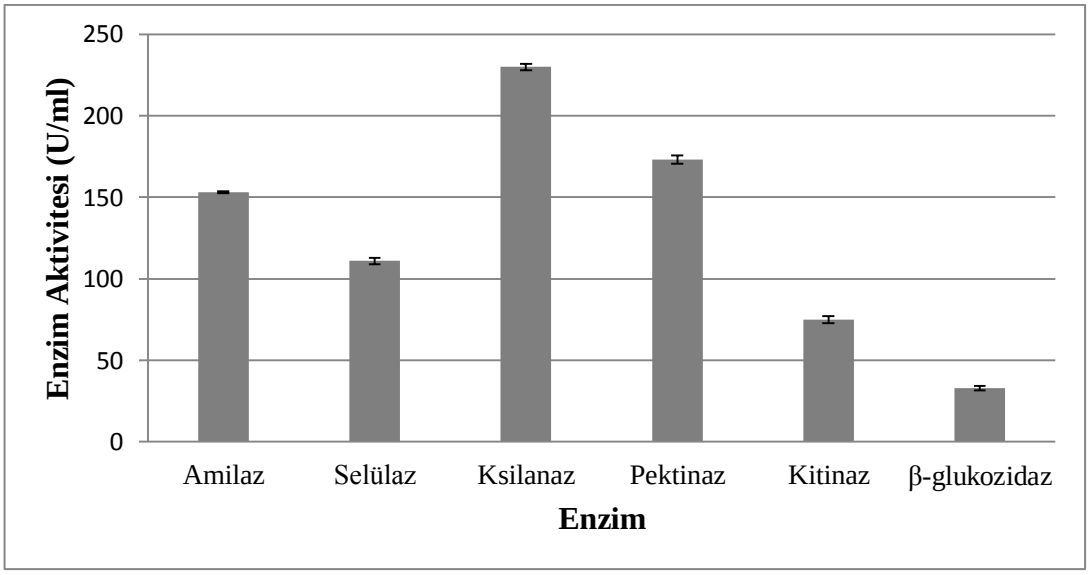
L. deliciosus mantarında, test edilen tüm enzimlerin varlığı tespit edildi. Amilaz aktivitesi 156.6±0.51 U/mL, selülaz (CMCaz) aktivitesi 32±2.335 U/mL, ksilanaz aktivitesi 21±0 U/mL, pektinaz aktivitesi 66±2.9 U/mL, kitinaz aktivitesi 52±2.49 U/mL, β-glukozidaz aktivitesi 37±0.6 U/mL olarak belirlendi. Amilaz enziminin en yüksek aktivite değerine, ksilanaz enziminin ise en düşük aktiviteye sahip olduğu saptandı.



Şekil 4.13. *Lactarius deliciosus* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.7. *Pleurotus ostreatus* (İstiridye)'nin Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

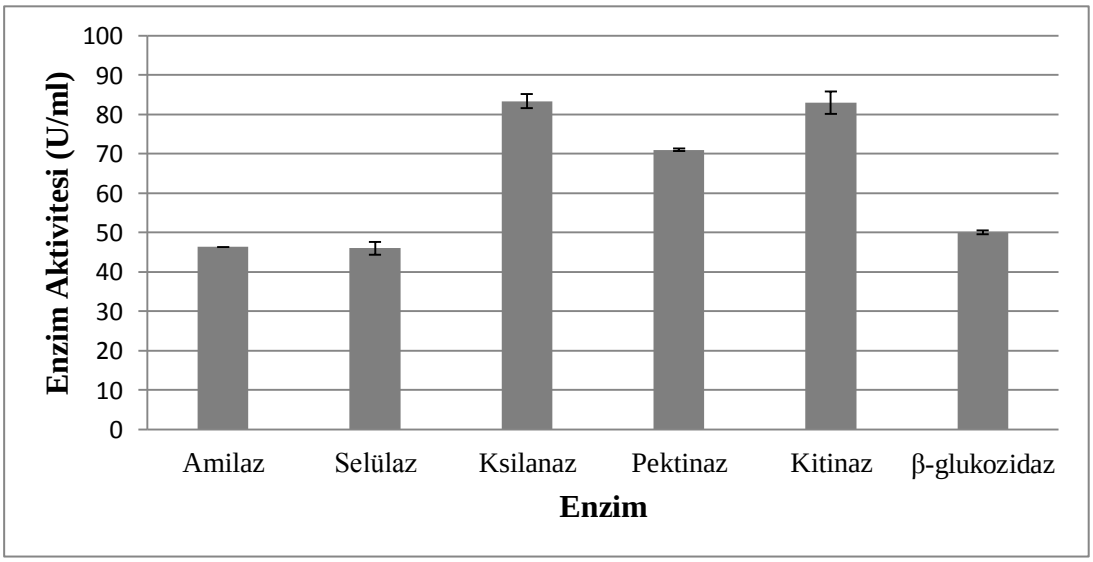
Ksilanaz enzim aktivitesinin (230±1.89 U/mL) *P. ostreatus*'da en yüksek aktivite değerine sahip olduğu saptandı. Sırası ile aktiviteleri 173±2.6 U/mL ve 153.3±0,51 U/mL olarak ölçülen pektinaz ve amilaz enzimlerini, selülaz (CMCaz) (111±1.19 U/mL), kitinaz (75±2.18 U/mL) ve β-glukozidaz (33±1.38 U/mL) enzimlerinin takip ettiği gözlendi.



Şekil 4.14. *Pleurotus ostreatus* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.8. *Pleurotus eryngii* (Kulacık Mantarı)'nin Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

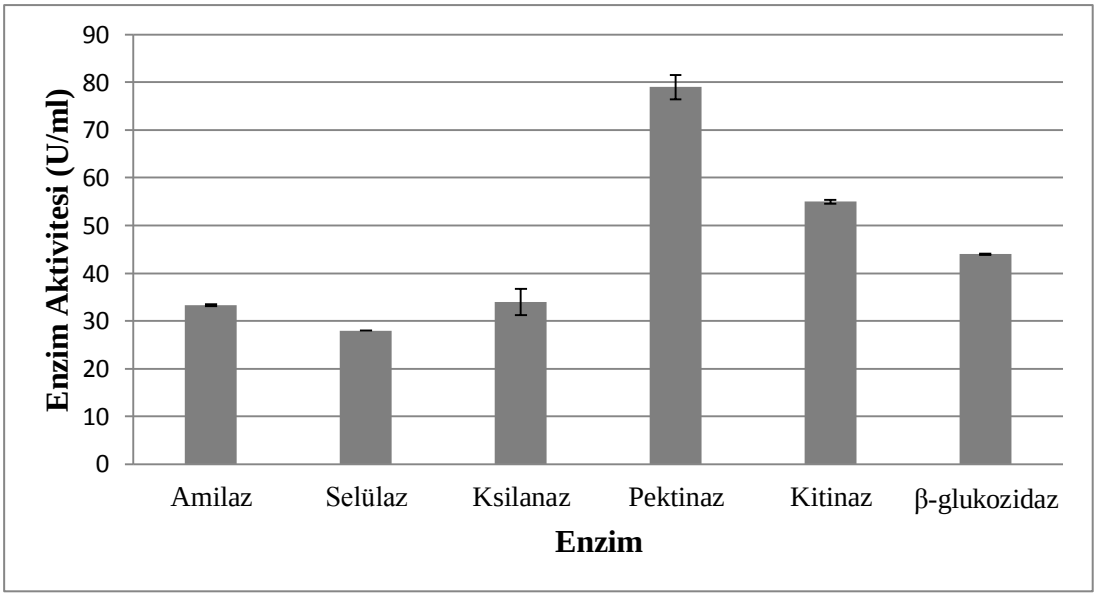
P. eryngii mantarının sahip olduğu enzim aktiviteleri kendi arasında bağıl aktivite olarak karşılaştırıldığında, aktivitelerin % 55 (amilaz: 46.3±0.02 U/mL, selülaz: 46±1.62 U/mL), 60 (β-glukozidaz: 50±0.47 U/mL), 85 (pektinaz: 71±0.395 U/mL) ve 100 (ksilanaz: 83.3±1.78 U/mL, kitinaz: 83±2.84 U/mL) arasında değiştiği gözlendi.



Şekil 4.15. *Pleurotus eryngii* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.9. *Agaricus campestris* (Çayır)'in Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

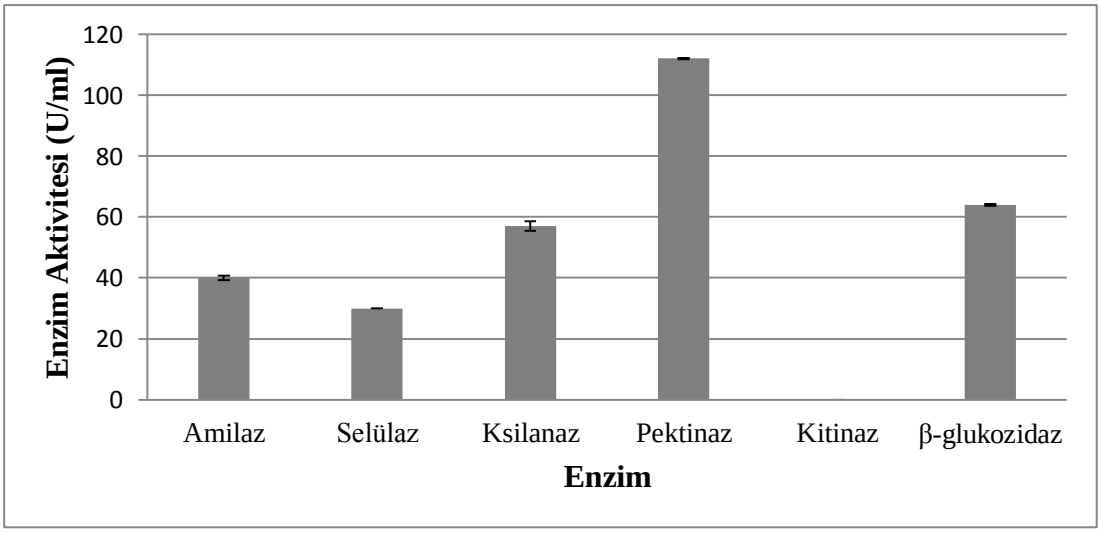
Bu çalışma kapsamında aktiviteleri araştırılan hidrolitik altı enzimin, *A. campestris* mantarında var olduğu belirlendi. Şekil 4.16'da da görüldüğü gibi amilaz (33.3±0.255 U/mL), ksilanaz (34±2.72 U/mL) ve selülaz (28±0 U/mL) aktivitelerinin birbirine oldukça yakın olduğu saptandı. Kitinaz enzim aktivitesi 55±0.415 U/mL, β-glukozidaz aktivitesi ise 44±0.155 U/mL olarak ölçüldü. 79±2.55 U/mL'lik aktivite ile en yüksek enzim aktivitesine sahip olan enzimin pektinaz olduğu tespit edildi.



Şekil 4.16. *Agaricus campestris* mantarı enzim aktiviteleri

4.2.10. *Agaricus bisporus* (Kültür)'un Hidrolitik Enzim Aktiviteleri

Kitinaz enzim aktivitesi *A. bisporus'ta* ölçülmezken, en yüksek değerde pektinaz enzim aktivitesi (112±0.25 U/mL) ölçüldü. Ölçümü yapılabilen beş enzimden en düşük enzim aktivitesinin selülaz (30±0 U/mL) enzimine ait olduğu gözlendi. β-glukozidaz (64±0.305) ve ksilanaz (57±1.51 U/mL) enzim aktivitelerinin ise nispeten birbirine yakın olduğu, amilaz enziminin de 40±0.68 U/ml'lik bir aktivite değeri sergilediği belirlendi.



Şekil 4.17. *Agaricus bisporus* mantarı enzim aktiviteleri

4.3. Mantarların Protein İçerikleri

Bölüm 3.2.1.'de belirtildiği gibi homojenizasyonu yapılan mantar homojenatlarındaki protein miktarları Lowry Yöntemi'ne [147] göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Standart grafik (BSA) yardımı ile mg/mL olarak hesaplandı. Bu çalışmanın sonuçları Tablo 4.1.'de verildi.

Tablo 4.1. Mantarların protein içerikleri

Mantarlar	Protein Miktarı (mg/mL)
Boletus edulis	0,84
Hydnum repandum	0,24
Craterellus cornupioides	1,52
Canthrellus cibarius	0,67
Amanita caesarea	0,5
Lactarius deliciosus	0,7
Pleurotus ostreatus	1,42
Pleurotus eryngii	1,59
Agaricus campestris	0,52
Agaricus bisporus	1,1

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Trakya Bölgesi'nde doğal olarak yetişen ve yenilebilir mantar türlerinden olan *B. edulis* (çörek), *H. repandum* (sığırdili), *C. cornupioides* (borazan), *C. cibarius* (kazayağı), *A. caesarea* (imparator), *L. delicious* (kanlıca), *P. eryngii* (kulacık), *A. campestris* (çayır) ile *A. bisporus* (kültür) ve *P. ostreatus* (istiridye) kültür mantarlarının, endüstriyel açıdan önem taşıyan hidrolitik enzim aktiviteleri araştırıldı.

Çeşitli endüstri alanlarında hali hazırda kullanımı olan amilaz, selülaz, ksilanaz, pektinaz, kitinaz ve β-glukozidaz enzimlerinin, şapkalı mantarlardaki varlığı ile yapılan çok az sayıda çalışma vardır.

Şapkalı mantarlar saprofitik veya parazit yaşam sürmektedirler. Bu nedenle yetiştikleri ortamda bulunan maddeleri parçalayıcı çeşitli enzimler üretmektedirler. Bu enzimleri üretebilme kabiliyetleri mantar türünün genetik yapısı ve ortamdaki materyale bağlıdır [127,128]. Yenilebilen şapkalı mantarların genel olarak yetiştiği ve toplandığı ortamlar orman ve çayırlardaki çeşitli ölü ağaç kütükleri, ağaç dalları, yapraklar, otlar ve ölü böcek ve hayvan artıklarının bulunduğu yerlerdir. Bu materyaller çeşitli kompleks karbonhidratları içermektedir [117,127,128]. Dolayısıyla bu ortamlarda yaşayan mantarların hidrolitik enzimleri üretmeleri doğaldır. Nitekim çalışmamızda incelediğimiz 10 farklı tür mantarın her birinin en az 5 farklı hidrolaz aktivitesine sahip oldukları tespit edildi. *H. repandum, C. cornupioides ve A. bisporus* mantarlarında sadece kitinaz aktivitesi gözlenmezken, diğer mantarlarda incelenen bütün enzimlerin aktivite gösterdiği belirlendi.

Özellikle gıda ve tekstil endüstrisinde yaygın kullanım alanı bulunan amilaz enzimi aktivitesi, çalışılan tüm mantar türlerinde gözlendi. Test edilen 10 farklı mantar türünün enzim aktivite değerleri 33.3±0.255 – 156.6±0.51 U/mL arasında değişim göstermektedir. En yüksek amilaz aktiviteleri 156.6±0.51 U/ml ve 153±0.51 U/mL'lik değerler ile sırası ile *L. delicious* ve *P. ostreatus* mantarlarına ait olduğu belirlendi (Şekil 4.13 ; 4.14)

Selülazlar gıda, testil, yem, deterjan endüstrisi gibi, endüstrinin pek çok alanında ve oldukça yaygın kullanıma sahiptirler [85,105,108]. Çeşitli bitkisel kompostlar üzerinde büyüyen şapkalı mantarların selülaz enzimi sentezlemeleri öngörülmektedir. Bu çalışmada da kullanılan tüm şapkalı mantar türlerinin 27±0 – 148±1.25 U/mL arasında değişiklik gösteren enzim aktiviteleri sergiledikleri gözlendi. En yüksek selülaz (CMCaz) aktivitesi *B. edulis* (148±1.25 U/mL) mantarında belirlendi (Şekil 4.8). Yine oldukça yüksek selülaz aktivitesi 111±1.9 U/mL'lik değerle *P. ostreatus*'ta ölçüldü (Şekil 4.14).

Ksilanazlar etki mekanizmalarına göre endo- ve ekzo- olarak gruplandırılırken, bakteri, fungus, alg gibi ksilanca zengin ortamlarda yetişen pek çok organizma ve bazı şapkalı mantarlar tarafından da üretilen enzimlerdir [47,48,51,58]. İlk olarak yem endüstrisinde kullanılmaya başlanan ksilanazlar, günümüzde selülaz ve pektinazlarla birlikte pek çok alanda kullanılmaktadır [85,86]. En yüksek ksilanaz aktivitesi bir kültür mantarı olan olan *P. ostreatus*'ta (230±1.89 U/mL) saptandı. Yabani mantarlardan *B. edulis*'in aktivite değeri ise 167±2.65 U/mL olarak oldukça yüksek bir değerde bulundu (Şekil 4.14 ; 4.8). Diğer mantarların ksilanaz aktivite değerleri, 22±0.385 – 83.3±1.78 U/mL arasında değiştiği gözlendi.

Meyve suyu, gıda, kağıt endüstrisinin vazgeçilmezlerinden olan pektinazlar, şarap ve bira üretimi, ayrıca yem sanayinde pektik bileşenlerin hidrolizinde kullanılmaktadırlar [6,85]. Bu çalışmada araştırılan mantar türleri arasında en yüksek pektinaz aktivitesi 173±2.6 U/mL gibi yüksek bir değerde *P. ostreatus* mantarında bulundu (Şekil 4.14) Bu aktivite değerini 153.3±2.47, 112±0.25, 110±1.575 ve 93±1.57 U/mL'lik aktivite değerlerine sahip olan, sırası ile *B. edulis, A. bisporus, A. caesarea* ve *C. cibarius* mantarlarının izlediği belirlendi.

Kitinaz enzimlerinin endüstriyel uygulamaları, çalışılan diğer hidrolitik enzimlere oranla daha azdır. Özellikle tarımda istilacı ve patojen organizmaları kontrol etmede ve biyo atıkların kontrolünde kullanımı ile son yıllarda dikkat çekmiştir [89]. *Hydnum repandum, C. cornupioides* ve *A. bisporus* mantarlarının kitinaz aktivitesi göstermedikleri saptandı (Şekil 4.9; 4.10; 4.17). En yüksek kitinaz aktivitesine *B. edulis* (128±2.52 U/mL) mantarının sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.8). Diğer mantar türlerinin enzim aktivite değerlerinin ise 50±0.415 – 83±2.84 U/mL arasında olduğu gözlendi.

β-glukozidazlar en çok şarap yapımında, glukozilatlı öncüllerin modifiye edilerek, şarap aromasını arttırmada endüstride kullanılır. Ayrıca selülozik enzimlerle kombine olarak farklı alanlarda da kullanımları mevcuttur [102]. Test edilen mantarların tamamında çalışılan β-glukozidaz enziminin varlığı gözlendi. En yüksek β-glukozidaz aktivitesi *B. edulis*'te (74±0.305 U/mL) saptandı (Şekil 4.8). Onu, 64±0.305 U/mL'lik aktivite ile *A. bisporus*'un izlediği belirlendi (Şekil 4.17). En düşük aktivite değeri ise *C. cornupioides*'te 5±1.085 U/mL olarak ölçüldü (Şekil 4.10). Diğer mantar türlerinin enzim aktivite değerlerinin 11±0.15 – 50±0.47 U/mL arasında değiştiği tespit edildi.

Bu çalışmada, taze mantar örneklerinin şapka dokusu ile çalışıldı. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda taze mantar dokusu ile yapılan aktivite ölçümleri yok denecek kadar azdır. Daha çok mantar örneklerinin, substrat olarak çeşitli atık ya da hammaddelerin kullanıldığı katı substrat fermantasyonu (SSF) ile üretilmeleri ve mantar hiflerinden enzim izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu nedenle konu ile ilişkilendirilebilecek çalışma miktarı çok azdır. Ancak yine de yapılan literatür araştırmaları sonucunda, taze mantar şapkası ile yapılan amilaz enzim saflaştırılması çalışması dikkat çekicidir [67]. Araştırmacılar, *H. erinaceum* mantarının taze dokusundan amilaz enzimini saflaştırmışlar ve biyokimyasal özelliklerini rapor etmişlerdir. Tüm enzim aktivite değerlerini bağıl aktivite olarak verdiklerinden karşılaştırma yapma imkanı bulunmamaktadır.

Yenilebilir bir mantar olan *Pleurotus sajor-caju* ile yapılan bir grup çalışmada, mantarın SSF'de üretimi ve üretim koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hif ekstraktlarından çeşitli enzimlerin aktivite tayinleri yapılmıştır. Bu çalışmalara göre en yüksek endoglukanaz aktivitesi 18.9 U/g substrat [148], β-glukozidaz aktiviteleri ise 18.54 U/mg substrat ve $70x10^2$ U/mg protein [38] olarak bildirilmiştir. En yüksek selülaz aktivitesi bir çalışmada 62 U/mg protein [38] olarak verilirken, diğerinde 2.8 U/g substrat [39] olduğu ifade edilmiştir. Ksilanaz enziminin ise SSF'de optimizasyonu sonucu 10.1 U/g'lık bir aktivite gösterdiği belirtilmiştir [39].

Kültürü yapılan ve yenilebilen *P. ostreatus* mantarının, hem SSF ile hem de derin kültür fermantasyon (SmF) teknikleri ile hif üretimi yapılmış ve enzim aktiviteleri araştırılmıştır. SmF'de üretim sonucu en yüksek ksilanaz aktivitesinin 24.98 U/mL olduğu bildirilmiştir [133]. SSF tekniği ile yapılan çalışmada üremenin farklı

evrelerinde ksilanaz aktivitesinin 21 U/g substrat ve 11 U/g substrat olduğu bulunmuştur [54]. Başka bir çalışmada ise *P. ostreatus* farklı substratlar üzerinde SSF tekniği ile üretilerek elde edilen örneklerdeki, selülaz aktivitesi 14.2 U/g substrat, amilaz aktivitesi 30 U/g substrat, pektinaz aktivitesi de 350 U/g substrat olarak belirlenmiştir [128].

Bu çalışmada da kullanılan *P. eryngii* mantarı, SmF tekniği ile üretilmiş ve çeşitli karbon kaynaklarının ksilanaz aktivitesine etkileri araştırılmıştır. Maksimum ksilanaz aktivitesi, optimize edilen şartlar altında 6.83 U/mL olarak ölçülmüştür [53].

Sonuç olarak, yapılan bu çalışma doğada kendiliğinden yetişen ya da kültürü yapılan şapkalı mantar örneklerinin, taze dokularındaki endüstriyel önemi olan bazı hidrolitik enzimlerin aktiviteleri araştırılmıştır. Konu ile ilgili çok az veri olduğu için oldukça önemlidir. Çalışılan mantarların özellikle ksilanaz (230±1.89 U/mL), amilaz (156.6±0.51 U/mL), pektinaz (173±2.6 U/mL), selülaz (148±1.25 U/mL) ve kitinaz (128±2.52 U/mL) enzim aktiviteleri oldukça yüksek değerlerde bulunmuştur. Ayrıca tüm enzimlerin aktiviteleri standart sabit şartlar altında (pH 5.0, 40 °C ve 30 dk inkübasyon) ölçülmüştür. İleride yapılacak enzim optimizasyon çalışmaları ile enzim aktivite değerlerinin daha da iyileşebileceği ileri sürülebilir. Bulunan verilerin ışığı altında, çalışılan mantarlardan yüksek aktiviteler gösteren türlerin, endüstriyel amaçlı yeni enzim kaynakları olarak kullanılabilecekleri ve özelliklerinin daha da geliştirilebileceği söylenebilir. Ayrıca şapkalı mantarlar, biyolojik faydalarından dolayı daha çok antioksidan, antimikrobiyal, antitümör, anti diabet, anti kanser özellikleri gibi sağlık açısından da dikkat çekicidirler. Bu nedenlerden dolayı şapkalı mantarların kültürasyon çalışmaları önem kazanmıştır. Bu çalışma, mantarların sentezledikleri enzimlerin varlığı ve aktivitesi ile fizyolojik durumlarını ilişkilendirerek, kültüre edilmelerinde kullanılacak kompost içeriklerinin seçimine de yardımcı olabilecektir.

6. KAYNAKLAR

[1] C.M. Grisham, R.H. Garrett, ***Biochemistry***, Saunders College Publishing, 1999.

[2] A. Telefoncu, ***Enzimoloji***, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, 1997.

[3] O. Kirk, T. Borchert, C. Fuglsang, ***Industrial enzyme applications***, Current Opinion in Biotechnology, 13, 345–351, 2002.

[4] M. Leisola, J. Jokela, O. Pastinen, O. Turunen, H.E. Schoemaker, ***Industrial use of enzymes***, Eolss Publishers, 2004.

[5] Ö. Kıran, U. Çömlekçioğlu, N. Dostbil, ***Bazı mikrobiyal enzimler ve endüstrideki kullanım alanları***, KSU Journal of Science and Engineering, 9, 1, 12-19, 2006.

[6] W. Ahele, ***Enzymes in industry***, WILEY-VCH Verlag GmbH &Co. KGaA, 2004.

[7] K. Rahi, S. Rahi, A.K. Pandey, R.C. Rajak, ***Advances in funqal biotechnoloqy: Enzymes from mushrooms and their industrial applications***, I.K. International Pvt Ltd., 2009.

[8] P. Baldrian, ***Ecology of saprotrophic Basidiomycetes: Enzymes of saprotrophic Basidiomcetes***, Academic Press, 2008.

[9] İ. Erkel, ***Dünyada ve Türkiye'de kültür mantarcılığının durumu***, Türkiye 4. Yemeklik Mantar Kongresi Bildiriler Kitabı, 1, 1-8, 1992.

[10] M. Camassola, ***Mushrooms–The incredible factory for enzymes and metabolites productions***, Fermentation Technology, 2, 1,117, 2013.

[11] S.P. Wasser, A. Weis, ***Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review)***, International Journal of Medicinal Mushrooms, 1, 31-62,1999.

[12] L. Stryer , J.M. Berg, J.L. Tymoczko , ***Biochemistry-Fifth Edition***, W.H. Freeman and Company, 2002.

[13] D.L. Nelson, M.M. Cox, ***Lehninger-Biyokimyanın ilkeleri***, Palme Yayıncılık, 2005.

[14] H. Gutfreund, ***Enzymes: 100 years***, FEBS Letters, 1976.

[15] N.A. Campbell, J.B. Reece, ***Biyoloji***, Palme Yayıncılık, 2006.

[16] http://quizlet.com/9678443/metabolism-flash-cards/

[17] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, ***Hücrenin moleküler biyolojisi***, TÜBA, 2008.

[18] https://www.chem.wisc.edu.tr/

[19] http://www.vce.bioninja.com.au/aos-1-molecules-of-life/biochemical-processes/enzymes.html

[20] http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/rules.html

[21] G. Bingöl, ***Vitaminler ve enzimler***, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi, 1977.

[22] F.K. John, ***Enzyme technology***, Biotechnology, **7,** 37-62, 1987.

[23] http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi bin/enzymes/GetPage.pl?ec_number=3)

[24] http://www.cazypedia.org/index.php/Glycoside_hydrolases

[25] R. Kuhad, C. Singh, A. Eriksson, ***Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls***, Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, 57, 46-125, 1997.

[26] A. Heredia, A. Jiménez, R. Guillén, ***Composition of plant cell walls***, Z Lebensm Unters Forsch, 200, 1, 24–31, 1995.

[27] http://sci.waikato.ac.nz/farm/content/plantstructure.html

[28] L.R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. Van-Zyl, I.S. Pretorius, ***Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology***, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 66, 3, 506–577, 2002.

[29] X. Liming, S. Xueliang, ***High-yield celllase production by Trichoderma reesei ZU-02 on corn cob residue***, Bioresource Technology, 91, 259-262, 2004.

[30] J.G. Shewale, ***Beta-Glucosidase - its role in cellulase synthesis and hydrolysis of* cellulose**, International Journal Biochemistry, 14, 435–443, 1982.

[31] H.R. Harhangi, P.J. Steenbakkers, A. Akhmanova, M.S. Jetten, C. Van Der Drift, H.J. Op Den CAMP, ***A highly expressed family 1 β-glucosidase with transglycosylation capacity from the anaerobic fungus Piromyces sp. E2***, Biochimica et Biophysica Acta, 1574, 3, 293-303, 2002.

[32] V. Juturu, J.C. Wu, ***Microbial cellulases: Engineering, production and applications***, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 33, 188–203, 2014.

[33] K.M. Manning, D.A. Wood, ***Production and regulation of extracellular endocellulase by Agaricus bisporus***, Journal of General Microbiology, 129, 1839-1847, 1983.

[34] V. Elisashvili, M. Penninckx, E. Kachlishvili, N. Tsiklauri, E. Metreveli, T. Kharziani, G. Kvesitadze, ***Lentinus edodes and Pleurotus species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of diverent composition***, Bioresource Technology, 99, 457–462, 2008.

[35] M. Ghosh, R. Mukherjee, B. Nandi, ***Production of extracellular enzymes by two Pleurotus species using banana pseudostem biomass***, Acta Biotechnology, 3, 243-254, 1998.

[36] S. Rajrathnam, D.B. Wankhede, Z. Bano, ***Degradation of rice sttaw by Pleurotus flabellatus***, Journal of Chemical Technology and Biotechnolog, 37, 203-214, 1987.

[37] H. Morais, E. Forgacs, T. Cserhati, ***Enzyme production of the edible mushroom Pleorotus ostreatus in shaken cultures completed with agro-industrial wastes,*** Engineering in Life Sciences, 5, 2, 152-157, 2005.

[38] Y.H. Tan, M.N. Wahab, ***Extracellular enzyme production during anamorphic growth in the edible mushroom, Pleurotus sajor-caju,*** World Journal of Microbiology & Biotechnology, 13, 6, 613-617, 1997.

[39] S. Kumaran, C.A. Sastry, S. Vikineswary, ***Laccase, cellulase and xylanase activities during growth of Pleurotus sajor-caju on sago hampas***, World Journal of Microbiology & Biotechnology, 13, 1, 43-49, 1997.

[40] N. Xinjiang, D. Lixiao, F. Zhiyong ve ark., ***Changes in several extracellular enzyme activity of Grifola frondosa during its growth and development***, Chinese Journal of Microbiology, 21, 3, 24-25, 2001.

[41] D. Shallom, Y. Shoham, ***Microbial hemicellulases***, Current Opinion Microbiology, 6, 219-228, 2003.

[42] L.P. Christov, M. Akhtar, B.A. Prior, ***Impact of xylanase and fungal pretreatment on alkali solubility and brightness of dissolving pulp***, Holzforschung, 50, 579-582, 1996.

[43] R.G. Güven, ***Termofilik bakteriler ve biyoteknolojik açıdan önemli bazı enzimleri***, Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 9, 1, 1-10, 2011.

[44] N. Kulkarni, A. Shendye, M. Rao, ***Molecular and biotechnological aspects of xylanases***, FEMS Microbiology Reviews, 23, 4, 411-456, 1999.

[45] A. Blanco, P. Diaz, J. Zueco, P. Parascandola, F. Pastor, ***A multido-main xylanase from a Bacillus sp. with a region homologous to thermo-stabilizing domains of thermophilic enzyme***, Microbiology, 45, 2163-2170, 1999.

[46] M. P. Singh, A.K. Pandey, S.K. Vishwakarma, A.K. Srivastava, V.K. Pandey, ***Extracellular xylanase production by Pleurotus species on lignocellulosic wastes under in vivo condition using novel pretreatment***, Cellular and Molecular Biology, 58, 1, 170-173, 2012.

[47] D.C. La Grange, I.S. Pretorius, M. Claeyssens, W.H. Zyl, ***Degradation of xylan to D-Xylose by recombinant Saccharomyces cerevisiae coexpressing the Aspergillus niger β -Xylosidase (xlnD) and the Trichoderma reesei xylanase II (xyn2) genes***, Applied and Environmental Microbiology, 67, 12, 5512–5519, 2001.

[48] S. Subramaniyan, P. Prema, ***Cellulase-free xylanases from Bacillus and other microorganisms***, FEMS Microbiology Letters, 183, 1-7, 2000.

[49] T. Collins, C. Gerday, G. Feller, ***Xylanase, xylanase families and extremophilic xylanases***, FEMS Microbiology Reviews, 29, 3-23, 2005.

[50] http://www.intechopen.com/source/html/44332/media/image1_w.jpg

[51] Q.K. Beg, G.S. Hoondal, M. Kapoor, G Mahajan***, Microbial xylanases and their industrial applications: a review***, Applied Microbiology and Biotechnology, 56, 326-338, 2001.

[52] C. Qinnghe, Y. Xiaoyu, N. Tiangui, J. Cheng, M. Qiugang, ***The screening of culture condition and properties of xylanase by white-rot fungus Pleurotus ostreatus***, Process Biochemistry 39, 1561–1566, 2004.

[53] S.A. Altaf, D.M. Umar, M.S. Muhammad, ***Production of xylanase enzyme by Pleurotus eryngii and Flamulina velutipes grown on different carbon sources under submerged fermentation,*** World Applied Sciences Journal,8,47-49, 2010.

[54] A.A. Sherief, A.B. El-Tanash, A.M. Temraz, ***Lignocellulolytic enzymes and substrate utilization during growth and fruiting of Pleurotus ostreatus on some solid wastes***, Journal of Environmental Science and Technology, 3, 1, 18-34, 2010.

[55] C. Quinnghe, Y. Xiaoyu, N. Tiangui, J. Cheng, M. Quigang, ***The screening of culture conditions and properties of xylanase by white-rot fungus Pleurotus ostreatus***, Process Biochemistry, 39, 1561-1566, 2004.

[56] S. Montoya, C.E. Orrego, L. Levin, ***Growth, fruiting and lignocellulolytic enzyme production by the edible mushroom Grifola frondosa (maitake)***, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28, 1533–1541, 2012.

[57] C. Mishra, I.T. Forrester, B.D. Kelley, R.R. Burgess, G.F. Leatham, ***Characterization of a major xylanase purified from Lentinula edodes cultures grown on a commercial solid lignocellulosic substrate***. Applied Microbiology and Biotechnology, 33, 226-232, 1990.

[58] Y.J. Cai, J.A. Buswell, S.T. Chang, ***Production of cellulases and hemicellulases by the straw mushroom, Volvariella volvacea***, Mycological Research, 98, 9, 1019-1024, 1994.

[59] J. Polaina, A.P. MacCabe, ***Industrial Enzymes: Structure, function and applications***, Springer, 2007.

[60] A. Buleon, P. Colonna, V. Planchot, S. Ball, ***Strach granules: structure and biosynthesis***, International Journal of Biological Macromolecules. 23, 85-112, 1998.

[61] B. Balkan, ***Katı substrat fermentasyonu ile ham nişastayı parçalayan yeni bir fungal amilaz üretimi, saflaştırılması ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi***, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2008.

[62] P.V. Aiyer, ***Amylases and their applications***, African Journal of Biotechnology, 4, 1525-1529, 2005.

[63] W.T. Ismaya, K. Hasan, T. Subroto, S. Soemitro, D. Natalia, ***Chromatography – the most versatile method of chemical analysis: Chromatography as the major tool in the identification and the structure-function relationship study of amylolytic enzymes from Saccharomycopsis fibuligera R64***, INTECH, 2012.

[64] P.M.L. Castro, P.M. Hayter, A.M. Ison, A.T. Bull, ***Application of statistical design to the optimization of culture medium for recombinant interferon gama production by chinese hamster ovary cells***, Applied Microbiology and Biotechnology, 3, 38-90, 1992.

[65] A. Slawińska, J. Kalbarczyk, ***Evaluation of enzymatic activity of Pleurotus ostreatus regarding stages of mycelium development***, Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus, 10, 2, 195-202, 2011.

[66] A.K. Ghosh, S. Sengupta, ***Multisubstrate specifics amylase from mushroom Termitomyces clypeatus***, Journal of Biosciences, 11, 275-285, 1987.

[67] F. Du, H. X. Wang, T. B. NG, ***An amylase from fresh fruiting bodies of the monkey head mushroom Hericium erinaceum***, Applied Biochemistry and Microbiology, 49, 1, 23–27, 2013.

[68] T.C. Hur, K.H. Ka, S.H. Joo, T. Terashita, ***Characteristics of the amylase and its related enzymes produced by ectomycorrhizal fungus Tricholoma matsutake***, Mycobiology, 29, 4, 183-189, 2001.

[69] N.A. Mikiashvili, O. S. Isikhuemhen, E.I. Ohimain, ***Lignin degradation, ligninolytic enzymes activities and exopolysaccharide production by Grifola frondosa strains cultivated on oak sawdust***, Brazilian Journal of Microbiology, 42, 1101-1108, 2011.

[70] W.G. Willants, L. Mc-Cartney, W. Mackie, J.P. Knox, ***Pectin: Cell biology and structural prospects for functional analysis.*** Plant Molecular Biology, 47, 1, 9-27, 2001.

[71] http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/carbohydrate-analysis/carbohydrate-analysis-iii.html#Pectinase

[72] S.N. Gummadi, T. Panda, ***Purification and biochemical properties of microbial pectinases***, Process Biochemistry, 38, 987-996, 2003.

[73] E. Aksöz, N. Aksöz, ***Pektik enzimler (derleme)***, Biyokimya Dergisi, 10,38-51, 1985.

[74] H.U. Rehman, A. Aman, M.A. Nawaz, S.A. Qader, ***Characterization of pectin degrading polygalacturonase produced by Bacillus licheniformis KIBGE-IB21***, Food Hydrocolloids, 43, 819-824, 2015.

[75] W. Stevens, ***Chitin and chitosan: Production and application***, Journal of Metals Materials and Minerals, 15, 73-81, 2005.

[76] V. Seidl, ***Chitinases of filamentous fungi: A large group of diverse proteins with multiple physiological functions***, Fungal Biology Review***s***, 22, 36-42, 2008.

[77] J. Flach, P.E. Plet, P. Jolles, ***What's the new in chitinase research***, Experientia, 48, 701-716, 1992.

[78] S.M. Abdel-Aziz, M.E. Moharam, H.A. Hamed, F.E. Mouafi, ***Extracellular metabolites produced by a novel strain, Bacillus alvei NRC-14: 1. Some properties of chitinolytic system***, New York Science Journal, 5, 1, 53-62, 2012.

[79] K.R. Jegannathan, P.H. Nielsen, ***Environmental assessment of enzyme use in industrial production-a literature review***, Journal of Cleaner Production, 42 228-240, 2013.

[80] H. Uhlig, ***Industrial enzymes and their applications***, John Wiley & Sons, 1998.

[81] M. McCoy, ***Novozymes emerges***, Chemical Engineering News, 19, 23-25, 2000.

[82] A.L. Demain, J. Velasco, J.L. Adrio, ***Handbook of Industrial Mycology: Industrial mycology: Past, present and future***, Marcel Dekker Publishers, 2004.

[83] www.brenda-enzymes.org

[84] M.K. Bhat, ***Cellulase and related enzymes in biotechnology***. Biotechnology Advences, 18, 5, 355-383, 2000.

[85] A. Chesson, ***Recent advances in animal nutrition: Supplementary enzymes to improve the utilization of pigs and poultry diets***, Butterworth-Heinemann, 1987.

[86] M.K. Bhat, S. Bhat, ***Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications***, Biotechnology Advances, 15, 583-620, 1997.

[87] M. Polizeli, A. Rizzatti, R. Monti, H.F. Terenzi, J.A. Jorge, D.S. Amorim, ***Xylanases from fungi: Properties and industrial applications***, Applied Microbiology and Biotechnology, 67, 577–591, 2005.

[88] A.N. Oliveira, L.A. Oliveira, J.S. Andra, J.A.F. Chagas, ***Rhizobia amylase production using various starchy substances as carbon substrates***. Brazilian Journal of Microbiology, 38, 2, 208-216, 2007.

[89] R. Hamid, M.A. Khan, M. Ahmad, M.Z. Abdin, J. Musarrat, S. Javed, ***Chitinases: An update***, Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, 5, 1, 9-21, 2013.

[90] H.C.V.D. Broeck, L.H. De Graaff, J. Visser, V. Ooijen, J.J. Albert, ***Fungal cellulases***, US patents 6190890, 2001.

[91] R.A. Baker, L. Wicker, ***Current and potential applications of enzyme in fusion in the food industry***, Trends in Food Science and Technology, 7, 84, 279, 1996.

[92] N.S. Reddy, A. Nimmagada, R.S. Rac, ***An over view of the microbial alpha amylase review***. African Journal of Biotechnology, 2, 27, 645-648, 2003.

[93] P. Fantozzi, G. Petruccioli, G. Montedoro, ***Trattamenti con additivi enzimatici alle paste di oliva sottoposte ad estrazione per pressione unica***, Influenze delle cultivars, dell'epoca di raccolta e della conservazione, Riv. Ital. Sost., 54, 8, 381-388, 1977.

[94] Y.M. Galante, R. Monteverdi, S. Inama, C. Caldini, A. De Conti, V. Lavelli, F. Bonomi. ***New applications of enzymes in wine making and olive oil production***. Italian Biochemical Society Transactions, 4-34, 1993.

[95] D.R. Kashyap, P.K. Vohra, S. Chopra, R. Tewari, ***Applications of pectinases in the commercial sector: A review***, Bioresource Technology, 77, 215-227, 2001.

[96] R.C.E. Guy, S.S. Sarabjit, ***Recent advances in enzymes in grain processing: Comparison of effects of xylanases with fungal amylases in five flour types***, University of Leuven, 2003.

[97] C.M. Courtin, J.A. Delcour, ***Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making***, Journal of Cereal Science, 35, 3, 225–243, 2002.

[98] K. Poutanen, ***Enzymes: An important tool in the improvement of the quality of cereal foods***, Trends in Food and Science Technology, 8, 300-306, 1997.

[99] M.T. Nadeem, M.S. Butt, F.M. Anjum, M. Asgher, ***Improving bread quality by carboxymethylcellulase application***, International Journal of Agriculture and Biology, 11, 6, 727-730, 2009.

[100] S. Ghorai, S. Banik, D. Verma, S. Chowdhury, S. Mukherjee, S. Khowala, ***Fungal biotechnology in food and feed processing***, Food Research International, 42, 577–587, 2009.

[101] P. van Rensburg, I.S. Pretorius, ***Enzymes in winemaking: Harnessing natural catalysts for efficient biotransformations-A Review***, South African Journal for Enology and Viticulture, 21, 52-73, 2000.

[102] J. Krisch, M. Takó, T. Papp, C. Vágvölgyi, ***Characteristics and potential use of β-glucosidases from Zygomycetes***, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, 2, 891-896, 2010.

[103] A.B. Santos, F.J. Cervantesc, J.B. Lier, ***Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology***, Bioresource Technology, 98, 2369-2385, 2007.

[104] T. Godfrey, S. West, ***Industrial enzymology: Textiles***, Macmillan Press, 1996.

[105] J. Chen, Q. Wang, Z. Huaa, G. Dua, ***Research and application of biotechnology in textile industries in China***, Enzyme and Microbial Technology, 40, 1651-1655, 2007.

[106] Y. Tarakçıoğlu, ***An amylase producing maltotriose from Bacillus subtilis***, Agricultural and Biological Chemistry, 49, 4, 1091-1097, 1979.

[107] S.S Kumar, R.M. Venkateswara, D. Das, ***Studies on glucoamylase produced from Aspergillus awamori (NRRL-3112) and their effect on saccharification of potato starch***, Indian Journal of Experimental Biology, 33, 12, 957-961, 1990.

[108] J. Pere, M. Siika-Aho, L. Viikari, ***Biomechanical pulping with enzymes: Response of coarse mechanical pulp to enzymatic modification and secondary Refining***, Tappi J. 83, 1-8, 2000.

[109] K. Patrick, ***Enzyme technology improves efficiency, cost, safety of stickies removal program***, Paper Age, 120, 6, 22-25, 2004.

[110] V.W. Yang, Z. Zhuang, G. Elegir, T.W. Jeffries, ***Alkaline-actıve xylanase produced by an alkaliphilic Bacillus sp. isolated from kraft pulp***, Journal of Industrial Microbiology, 15, 434-441, 1995.

[111] R. Gupta, P. Gigras, H. Mohapatra, V.K. Goswami, B. Chauhan, ***Microbial alpha amylases: A biotechnological perspective***, Process Biochemistry, 38, 11, 1599-1616, 2003.

[112] P. Monsan, M.J.O. Donohue, ***Industrial Biotechnology: Industrial biotechnology in the food and feed sector***, WILEY-VCH Verlag GmbH and Co, 2010.

[113] G.A. Walsh, R.F. Power, D.R. Headon, ***Enzymes in animal feed industry***, Trends in Biotechnology, 11, 424–430, 1993.

[114] M. Mandels, ***Applications of cellulases***, Biochemical Society Transactions, 13, 414-416, 1985.

[115] K.K.Y. Wong, J.D. Richardson, S.D. Mansfield, ***Enzymatic treatment of mechanical pulp fibers for improving papermaking properties***, Biotechnology Progress, 16, 1025-1029, 2000.

[116] H. Bisgaard-Frantzen, A. Svendsen, B. Norman, S. Pedersen, S. Kjærulff, H. Outtrup, T.V. Borcher, ***Development of industrially important α-amylases***, Journal of Applied Glycoscience, 46, 199-206, 1999.

[117] M. Çakır, ***Canlılar bilimi***, Nobel Yayın Dağıtım, 2001.

[118] http://www.mikrobiyoloji.org/

[119] N. Sarıözlü, R. Demirel, ***Genel mikrobiyoloji***, Anadolu Üniveristesi Web-Ofset Tesisleri, 2011.

[120] A.Ü. Tamer, F. Gücin, M.H. Solak, ***Mikrobiyolojiye giriş***, Celal Bayar Üniversitesi, 2001.

[121] K. Boztok, ***Mantar üretim tekniği***, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1990.

[122] J.L. Wu, N.L. Huang, S.Z. Huang, ***Study of edible mushroom by yourself Lentinus edodes***, Nanjing University Publishers, 1987.

[123] http://www.sparknotes.com/biology/microorganisms/fungi/section1.rhtml

[124] E. Boa, ***Edible mycorrhizal mushrooms and their cultivation: How do local people make use of wild edible fungi?***, New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited, 2001.

[125] N. Yılmaz, M. Solmaz, İ. Türkekul, M. Elmastaş, ***Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey***, Food Chemistry, 99, 168-174, 2006.

[126] M. Akyüz, A.N. Onganer, P. Erecevit, S. Kırbağ, ***Antimicrobial activity of some edible mushrooms in the eastern and southeast Anatolia region of Turkey***, Gazi University Journal of Science, 23, 2, 125-130, 2010.

[127] O.O. Kuforiji, I.O. Fasidi, ***Enzyme activities of Pleurotus tuber-regium (Fries) Singer, cultivated on selected agricultural wastes***, Bioresource Technology, 99, 4275–4278, 2008.

[128] M.M. Rashad, H.M. Abdou, A.E. Mahmoud, M.U. Nooman, ***Nutritional analysis and enzyme activities of Pleurotus ostreatus cultivated on citrus limonium and carica papaya wastes,*** Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3, 4, 3352-3360, 2009.

[129] L.H. Østergaard, H.S. Olsen, ***Industrial applications of fungal enzymes, industrial applications***, The Mycota, 10, 269-290, 2011.

[130] T.T. Teeri, P. Lehtovaara, S. Kauppinen, I. Salovuori, J. Knowles, ***Homologous domains in Trichoderma reesei cellulolytic enzymes: Gene sequence and expression of cellobiohydrolase II***, Gene, 51, 43-52, 1990.

[131] P. Tomme, R.A. Warren, N.R. Gilkes, ***Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi***, Advances in Microbial Physiology, 37, 1-81, 1995.

[132] N. Mikiashvili, S. Wasser, E. Nevo, D. Chichua, V. Elisashvili, ***Lignocellulolytic enzyme activities of medicinally important Basidiomycetes from different ecological niches***, International Journal of Medicinal Mushrooms, 6, 63–71, 2004.

[133] C. Qinnghe, Y. Xiaoyu, N. Tiangui, J. Cheng, M. Qiugang, ***The screening of culture condition and properties of xylanase by white-rot fungus Pleurotus ostreatus***, Process Biochemistry, 39, 11, 1561-1566, 2004.

[134] M.J. Maciel, A.C. Silva, H.C.T. Ribeiro, ***Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review***, Electronic Journal of Biotechnology, 13, 6, 14-15, 2010.

[135] M.M. Rashad, H.M. Abdou, ***Production and evaluation of Pleurotus ostreatus mushroom cultivated on some food processing wastes***, Advances in Food Sciences, 24, 79-84, 2002.

[136] G. Palmieri, C. Bianco, G. Cennamo, P. Ciardina, G. Marino, M. Monti, G. Sannia, ***Purification, characterization and functional role of a novel extracellular protease from Pleurotus ostreatus***, Applied and Environmental Microbiology, 67, 2754-2759, 2001.

[137] L. Fan, R.C. Soccol, A. Pandey, ***Current developments in SSF mushroom production***, Springer, 2008.

[138] M.M. Rashad, H.M. Abdou, W.G.H. Shousha, M.M. Ali, N.N. El-Sayed, ***Utilization of some food processing wastes for production of Pleurotus ostreatus pectinases***, Advances in Food Sciences, 31, 151-157, 2009.

[139] J.A. Pereira Junior, M.J. Correia, N.T. Oliveira, ***Cellulase activity of a Lentinula edodes pegl. strain grown in media containing carboximethyl cellulose or microcrystalline cellulose***, Brazilian Archives of Biology and Technology, 48, 3, 333-337, 2003.

[140] http://www.mushroomexpert.com

[141] http://eol.org/pages

[142] http://www.mykoweb.com/CAF/species/Boletus_edulis.html

[143] http://www.mantarcilik.selcuk.edu.tr/makromantarlar.php?id=15&m_id=65

[144] http://www.amanitacesarea.com/pleurotus-eryngii.html#

[145] G.L. Miller, ***Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars***, Analytical Chemistry, 31,426-428, 1959.

[146] H. Elvan, N. Saglam Ertunga, M. Yildirim, A. Colak, ***Partial purification and characterization of endoglucanase from an edible mushroom, Lepista flaccida***, Food Chemistry, 123, 291–295, 2010.

[147] O.H. Lowry, N.J. Rosebough, A.L. Farr, R.J. Randall, ***Protein measurment with the folin phenol regent***, Journal of Biology and Chemistry, 193, 265-275, 1951.

[148] N.P. Pandit, S.K. Maheshwari, ***Optimization of cellulase enzyme production from sugarcane pressmud using oyster mushroom - Pleurotus sajor-caju by solid state fermentation***, Journal of Bioremediation and Biodegradation, 3,3, 1-5, 2012.

ÖZGEÇMİŞ

18 Ocak 1988 tarihinde Edirne'de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Havsa Atatürk İlköğretim Okulu'nda; Lise öğrenimimi 2002-2006 yılları arasında Kırklareli Fen Lisesi'nde tamamladım. 2011 yılında Fatih Üniversitesi Biyoloji Bölümünden bölüm birincisi olarak mezun oldum.

2012'den bu yana Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans yapmaktayım.