

Bitkisel Lipaz Kaynakları ve Kullanım Alanları

Herbal Lipase Sources and Uses

Seren Gündođdu¹,
Ayşe Kuruüzüm-Uz^{1*}

¹Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, 06100, Ankara, Turkey

Corresponding author:

Ayşe Kuruüzüm-Uz
Hacettepe University, Faculty of Pharmacy,
Department of Pharmacognosy, 06100,
Ankara, Turkey
E-mail: ayseuz@hacettepe.edu.tr
Tel: 0 312 3051089

ÖZET

Lipazlar (triacilgliserol açil hidrolazlar), gliserol ve uzun zincirli yağ asitlerinden oluşan esterlerin hidrolizini ve sentezini katalizleyen enzimlerdir. Diğer sentetik katalizörlere kıyasla toksik olmayan ve çevre dostu olan lipazların kullanımları artmaktadır. Günümüzde gıda, kimya, yakıt, selüloz, ilaç, kozmetik, parfüm ve temizlik endüstrilerinde enzimlerin kullanıldığı yeni nesil uygulamalara geçilmiştir. Basit, hızlı, duyarlı ve spesifik enzim saflaştırma metodlarıyla elde edilen, aşırı koşullarda sürdürülebilirlik yeteneğine sahip lipazların önemi gün geçtikçe artmaktadır. Lipazlar bakteriler, mantarlar, hayvanlar, bitkiler ve algler gibi birçok doğal kaynaktan elde edilmektedir. Bu derlemede, lipaz enziminin elde edildiği başlıca bitkisel kaynaklardan ve uygulama alanlarından bahsedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzim, lipazlar, triacilgliseroller, bitkisel lipaz kaynakları

ABSTRACT

The enzyme Lipases (triacylglycerol acyl hydrolases) catalyze the hydrolysis and synthesis of esters which were composed of glycerol and long-chain fatty acids. The use of lipases is increasing due to their non-toxicity and environmentally friendly properties against other synthetic catalysts. Nowadays, new generation applications of enzymes have been introduced in many industrial sectors including food, chemical, pharmaceutical, cosmetic, perfume, fuel, cellulose, and cleaner production. The importance of lipases, which are obtained by simple, fast, sensitive and specific enzyme purification methods and capable of sustainability in extreme conditions, is increasing daily. Lipases are obtained from various natural sources such as bacteria, fungi, animals, plants and algae. In this review, it was mentioned that mainly plant sources which are produced lipase enzyme and its major application areas.

Keywords: Enzyme, lipases, triacylglycerols, herbal lipase sources

1. Giriş

Hücre içinde ve dışında çeşitli kimyasal-biyokimyasal reaksiyonlarda rol alan enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek bir kimsayal reaksiyonun hızını arttıran, reaksiyon esnasında tüketilmeyen ve substrat spesifitesi son derece yüksek protein yapısındaki biyokatalizörlerdir. Ayrıca hücredeki sinyal iletiminden, gıdaların sindirilmesine ve DNA sentezine kadar değişen birçok metabolik reaksiyonun (glikoliz gibi) hızını ve özgülüğünü büyük ölçüde etkileyen biyomoleküllerdir [1-3]. Günümüzde 4000 civarında enzim bilinmektedir ve bunlardan yaklaşık 200'ünün ticari olarak kullanımı vardır [4].

Lipazların gelişen biyoteknolojik uygulamalarla birlikte ilaç, gıda, kimya, yakıt, kağıt, kozmetik ve temizlik endüstrilerinde önemli kullanımları bulunmaktadır [5]. Lipazlar bakteriler (%45), mantarlar (%21), hayvanlar (%18), bitkiler (%11) ve algler (%3) gibi çeşitli kaynaklardan izole edilmişlerdir [6].

Ticari amaçlı kullanılan mikrobiyal lipaz kaynaklarının diğer kaynaklara göre endüstriyel üstünlüğü bulunmaktadır ve bu durum kültüre alınabilirlik ve genetik olarak kolay manipüle edilebilir olmalarına atfedilmektedir. Mikrobiyal lipazlar çoğunlukla bakteri, mantar ve aktinomisetlerden elde edilirler [7, 8, 9]. Bakteriyel lipazlar ilk olarak 1901 yılında *Serratia marescens* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında gözlenmiştir [7]. Farklı bakteri türleri tarafından lipaz üretimi üzerine birçok kapsamlı çalışma bulunmaktadır. Başlıca bakteriyel lipaz kaynakları; *Acinetobacter radioresistens*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus halodurans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marescens*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri* ve *Streptococcus* sp. olarak sayılabilir [7, 10-25].

Mantarlardan elde edilen lipazlar; stabilitesi, geniş substrat özgülüğü ve seri üretim kolaylığı nedeniyle endüstriyel alanda dikkatleri üzerine çekmeyi başarmıştır [26]. Lipaz üreten bazı önemli mantarlar arasında; *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Candida*, *Mucor*, *Ashbya*, *Geotrichum*, *Beauveria*, *Humicola*, *Rhizomucor*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Eurotrium* ve *Ophiostoma* türleri bulunmaktadır [27-29]. Yüksek sıcaklık ve alkali koşullarda stabilitesini koruyan çok az sayıda lipaz bulunmaktadır. *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium* ve *Geotrichum*, hücre

dışı termostabil lipaz kaynağı olarak iyi bilinen türlerdir [30]. *Geotrichum* benzeri R59 türlerinden alınan lipazın, ısıya dayanıklı olduğu ve 60°C'de 1 saat inkübasyondan sonra yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir [31]. *Fusarium oxysporum* ve *Ophiostoma piliiferum* mantarlarının ürettiği lipaz enziminin geri dönüşümlü karton üretim işleminde pitch bileşiklerini degrade etmesi, son yıllarda kağıt endüstrisindeki biyoteknolojik gelişmelere katkı sağlamıştır [32]. Naylor bir destek üzerinde immobilize edilmiş *Candida rugosa*'dan alınan lipaz, serum kolesterol seviyelerini düşüren bir ilaç olan lovastatini sentezlemek için kullanılmıştır [33].

Endüstriyel alanlarda kullanılan hayvansal lipazlar arasında ise pankreatik, hepatik ve pregastrik lipazlar bulunmaktadır. Çoğunlukla domuz pankreasından (fosfolipazlar A2) üretilenler tercih edilmektedir [34]. Ticari amaçla kullanılan mikrobiyal ve diğer hayvansal lipazlardan daha düşük maliyete sahip olan işlenmiş domuz pankreatik lipazı, biyotransformasyon reaksiyonlarında yaygın olarak kullanılan lipazlardan bir tanesidir [35]. Ayrıca buzağı ve koyunların ön mide dokusundan, böceklerden, balıklardan (Atlantik morinası, leopar köpek balığı, gök kuşağı alabalığı, sardalya, çizgili levrek, somon balığı) ve diğer memelilerden de lipaz enzimi elde edilmiştir [6, 11, 36].

Endüstrinin hemen her alanında kullanılan lipazlar, çoğunlukla mikroorganizmalardan elde edilmektedir, ancak son zamanlarda bitkisel kaynaklar da kullanılmaya başlanmıştır. Mikrobiyal kaynaklı lipazlar üzerine oldukça fazla çalışma mevcutken, bitki lipazları üzerindeki çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Kolay erişilebilmeleri, geniş çapta bulunabilirlikleri, sürdürülebilir üretimleri, yüksek katalitik aktiviteleri, iyi substrat seçicilikleri, elde edilmeleri sırasında istenmeyen yan ürünlerin oluşmaması, düşük maliyet, moleküler genetik teknolojisine ihtiyaç duymayan saflaştırma kolaylığı gibi birçok avantajı bulunan bitkisel kaynaklı lipazların, ayrıca gıda ve tıbbi uygulamalar için kabul edilebilirlikleri daha yüksektir. Bitkisel kaynaklı lipazlar, oda sıcaklığında yüksek aktivite göstermeleri nedeniyle de değerlidirler. Ancak büyük ölçekte eldesinin önündeki en büyük engel, tahılların kepek kısmı nedeniyle düşük çimlenme sonrası tohumlardaki enzim içeriklerinin düşüklüğüdür [37, 38].

Bu derlemede; lipaz enzimi hakkında genel bilgiler verilmiş olup, bulunduğu bitkisel kaynaklar ve potansiyel kullanım alanları ile ilgili çalışmaların derlenmesi amaçlanmıştır.

2. Lipaz Enzimi

Enzimler, yüksek katalitik aktivite ve özgülük gösteren proteinler olarak da bilinmektedirler [40, 41]. Lipazlar geniş pH (4-11) ve sıcaklık (10-96°C) aralığında stabil ve aktiftirler ve 94-840 kDa arasında değişen molekül ağırlığına sahiptirler [6].

Lipazlar, enzim sınıflandırmasında hidrolazlar ana sınıfındaki esterazlar alt sınıfına dahildirler ve triaçilgliserollerin serbest yağ asidi, diaçilgliserol, monoaçilgliserol ve gliserole total/kısmi hidrolizini katalizleyen enzimlerdir [42]. Uzun zincirli açilgliserollerin hem hidrolizini hem de sentezini katalize ederler (Şekil 1).

Lipazlar genel olarak karboksilesterazlar (E.C.3.1.1.1) ve gerçek lipazlar (E.C.3.1.1.3) olmak üzere iki gruba ayrılırlar [43]. Parantez içinde gösterilen rakamlar sırasıyla; '3' altı büyük gruptan üçüncüsü olan hidrolazları, '1' ester bağına etki edenleri, '1' karboksil asit hidrolazları, '3' ise triaçilgliserol lipazı ifade etmektedir [44]. Esterazların aksine lipazlar sadece su/yağ ara yüzeylerinde aktivasyon gösterirler [45]. Reaksiyon ortamına bağlı olarak çeşitli reaksiyonlar gerçekleştirebilirler. Hidrolizin yanı sıra, esterleştirme, transesterifikasyon, alkoliz ve asidoliz gibi ters reaksiyonları da katalize edebilirler. Diğer bir önemli özellikleri stereospesifiklikleridir. Bazı lipazlar, rasemik karışımdaki enantiyomerleri ayırt edebilme özelliğine sahiptir [46].

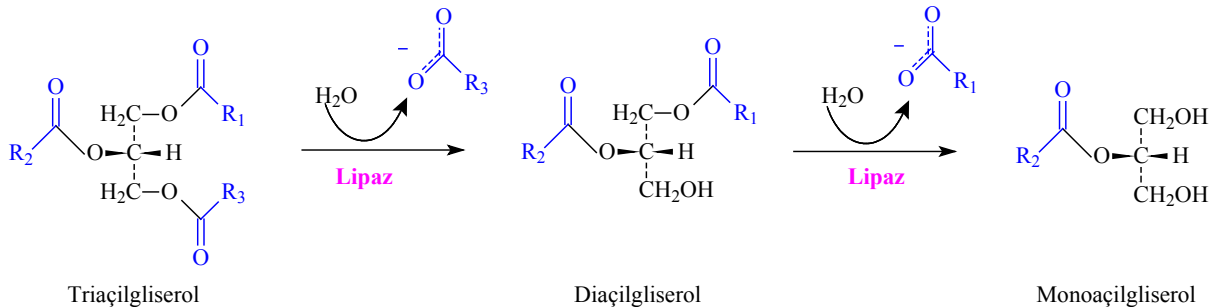
Enzimlerin çözünmeyen destek görevi gören materyaller (matriksler) yardımıyla suda çözünmeyen hale getirilmeleri işlemine immobilizasyon denir. Immobilizasyon pahalı lipazların geri dönüştürülebilirliğini, enzim stabilitesini (termal ve iyonik stabilite artışı gibi) ve aktivitesini artırır. Immobilizasyon enzimatik süreci, ürünlerin saflığını ve tekrar kullanılabilirlik özelliğini kolayca kontrol edebildiği için tercih edilmektedir. Kullanılan katı desteklerin mekanik ve termal

kararlılık, geniş yüzey alanı, düşük maliyet, tekrar kullanılabilirlik ve çözünmezlik gibi özellikleri taşıması istenir. Lipazların immobilizasyonunda fiziksel adsorpsiyon, kovalent bağlanma ve mikrokapsülasyon gibi farklı teknikler kullanılmaktadır [27].

3. Bitkisel Lipaz Kaynakları

Lipaz enzimi üzerine çalışmalar uzun yıllar öncesine dayanmaktadır. Bitki tohumlarındaki lipaz varlığı ilk defa 1871 yılında bulunmuştur [47]. Bitkisel lipazlar: pH 4.0-8.0 aralığında, 25-60°C sıcaklıkta etkindir ve moleküler ağırlıkları 40-143 kDa değerlerindedir [6].

Bitkisel lipazların eldesi; doğal kaynaklardan elde edilmeleri, düşük üretim maliyetleri, diğer lipazların elde edilmesine kıyasla saflaştırılmalarındaki kolaylık ve üretimlerindeki moleküler genetik teknolojilerinin kullanımına gerek kalmaması nedeniyle oldukça avantajlıdır. Ayrıca iyi bir substrat seçiciliği gösterirler ve bu özellikleri onları petrol ve kimya endüstrisi için değerli kılmaktadır [48-50]. Yapılan bir çalışmada; konsantre yağ asitlerinin üretimi için yağların hidrolizinde hint yağı (*Ricinus communis*), mısır (*Zea mays*), ayçiçeği (*Helianthus annuus*) ve çarkıfelek meyvesi (*Passiflora edulis*) lipazları uygulanarak değerlendirme yapılmıştır. Lipazların katalitik aktivitesi üzerinde çimlenme süresinin, pH'nın ve tohum sıcaklığının etkisi incelendiğinde, araştırılan biyokatalizörden, uyku halinde bulunan *Ricinus communis* tohumlarından elde edilen ham lipaz ekstresinin, emülsifiye edici ajanların yokluğunda yağların hidrolizinde en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda; *Ricinus communis* tohumlarının kullanımında, saflaştırma ve immobilizasyon aşamalarına gerek kalmadığından çok avantajlı olduğu, farklı bitkisel yağların hidrolizi için potansiyel öneme sahip olduğu belirtilmiştir [51]. Mounquengui ve arkadaşları



Şekil 1. Triaçilgliserolün lipaz enzimi ile diaçilgliserole ve monoaçilgliserole hidrolizi [2]. (R₁, R₂ ve R₃ grupları aynı/farklı uzun alkil zincirleri olabilir)

da biyodizel üretimi için mikrobiyal lipazlardan daha ucuz olan, bitkilerin tohumlarından ve lateksinden kolaylıkla ekstre edilen lipazların kısmi saflaştırmayla dahi kullanılabilceğini vurgulamışlardır [39].

Bitki lipazları çoğunlukla filizlerin besin deposu olan veya yüksek miktarda triaçilgliserol içeren dokularında, özellikle tohumlarında bulunmaktadır. Bazı tohum lipazları ve uygulama alanları Tablo 1'de verilmiştir [50].

Bitkisel lipaz kaynakları arasında ayçiçeği, mısır, soya, badem, Hindistan cevizi, yulaf, çörek otu gibi pek çok kaynak bulunmaktadır. Tablo 2'de lipaz elde edilen birçok bitkisel kaynak ve lipaz saflaştırma/teşhis/aktivite tayin yöntemleri özetlenmiştir.

Enzim aktivitesi, belirli bir enzim tarafından katalizlenen reaksiyon hızının, enzimin etkisiyle optimum koşullarda belirli bir sürede ürüne dönüştürülen substrat miktarına göre ifadesi olarak tanımlanmaktadır ve birçok çalışmada enzimlerin saflık derecesini gösteren spesifik aktiviteleri, enzim ünitesi (U)/mg protein olarak ifade edilmektedir. Poaceae familyasından 23 tür üzerinde yapılan bir çalışmada; türler arasında en yüksek düzeyde lipaz seviyesini (93.9 U/g tohum ve 4.4 U/mg protein) *A. fatua* (yabani yulaf) sergilemiştir [53]. Yapılan bir başka saflaştırma çalışmasında; Sephadex G-100 kullanılarak jel filtrasyon kromatografisi ile haşhaş tohumu lipazı 16.203 U/mg protein, spesifik aktivite ve % 5.30 verim ile 22.3 kat saflaştırılmıştır [77]. Kapranchikov ve arkadaşları ise sırasıyla izoelektrik çöktürme, PEG varlığında amonyum sülfat ile fraksiyonlama,

aktif kömür ile işleme, DEAE-selüloz iyon değişim kromatografisi, Sephadex G-25 ve Sephadex G-150 jel kromatografisi yöntemlerini uygulayarak, 143 ± 2 kDa moleküler ağırlığında buğday tohumu lipazı elde etmişlerdir. Bu çalışmada PEG varlığında amonyum sülfat ile fraksiyonlama; enzim inaktivasyonuna neden olabilen fenolik bileşikler de içeren sekonder metabolitlerden temizlenmiş fraksiyonlar elde edilmesini ve verimin artmasını sağlamıştır [81]. Belguith ve arkadaşları, çimlendirilmiş kanola tohumu çeneklerinden (*B. napus*, kolza) homojenizasyon, santrifüjleme ve afinite kromatografisi yöntemlerini kullanarak saflaştırdıkları 5.51 U/mg protein (91.83 nkat/mg) spesifik aktiviteye sahip lipaz enziminin homojenliğini, SDS-PAGE ve HPLC analizleri ile de kanıtlamışlardır. İmmünolojik saflaştırma tekniği sayesinde de saflaştırılmış lipazın spesifik aktivitesinin toplam % 35'lik bir verim eldesiyle yaklaşık 1950 kat saflaştırma faktörüyle zenginleştiği belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda; immünoafinite kolonundan alınan lipazın, yaklaşık 38.0387 kDa molekül ağırlığında monomerik bir protein olduğu saptanmıştır [56].

Bitki lipazları çeşitli yöntemlerle saflaştırılıyor olsa da, endüstriyel uygulamalar için bu tür protokollerin ölçeklendirilmesine ilişkin birtakım zorluklar mevcuttur. Bu zorluklardan bir tanesi de bitki lipazlarının henüz kristalize yapılarının olmayışdır. Günümüzde çeşitli modelleme yazılımları üzerinden, biyoinformatik araçların kullanıldığı modellemeler öne çıkmaktadır. Homoloji modellemesi yoluyla insan gastrik lipazının şablon olarak kullanıldığı, *Arabidopsis thaliana* lipazının (NP_179126) üç boyutlu yapısının tahmin edildiği bir kayıt bulunmaktadır [83].

Tablo 1. Bazı bitki tohumlarının endüstride kullanım alanları [50].

Bitki	Uygulama Alanı	Verim (%)
<i>Brassica napus</i> (Brassicaceae) Kanola	Düşük molekül ağırlıklı ester üretimi-esterifikasyon	96-98
<i>Hordeum vulgare</i> (Poaceae) Arpa	Düşük molekül ağırlıklı ester üretimi	40
<i>Linum usitatissimum</i> (Linaceae) Keten tohumu	Düşük molekül ağırlıklı ester üretimi	63
<i>Nigella sativa</i> (Ranunculaceae) Çörek otu	Yapılandırılmış lipit sentezi	31
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae) Fasülye	Yapılandırılmış lipit sentezi	53
<i>Triticum</i> sp. (Poaceae) Buğday	Esterifikasyon	99
<i>Vernonia galamensis</i> (Asteraceae)	Yağ hidrolizi	80
<i>Zea mays</i> (Poaceae) Mısır	Düşük molekül ağırlıklı ester üretimi	40

Tablo 2. Bitkisel Lipaz kaynakları ve saflaştırma/teşhis/aktivite tayin yöntemleri.

Bitki	Familya	Kullanılan Kısım	Saflaştırma/Teşhis/Aktivite Tayin Yöntemi	Kaynak
<i>Amygdalus communis</i> L. (Badem)	Rosaceae	Tohum	Amonyum sülfat ile ayrımsal damıtma ve diyaliz	[52]
<i>Avena fatua</i> L. (Yabani yulaf)	Poaceae	Tohum	DEAE-selüloz kolon kromatografisi	[53]
<i>Avena sativa</i> L. (Beyaz yulaf)	Poaceae	Filiz	Amonyum sülfat ile çöktürme, Sephadex G-25 ve CM-selüloz kolon kromatografisi, SDS-PAGE	[54]
<i>Brassica napus</i> L. (Kanola)	Brassicaceae	Tohum	İmmunolojik saflaştırma, Sephadex G-25 ve G-50, DEAE ve CM-selüloz kolon kromatografisi, Afinite kromatografisi, SDS-PAGE ve HPLC	[55, 56]
<i>Carica papaya</i> L. (Papaya)	Caricaceae	Lateks	Ekstraksiyon(0.1 M Tris-HCl, 1 M NaCl, % 0.5 N-lauril sarkosin, pH:8)	[57, 58]
<i>Cocos nucifera</i> L. (Hindistan cevizi)	Arecaceae	Tohum	Soxhlet ekstraksiyonu, Kolorimetri	[59]
<i>Coffea arabica</i> L. (Kahve)	Rubiaceae	Tohum	Kolorimetri	[60]
<i>Cucurbita moschata</i> Duch. (Bal kabağı)	Cucurbitaceae	Tohum	Sulu bifazik sistem (ATPS)	[61]
<i>Dianthus caryophyllus</i> L. (Karanfil)	Caryophyllaceae	Petal	Santrifüj flotasyonu, Gaz kromatografisi	[62]
<i>Euphorbia characias</i> L. (Akdeniz spurge)	Euphorbiaceae	Lateks	DEAE-selüloz kolon kromatografisi, SDS-PAGE	[63, 64]
<i>Ficus carica</i> L. (İncir)	Moraceae	Lateks	Silika jel kromatografisi, SDS-PAGE	[65]
<i>Glycine max</i> (L.) Merr. (Soya)	Fabaceae	Tohum	Aseton ve amonyum fosfat ile çöktürme, PAGE	[66]
<i>Helianthus annuus</i> L. (Ayçiçeği)	Asteraceae	Tohum	Sephadex G-75 kolon kromatografisi ve selüloz membran üzerinde diyaliz, Amonyum sülfat ile çöktürme ve PAGE	[67, 68]
<i>Jatropha curcas</i> L.	Euphorbiaceae	Tohum	Amonyum sülfat ile çöktürme ve ultrafiltrasyon, Jel kromatografisi, SDS-PAGE	[50, 69, 70]
<i>Laurus nobilis</i> L. (Defne)	Lauraceae	Tohum	Ekstraksiyon(100 mM, pH:7 Fosfat tamponu)	[71]
<i>Linum usitatissimum</i> L. (Keten tohumu)	Linaceae	Tohum	Jel permeasyon(geçirgenlik) kromatografisi (Sephacryl 5-300)	[72]
<i>Lupinus luteus</i> L. (Sarı acı bakla)	Fabaceae	Tohum	Sephadex G-25 kolon kromatografisi, Kolorimetri	[73]
<i>Nigella sativa</i> L. (Çörek otu)	Ranunculaceae	Tohum	DEAE-iyon değişimi kromatografisi	[74]
<i>Oryza sativa</i> L. (Pirinç)	Poaceae	Tohum	Oktil-Sefaroz kromatografisi	[75]
<i>Pachira aquatica</i> Aubl.	Malvaceae	Tohum	SDS-PAGE	[76]
<i>Papaver somniferum</i> L. (Haşhaş)	Papaveraceae	Tohum	Amonyum sülfat çöktürmesi ve Jel kromatografisi, SDS-PAGE	[77]
<i>Pistacia vera</i> L. (Antep fıstığı)	Anacardiaceae	Tohum	Sephadex G-100 jel filtrasyon kromatografisi, SDS-PAGE	[38]
<i>Ricinus communis</i> L. (Hint yağı bitkisi)	Euphorbiaceae	Tohum	Anyon değişimi, jel ve adsorpsiyon kromatografisi, SDS-PAGE	[78]
<i>Sesamum indicum</i> L. (Susam)	Pedaliaceae	Tohum	Titrimetri	[79]
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench (Sorgum)	Poaceae	Tohum	Titrimetri	[80]

Tablo 2. Devamı...

<i>Triticum aestivum</i> L. (Buğday)	Poaceae	Tohum	İzoelektrik çöktürme, polietilen glikol (PEG) varlığında amonyum sülfat ile fraksiyonlama, aktif kömür ile işleme, DEAE-selüloz iyon değişim kromatografisi, Sephadex G-25 ve Sephadex G-150 jel kromatografisi	[81]
<i>Zea mays</i> L. (Mısır)	Poaceae	Filiz	DEAE-selüloz kromatografisi ve sükröz yoğunluğu gradyanlı santrifüjleme, SDS-PAGE	[53, 82]

Karboksimetil(CM), Dietilaminoetil(DEAE), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi(HPLC), Poliakrilamid Jel Elektroforezi(PAGE), Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi(SDS-PAGE).

4. Lipaz Kullanım Alanları

Lipazlar, sıvı-katı yağ işlemede; kağıt, tekstil ve deri alanında: hidrofobik maddelerin uzaklaştırılmasında; çevre alanında: atık su ve endüstriyel atıkların arıtılmasında; tıp, ilaç ve kimya alanında: enzim tedavisi, ilaçların penetrasyonunu artırma, ester sentezi, enantiyomerlerin ayrılması, biyosensör üretimi, deterjan ve emülgatör üretimi, polimerlerin üretiminde; biyoyakıt alanında: biyodizel üretiminde; kozmetikte ve parfümeride; gıda sanayinde: fermentasyon ve gıda katkı maddelerinin üretimi, aroma ve lezzet artırma, doğal boya ve aromaların, emülgatörlerin sentezinde kullanımları gibi çok çeşitli endüstriyel uygulamalara dahil edilmiştir [41]. Özellikle gıda sanayinde lipaz enzimlerinin; peynir, tereyağı, sos ve çorba gibi birçok ürünün üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmasıyla geleneksel kimyasal işlemlerin yerini enzim destekli üretim almıştır. Lipazlar, tat üzerinde yaptıkları etkilerin yanı sıra, yağ asidi kombinasyonlarının değiştirilmesi ve bu yolla besinsel kalitenin artırılması amacıyla süt yağının işlenmesinde de sıklıkla tercih edilirler [84]. İmmobilize mikrobiyal lipazlar, omega-3 gibi çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) üretiminde oldukça önemlidir [8].

Lipazlar, çeşitli hastalıklarda teşhis aracı olarak da kullanılmaktadır. Yüksek ve düşük lipaz seviyeleri belirli hastalıkların varlığını göstermektedir. Lipoprotein lipaz, çok düşük yoğunluklu lipoprotein tarafından taşınan trigliseritleri hidroliz ederek hücrelerde yağ asidi oluşmasını sağlar. Hepatositler tarafından salgılanan hepatik lipazlar, fosfolipitleri ve triaçilgliserollerini hedeflemektedir. Düşük yoğunluklu lipoproteinlerin, orta yoğunluklu lipoproteinlerin ve yüksek yoğunluklu lipoprotein parçacıklarının sindirimine katılır. Bu tür lipazların aktivitesinin azalması, koroner kalp enfeksiyonlarının ve aterosklerozun başlangıcı veya ilerlemesi ile ilişkilidir [85]. Lipazlar, trigliserolün kantitatif tayini için hızlı, verimli ve doğru sonuçlar veren biyosensörler olarak kullanılırlar. Lipaz aktivitesi/

seviye tayini başlıca pankreas hasarı, akut pankreatit ve kalp rahatsızlıklarının tanısında önemlidir [28]. Pankreas hastalıklarının teşhisinde veya pankreasın işlevinin değerlendirilmesinde kullanılan lipaz testi, enzimin birim hacimdeki kanda yer alan miktarının araştırılması şeklinde yapılır. Bazı laboratuvarlarda sağlıklı bireylerde serum lipaz seviyesinin 10-140 U/L aralığında olması istenir. Yapılan kan testi sonucunda lipaz düzeyinin bu değer altında bulunması, pankreasın işlevini yeterli düzeyde yerine getiremediğini veya kistik fibrozis gibi kronik bir hastalığın varlığını işaret ediyor olabilir. Serum lipaz düzeyinin referans aralıklarının üzerinde olması durumunda ise pankreas hastalıkları, safra kesesi hastalıkları, pankreas kanserleri, bağırsak hastalıkları, bazı mide hastalıkları ile siroz, çölyak gibi pek çok hastalık rol oynayabilir. Bu nedenle lipaz yüksekliği olan hastalarda daha ileri kan testleri ile birlikte radyolojik görüntüleme teknikleri uygulanarak sorunun kaynağına yönelik detaylı incelemeler yapılır [86].

Eksojen diğer kaynaklardan alınan lipazların tersine, aside dayanıklı bitki lipazlarının mide asidi tarafından yok edilememelerinden yola çıkılarak yapılan bir çalışmada; 11 bitki lipazının kistik fibrozis ve Shwachman-Diamond Sendromu gibi hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan pankreas yetmezliği hastalarının tedavisindeki tıbbi kullanımı araştırılmıştır. Çalışmada yulaftan elde edilen lipazın, basit saflaştırma yöntemleri geliştirilerek, özellikle kistik fibrozis kökenli pankreas yetersizliği hastalarının tedavisinde kullanım için, aside dayanıklı lipaz kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır [87].

Enzim tedavisi, ekzokrin pankreatik yetmezlik ve laktöz intoleransı gibi sindirim malabsorpsiyon bozuklukları için güvenli bir tedavi sağlar. Genel malabsorpsiyon bozuklukları için enzim takviyesi önerisi: öğün başına 25.000-40.000 birim domuz lipazı veya 18.750-30.000 birim mantar lipazı eşdeğerindedir. Genellikle tedavide hayvansal kaynaklı enzimler

kullanılmaktadır. Bitki ve mikroorganizma kaynaklı enzimler üzerinde yapılan gün geçtikçe artan çalışmalar, sindirim enzimi tedavisinde büyük umut vadetmektedir [88].

Lipaz enzimi tedavisinin yan etkileri azdır. Komplasyonlar aşırı dozlamadan veya enzim kaynağına (örneğin: domuz, *Aspergillus* sp. veya ananasa) karşı alerjik reaksiyondan kaynaklanır. Aşırı dozlama durumunda, geçici gastrointestinal rahatsızlıklar ortaya çıkabilir. Hiperürisemi (idrarda aşırı ürik asit) ve hiperürisemi (kanda aşırı ürik asit) aşırı yüksek dozlarla eksojen pankreatik enzimlerle ilişkili olabilir [88].

Birçok hastalığın tedavisinde enzimlerin yanı sıra enzim inhibitörleri de oldukça önemlidir. Anti-obezite ilaçları olarak lipaz inhibitörleri öne çıkmaktadır. Obesite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Diyet yağı bağırsakta pankreatik lipaz tarafından parçalanır ve bağırsak tarafından emilir; dolayısıyla pankreatik lipaz, diyet triaçilgliserollerinin sindirimi için en hayati enzim olarak nitelendirilmektedir. Bu durumda pankreatik lipazlarının engellenmesi de bağırsak tarafından emilen yağ miktarını azaltacağından, pankreatik lipaz inhibitörleri obesite tedavisi için umut vadetmektedir [85].

5. Sonuç

Enzimler çoğu yaşamsal olayın gerçekleşebilmesi için ihtiyaç duyulan, yüksek katalitik aktiviteye sahip, substrata özgü protein yapısında makromoleküllerdir. Lipazlar (Triaçilgliserol açıl hidrolazlar-E.C.3.1.1.3), milyon dolarlık henüz az keşfedilmiş lipit teknolojisi biyo endüstrisine katkıda bulunma potansiyeli olan enzimlerdendir. Lipit metabolizmasında ve *ex situ* çok yönlü endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Özellikle gıda ve ilaç endüstrilerinde önemli amaçlarla kullanımları bulunmaktadır. Bazı lipazlar ilaç şirketleri tarafından potansiyel terapötik ajan olarak hedeflenmiştir. Lipazlar hayvan, bitki, bakteri, mantar ve alg gibi çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedirler. Bitkiler ve hayvanlarla karşılaştırıldığında, mikroorganizmaların yüksek miktarda lipaz ürettiği saptanmıştır. Mantar lipazları, katalitik aktiviteleri, düşük üretim maliyeti ve genetik manipülasyondaki nispi kolaylığı nedeniyle büyük ölçekli işlemlerde en iyi hücre dışı lipaz kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Çoğu endüstriyel enzimler gibi lipazlar da rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmektedir. Bitki

lipazları; ökaryotik kökenli olması, katalitik aktivitelerinin oldukça yüksek olması, eldelerinde istenmeyen yan ürünlerin oluşmaması ve kısmi saflaştırılmış aşamada kullanılabilme özellikleri nedeniyle oldukça avantajlıdırlar. Lipaz eldesinde kullanılacak saflaştırma yönteminin seçimi: enzimin özelliklerine, ekstraktın bileşimine ve işlemin genel maliyetine bağlıdır. Bitki lipazlarının saflaştırılması amacıyla yapılan çalışmalar incelendiğinde, en avantajlı yöntemin immünolojik saflaştırma tekniği olduğu görülmektedir. İmmünolojik saflaştırma tekniğinin literatürde çok az örneği bulunmaktadır. Lipaz enziminin birçok alanda kullanılıyor olması nedeniyle; bitkisel kaynakların ve bitki lipazlarının eldesi, karakterizasyonu, fonksiyonel özelliklerinin ve kullanımlarının detaylandırılması, endüstriyel üretime uygulanabilecek şekilde saflaştırılmasında etkili yöntemlerin geliştirilmesi konularında yapılacak çalışmalar önem taşımaktadır. Bitki lipazları üzerinde daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Ferrier DR: Biochemistry. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2014.
2. Barbosa O, Ortiz C, Berenguer-Murcia Á, Torres R, Rodrigues RC, Fernandez-Lafuente R: Glutaraldehyde in bio-catalysts design: a useful crosslinker and a versatile tool in enzyme immobilization. Royal Society of Chemistry 2014, 4: 1583-1600.
3. Gurung N, Ray S, Bose S, Rai V: A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. BioMed Research International, 2013.
4. Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U. C: Production, purification, characterization, and applications of lipases. Biotechnology Advances 2001, 19(8), 627-662.
5. Zhu X, Ye A, Verrier T, Singh H: Free fatty acid profiles of emulsified lipids during *in vitro* digestion with pancreatic lipase. Food Chemistry 2013, 139(1-4): 398-404.
6. Patil KJ, Chopda MZ, Mahajan RT: Lipase biodiversity. Indian Journal of Science and Technology 2011, 4(8): 971-982.
7. Hasan F, Shah AA, Hameed A: Industrial applications of microbial lipases. Enzyme and Microbial Technology 2006, 39(2): 235-251.
8. Ugo AK, Amara AV, Kenechuwku U, Igwe CN: Microbial lipases: a prospect for biotechnological industrial catalysis for green products: a review. Fermentation Technology 2017, 6(144): 2-12.
9. Babu IS, Rao GH: Optimization of process parameters for the production of lipase in submerged fermentation by *Yarrowia*

- lipolytica NCIM 3589. Research Journal of Microbiology 2007, 2(1): 88-93.
10. Li CY, Cheng CY, Chen TL: Fed-batch production of lipase by *Acinetobacter radioresistens* using Tween 80 as the carbon source. Biochemical Engineering Journal 2004, 19(1): 25-31.
 11. Rai S, Vasava H, Upadhaya D: Bacterial Lipase: A Review. Studies in Indian Place Names 2020, 40(71): 200-208.
 12. Dutta S, Ray L: Production and characterization of an alkaline thermostable crude lipase from an isolated strain of *Bacillus cereus* C₇. Applied Biochemistry and Biotechnology 2009, 159(1): 142-154.
 13. Mnisi SM, Louw ME, Theron J: Cloning and characterization of a carboxylesterase from *Bacillus coagulans* 81-11. Current Microbiology 2005, 50(4): 196-201.
 14. Ramchuran SO, Vargas VA, Hatti-Kaul R, Karlsson EN: Production of a lipolytic enzyme originating from *Bacillus halodurans* LBB2 in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. Applied Microbiology and Biotechnology 2006, 71(4): 463-472.
 15. Sangeetha R, Geetha A, Arulpani I: Concomitant production of protease and lipase by *Bacillus licheniformis* VSG1: production, purification and characterization. Brazilian Journal of Microbiology 2010, 41(1): 179-185.
 16. Sangeetha R, Geetha A, Arulpani I: Concomitant production, partial purification and characterization of a serine protease and a proteolysis-resistant metalloproteinase from *Bacillus pumilus* SG2. Zeitschrift für Naturforschung C 2010, 65(1-2): 61-65.
 17. Ahmed EH, Raghavendra T, Madamwar D: A thermostable alkaline lipase from a local isolate *Bacillus subtilis* EH 37: characterization, partial purification, and application in organic synthesis. Applied Biochemistry and Biotechnology 2010, 160(7): 2102-2113.
 18. Quyen DT, Schmidt-Dannert C, Schmid RD: High-level expression of a lipase from *Bacillus thermocatenuatus* BTL2 in *Pichia pastoris* and some properties of the recombinant lipase. Protein Expression and Purification 2003, 28(1): 102-110.
 19. Wang X, Yu X, Xu Y: Homologous expression, purification and characterization of a novel high-alkaline and thermal stable lipase from *Burkholderia cepacia* ATCC 25416. Enzyme and Microbial Technology 2009, 45(2): 94-102.
 20. Arpigny JL, Jaeger KE: Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. Biochemical Journal 1999, 343(1): 177-183.
 21. Long ZD, Xu JH, Zhao LL, Pan J, Yang S, Hua L: Overexpression of *Serratia marcescens* lipase in *Escherichia coli* for efficient bioreduction of racemic ketoprofen. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 2007, 47(3-4): 105-110.
 22. Madan B, Mishra P: Co-expression of the lipase and foldase of *Pseudomonas aeruginosa* to a functional lipase in *Escherichia coli*. Applied Microbiology and Biotechnology 2010, 85(3): 597-604.
 23. Yang J, Zhang B, Yan Y: Cloning and expression of *Pseudomonas fluorescens* 26-2 lipase gene in *Pichia pastoris* and characterizing for transesterification. Applied Biochemistry and Biotechnology 2009, 159(2): 355-365.
 24. Talon R, Montel MC, Berdague JL: Production of flavor esters by lipases of *Staphylococcus warneri* and *Staphylococcus xylosus*. Enzyme and Microbial Technology 1996, 19(8): 620-622.
 25. Tripathi MK, Roy U, Jinwal UK, Jain SK, Roy PK: Cloning, sequencing and structural features of a novel *Streptococcus* lipase. Enzyme and Microbial Technology 2004, 34(5): 437-445.
 26. Singh AK, Mukhopadhyay M: Overview of fungal lipase: a review. Applied Biochemistry and Biotechnology 2012, 166(2): 486-520.
 27. Mehta A, Bodh U, Gupta R: Fungal lipases: a review. Journal of Biotech Research 2017, 8: 58-77.
 28. Gunasekaran V, Das D: Lipase fermentation: progress and prospects. Indian Journal of Biotechnology 2005, 4: 437-445.
 29. Vakhlu J: Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. Electronic Journal of Biotechnology 2006, 9(1): 69-85.
 30. Saxena RK, Davidson WS, Sheoran A, Giri B: Purification and characterization of an alkaline thermostable lipase from *Aspergillus carneus*. Process Biochemistry 2003, 39(2): 239-247.
 31. Ginalska G, Banczerz R, Kornilowicz-Kowalska T: A thermostable lipase produced by a newly isolated *Geotrichum*-like strain, R59. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 2004, 31(4): 177-182.
 32. Attar A: Geri Dönüşümlü Karton Üretim İşleminde Pitch Bi-leşiklerinin Küf Mantarı Lipazı Kullanılarak Degrade Edilmesi (Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü) 2010.
 33. Yang F, Weber TW, Gainer JL, Carta, G: Synthesis of lovastatin with immobilized *Candida rugosa* lipase in organic solvents: effects of reaction conditions on initial rates. Biotechnology and Bioengineering 1997, 56(6): 671-680.
 34. Borrelli GM, Trono D: Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. International Journal of Molecular Sciences 2015, 16(9): 20774-20840.
 35. Mendes AA, Oliveira PC, Castro HF: Properties and biotechnological applications of porcine pancreatic lipase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 2012, 78: 119-134.

36. Aryee AN, Simpson BK, Villalonga R: Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*): Isolation, partial purification and some biochemical characteristics. *Enzyme and Microbial Technology* 2007, 40(3): 394-402.
37. Campillo-Alvarado, G, Tovar-Miranda, R: Recent advances and applications of the lipolytic activity of *Carica papaya* latex. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2013, 90: 49-60.
38. Mercan Ülkü D: Antep fıstığı bitkisinden (*Pistacia vera* L.) lipaz enzimi saflaştırılması ve kinetik özelliklerinin incelenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü) 2018.
39. Mounquengui RWM, Brunschwig C, Baréa B, Villeneuve P, Blin J: Are plant lipases a promising alternative to catalyze transesterification for biodiesel production? *Progress in Energy and Combustion Science* 2013, 39(5): 441-456.
40. Nelson DL, Cox MM: Lehninger biyokimyanın ilkeleri (Çevirici: Nedret K.), Palme Yayıncılık; Ankara, Türkiye, 2005.
41. Gonçaves-Filho D, Silva AG, Guidini CZ: Lipases: sources, immobilization methods, and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2019, 103(18): 7399-7423.
42. Villeneuve P, Muderhwa JM, Graille J, Haas MJ: Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2000, 9(4-6): 113-148.
43. Messaoudi A, Belguith H, Gram I, Hamida JB: Classification of EC 3.1.1.3 bacterial true lipases using phylogenetic analysis. *African Journal of Biotechnology* 2010, 9(48): 8243-8247.
44. Koç MY: *Geobacillus* türlerinde termostabil lipaz üretimi (Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı) 2013.
45. Avramiuc M: Comparative study on the Lipase activity from plant sources, under various conditions of pH, temperature and Substrate. *Food And Environment Safety Journal* 2016, 15(1): 21-28.
46. Javed S, Azeem F, Hussain S, Rasul I, Siddique MH, Riaz M, Afzal M, Kouser A, Nadeem H: Bacterial lipases: A review on purification and characterization. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2018, 132: 23-34.
47. Fogarty WM, Kelly CT: *Microbial Enzymes and Biotechnology*. Springer Science & Business Media; New York, USA, 2012.
48. Freire DMG, Castilho, LR: Lipases from solid-state and submerged fermentations. *Revista Brasileira de Farmácia* 2000, 81: 48-56.
49. Villeneuve P: Plant lipases and their applications in oils and fats modification. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2003, 105(6): 308-317.
50. Barros M, Fleuri LF, Macedo GA: Seed lipases: sources, applications and properties-a review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 2010, 27(1): 15-29.
51. Santos KC, Cassimiro DM, Avelar MH, Hirata DB, Castro HF, Fernández-Lafuente R, Mendes AA: Characterization of the catalytic properties of lipases from plant seeds for the production of concentrated fatty acids from different vegetable oils. *Industrial Crops and Products* 2013, 49: 462-470.
52. Yeşiloğlu Y, Başkurt L: Partial purification and characterization of almond seed lipase. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 2008, 38(4): 397-410.
53. Mohamed MA, Mohamed TM, Mohamed SA, Fahmy AS: Distribution of lipases in the Gramineae. Partial purification and characterization of esterase from *Avena fatua*. *Bioresource Technology* 2000, 73(3): 227-234.
54. Jung H, Moon S: Purification, distribution, and characterization activity of lipase from oat seeds (*Avena sativa* L.). *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 2013, 56(6): 639-645.
55. Sana NK, Hossin I, Haque EM, Shaha RK: Identification, purification and characterization of lipase from germinating oil seeds (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2004, 7(2): 246-252.
56. Belguith H, Fattouch S, Jridi T, Hamida B: Immunopurification of a rape (*Brassica napus* L.) seedling lipase. *African Journal of Biochemistry Research* 2009, 3(11): 356-365.
57. Giordani R, Moulin A, Verger R: Tributylrolylglycerol hydrolyase activity in *Carica papaya* and other latices. *Phytochemistry* 1991, 30(4): 1069-1072.
58. Rivera I, Mateos-Díaz JC, Sandoval G. Plant lipases: partial purification of *Carica papaya* lipase. In: Sandoval G (eds), *Lipases and Phospholipases*. Humana Press; Guadalajara, Mexico. 2012: pp 115-122.
59. Ejedegba BO, Onyeneke EC, Oviasogie PO: Characteristics of lipase isolated from coconut (*Cocos nucifera* linn) seed under different nutrient treatments. *African Journal of Biotechnology* 2007, 6(6): 723-727.
60. Patui S, Clincon L, Peresson C, Zancani M, Conte L, Del Terra L, Navarini L, Vianello A, Braidot E: Lipase activity and antioxidant capacity in coffee (*Coffea arabica* L.) seeds during germination. *Plant Science* 2014, 219-220: 19-25.
61. Amid M, Manap MY, Hussin M, Mustafa S: A novel aqueous two phase system composed of surfactant and xylitol for the purification of lipase from pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds and recycling of phase components. *Molecules* 2015, 20(6): 11184-11201.
62. Hong Y, Wang TW, Hudak KA, Schade F, Froese CD, Thompson JE: An ethylene-induced cDNA encoding a lipase expres-

- sed at the onset of senescence. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2000, 97(15): 8717-8722.
63. Padiglia A, Medda R, Lorrain A, Murgia B, Pedersen JZ, Agró AF, Floris G: Characterization of *Euphorbia characias* latex amine oxidase. Plant Physiology 1998, 117(4): 1363-1371.
64. Paques FW, Macedo GA: Lipases de látex vegetais: propriedades e aplicações industriais. Química Nova 2006, 29(1): 93-99.
65. Lazreg-Aref H, Mosbah H, Fekih A, Mars M, Said K: Purification and biochemical characterization of lipase from *Ficus carica* latex of Tunisian East Coast Zidi variety. Journal of the American Oil Chemists' Society 2012, 89(10): 1847-1855.
66. Gadge PP, Madhikar SD, Yewle JN, Jadhav UU, Chougale AD, Zambare VP, Padul MV: Biochemical studies of lipase from germinating oil seeds (*Glycine max*). American Journal of Biochemistry and Biotechnology 2011, 7(3): 141-145.
67. Sağıroğlu A, Arabacı N: Purification and characterization of lipase from sunflower seed. Preparative Biochemistry & Biotechnology 2005, 35(1): 37-51.
68. Madhikar SD, Gadge PP, Yewle JN, Jadhav UU, Chougale AD, Zambare VP, Padul MV: Isolation, partial purification and characterization of Lipase from sunflower germinating oil seeds. International Journal of Biosciences and Biotechnology 2011, 1(4): 410-415.
69. Abigor RD, Uadia PO, Foglia TA, Haas MJ, Scott K, Savary BJ: Partial purification and properties of lipase from germinating seeds of *Jatropha curcas* L. Journal of the American Oil Chemists' Society 2002, 79(11): 1123-1126.
70. Sousa JS, Cavalcanti-Oliveira EDA, Aranda DAG, Freire DMG: Application of lipase from the physic nut (*Jatropha curcas* L.) to a new hybrid (enzyme/chemical) hydroesterification process for biodiesel production. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 2010, 65(1-4): 133-137.
71. İşbilir SS, Özcan HM, Yağar H: Some biochemical properties of lipase from bay laurel (*Laurus nobilis* L.) seeds. Journal of the American Oil Chemists' Society 2008, 85(3): 227-233.
72. Sammour RHA: Purification and partial characterisation of an acid lipase in germinating lipidbody linseedlings. Turkish Journal of Botany 2005, 29(3): 177-184.
73. Sanz LC, Olias JM: Characterization of lupin seed lipase. Food Chemistry 1990, 37(3): 221-228.
74. Tüter M, Secundo F, Riva S, Aksoy HA, Üstün G: Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in transesterification reactions. Journal of the American Oil Chemists' Society 2003, 80(1): 43-48.
75. Bhardwaj K, Raju A, Rajasekharan R: Identification, purification, and characterization of a thermally stable lipase from rice bran. A new member of the (phospho) lipase family. Plant Physiology 2001, 127(4): 1728-1738.
76. Polizelli PP, Facchini FDA, Cabral H, Bonilla-Rodriguez GO: A new lipase isolated from oleaginous seeds from *Pachira aquatica* (Bombacaceae). Applied Biochemistry and Biotechnology 2008, 150(3): 233-242.
77. Şahan M: Haşhaş (*Papaver Somniferum* L.) Tohumundan Lipaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü) 2018.
78. Fuchs C, Vine N, Hills MJ: Purification and characterization of the acid lipase from the endosperm of castor oil seeds. Journal of Plant Physiology 1996, 149(1-2): 23-29.
79. Wanasundara PKJPD, Wanasundara UN, Shahidi F: Lipolytic activity of enzymes from germinating seeds of sesame (*Sesamum indicum* L.). Journal of Food Lipids 2001, 8(2): 75-84.
80. Nwanguma BC, Eze MO, Ezenowa OO: Changes in activity of sorghum lipase during malting and mashing. Journal of the Institute of Brewing 1996, 102(1): 39-41.
81. Kapranchikov VS, Zherebtsov NA, Popova TN: Purification and characterization of lipase from wheat (*Triticum aestivum* L.) germ. Applied Biochemistry and Microbiology 2004, 40(1): 84-88.
82. Lin YH, Huang AH: Purification and initial characterization of lipase from the scutella of corn seedlings. Plant Physiology 1984, 76(3): 719-722.
83. Seth S, Chakravorty D, Dubey VK, Patra S: An insight into plant lipase research—challenges encountered. Protein Expression and Purification 2014, 95: 13-21.
84. Öztürk B: Lipaz enzimi: Yapısal özellikleri ve uygulama alanları. Gıda mühendisliği Dergisi 2002, 12: 20-23.
85. Jawed A, Singh G, Kohli S, Sumera A, Haque S, Prasad R, Paul D: Therapeutic role of lipases and lipase inhibitors derived from natural resources for remedies against metabolic disorders and lifestyle diseases. South African Journal of Botany 2019, 120: 25-32.
86. Özcan C. Lipaz (LPS) nedir? Lipaz düşüklüğü ve yüksekliği ne anlama gelir; 2020 March 5. Available from: <https://www.medicalpark.com.tr/lipaz/hg-2194> [Website]
87. Tursi JM, Phair PG, Barnes GL: Plant sources of acid stable lipases: potential therapy for cystic fibrosis. Journal of Paediatrics and Child Health 1994, 30(6): 539-543.
88. Roxas M: The role of enzyme supplementation in digestive disorders. Alternative Medicine Review 2008, 13(4): 307-314.