

## Termofilik Bakteriler ve Biyoteknolojik Açıdan Önemli Bazı Enzimleri

**Reyhan Gül Güven<sup>1</sup>**

### Özet

Son yıllarda ekstrem şartlarda yaşayan bakterilerin keşfi ve bunların biyoteknolojik açıdan önemli biyomateryalleri üzerinde çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Sıcak su kaplıcalarından izole edilen termofilik bakterilerin en önemli özelliği ekstrem şartlarda dayanıklı enzimlere sahip olmasıdır ve bu da onları biyoteknolojik açıdan önemli kılmaktadır. Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi, ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerlerinin çok yüksek olması gibi nedenlerden dolayı biyoteknolojide endüstriyel enzimler ile ilgili yapılan araştırmalar önem kazanmaktadır.

Bu derlemede termofilik bakterilerin özellikleri ve bu bakterilerin biyoteknolojik açıdan önemli olan enzimleri hakkında bilgi verilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Termofilik bakteri, enzim, biyoteknoloji.

### GİRİŞ

#### Termofiller

Bakteriyolojinin hemen hemen ilk dönemlerinde, termofilik bakterilerin varlığı bilinmiyordu. *Thermus aquaticus* ilk karakterize edilen hiper termofilik bakteridir (1). Termofilik bakteriler ilk kez 1879 yılında Miquel tarafından 72 °C 'de çoğalabilen bakteriler olarak izole edildi. Miquel bu bakterileri nehir, çamur, toprak, toz ve kanalizasyon numunelerinden elde etmiştir (2). Günümüzde ekstremofilik mikroorganizmaların volkanların yüksek sıcaklıklarında, kutupların düşük sıcaklıklarında çok düşük ve çok yüksek pH değerlerinde (pH 0-3 veya pH 10-12) veya çok yüksek tuz konsantrasyonlarındaki (%5-30) yaşama adapte oldukları bilinmektedir (5).

Sıcaklık çevremizdeki en önemli değişkenlerden biridir. Yaşayan organizmaların sınıflandırılması onların sıcaklıkla olan ilişkilerine dayalıdır. Bundan dolayı biyolojik sistematığın en temel elementlerinden biri olarak kabul edilirler. Mikroorganizmalar genel olarak psikrofil, mezofil ve termofil olmak üzere 3 gruba ayrılırlar (3). Termofilik organizmalar yüksek sıcaklıklarda yaşamaya adapte olup kendi aralarında ılımlı termofiller (45-65 °C) ve hipertermofiller (85 °C) şeklinde ayrılırlar (Tablo 1) (4).

---

<sup>1</sup> Öğr. Gör. Dr. Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Diyarbakır. Yazışmalardan sorumlu yazarın E-Posta adresi: [rgguven@dicle.edu.tr](mailto:rgguven@dicle.edu.tr)

Ekstrem şartlarda yaşamak ve çoğalmak için organizmalar metabolik ve diğer hücre fonksiyonlarını bu ortamlara adapte etmek zorundadır. Termofillerin hücre membranı doymuş yağ asitlerinden yapılıdır. Bu yağ asitleri hücreye hidrofobik bir ortam sağlar ve yüksek sıcaklıkta yaşaması için hücreyi yeterince sıkı ve sert tutar. Termofilik organizmaların hücresel elemanları (hücre membranı) ve bileşenleri (enzimler, proteinler, nükleik asitler vb.) yüksek sıcaklığa dayanıklıdır (65-85 °C). Ayrıca ekstrem derecede asidik ve alkali şartlar gibi denatürantlara ve de proteolize dayanıklıdırlar (6, 7).

Termofillerin DNA'sı, DNA'da pozitif süper sarmallar oluşturan geri dönüşümü (reversible) sağlayan bir DNA Giraz ihtiva eder. Bu da DNA'nın erime noktasını en azından organizmanın maksimum büyüme sıcaklığına kadar yükseltir. Termofiller ayrıca non-termotolerant organizmaların kullandığı elektrostatik disülfid köprüsü ve hidrofobik etkileşimler gibi artan etkileşimleri kullanarak yüksek sıcaklıklara tolerans göstermektedirler (8, 7). Yüksek sıcaklıklarda polimerik substratların çözünürlüklerinin artması ve istenmeyen komplikasyonlara yol açan kontaminasyon riskinin yüksek sıcaklıklarda azalması gibi nedenler biyoteknolojide ve endüstride termofilik organizmaların kullanımını arttırmıştır (9).

Tablo 1. Mikroorganizmaların minimal, optimal ve maksimal üreme sıcaklıklarına göre sınıflandırılması (10).

Mikroorganizma	Minimum °C	Optimum °C	Maksimum °C
Psikrofiller	-5- 5	15-30	19-35
Mezofiller	10-15	30-45	35-47
Fakültatif Termofiller	37	45-55	70
Zorunlu Termofiller	40-45	55-75	60-80
Ekstrem Termofiller	60	75-80	85-110

Sıcak su kaynakları, dünyanın çok değişik yerlerinde bulunur. Biyologların çoğu 19. yüzyılın ortalarından sonra termal sularda yaşayan organizmalar üzerinde gözlemler yapmışlardır (1). Dünya üzerindeki sıcak su kaynakları Batı Amerika, Orta Afrika, Yeni Zelanda, İzlanda, Japonya, İtalya, Endonezya, Orta Amerika, Orta Afrika gibi ülkelerin bulunduğu geniş bir alanda bulunur (11). Ancak, kapsamlı çalışmalar uzun yıllar termal habitatlarda yaşayan mikroorganizmalar üzerine Yellow Stone Ulusal Parkında yapılmıştır. Bu park dünyada termal özelliklere sahip en önemli yerlerden biridir (1). Ülkemiz ise jeotermal kaynaklar bakımından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır (12). Ülkemiz sınırları içinde ise sıcaklığı 40 °C'nin üzerinde olan 133 adet sıcak su kaynağı bulunmaktadır (11).

## Termostabil Enzimler

Endüstrinin hemen her alanında kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Çünkü mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel veya hayvan kaynaklı enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olması, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilebilmeleri gibi avantajları vardır (13). Ayrıca ekstremofilik enzimlerin endüstriyel işlemlerde kullanılmaları ile yüksek sıcaklıkta bakteriyel ve viral kontaminasyon riski de azaltılmış olur. Termostabil proteinler değişik denatüre edici şartlara karşı yüksek tolerans gösterirler. Bu proteinler mezofilik proteinlere nazaran daha yüksek  $\alpha$  heliks ve  $\beta$  tabakası içeriğine sahiptirler. Ayrıca bu proteinler çok yavaş katlanma hızı gösterirler. Bu özelliğin değişik denatüre edici şartlara karşı doğal yapıyı korumada önemli olduğu sanılmaktadır (8, 7,14). Termostabil enzimler biyolojik olarak oldukça güç bir şekilde parçalanabilen ve çözünmeyen çevresel kirleticilerin oluşumunu da engeller (5).

Yüksek termal dayanıklılık birçok endüstriyel enzimlerde fazla istenen bir özelliktir, çünkü enzimlerin kullanıldığı işlemler genelde yüksek sıcaklıklarda ( $>50$  °C) gerçekleştirilir (6). Bu nedenle, ekstremofilik organizmalardan yeni enzimlerin keşfinde artış olmuştur. Özellikle termofillerden elde edilen enzimler sahip oldukları dayanıklılıktan dolayı günümüzde oldukça en fazla pratik ticari kullanım alanı bulmuştur (4, 5). Yüksek sıcaklıklarda biyoteknolojik işlemleri gerçekleştirmek pek çok fayda sağlamaktadır. Sıcaklığın artırılması organik bileşiklerin çözünürlüğü ve biyolojik olarak kullanılabilirliği açısından önemli etkilere sahiptir. Sıcaklığın artması beraberinde viskozitenin düşmesini ve organik bileşiklerin difüzyon katsayısının artmasını da beraberinde getirmektedir. Sonuç olarak küçük alanlarda yüksek reaksiyon hızı gerçekleştirilmektedir (5).

Termostabil proteinlerin sıcaklığa dayanıklılık stratejileri mevcuttur. Termostabil proteinler ve mezofilik olanları benzer sekonder ve tersiyer yapılarına sahiptir. Termostabil ve mezofilik proteinler arasındaki birçok karşılaştırmalı analizler aminoasit içeriklerinin ve yan zincir etkileşimlerinin az oranda fakat açık bir şekilde farklı olduğunu göstermektedir. Termostabil proteinler çok sayıda yüklü ve hidrofobik aminoasitleri ihtiva eder (8). Çok farklı termostabilite özelliklerine rağmen termofilik enzimler ve onların mezofilik homologları aynı katalitik mekanizmayı, yüksek dizi benzerliği ve üç boyutlu yapı benzerliği gösterirler. Farklı termozimlerde termostabilitenin genel bir evrensel strateji şeklinde değil, daha çok bireysel stratejilerin bir kombinasyonu ile başarıldığı görülmektedir. Örneğin; artan hidrojen sayısı ve tuz köprüleri, hidrofobik merkezin optimize olan paketlenmesi, artan prolin aminoasit sayısı ve gömülü olan amino asitlerde artış. Protein esnekliği aynı zamanda termal adaptasyonun anahtar elamanlarından biri olarak görülmektedir (15).

Proteinlerin konformasyonel dayanıklılığı iki zıt faktör arasındaki dengenin sonucudur. Bunlar fleksibilite ve sertliktir. Termozimler mezofilik olanlara nazaran oda sıcaklığında daha fazla sert yapıdadırlar. Bu sertlik onları bozulmadan korur ve katalitik olarak aktif yapıyı korumalarını sağlar. Bundan dolayı daha denatüre edici şartlar altında optimal olarak daha aktiftirler (16).

Son zamanlarda biyoteknolojik işlemlerde kullanıma sahip enzimler, özellikle de Antartika'da yaşayan ekstremofillerden elde edilenler dikkat çekmiştir (17,18,19).

Ticari olarak kullanılan enzimlerin %59'unu proteazlar, %28'ini karbohidrazlar, %3'ünü lipazlar ve %10'unu ise diğer enzimler oluşturmaktadır. Karbohidrazlar grubuna giren  $\alpha$ -amilaz üretimi %13 ile önemli bir yer tutmaktadır (13). Ağırlıklı olarak çalışılan ekstrem termofilik ve hipertermofilik archaea ve bacteria'dan elde edilen biyoteknolojik açıdan öneme sahip termostabil enzimler şunlardır (Tablo 2); galaktozidaz, amilaz, pullulanaz, selüloz, kitinaz, ksilinaz ve pektinaz. Bu enzimler besin, kimyasal ve farmasötik endüstrileri ile çevre biyoteknolojisinde potansiyel kullanım alanına sahiptirler (5, 7, 20).

Tablo 2. Termofilik mikroorganizmalara ait enzimlerin endüstriyel uygulamaları (4).

<u>Mikroorganizma</u>	<u>Enzimler</u>	<u>Uygulama</u>
Ilımlı termofiller (45-65°C)	Amilazlar Ksilanaz	Tatlandırıcılar için glukoz, fruktoz hidrolizi Kağıt beyazlatma
Termofiller (65-85 °C)	Beta-galaktozidaz Proteazlar	Süt ve süt ürünlerinde laktoz hidrolizi Ekmekçilik, deterjan sanayisi
Hipertermofiller (<85 °C)	DNA polimerazlar	Genetik mühendisliği

## **Proteazlar**

Proteaz enzimi, tüm canlı varlıklarda bulunan, büyüme ve çoğalma için gerekli olan bir enzimdir (21). Proteaz enzimi bitki, hayvan, mikroorganizmadan izole edilebilen bir enzimdir. Yıllardan beri özellikle deterjan ve besin endüstrisinde kullanılıyor. Proteaz yüksek sıcaklık ve pH değerlerinde aktif ve kararlı olmalıdır. Deterjan endüstrisinde kullanılabilmesi için proteazın en önemli parametresi onun pH değer aralığıdır (22).

Proteinlerin hidrolizinde spesifik olarak katalitik bir rol oynayan, fizyolojik ve ticari açıdan oldukça önemli enzimlerden biridir. Proteazlar, deterjan ve gıda endüstrisi basta olmak üzere; tekstil, deri, fotoğraf, ipek ve yem sanayileri ile çeşitli klinik uygulamalar ve eczacılık gibi birçok alanda kullanılmaktadır (21).

Gıda endüstrisinde kullanılan proteaz enzimi undaki proteinlere etki etmektedir. Kuvvetli unların yoğurma ve işleme zorluğunu gidermek için kullanılmaktadır. Proteaz özellikle bisküvi, kraker ve gofretlik ürünlerde gevreklik ve kırırlığı arttırmak amacıyla kullanılır ([www.hamaddeler.com](http://www.hamaddeler.com)).

Proteazlar aktivitelerinin optimum olduğu pH aralığına göre asit, nötral ve alkali proteazlar olarak sınıflandırılırlar. Bunlar arasında alkalın proteazlar deterjan katkı maddesi olarak kullanılırlar. Günümüzde proteaz bazlı deterjan kullanımında çevre kirliliğini azaltması ve düşük yıkama sıcaklığında daha iyi performans ve temizleme

özellikleri bakımından sentetik olanları tercih ediliyor. Bakteriyel enzim içeren ilk deterjan 1956 yılında Biyo-40 ticari isim altında pazarlarda tanıtıldı. Bugün, *Bacillus* türlerinden elde edilen alkalın proteaz veya subtilisinler ile enzim pazarında önemli bir pay elde edildi (23). Termofilik ve alkalifilik *Bacillus* tarafından üretilen alkalifilik proteazlar yüksek sıcaklık ve pH'ya dayanmaktadır (21).

Alkalın proteaz, deterjanlarda, protein içeren kan, süt, ter, çimen vb. lekelerin temizlenmesinde; dericilikte derilerin sepilenmesinde; kullanılmış Röntgen (X-Ray) filmlerinden gümüşün geri kazanımında; peptit sentezinde; medikal ve farmasötik alanda; atık arıtımında ve diğer alanlarda kullanılmaktadır (www.hammaddeler.com).

## Amilazlar

Bir karbohidraz olan alfa-amilaz enzimi ticari olarak kullanılan ilk enzimdir. Alfa-amilaz enzimi, nişasta molekülündeki alfa-1,4 bağlarını parçalayarak glikoz, maltoz, maltotrioz ve alfa-limit dekstrinlerin oluşumunu sağlar. Nişasta, çok sayıda glikoz molekülünün farklı şekillerde bağlanmasıyla oluşmuş polisakkarit özellikte bir bileşiktir. Bazı bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen alfa-amilaz, beta-amilaz, glikoamilaz ve glikoizomeraz gibi enzimler nişastayı parçalama yeteneğine sahiptirler.

Fungal  $\alpha$ -amilazlar bakteriyel  $\alpha$ -amilazlardan daha az termostabil olduğundan üzerinde çalışılan asıl enzim kaynağını daha çok bakteriyel; özellikle de *Bacillus* amilazları oluşturmaktadır. Bu cinsin özellikle 8 tanesinin sentezlediği  $\alpha$ -amilaz enzimi çeşitli araştırmacılar tarafından tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Bunlar *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. caldolytus*, *B. coagulans*, *B. licheniformis*, *B. macerans*, *B. stearothermophilus* ve *B. subtilis* var. *amylosacchariticus*'dur. Termostabil  $\alpha$ -amilazın uygulama alanı oldukça genişlemiş ve çeşitlenmiştir (www.hammaddeler.com). Bu enzim günümüzde tekstil ve kağıt endüstrisinde, nişastanın sıvılaştırılmasında, ekmek, glikoz ve fruktoz şurupları ve tutkal üretiminde, alkol fermantasyonunda kullanılmaktadırlar (24).

Endüstriyel olarak üretilen ilk enzim 1894 yılında tedavi amaçlı kullanılan amilazdır. Şu an *Bacillus*, *Aspergillus* ve *Rhizopus* türleri en önemli endüstriyel amilaz kaynakları olarak bilinmektedir. Bununla birlikte tüm dünyada mikrobiyal kaynaklı amilazlar araştırılmaktadır. Enzim pazarının yaklaşık %25'i oluşturan amilazlar günümüz biyoteknolojisinde büyük öneme sahip enzimler arasındadır (25).

Meyveler tam olgunlaşmadan toplandığında meyvede hala nişasta bulunduğu için meyve suyunda bulanıklık meydana gelmektedir. Bu sorun, ortama  $\alpha$ -amilaz ilave edilerek giderilmektedir (24).

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

## Lipazlar

Lipazlar, suda çözünmeyen trigliseritleri, di ve mono-açilgliseridlere, serbest yağ asitlerine ve gliserole hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Lipazlar, enzim sınıflandırmasında hidrolazlar (E.C.3), ester bağlarını parçalayanlar (E.C.3.1), karboksilik ester hidrolazlar (E.C.3.1.1) ve triaçilgliserol lipazlar (E.C.3.1.1.3) içinde yer almaktadırlar. Yağlar ve yağ asidi esterlerini hidroliz ederler. Lipaz üreten mikroorganizmalar; bakteri, maya ve küflerdir (26). Lipazlar yağ asitlerinin zincir uzunluğu, doyma derecesi, yağ asidinin pozisyonu ve substrat'ın fiziksel durumuna uygun spesifiklik gösterirler. Lipolitik enzimlerin aktivitesi süt endüstrisinde önemlidir. Margariner, şorteningler, fırın ürünleri ve bitkisel ürünler gibi ürünlerde lipazla modifiye edilmiş tereyağı ürünleri aroma geliştirici olarak kullanılmaktadırlar (24).

Lipitler suda çözünmezler ve eğer hücre için besleyici olarak işlev görürlerse, emilimi kolaylaştırmak için daha fazla kutuplu parçalarına hücre dışında yıkılmaları gerekmektedir. Bu yüzden, lipazların çoğu hücre dışında muhafaza edilmektedir. Lipaz enzimi *Aspergillus* türü küflerden fermantasyon yolu ile üretilmektedir ([www.hamaddeler.com](http://www.hamaddeler.com)).

Lipazlar, hem sulu hem de susuz solvent sistemlerinde aktivite gösterdikleri için endüstride ve tıp alanında önemli bir yere sahiptirler. Bu enzimlerin lipid içeren atık suların enzimatik degradasyonu, organik sentez, deterjan formülasyonu, biyosürefektanların sentezi, oleokimyasal endüstri, süt endüstrisi, agrokimyasal endüstri, kağıt yapımı, besin, kozmetik, kimyasal analiz ve ilaç prosesinde umut verici uygulama alanları bulunmaktadır. Ticari olarak kullanılabilen lipazlar, genellikle mikroorganizmalardaki geniş çeşitlilikteki ekstraselüler lipazlardır. Mikrobiyal lipazların yüksek biyoteknolojik potansiyelleri; organik solventlerde stabil olmaları, kofaktöre gereksinim duymamaları, geniş substrat spesifitesine sahip olmaları ve yüksek enantioselektivite göstermelerinden kaynaklanmaktadır (27).

## $\beta$ -Galaktozidazlar

$\beta$ -Galaktozidaz termofillerde en çok çalışılmış enzimlerden birisidir.  $\beta$ -Galaktozidaz  $\beta$ -1,4-D-glikozidik bağların hidrolizini katalizler. 1951 yılında özellikleri tanımlanan  $\beta$ -galaktozidaz enzimi üzerinde bu güne kadar çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu enzim çok değişik mikroorganizma tiplerinde, hayvanlarda ve bitkilerde bulunmuştur; yani bu enzim doğada yaygın dağılışı göstermektedir (28, 29, 30).  $\beta$ -Galaktozidaz iki veya daha fazla karbonhidrat arasında veya bir karbonhidrat ile diğer bir bileşik arasındaki glikozidik bağlarını kıran enzim olarak bilinen glikozil hidrolazların (EC 3.2.1-3.2.3) bir üyesidir. Bu enzim grubu, fonksiyonel benzerlik baz alınarak son yıllara kadar geleneksel olarak sınıflandırılmıştır. Bununla beraber, son gelişmeler ışığında aminoasit dizi benzerlikleri temel alınarak 106 glikozil hidrolaz (GH) ailesi şeklinde sınıflandırılmıştır ([http://afmb.cnrs.mrs.fr/CAZY\\_](http://afmb.cnrs.mrs.fr/CAZY_) 31, 32). Bu sistem aynı zamanda GH'lar için evrimsel bağlantıları açıklayan veriler sunmakta ve reaksiyon mekanizmalarını açıklamaktadır (35). Bu kriterler göz önüne alındığında  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesi gösteren enzimler (E.C. 3.2.1.23), şu an 4 farklı familyaya ayrılmıştır: GH-1, GH-2, GH-35 ve GH-42. Bunlardan GH-2 en iyi çalışılanı olup, *E.coli*, *Aspergillus*, *Bacillus megatherium* ve *S. solfataricus*  $\beta$ -galaktozidazları içine

alır, oysa termofilik basiller dahil termofilik bakteriler, psikrofilik ve halofilik mikroorganizmalar GH-42'ye aittir (17, 34, 35).

$\beta$ -Galaktozidaz üreten termofiller non-patojenik ve 37 °C' de çoğalamaması (insan vücut sıcaklığı) nedeniyle potansiyel bir uygulama alanı bulmaktadır (36). Memeli sütü % 3.8 (w/v) laktoz ihtiva etmektedir. Bazı popülasyonlarda laktoz intoleransı görülmekte ve bundan dolayı düşük laktozlu süt ve sütlü ürünlerin hazırlanması için  $\beta$ -galaktozidaz besin endüstrisinde kullanılmaktadır (37). Bu enzim kullanılarak besin değeri yüksek olan peynir suyunun laktozdan kaynaklanan kristalizasyonu engellenmekte ve çok yüksek oranlardaki laktoz (% 70-80 kuru ağırlık), glikoz ve galaktoza hidrolizlenerek daha tatlı ve sindirilebilir hale getirilmektedir.

Termostabil  $\beta$ -galaktozidaz, termofillerde en çok çalışılmış enzimlerden birisidir.  $\beta$ -Galaktozidazlar laktoz ihtiva eden sıvıların endüstriyel işlenmesinde muhtemel kullanımlarından dolayı büyük bir dikkat çekmiştir (37). Özellikle, süt ve peynir altı suyu gibi gıda ürünlerinde  $\beta$ -galaktozidazın laktoz hidrolizi uygulaması çok önem kazanmıştır. Ticari olarak mevcut galaktozidaz tabletler düşük laktozlu süt üretimi endüstrisinde kullanılmaktadır (38).

## **Ksilanaz**

Ksilan hemiselülozun başlıca bileşenidir ve hemiselülozlar doğada toplam biyokütlenin % 30-35'ini oluşturmaktadır. Yenilenebilen bu kaynaktan bugün gıda ve yem sanayi çeşitli yararlanırken kağıt sanayi ve ayrıca atık arıtım ve şekillerde değerlendirme proseslerinde de ksilana yönelik uygulamalar bulunmaktadır. Ksilanın tüm bu sanayilerdeki işleme ve değerlendirme basamaklarında enzimatik hidrolizi ön plana çıkmaktadır. Ksilanın enzimatik hidrolizinde yer alan başlıca enzim ise  $\beta$ -1,4 bağları ile bağlanmış ksiloz birimlerinden oluşan iskeleti hidrolizleyen endo-1,4-  $\beta$ -ksilanazlar (1,4- $\beta$ -D-ksilan ksilanohidrolaz) (EC 3.2.1.8) dir. Ksilanaz enzimi bakteri, maya ve fungus grubunda yer alan çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilebilmektedir (39). *Ksilanaz* üretiminde kullanılan bakteri ve fungus türlerine örnek olarak *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* ve *Thermoascus aurantiacus* verilebilir (40).

Çevresel düzenlemeler kağıt ve kağıt hamuru endüstrisinde ağartma işleminde klor kullanımını sınırlamıştır. Günümüzde çevreyi endüstriyel atıklardan korumak için kağıt ve kağıt hamuru endüstrisinde mikrobiyal enzim sistemlerinin uygulanması önem kazanmıştır. Bu nedenle çevre kirliliğini indirgeme yaklaşımlarından biri, kağıt hamurunun ksilanaz kullanılarak ön işlemlerden geçirilmesidir. Bu yaklaşım, ağartma kimyasallarının özellikle de klor bileşiklerinin önemli derecede indirgenmesine ve kirliliğin azaltılmasına izin vermektedir. Kağıt hamurunun ksilanaz kullanılarak ağartılması işlemi oldukça gelecek vaat etmektedir (24). Ekmekçilikte ise ksilanazlar hamurun yoğrulma özelliklerini, ekmek içi yapısını ve son ürün hacmini arttırarak, un kalitesindeki çeşitlilikten doğabilecek olan sorunların azaltılmasına yardımcı olurlar (40).

## **Sonuç**

Yüksek sıcaklıklara dayanıklılık birçok endüstriyel enzimlerde fazla istenen bir özelliktir, çünkü enzimlerin kullanıldığı işlemler genelde yüksek sıcaklıklarda (>50 °C) gerçekleştirilir. Bu nedenle, ekstremofilik organizmalardan yeni enzimlerin keşfinde artış olmuştur. Özellikle termofillerden elde edilen enzimler sahip oldukları dayanıklılıktan dolayı günümüzde en fazla pratik ticari kullanım alanı bulmuştur. Son yıllarda yapılan birçok çalışma sıcak su kaynakları gibi ekstrem şartlardan izole edilen bakterilerin tanımlanması ve bunların önemli ürünleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Ekstrem şartlarda yaşamak ve çoğalmak için organizmalar metabolik ve diğer hücresel fonksiyonlarını bu ortamlara adapte etmişlerdir. Termofilik organizmaların hücresel elemanları (hücre membranı) ve bileşenleri (enzimler, proteinler, nükleik asitler vb.) yüksek sıcaklığa dayanıklıdır (65-85 °C). Ayrıca ekstrem derecede asidik ve alkali şartlar gibi denatürantlara ve de proteolize dayanıklıdırlar. Sıcak su kaplıcalarından izole edilen termofilik bakterilerin en önemli özelliği ekstrem şartlara dayanıklı enzimlere sahip olmasıdır ve bu da onları biyoteknolojik açıdan önemli kılmaktadır. 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.

## KAYNAKLAR

1. Brock, T.D. (2001). Chapter I:The Origins of Research on Thermophiles. (Ed: Reysenbach A-L, Voytek M. Mancinelli, R. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. (218).
2. Joseph Jenkins. (1999). The Humanure Handbook (Chapter 3. Thermophilic Microorganisms ) 143 Forest Lane, Grove City, PA.
3. Kristjonsson, J. K. ve Stetter K.O. (1991). Thermophilic Bacteria Thermophilic Bacteria (Ed:Kristjonsson J.K). CRC Pres, Inc. London, 1-13.
4. Demirjian, dc., Moris-Vara, F., Sassidy, Cs. (2001). Enzymes from Extremophiles. Curr Opin Chem Biol. 5,144–51.
5. Gül-Güven, R.(2007). Sıcak Su Kaynaklarından Bakteri İzolasyonu, Tanımlanması ve *Alicyclobacillus acidocaldarius* subsp. *rittmanni*'nin  $\beta$ -galaktozidaz Enziminin Saflaştırılması. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, DİYARBAKIR.(196).
6. Kristjansson, M.M., Asgeirsson, B.(2002). Properties of Extremophilic Enzymes and Their Importance in Food Science and Technology. Handbook of Food Enzymology (ed. J.R. Whitaker), NY, USA, p.77-99.
7. Haki, GD., Rakshit, Sk. (2003).Developments in Industrially Important Thermostable Enzymes: a Review. Bioresour Technol. 89,17–34.
8. Fujiwara, S.(2002). Extremophiles:Developments of Their Special Functions and Potential Resources. Journal of Bioscience and Bioengineering. 94, 518-525.
9. Gül-Güven, R.(2004). *Alicyclobacillus acidocaldarius* subspecies *rittmanni*'nin  $\beta$ -Galaktozidaz Enzimi Üzerine Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi, DİYARBAKIR.(64).
10. Arda, M. (2000). Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayın Serisi no:46, ANKARA



11. Akkaya, SE., Kıvanç M. (2009) .Termofil Bakteriler; Sıcak Su Kaynaklarında Yaşayan Gram Negatif Basillerin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 07:1, 01-23.
- 12.Özel, N.(2000).Gap'ta yer alan Jeotermal Kaynaklara Genel Bakış ve Güçlükonak(Şırnak) İlçesi Hista Kaplıcaları. Jeotermal enerji.Şanlıurfa.
13. Wiseman, A. (1987). Handbook of Enzymes Biotechnology. Second Edition. Chapter 3. The Application of Enzymes in Industry p. 274-373.
14. Van Den Burg, B. (2003). Extremophiles as a Source for Novel Enzymes. Microbiology. 6, 213-218.
15. Fitter , J., Hermann , R., Dencher, N.A., Blume, A., and Hauss, T.(2001). Activity and Stablitiy of a Thermostabl r alfa-Amylase Compared to Its Mesophilic Homologue, Mechanism of Thermal Adaptation. Biochemistry. 40, 10723-10731.
- 16.Bruins, M.E., Jansen, A.E.M., Boom, R. M. (2001).Thermozymes and Their Applications. Applied Biochemistry and Biotechnology. 90, 155-186.
17. Gul-Guven, R., Guven, K ,Poli, A., Nicolaus B .(2007).Purification and some properties of a beta-galactosidase from the thermoacidophilic *Alicyclobacillus acidocaldarius* subsp *rittmannii* isolated from Antarctica. Enzyme and Microbial Technology, 40 ( 6 ), 1570-1577 .
18. Karasov´a-Lipovov´a, P., Strnad, H., Spiwok, V., Mal´a, S., Kr´alov´a, B., Russell, NJ.(2003).The Cloning, Purification and characterisation of a Cold-Active  $\beta$ -galactosidase from the Psychrotolerant Antarctic Bacterium *Arthrobacter* sp. C2. Enzyme Microbiol Technol., 33, 836–44.
19. Poli, A., Esposito ,E., Lama, L., Orlando, P., Nicolaus, G., DE Appolonia, F., Gambacorta, A., Nicolaus, B.(2006). *Anoxybacillus amylolyticus* sp. nov., a Thermophilic Amylase Producing Bacterium Isolated from Mount Rittmann (Antarctica). Systematic and Applied Microbiology, 29,300-3007.
20. Eichler, J. (2001). Biotechnological Uses of Archaeal Extremozymes. Biotechnology Advances, 19, 261-278.
21. Bulut S. (2007) *Teredinobacter turnirae*'den Proteaz Üretiminde Farklı Stratejilerin Arastırılması. Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi- Science and Eng. Journal of Fırat Univ, 19 (4), 561-568,
22. Suhartati, Y.T., Herasari, D., Hadi, S. (2008). The Chemical Modification of Protease Enzyme Isolated from Locale Bacteria Isolate, *Bacillus Subtilis* ITBCCB148 with Cyanuric Chloride-Polyethylenglycol. Euro Journals Publishing, Inc European Journal of Scientific Research. 23:1, 177-186.
23. Mukherjee AK, Adhikari H, Rai SK. (2008). Production of alkaline protease by a thermophilic *Bacillus subtilis* under solid-state fermentation.(SSF) condition using Imperata cylindrica grass and potato peel as low-cost medium: Characterization and application of enzyme in detergent formulation. Biochemical Engineering Journal. 39 (2), 353-361
24. Eren-Kıran Ö., Çömlekçioğlu,U., Dostbil N. (2006). Bazı Mikrobiyal Enzimler ve Endüstrideki Kullanım Alanları. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 9 (1).

25. Oliveira, A.N; Oliveira, L.A; Andra de, J.S., and Chagas J.A .F.( 2007).Rhizobia amylase production using various starchy substances as carbon substrates. *Braz. J. Microbiol.* online, 38:2, 208-216.
26. Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC.(2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19: 627- 662.
27. Saraç, N., Boran, R., Ökmen G., Uğur, A.(2008).Toprak ve Süt Kökenli Gram Pozitif Bakterilerde Lipaz Üretimi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1 :2, 23-28.
28. Cohn, M. and Monod, J.(1951). Purification de la  $\beta$ - Galactosidase (Lactase) D'Escherichia coli. *Biochimica et Biophysica Acta*. 7, 153-173.
29. Appel, S.H., Alpersi, D. H., Tomkins, G. M. (1965). Multiple Molecular Forms of  $\beta$ -Galactosidase. *J.Mol.Biol.* 11, 12-22.
30. Kurz, G. And Wallenfels, K. (1974). Lactose and Other  $\beta$ -D- Galactosidase in Methods. of Enzymatic Analysis (edited by Bergmeyer H.U.) Verlag Chemie Weinheim. Academic Press inc.New York and London, 3, 1180-83.
31. Henrissat, B. (1991). A Classification of Glycosyl Hydrolases Based on Amino-Acid Sequence Similarities. *Biochem J.* 280, 309-316.
32. Henrissat, B., Balroch, A. (1996). Updating a Sequence Based Classification of Glycosyl Hydrolases, *Biochem J.* 316, 695- 696.
33. Coker, J.A., Sheridan, P.P., Loveland-Curtze, J., Gutshall, K.R., Auman, A.J., Brenchley, KR. (2003). Biochemical Characterization of a  $\beta$ -Galactosidase with a Low Temperature Optimum Obtained from an Antarctic *Arthrobacter* Isolate. *J. Bacteriol.* 185, 5473–82.
34. Ohtsu, N., Motoshima, H., Goto, K., Tsukasaki, F., Matsuzawa, H. (1998). Thermostable Beta-Galactosidase from an Extreme Thermophile *Thermus* sp. A4: Enzyme Purification and Sequencing. *Biosci Biotechnol Biochem.* 62, 1539-45.
35. Holmes, M.L., Dyll-Smith, ML., (2000). Sequence and Expression of a Halobacterial  $\beta$ -Galactosidase Gene. *Mol Microbiol.* 36:114–22.
36. Tanrıseven, A., Doğan, Ş., (2002). A novel Method for the Immobilization of  $\beta$ -Galactosidase. *Process Biochemistry*. 38, 27-30.
37. Pisani, MF., Rella, R., Rala, AC., Rozzo, C., Nucci, R., Gambacorta, A., et al.(1990).Thermostable  $\beta$ -Galactosidase from the *Archaeobacterium sulfolobus* solfataricus: Purification and Properties. *Eur J. Biochem.*187,321–8.
38. Biswas, I., Kayastha, AM., Seckler, R. (2003). Purification and Characterization of a Thermostable  $\beta$ -Galactosidase from Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. PDR14. *J Plant Physiol.*160, 327–37.
39. Sargın, S., Öngen G.(2003). Kanatlı Yemi Katkısı Olarak Kullanılan Ksilanaz Enziminin Katı Kültür Fermantasyon Yöntemi ile Üretiminde Ölçek Büyütme Çalışmaları. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi.* 40 :3, 145-152.
40. Güneri, K.G., Dağlıoğlu, O. (2008). Ksilanaz Enziminin Ekmek Yapımında Kullanımı. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.