Bazı Mikrobiyal Enzimler ve Endüstrideki Kullanım Alanları

Özlem EREN KIRAN[1], Uğur ÇÖMLEKÇİOĞLU[1], Nursel DOSTBİL[2]
[1] Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi ,Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş
[2] Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Van

ÖZET: Hücrelerde oldukça önemli metabolik görevleri olan enzimler, biyokimyasal reaksiyonları katalize eden protein yapısında moleküllerdir ve çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere gündelik ve ekonomik hayata girmiştir. Endüstrinin hemen her alanında kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Çünkü mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olmaları, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilebilmeleri gibi avantajları vardır. Ekstremofilik mikroorganizmalar; yüksek ve düşük sıcaklıklarda, pH değerlerinde (pH 0-3 veya pH 10-12) veya çok yüksek tuz konsantrasyonlarında (%5-30) yaşamak üzere adapte olmuşlardır. Bu koşullarda yaşayan bakterilerden elde edilen enzimler ekstrem pH ve sıcaklık koşullarına dayanıklı oldukları için endüstriyel alanda yoğun olarak kullanılmaya başlanmışlardır. Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi, ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle biyoteknolojinin endüstriyel enzimler ile ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar daha da önem kazanmaktadır. Bu makalede endüstriyel alanda en çok kullanıma sahip olan proteaz, amilaz, selülaz, ksilenaz ve lipaz enzimleriyle ilgili literatür irdelenmiştir.
Anahtar Kelimeler: Enzimler, bakteriler, endüstri.

Some Microbial Enzymes and Usage Fields in Industry

ABSTRACT: Enzymes which have very important metabolic functions are structurally proteins that catalyse biochemical reactions and they become a part of daily and economical life. Enzymes that are being used in almost all areas in industry is usually obtained from microorganisms. Because, enzymes are produced by microorganisms have some advantages when compared with enzymes produced by plants or animals, ie. they have considerably higher catalytic activity, they don't form undesirable by-products, they are more stable and relatively cheap, and they can be obtained much quantity. Extremophilic microorganisms are adapted to survive in extreme temperatures, pH values (pH 0-3 or pH 10-12) and high salt concentrations (%5-30). Because of these enzymes which are produced by microorganisms that are able to survive in these conditions are resistant to extreme pH and temperature levels, they become valuable substances in industrial areas. Biotechnological investigations of industrial enzymes become more important because of the improvements in enzyme technology, variety of usable fields of products, and high economical value. In this article we reviewed relevant publications about protease, amylase, cellulose, xylanase and lipase that have mostly convenient enzymes in industrial areas.
Key Words: Enzymes, bacteria, industry.

GİRİŞ

Enzimler, hücrelerde biyokimyasal reaksiyonları katalize eden protein yapısında moleküllerdir. Hücrelerde çok önemli metabolik görevleri olan enzimler çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere günlük ve ekonomik hayata girmiştir (Wiseman, 1987).

Her enzim için aktivitelerinin maksimum olduğu pH değerleri vardır. Bu değerlerin üzerinde ve altında aktivite düşer. Bununla beraber bütün enzimlerin pH – aktivite eğrileri aynı şekilde değildir (Bhat, 2000).

Yüksek sıcaklıklarda biyoteknolojik işlemleri gerçekleştirmek pek çok fayda sağlamaktadır. Sıcaklığın arttırılması organik bileşiklerin çözünürlüğü ve biyolojik olarak kullanılabilme açısından önemli etkilere sahiptir. Sıcaklığın artması beraberinde viskositenin düşmesini ve organik bileşiklerin difüzyon katsayısının artmasını da beraberinde getirmektedir. Sonuç olarak küçük alanlarda yüksek reaksiyon hızı gerçekleştirilmektedir (Niehaus ve ark., 1999). Enzimler ile katalizlenen reaksiyon 0 – 40 ^{o}C arasında reaksiyon hızı yükselir. Fakat 40 ^{o}C de enzim zarar görmeye başlar. Böylece reaksiyon yavaşlar ve 60 ^{o}C de enzim tamamen bozulur. 40 ^{o}C bu enzim için optimum ısıdır (Bhat, 2000). Bu noktada çözüm olarak mikroorganizmalardan elde edilen enzimler büyük ilgi çekmektedir.

MİKROBİYAL ENZİMLER

Endüstrinin hemen her alanında kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Bunun nedeni mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olmaları, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilebilmeleridir (Wiseman, 1987). Bu mikroorganizmalar yalnızca enzim üretme yeteneklerine göre değil, mikroorganizmaların toksik ve patojen olmamasına göre de seçilmiştir. Bugün endüstride kullanılan birçok enzim mikrobiyal kökenli olduğu için, endüstriyel enzimlerin kullanımında, mikroorganizma kullanımı artmıştır (Demain ve Solomon, 1981).

Ekstremofilik mikroorganizmalar; volkanların yüksek sıcaklıklarında, kutupların düşük sıcaklıklarında, çok düşük ve çok yüksek pH değerlerinde (pH 0-3 veya pH 10-12) veya çok yüksek tuz konsantrasyonlarında (%5-30) yaşamak için adapte olmuşlardır (Niehaus ve ark., 1999). Bu şekilde farklı ekolojik koşullarda yaşayan mikroorganizmalar termofilik, asidofilik, alkalifilik ve halofilik bakteriler şeklinde sınıflandırılmıştır (Zeikus, 1979). Buralarda yaşayan termoasidofilik ve alkalifilik bakterilerden elde edilen enzimler ekstrem pH ve sıcaklık koşullarına dayanıklı olduğu için endüstriyel alanda yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır (Kindle, 1983). Enzimler katalizledikleri reaksiyonun tipine bağlı olarak 6 ana gruba ayrılmışlardır. Ticari öneme sahip olan enzimlerin çoğu, hidrolazlar şeklinde tanımlanmakta olup, mikrobiyal kökenlidir. Bu enzimlerin çoğu ekstrasellüler olarak bulunur ve yüksek moleküler ağırlığa sahip substratlarla görev yaparlar. Ekstrasellüler enzimler, besiyeri ve hücre duvarının dışı ile bağlantı halinde olan enzimler olarak tanımlanır (John ve Sons., 1998; Madsen ve ark., 1973). Bugüne kadar 2000'den fazla enzim tanımlanmış ve bunlardan yaklaşık 100 tanesi ticari olarak kullanıma uygun bulunmuştur. Fakat günümüzde bunlardan sadece 18 tanesi endüstriyel amaçla üretilmektedir (Zeman ve McCrea, 1985).

Ticari olarak kullanılan enzimlerin %59'unu proteazlar, %28'ini karbohidrazlar, %3'ünü lipazlar ve %10'unu ise diğer enzimler oluşturmaktadır. Karbohidrazlar grubuna giren α-amilaz üretimi %13 ile önemli bir yer tutmaktadır (Wiseman, 1987).

Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle biyoteknolojinin endüstriyel enzimler ile ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar daha da önem kazanmaktadır. Özellikle son yıllarda stratejik alan şeklinde değerlendirilen rekombinant DNA teknolojisinden yararlanılarak enzim üretimi büyük boyutlara ulaşmış ve kullanımı giderek yaygınlaşmıştır (Gessese, 1998).

PROTEAZ

Proteazlar, doğada bitkisel, hayvansal ve mikrobiyal kalıntıların dekompozisyonunda önemli rol oynamaktadırlar ve böylece besin döngüsünü sağlamakta ve ayrıca bitkilerin besinleri alabilmelerini sağlamaktadır (Aokı ve ark., 1995). Proteazlar enzimlerin oldukça kompleks bir grubunu oluşturular ve oldukça farklı fizikokimyasal ve katalitik özelliklere sahiptirler. Proteaz sentezinin hücresel kontrolünden sorumlu mekanizma henüz tam olarak bilinmemekle beraber alkali proteazların üretimi amino asit veya amonyum gibi hızlı bir şekilde metabolize edilebilen azot kaynakları ile baskılanmaktadır. Diğer ortam bileşenleri küçük şekerler ve mineraller enzim sentezini etkilemektedir. Potansiyel proteaz kullanımı ve maksimum enzim üretimi ile endüstriyel işlemlerin maliyetini düşürmek amaçlanmaktadır (Mabrouk ve ark., 1998; Kaur ve ark., 2001).

Proteazlar, toplam endüstriyel enzim ticaretinin yaklaşık % 60'ını oluşturmaktadır. Proteazlar, çamaşır deterjanları, deri, et, süt, ilaç, bira, fotoğraf, organik sentezlerde ve atıkların muamelesinde kullanılmaktadır. Proteazlar arasında bakteriyel proteazlar, hayvan ve fungal proteazlar ile karşılaştırıldığı zaman daha etkin olduğu görülmektedir (Banerjee ve ark., 1999). Bu nedenle ticari ilgiden dolayı endüstriyel olarak uygun proteazları üreten mikroplar çok çeşitli habitatlardan araştırıcılar tarafından çalışılmıştır (Mehrotra ve ark**.,** 1998). Alkali proteazlar, bakteri, küf, maya gibi çeşitli kaynaklardan elde edilse de (Singh ve ark., 2000) alkalifilik *Bacillus* biyoteknolojide en fazla kullanılan mikroorganizmadır, çünkü çok geniş çeşitli ortamlardan izolasyonu nispeten kolaydır. Bununla birlikte *Bacillus*, hem kompleks hem de sentetik mediumda gelişebilmektedir. Termofilik ve alkalifilik *Bacillus* tarafından üretilen alkalifilik proteazlar yüksek sıcaklık ve pH'ya dayanmaktadır (Johnvesly ve Naik, 2001; Aunstrup, 1981; Fogarty ve Kelly, 1979). Ayrıca *Bacillus* türleri post-eksponansiyal ve durgunluk fazlarında da ekstrasellüler proteazlar üretebilmektedir (Mabrouk ve ark., 1998).

Mikroorganizmalardan elde edilen proteolitik enzimler dünya çapında deterjan endüstrilerinde en fazla kullanım bulan enzimlerdir. 30 yıl boyunca deterjanlardaki proteazların önemi küçük katkı maddesinden, anahtar bileşenlere değişmiştir. İyi bir deterjan enzimi oksitleme ajanı ve ağartıcılarla beraber stabilitesini koruyabilmelidir. Ticari olarak kullanılan enzimlerin büyük bir kısmı ağartma/oksitleme ajanlarının varlığında stabilitesini koruyamamaktadır. Bu nedenle enzim tabanlı deterjanların daha iyi stabiliteye sahip olması için rekombinant DNA teknolojisi kullanılmaktadır. Bununla birlikte mikrobiyal çeşitliliği derinlemesine inceleyerek ticari olarak daha kullanışlı enzimler üretebilen mikroorganizmaların bulunma şansı da daima vardır (Oberoi ve ark., 2001). Klasik olarak deterjanlar yüksek yıkama sıcaklıklarında kullanılmaktadır. Şimdilerde alkalin proteazların tanımlanmasında geniş sıcaklık aralıklarında etkili olması oldukça ilgi çekmektedir. Diğer taraftan günümüzde deterjan endüstrisi, yıkama sıcaklığının düşürülmesi ve deterjan kompozisyonunun değişmesi yönünde çalışmalar yapmakta, fosfat tabanlı deterjanları uzaklaştırarak, deterjan uygulamaları için daha uygun yeni alkali proteazlar üzerinde durmaktadır (Jasvır ve ark., 1998).

Proteazların diğer ilginç bir kullanım alanı ise deniz *Crustacea* atıklarının deproteinizasyonudur. Kimyasal işlemlerin üstesinden gelmek için mikroorganizmaların veya proteolitik enzimlerin kullanılması üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Yang ve ark., 1999). Kitin ve türevleri çok yönlü biyolojik aktiviteleri ve zirai-kimyasal uygulamalarından dolayı büyük ekonomik değere sahiptir. Deniz crustaceanları ise kitin bakımından oldukça zengindir. Klasik olarak deniz atık materyallerinden kitinin hazırlanması güçlü asit ve bazları kullanarak demineralizasyonu ve

deproteinizasyonu gerektirmektedir. Bununla beraber kimyasalların kullanılması kitinin deasetilasyonunu kısmi olarak gerçekleştirmektedir. Kimyasal uygulamalar aynı zamanda atıksularda nötralizasyon ve detoksifikasyon yapılmasını gerektirmektedir. Bu nedenle kimyasal uygulamalardan doğan zararların üstesinden gelmek için alternatif olarak mikroorganizmaların kullanılması veya proteolitik enzimlerin kullanılması gündemdedir (Oh ve ark., 1999).

AMİLAZ

Karbohidrazların en önemli kaynağını *Bacillus* oluşturmaktadır. Bir karbohidraz olan α-amilaz enzimi ticari olarak kullanılan ilk enzimdir (Radley, 1976; Aira ve ark., 1983). α-amilaz enzimi, nişasta molekülündeki α-1,4 bağlarını parçalayarak glikoz, maltoz, maltotrioz ve α-limit dekstrinlerin oluşumunu sağlar. Nişasta, çok sayıda glikoz molekülünün farklı şekillerde bağlanmasıyla oluşmuş polisakkarit özellikte bir bileşiktir. Bazı bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen α-amilaz, β-amilaz, glikoamilaz ve glikoizomeraz gibi enzimler nişastayı parçalama yeteneğine sahiptirler (Lee, 1996).

Fungal α-amilazlar sıcaklığa bakteriyel α-amilazlardan daha az stabil oldugundan üzerinde çalışılan asıl enzim kaynağını daha çok bakteriyel; özellikle de *Bacillus* amilazları oluşturmaktadır (Wiseman, 1987). Bu cinsin özellikle 8 tanesinin sentezlediği α-amilaz enzimi çeşitli araştırıcılar tarafından tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Bunlar *B. subtilis* (Coleman ve Elliott, 1962; Pazur, 1965; Matsuzaki ve ark., 1974), *B. amyloliquefaciens* (Borgia ve Campell, 1978), *B. caldolytcus* (Grootegoed ve ark., 1973), *B. coagulans* (Bliesmer ve Hartman., 1973), *B. licheniformis* (Meer, 1972; Saito, 1973), *B. macerans* (Lane ve Pirt, 1973), *B. stearothermophilus* (Ogasahara ve ark., 1970) ve *B. subtilis var. amylosacchariticus* (Matsuzaki ve ark., 1974)'dur.

Termostabil α-amilazın uygulama alanı oldukça genişlemiş ve çeşitlenmiştir. Bu enzimler tekstil ve kağıt endüstrisinde, nişastanın sıvılaştırılmasında, ekmek, glikoz ve fruktoz şurupları ve tutkal üretiminde, alkol fermentasyonunda kullanılmaktadırlar (Bailey ve Ollis, 1987; Bajpai ve Bajpai., 1989; Igarashi ve ark., 1998).

Bira, damıtma, fırıncılık ve tekstil endüstrisinde kullanılan, *Bacillus* ve *Aspergillus* tarafından üretilen, ayrıca arpa ve buğday maltında da bulunabilen enzimler, amilaz ve endo β-glukanazlardır (Demain ve Solomon, 1981).

Tekstil endüstrisinde dokuma sırasında ipliklerin sağlam ve düzgün olması ve kopmaması için iplikler nişasta içeren bir çözelti ile muamele edilmektedirler. Bu işleme haşıllama adı verilir. Kumaş dokunduktan sonra, kumaştaki fazla nişastanın uzaklaştırılması gerekir. Bu işleme de haşıl alma adı verilmektedir. Haşıl alma ajanı olarak da yaygın olarak α-amilaz enzimi kullanılmaktadır (Tarakçıoğlu, 1979).

Gıda endüstrisinde, nişastanın α-amilaz enzimi ile hidrolize edilmesi sonucu açığa çıkan ürünler, yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu ürünlerden dekstrin, nişastanın glikoza kadar hidrolize olmasından önce oluşan kısa moleküllü ilk üründür. Dekstrinler çözünürlüğü yüksek ve dayanıklı bir ürün olup, yoğun şurup kıvamında bir maddedir ve bu maddeler gıdalarda viskozite arttırıcı, yani, koyulaştırıcı dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır (Keskin, 1982).

α-amilaz enzimi ekmekçilikte, ekmeğin bayatlamasını geciktirmesinden ve raf ömrünü uzatmasından (2-3 gün) dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Meyve suyu endüstrisinde de uygulama alanı bulan enzim, özellikle elma ve armut sularının berraklaştırılmasında kullanılmaktadır. Meyveler tam olgunlaşmadan toplandığında meyvede hala nişasta bulunduğu için meyve suyunda bulanıklık meydana gelmektedir. Bu sorun, ortama α- amilaz ilave edilerek giderilmektedir (Ekşi, 1988).

SELÜLAZ

Selüloz, bitki biyokütlesinin yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadır. Yaklaşık 15000 glikoz biriminin ß-1,4-glikozidik bağlar ile linear bir şekilde bağlanması ile oluşur. Selülozun suya karşı yüksek çekiciliği olmasına rağmen, suda hiç çözünmez. Selüloz glikoza, en az üç farklı enzimin sinerjistik çalışması ile hidrolize olabilir. Bu enzimler; endoglukanaz, ekzoglukanaz ve ß-glukosidaz'dır (Niehaus ve ark., 1999).

Selülozu hidrolize eden enzimler geniş çapta mantar ve bakterilerden elde edilmektedir. Böyle enzimler çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır. Ticari olarak en çok kullanılan selülaz *Trichderma sp*. (Teeri ve ark, 1998) tarafından üretilmektedir. Ayrıca selülazlar *Aspergillus*, *Penicilliun, Basidiomycetes* ve *Bacillus* suşlarından elde edilmektedir (Tomme ve ark., 1995; Ito, 1997). Selülolitik enzimler, sıvı kazancını arttırmak ve iyi bir renk elde etmek için alkol üretiminde kullanılmaktadır. Deterjanlarda selülazın varlığı renklerin canlanmasına, yumuşamasına ve partikül halindeki toprağın uzaklaşmasına neden olmaktadır. Ayrıca selülaz kot pantolonların biyolojik olarak taşlanmasında kullanılmaktadır (Niehaus ve ark., 1999).

Selülazın diğer kullanım alanları, selülozik biyokütlenin ve yemlerin besin değerini ve sindirilebilirliliğini artırmak, zirai ve endüstriyel atıkların enzimatik sakkarifikasyonudur (Niehaus ve ark., 1999).

Selülozik materyallerin enzimatik hidrolizi üzerine gerçekleştirilen biyoteknolojik işlemler günümüzde oldukça artmıştır. Yenilenemeyen kaynakların giderek azalması; selülozu gıda, enerji, yakıt ve diğer ürünler için temel ham materyal haline getirmiştir. Selüloz, bitkiler tarafından büyük miktarlarda üretilen çok önemli bir ham materyaldir ve öncelikle lignin ile ilişki kurarak lignoselülozu meydana getirirler. Lignoselülozdan, lignin bariyerini ayırmak için ön muamele gerçekleştirmek gerekmektedir. Böylelikle

enzime karşı hassasiyeti arttırılmış olmaktadır (Krishna ve ark, 2000).

Selülozun enzimatik hidrolizi için genellikle yapılan çalışmalar selülaz salgılayan mikroorganizmaların ortama doğrudan ilave edilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir ancak elde edilen verimin düşük olduğu görülmüştür. Bununla beraber, selülazı selüloz ile doğrudan muamele etmek daha iyi bir çözümdür. Bu işlem öncelikle selülazın üretilmesi, kısmen saflaştırılması ve hidroliz çalışmaları için kullanılması şeklinde gerçekleştirilebilir. Pek çok mikroorganizmanın selülaz ürettiği bulunmuştur (Krishna ve ark, 2000).

Enzimatik hidroliz, enerjinin idareli kullanılması ve toksik maddelerin veya aşındırıcı asitlerin kullanılmasına ihtiyaç bırakmamasından dolayı oldukça avantajlıdır. Bu nedenle selülozun, selülaz ile hidrolizi geniş ölçüde araştırılan bir konudur. Ön muamelenin ve selülaz üretiminin pahalı olması gibi ekonomik problemler ve hidroliz sırasında enzimin inaktif olması gibi nedenler selülozun, glukoza enzimatik olarak hidrolizi önünde engel teşkil etmektedir. Bu yüzden araştırmalar selülaz aktivitesini arttırmak üzerine gerçekleştirilmektedir. Selülazın, selülozun yüzeyine yapıştığı ve substrat boyunca hareket ederek bir takım katalitik reaksiyonları gerçekleştirdiği önerilmiştir. Enzim, substrat'tan ayrılarak ve substrat'ın başka bir bölgesinde yapışarak katalitik aktivitesini göstermektedir (Wald ve ark, 1984; Klysov, 1990; Converse ve ark., 1990; Lee ve ark; 1994). Selülazın substrat üzerine kısmi olarak geri dönüşümsüz yapışması selülaz deaktivasyonunun nedeni olduğu düşünülmektedir (Beldman ve ark, 1987). Selülazın, selüloz yüzey özelliğini değiştirmesini sağlayan modifiye etme kapasitesi üzerinde yapılan araştırmalar geri dönüşümsüz bağlanmayı minimuma indirmek için yürütülmektedir (Park ve ark, 2002).

Trichoderma reesei gibi selülolitik mikroorganizmalar kristal selülozu parçalayan ve sinerjistik olarak aksiyon gösteren enzim serisi üretebilir (Saloheimo ve ark., 1994). Çoğu durumlarda prokaryotik β-1,4-glukanazlar, selülozun sadece çözünebilir formlarına (Karboksimetilselüloz ve hidroksimetilselüloz) ait glikosidik bağların hidrolizini katalizlemektedir. Hücre dışı mikrobiyel β-glukanaz, bira endüstrisinde (Enari ve Markkanen, 1975), zirai atıkların biyokonversiyonunda (Ryu ve Mandels, 1980) ve fungal bitki patojenlerinin biyolojik olarak kontrolünde (Mauch ve ark. 1988; Grenier ve ark., 1993) uygulama alanına sahiptir (Reyes ve ark., 1997).

Alkalin selülaz, pamuklulardan toprağın uzaklaştırılmasında etkilidir ve pamuk liflerini parçalamaz. *Clostridium*, *Cellulomonas* ve *Ruminococcus* gibi bakterilerin selülolitik enzim üretme yetenekleri çalışılmıştır. *Bacillus* cinsine ait üyelerinde çeşitli ekstrasellüler enzimleri endüstriyel öneme sahiptir (Mawadza ve ark., 2000; Ito, 1997).

Günümüze kadar bildirilen *Bacillus*'a ait alkali selülazların çoğu tam olarak termostabil değildir (Horikoshi ve ark**,** 1984; Fukumori ve ark., 1985; Okoshi ve ark., 1990) ve bu nedenle yüksek sıcaklık gerektiren çamaşır endüstrisi için uygun ve ekonomik değildir (Hakamada ve ark., 1997).

KSİLENAZ

Bitki hücre duvarları mikroorganizmaların canlı bitki dokusuna geçişini engellemek için bir bariyer meydana getirmektedir (Gamerith ve ark., 1992). Doğal olarak bulunan lignoselülozik bitki biyokütlesinin içeriğinin % 20-30'unu heterojen polisakkaritler olan ve selülozla ilişkili bir şekilde bulunan hemiselülozik materyaller oluşturur. Biyokütle, dünyanın yakıt ihtiyacını karşılayan ve yeterince kısa bir döngüye sahip olan alternatif doğal kaynaklardır. Ksilan, yüksek bitkilerin hücre duvarının hemiselülozik kısmının temel bileşenidir ve yüksek potansiyelde kullanışlı son ürünlere parçalanabilen ikinci en bol kaynaktır (Yang ve ark., 1995; Salles ve ark., 2000). Pek çok bakteri ve mantar ksilanı sindirmek için ksilenaza ihtiyaç duyar. Bu nedenle patojenler ve saprofitler hücre duvarı parçalayan enzimler üretmektedirler (Gamerith ve ark., 1992; Salles ve ark., 2000).

Çevresel düzenlemeler kağıt ve kağıt hamuru endüstrisinde ağartma işleminde klor kullanımını sınırlamıştır (Yang ve ark., 1995). Günümüzde çevreyi endüstriyel atıklardan korumak için kağıt ve kağıt hamuru endüstrisinde mikrobiyal enzim sistemlerinin uygulanması önem kazanmıştır (Lin ve ark., 1999). Bu nedenle çevre kirliliğini indirgeme yaklaşımlarından biri, kağıt hamurunun ksilenaz kullanılarak ön işlemlerden geçirilmesidir. Bu yaklaşım, ağartma kimyasallarının özellikle de klor bileşiklerinin önemli derecede indirgenmesine ve kirliliğin azaltılmasına izin vermektedir (Christov ve ark., 1996). Kağıt hamurunun ksilenaz kullanılarak ağartılması işlemi oldukça gelecek vaat etmektedir. Viikari ve ark. ilk defa 1986'da kağıt hamurunu ağartmak için endoksilenazların kullanımının kimyasalları indirgediğini bildirmiştir. Pek çok araştırma ise bu gözlemi doğrulamış, genişletmiş ve bu teknolojiyi ticari bir duruma getirmiştir (Gessesse, 1999).

Özellikle Batı Avrupa ülkeleri ve Kuzey Amerika'da ksilenazlar, ağaç kabuklarının çıkartılmasında, geri dönüştürülmüş liflerin boyasının çıkarılmasında ve kağıt hamurunun çözülmesinin hazırlığı için selülozun saflaştırılmasında önemli derecede kullanılmaktadır (Yang ve ark., 1995). Kağıt hamuru ağartma da kullanılan biyolojik metodlarda, ksilenaz, ksilanın %20'sini seçici olarak uzaklaştırmakta ve klor içeren ağartma kimyasallarını %25 azaltmaktadır (Chen ve ark., 1996).

Pek çok bakteri ve mantarın ksilenaz üretimi için çalışılmış olmasına rağmen bunlardan sadece birkaçı alkalifiliktir. İlk ksilenaz ile ağartma çalışmaları mantar ve mayaların bilinen enzimlerinin kullanımına odaklanmıştır. Ancak bunların aktivite gösterdikleri optimum pH asidiktir. Ağartma işlemi ise güçlü alkali koşullar altında gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle

alkali koşullar altında enzimatik ağartma işleminde fonksiyon gösterebilmesi, enzim için oldukça önemli bir karakteristiktir (Puchart ve ark. 1999). Termostabil alkali ksilenazların kullanımı enzimle kağıt hamuru ağartma için pH ve sıcaklık ayarlamalarını oldukça indirgeyerek önemli derecede teknik ve ekonomik avantaj sağlamıştır .

Ksilenazlar gıda endüstrisinde de geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ksilenazların ekmek ve hamur kalitesinde pozitif etkileri olduğu bilinmektedir. Buğday unundaki ksilenaz için substrat olan arabinoxylan (AX) son on yıldır yoğun çalışmalara konu olmuştur. Bu çalışmaların sonuçlarına dayanarak suda çözünmeyen AX'ın çözünmesi hamur yapımı ve pişirmede eklenmesiyle su emilimini değiştirir ve kontrol eder ve kabarmayı arttırır (Jeffrıes ve ark., 1998). Ksilenazın ekmek kalitesini arttırmadaki ekinliği ekmek hacimindeki artış ile görülmektedir. Bu işlem ksilenazla birlikte amilazında kullanımı ile daha da arttırılmaktadır. Ayrıca ksilenaz, şıra ve meyve suyunun arıtılması, meyve ve sebzelerin suyunun elde edilmesi için kullanılmaktadır (Wong ve ark., 2000).

Ksilenazın diğer önemli bir kullanım alanı ise yem endüstrisidir. Ağırlık kazancında ve çavdarla beslenmiş ızgaralık piliç için yem dönüştürme verimindeki daralma intestinal viskosite ile ilişkilidir. Piliçlerin çavdar tabanlı diyetlerine ksilenazın katılması intestinal viskositenin indirgenmesine böylece hem piliçlerin ağırlık kazancında hem de yemlerin dönüştürülmesindeki etkinliği arttırmaktadır (Wong ve ark., 2000).

Ksilan, zirai ve gıda endüstrilerinin atıklarında yüksek miktarlarda bulunurlar. Bu nedenle, ksilenaz atık sudaki ksilan'ı ksiloz'a dönüştürülmesi için kullanılır. Enzimatik hidrolizin etkili işlemlerinin geliştirilmesi hemiselülozik atıkların muamelesinde yeni umutlar ortaya çıkarmıştır (Wong ve ark., 2000).

LİPAZ

Lipazlar, yağlar ve yağ asidi esterlerini hidroliz ederler. Enzim, emülsiyonun yağ-su geçiş fazında katalizi gerçekleştirir ve enzim reaksiyonunun hızı, oluşan yüzey alanına bağımlıdır. Lipazlar yağ asitlerinin zincir uzunluğu, doyma derecesi, yağ asidinin pozisyonu ve substrat'ın fiziksel durumuna uygun spesifiklik gösterirler. 4-10 C atomlu yağ asitleri daha uzun C zincirli yağ asitlerinden daha hızlı bir şekilde hidroliz olarak yağın yapısından ayrılır ve serbest hale geçerler (Abbas ve ark., 2002).

Lipolitik enzimlerin aktivitesi süt endüstrisinde önemlidir. Yüksek lipolizis çeşitli peynirlerin üretiminde zorunlu olmaktadır. Peynir yapımında kullanılan renninin kütlesinde, proteolitik enzimler gibi lipazlarda mevcuttur.

Lipazlar tereyağına aroma kazandırmada, çikolata endüstrisinde, kremalarda, karamellerde kullanım alanına sahiptir. Margarinler, şorteningler, fırın ürünleri ve bitkisel ürünler gibi ürünlerde lipazla modifiye edilmiş tereyağı ürünleri aroma geliştirici olarak kullanılmaktadır.

Lipazlar bakteri, maya ve küfleri içeren mikrobiyal flora tarafından bol miktarda üretilmektedir. Lipazlar gıda endüstrisinde, biyomedikal uygulamalarda, biyosensörler ve pestisitlerin yapımında, deterjan ve deri sanayiinde, çevre yönetiminde, kozmetik ve parfüm sanayiinde uygulama alanları bulmaktadır. Endüstriyel olarak en yaygın kullanılan lipaz üreticisi mikroorganizmalar; *Candida sp., Pseudomonas sp., Rhizopus sp.*'dir. Son yıllarda biyoteknoloji alanında lipazların kullanımında hızlı bir artış gözlenmektedir. Bu nedenle lipazların aşırı üretimini sağlamak amacıyla yönlü mutasyonlar yardımıyla suş geliştirme çalışmalarına ağırlık verilmiştir.

Kıyafetlerimizi kirleten maddelerin başında proteinler, yağlar ve nişasta gelir. Bu lekeleri yüksek sıcaklıkta kimyasal deterjanlar yoluyla gidermek mümkünse de, enzimlerin kullanılması düşük sıcaklıkta ve daha az mekanik enerji ile istenen temizliği sağlar. Ayrıca çimen, kan, süt ve ter lekelerini çıkarmakta biyolojik olmayan deterjanlara göre çok daha etkilidir.

Deterjanlarda kullanılan enzimlerden proteazlar yumurta, kan gibi lekelerdeki proteinleri parçalar; lipaz yağ lekelerini, amilaz ise nişasta bazlı lekeleri çıkartmakta etkilidir. Çamaşırların yıpranmasıyla oluşan selülöz fibriller ise, selülaz enzimi ile parçalanarak çamaşırların daha yumuşak olması ve renklerini koruması sağlanır (Hiol ve ark., 2000).

Lipaz enzimi de dericilikte kullanılan enzimlerden biridir. Bu enzim, yanlızca derinin yüzeyindeki değil, içindeki yağları da temizleyerek, deriyi tabaklama ve boyama gibi işlemler için daha uygun hale getirir. Deriler işlenirken bu amaçla bazı proteinler parçalanıp, deriden uzaklaştırılıyor. Deriye ne derecede esneklik kazandırılacağı ise, derinin kullanılacağı alana bağlıdır.

Lipaz enzimi, unda bulunan %1-2 civarındaki lipid (yağ) içeriğine etki etmektedir. Bu enzim içinde kullanım miktarı ve tipi oldukça önemlidir. Örneğin, yüksek miktarlarda kullanımda hamur özellikleri açısından sorunlar yaşanmasına neden olmaktadır. Öte yandan uygun lipaz tipinin seçilmesi de önemlidir. Türk ekmek üretim biçimine uygun olmayan lipaz tipinin ekmek özelliklerine olumlu bir katkısı bulunmamaktadır. Unlara uygun lipaz tipinin ilavesi; Hamurun işlenebilirliğinde kolaylık, hamur stabilitesinde artış, ekmek içi yumuşaklık, ekmek hacminde artış sağlar .

SONUÇ

Biyoteknoloji, çok çeşitli alanlarda gelişme gösteren ve günümüzde moleküler biyolojik yöntemlerinde yaygın şekilde kullanımıyla birlikte, giderek moleküler biyoteknoloji şeklinde transformasyon geçiren, çok yeni ve geleceğe damgasını vuracak bir alandır. Ticari alanda kullanılan ürünlerin üretilmesi ile ilgili çalışmaların giderek hız kazanması sonucu, önemi her geçen gün daha da artmaktadır. Dünyada, 1980-1983 yılları arasında sadece 300 küçük biyoteknoloji şirketi çalışma

yaparken, bu sayı 1985 yılında sadece Amerika Birleşik Devletlerinde (A.B.D) 400 düzeyine ulaşmıştır. Günümüzde A.B.D de 900, bütün dünyada ise yaklaşık 1200 biyoteknoloji şirketi çalışmalarını çeşitli alanlarda sürdürmektedirler. Örneğin sadece farmasötik alanında 2000'li yıllarda kullanılacak biyoteknolojik ürünlerin toplam değerinin yaklaşık 60 milyar dolar/yıl düzeyinde olacağı düşünülmektedir. Biyoteknoloji kaynaklı çalışmalar A.B.D. de odaklanmış olmakla birlikte, günümüzde Japonya ve Kanada, biyoteknolojiyi (özellikle moleküler biyoteknolojiyi) stratejik alan katagorisinde değerlendirerek, özel şirketlerin yanısıra, hükümetler düzeyinde destekleme ve geliştirme kararı almışlardır.

Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi, ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle, biyoteknolojinin endüstriyel enzimlerle ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar, daha da önem kazanmaktadır. Özellikle birkaç ülke dışında diğer ülkelerin bu konuda tamamen dışa bağımlı olmaları dikkate alındığında, bu konu daha da önemli duruma gelmektedir.

Sonuç olarak; pek çok çeşitteki enzim, gerek gıda sanayinde gerekse temizlik sanayinde geniş kullanım alanına sahiptir. Teknolojideki gelişmelere bağlı olarak kullanım alanları yaygınlaşmakta daha da önem arz eder hale gelmektedir. Bu enzimlerin elde edilmesinde ise mikroorganizmaların önemi her geçen gün daha artmaktadır.

KAYNAKLAR

Abbas, H., Hiol, A., Deyris, V., Comeau, L., 2002. Isolation and Characterization of an Extracellular Lipase From Mucor sp Strain Isolated From Palm Fruit. Enzyme and Microbial Techonology, 31, 968-975.

Aira, S., K., Kilal, ve A., Imanaka, 1983. Cloning and Expression of Thermostable α- Amylase Gene from *Bacillus stearothermophilus* in *Bacillus stearothermophilus* and *Bacillus subtilis*. Applied and Environmental Microbiology, 1059-1065.

Aoki, K., Miyamoto, K., Murakami, S., and Shinke, R., 1995. Anaerobıc Synthesıs of Exracellular Proteases by The Soıl Bacterıum *Bacıllus* sp. AM-23: Putrıfıcatıon And Characterızatıon of The Enzymes. Soıl Biol. Biochem. Vol. 27. No. 11. pp. 1377-1382.

Aunstrup, K., 1981. Industrial Aspects of Biochemistry (B. Spencer editör), pp. 23-29. FEBS, Dublin.

Bailey, J.E. ve Ollis, D.F., 1987. Biochemical Engineering Fundamentals: International Student Edition, Chapter 1-7, p. 39-50.

Bajpai, P., ve Bajpai, K.P., 1987. High- Temperature Alkaline α-Amylase from *Bacillus licheniformis* TCRDC-B13. Biotechnılogy and Bioengineeria. Vol. 33, 72-78.

Banerjee, U.C., Sani, R.K., Azmi, W., Soni, R., 1999. Thermostable Alkaline Protease from Bacillus brevis and its Characterization as a Laundry detergent Additive. Process Biochemistry 35 , 213-219.

Beldman, G., Voragen, G., Rombouts, F.M., Searle-Van Leeuwen, M.F., Pilnik, W., 1987. Adsorption And Kinetic Behavior of Purified Endoglucanases And Exoglucanases From Trichoderma viride. Biotechnol. Bioeng. 30, 251-257.

Bhat, M.K., 2000. Cellulases and Related Enzymes in Biotechnology. Biotechnology Advances 18, 355-383.

Bliesmer, B.O. and Hartman, P.A., 1973. Differential Heat Stabilies of *Bacillus subtilis* Amylases. J. Bacteriol., 113, 526-528.

Borgia, P.T. and Campbell. L.L., 1978. α-Amylases from Five Strains of *Bacillus amyloliquefaciens* : Evidence for Identical Primary Structures. J. Bacteriol. 134(2) 389-393.

Chen, X., Whıtmıre, D., and Bowem, J.P., 1996. Xylanase Homology Modeling Using The İnverse Protein Folding Approach. Protein Science , 5, 705-708.

Christov, L.P., Akhtar, M., and Prior, B.A., 1996. Impact of Xylanase And Fungal Pretreatment on Alkali Solubility And Brightness of Dissolving Pulp. Biobleaching of Sulphite Pulp 50 , 579-582.

Coleman, G., and Elliott, W.H., 1962. Studies on α-Amylase formation by *Bacillus subtilis*. Biochem. J. 83, 256-263.

Converse, A., Ooshima, H., Burns, D., 1990. Kinetics of Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Materials Based on Surface Area of Cellulose Accessible to Enzyme Adsorptıon on Lignin And Cellulose. Appl. Biochem. Biotechnol. 24/25, 67-73.

Demain, A.L., and Solomon, N.A., 1981. In Industrial Microbiology and the Advent of Genetic Engineering, pp. 3-14. Scientific American, Freeman &Comp., San Francisco.

Ekşi, A., 1988. Meyve Suyu Durultma Tekniği. Gıda Teknolojisi Derneği, yayın No : 9, 127p, Ankara.

Enari, T.M., Markkanen, P.H., 1975. Microbial ß-Glucanases in brewing. Proc. Am Soc Brewing Chem 33: 13-17.

Fogarty, W.M., and Kelly, C.T., 1979. Top. Enzymol. 3,45.

Fukumori, F., Kudo, T., Horikoshi,K., 1985. Purification And Properties of a Cellulase From Alkalophilic *Bacillus* sp. No. 1139 J. Gen. Microbiol. 131, 3339-3345.

Gamerith, G., Groicher, R., Zeilinger, S., Herzog, P., Kubicek, C.P., 1992. Cellulase-Poor Xylanases Produced by Trichoderma reesei RUTC-30 on Hemicellulase Substrates. Appl Microbiol Biotechnol. 38: 315-322.

Gessesse, A., 1998. Purification and Properties of Two Thermostable Alkaline Xylanases From an Alkaliphilic *Bacillus* sp. Applıed and Envıromental Microbiology . p. 3533-3535.

Gessesse, A., 1999. Purifacation and characterization of two raw –srarch-digesting thermostable α-amylase from a thermophilic *Bacillus*. Enzyme microb Technol, 25: 433-438.

Grenier, J., Potvin, C., Asselin, A., 1993. Barley Pathogenesis-Related Proteins With Fungal Cell Wall lytic Activity İnhibit The Growth of Yeast. Plant Physiol 103: 1277-1283.

Grootegoed, J.E., Lauvers, A.M. and Heinen, W., 1973. Separation and Partial Purification of Extracellular Amylase and Protease from *Bacillus caldolyticus*. Arch. Microbiol. 90, 223-232.

Hakamada, Y., Koike, K., Yoshimatsu, T., Mori, H., Kobayashi, T., Ito, S., 1997. Thermostable Alkaline Cellulase From an Alkaliphilic İsolate Bacillus sp. KSM-S237. Extremophiles. 1:151-156.

Hiol, A., Jonzo, M. D., Rugani, N., Druet, D., Sadra, L., Comeau, L.C., 2000. Purification and Characterization of an Extracellular Lipase from Thermophilic *Rhizopus oryzae* strain isolated from Palm Fruit. Enzyme and Microbial Technology. 26, 421-430.

Krishna, Hari., S., Sekhar , K.C., Suresh Babu, J., Srirami Reddy, D., 2000. Studies on The Production and Application of Cellulase From Trichoderma *reesi* QM-9414. Bioprocess Engineering 22 : 467-470.

Horikoshi, K., Nakao, M., Kurono, Y., Sashihara, N., 1984. Cellulase of an Alkalophilic Bacillus Strain İsolated From Soil. Can. J. microbiol. 30, 774-779.

Igarashi, K., Hatada, Y., Hagihara, H., Saeki, K., Takaiwa, S., Kobayashi, T., and Ito, S., 1998. Enzymatic Properties of a Novel Liquefying α-Amylase from an Alkaliphilic *Bacillus* Isolate and Entire Nucleotide and Amino Acid Sequences. Applied and Environmental Microbiology., 3282-3289.

Ito, S., 1997. Alkaline Cellulases From Alkaliphilic Bacillus: Enzymatic Properties, Genetics, And Application to Detergents. Extremophiles 1, 61-66.

Jasvir, S., Navdeep, G., Gina, D., and Debendra, K., 1998. Studies on Alkaline Protease by *Bacillus sp.* NG312. All rights of any nature whatsoever reserved. 0273-2289 /99/76/0057

Jeffries, T.W., Yang, V.W., and Davis, M.W., 1998. Comparatıve Study of Xylanase Kinetics Using Dinitrosalicylic, Arsenomolybdate, and lon Chromatographic Assays. All rights of any Nature Whatsoever Reserved 0273-2289/98/70-72.

Johnvesly, B., Naik, G.R., 2001. Studies On Production Of Thermostable Alkaline Protease From Thermophilic *Bacillus* sp. JB-99 in a Chemically defined medium. Process Biochemistry 37 : 139-144.

John, W., and Sons, I., 1998. Industrial Enzymes and Their Applications. United States of Amerika. 454p.

Kaur, S., Vohra, R.M., Kapoor, M., Beg, Q.K., and Hoondal, G.S., 2001. Enhanced Productıon and Characterization of a Highly Thermostable Alkaline Protease From *Bacillus* sp. P-2. World Journal of Microbiology & Biotechnology 17: 125 129.

Keskin, H., 1982. Besin Kimyası. Fatih Yayınevi, Cilt II. İstanbul, s: 558.

Kindle, K.L., 1983.Characterization and Production of thermostable α-Amylase.Appl. Biochem. Biotechnol. 8,153.

Klysov, A., 1990. Trends in Biochemistry And Enzmology of Cellulose Degradation. Biochemistry 29, 10577-10585.

Lane, A.G. and PIRT, S.J., 1973. Production of Cyclodextrin Glycoyltransferase by Batch and Chemostat Cultures of *Bacillus macerans* in Chemically Defined Mediom. J. Appl. Chem. Biotech. 23, 309-321.

Lee, B.H., 1996. Fundementals of Biotechnology, VCH Publishers, USA, 431p.

Lee, S., Morikava, M., Takagi, M., and Imanaka, T. 1994. Cloning aapt Gene and Characterization its Pruduct, α-Amylase, Pullulunase (aapt), From thermophilic and Alkalphilic *Bacillus sp.* Strain XAL601. Appl. Environ. Microbiol. 60: 3761-3773.

Lin, J., Ndlovu, L.M., Singh, S., and Pillay, B., 1999. Purıfication and Biochemical characteristics of B-D-Xylanase From a Thermophilic Fungus, *Thermomyces lanuginosus*-SSBP. Biotechnol. Appl. Biochem. 30, 73-79.

Mabrouk. S.S., Hashem. A.M., EL-Shayeb, A., Ismail, M.S., Abdel-Fattah, A.F., 1998. Optimization of Alkaline Protease Productivity by *Bacillus licheniformis* ATCC 21415. Bioresource Technology 69 : 155-159.

Madsen, G.B., Norman, B.E., and Slott, S., 1973. A New Heat-Stable Bacterial Amylase and its Use İn High-Temperature Liquefaction .Starke 25, 304.

Matsuzaki, H., Yamane, K., Yamaguchi, K., Nagata, K., and Marou, B., 1974. Hybrid α-Amylases Produced by Transformants of *Bacillus subtilis.* I Purification and Characterization of Extracellular α-Amylases Produced by the Parental Strains and Transformants : Biochim. Biophy. Acta., 365, 235-247.

Mauch, F., Mauch-Mani, B., Boller, T., 1988. Antifungal Hydrolases in pea Tissue.2.Inhıbıtion of Fungak Growth by Combination of Chitinase And ß-1,3-Glucanase. Plant Physiol 88: 936-942.

Mawadza, C., Hatti-Kaul, R., Zvauya, R., Mattiasson, B., 2000. Purification and Characterization of cellulases produced by two *Bacillus* strains. Journal of Biotechnology 83 :177-187.

Meer, J.L., 1972. The Regulation Of α-Amylase Production in *Bacillus licheniformis.* Antonievon Leuvenhoek : J. Microb. Serol., 38, 570-585.

Mehrotra, S., Pandey, P.K., Gaur, R., Darmwal, N.S., 1999. The Production of Alkaline Protease by a *Bacillus* Species isolate. Bioresource Technology. 67: 201-203.

Niehaus, F., Bertoldo, C., Kahler, M., Antranikian, G., 1999. Extremophiles As a Source of Novel Enzymes For Indusrtial Application. Appl Microbiol Biotechnol. 51: 711-729.

Oberoi, R., Beg, Q.K., Puri, S., Gupta and Gupta S.R., 2001. Characterization and Wash Performance Analysis of an SDS-Stable Alkaline Protease From a *Bacillus* sp. World Journal of Microbiology &Biotechnology 17: 493-497.

Ogasahara, K.Imanishi, A., and Isemura, T., 1970. Studies on Thermophilic α- Amylase from *Bacillus stearothermophilus.* I some General and Physiochemical

Oh, Y., Shih, I., Tzeng, Y., Wang, S., 1999. Protease Produced by Pseudomonas aeruginosa K-187 and ist Application in The Deproteinization of shrimp and Crab Shell Wastes. Enzyme and Microbial Technology. 27 : 3-10.

Okoshi, H., Katsuka, O., Shikata, S., Oshino, K., Kawai, S., Ito,S., 1990. Purification And Characterisation of Multiple Carboxymethylcellulases From *Bacillus sp.* KSM-522. Agric. Biol. Chem. 54, 83-89.

Park, J., Park, K., Song, H., Shin, H., 2001. Saccharification and Adsorption Characteristic of Modified Cellulases With Hydrophilic/Hydrophobic Copolymers. Journal of Biotechnology. 93: 203-208.

Pazur, H.H., 1965. Starch Chemistry and Technology, p: 133 Academic Press, New York.

Puchart, V., Katapodis, P., Biely, P., Kremnicky, L., Christakopoulos, P., Vrsanska, M., Kekos, D., Macris, B. J., and Bhat, M.K., 1998. Production of Xylanases, mannanases, and pectinases by The Thermophilic Fungus *Thermomyces lanuginosus.* Enzyme And Microbial Technology 24: 355-361.

Radley, J.A., 1976. Production of Microbial Amylolytic Enzymes : Starch Production Technology (L.A. Underkofler Editör). Chapter 16., Applied Science Publisher Ld., England, p : 295-309.

Ryu, D.D.Y., Mandels, M., 1980. Cellulases: Biosynthesis And Applications. Enzyme Microb Technol 2: 91-102.

Saito, N., 1973. A Thermophilic Extracellular α-Amylase from *Bacillus licheniformis.* Arc. Biochem. Biophy. 155, 290-298.

Salles, B.C., Cunha, R.B., Fontes, W., Sousa, M.V., Filho, E.X.F., 2000. Purification and Characterization of a New Xylanase From *Acrophialophora nainiana.* Journal of Biotechnology . 81 : 199-204

Saloheimo, A., Henrissat, B., Hoffren, A-M., Teleman, O., Penttila, A., 1994. A novel Small Endoglucanase Gene, egl5, From Trichoderma reesei İsolated by Expression in Yeast. Mol Microbiol 13: 219-228.

Singh, J., Batra, N., Sobti, R.C., 2000. Serine Alkaline Protease From a Newly Isolated *Bacillus* sp. SSR1. Process Biochemistry . 36 : 781-785.

Tarakçioğlu, Y., 1979. An Amylase Producing Maltotiose from *Bacillus subtilis*. Agric. Biol. Chem. 49 (4), 1901-1907.

Teeri, T.T., Lehtovaara, P., Kauppinen, S., Salovuori, I., Knowles, J., 1990. Homologous Domains in Trichoderma reesei Cellulolytic Enzymes: Gene Sequence and Expression of Cellobiohydrolase II. Genes. 51: 43-52.

Tomme, P., Warren, R.A., Gilkes, N.R., 1995. Cellulose Hydrolysis by Bacteria And Fungi. Adv Microb Physio. l 37: 1-81.

Yang, J., Shih, I., Tzeng, Y., Wang, S., 1999. Production And Purificatıon of Protease From a *Bacillus subtilis* That Can Deproteinize Crustacean Wastes. Enzyme And Microbial Technology. 26 : 406-413.

Yang, VW., Zhuang, Z., Elegir, G., and Jeffries, TW., 1995. Alkaline-Actıve Xylanase Produced by an Alkaliphilic *Bacillus* sp. İsolated From Kraft Pulp. Journal of Industrial Micrabiology. 15, 434-441.

Wald, S., Wilke, C., Blanch, H.W., 1984. Kinetics of Enzymatic Hydroliysis of Cellulose. Biotechnol. Bioeng. 26, 221-230.

Wiseman, A., 1987. Handbook of Enzymes Biotechnology. Second Edition. Chapter 3. The Application of Enzymes in Industry p. 274-373.

Wong, K.K.Y., Richardson, J.D., and Mansfield, S.D., 2000. Enzymatic Treatment of Mechanical Pulp Fibers For Improving Papermaking Properties. Biotechnol. Prg. 16, 1025-1029.

Zeikus, J.G., 1979. Enzyme Microb. Technol. 1,243.

Zeman, N.W. and Mccrea, J.M., 1985. Alpha-amylase Production Using a Recombinant DNA Organism. Cereal Foods World. 30(1) : 777-780.