

## Fungal Lipazlar ve Endüstride Kullanım Alanları

### Ülküye Dudu GÜL

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, 11210 Gölümbe, BİLECİK

Tel: +90 0228 2141374; E-Posta Adresi: [ulkuyedudu.gul@bilecik.edu.tr](mailto:ulkuyedudu.gul@bilecik.edu.tr)

Geliş Tarihi:19.02.2013; Kabul Tarihi:08.06.2013

#### Özet

Hücrel yapılar için önemli metabolik görevleri olan enzimler çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere gündelik ve ekonomik hayata girmiştir. Endüstrinin hemen her alanında kullanılan lipazlar genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Çünkü mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel ve hayvansal enzimlere göre katalitik aktivitelerinin çok yüksek olması, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları ve fazla miktarda elde edilebilmeleri gibi avantajları vardır. Fungus türleri pH, sıcaklık gibi faktörlere karşı dayanıklı oldukları ve fungal biyokütleden enzim ekstraksiyonu diğer mikrobiyal lipazlara göre daha ucuz olduğu için lipaz üretiminde tercih edilmektedir. Fungal lipazlar gıda, deterjan ve ilaç endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu makalede endüstriyel alanda yaygın kullanım alanına sahip olan lipaz enzimleriyle ilgili literatür irdelenmiştir.

#### Anahtar kelimeler

Endüstri; Enzim;  
Mantar; Lipaz.

## Fungal Lipases and Use in Industrial Areas

#### Abstract

Enzymes, which have important roles in cellular metabolism, were used as variety of purposes in daily and economical life. Lipases that are extensively used in industry are usually obtained from microorganisms. Hence, enzymes are produced by microorganisms have some advantages when compared with enzymes produced by plants or animals such as having higher catalytic activity, not forming undesirable by-products, being more stable and relatively cheap, and obtaining much quantity. Fungal species have more resistance to environmental conditions such as pH and temperature than other microbial species and the extraction of fungal enzymes are cheaper than other microbial enzyme extraction. Because of these advantages fungal biomasses are prepared for lipase production. Fungal lipases are extensively used in food, detergent and pharmaceutical industries. In this article relevant publications about fungal lipase that have mostly convenient enzymes in industrial areas were reviewed.

#### Key words

Enzyme; Fungi;  
Industry; Lipase

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

### 1. Giriş

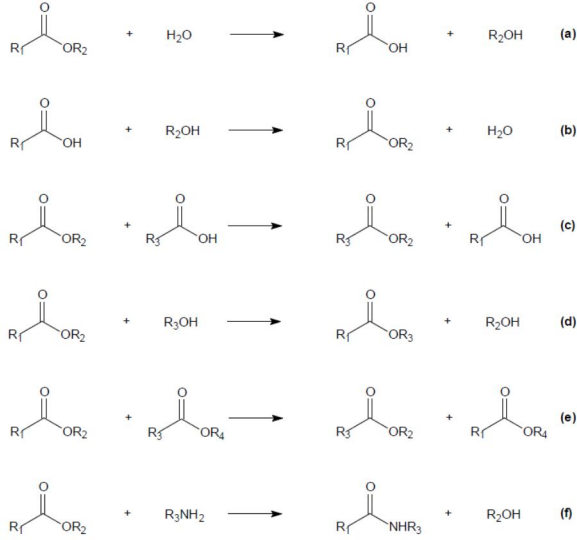
Lipazlar fizyolojik ve endüstriyel anlamda önemli enzimlerdir. Lipitler dünyadaki biyokütlenin çok büyük bir kısmını oluştururlar ve lipolitik enzimler suda çözünmeyen bu bileşiklerin çevriminde önemli rol oynarlar. Ökaryot ve prokaryotlarda lipazlar lipit metabolizmasında hidroliz ve sentez reaksiyonlarında görev yaparlar. Lipazlar (triacilgliserol açilhidrolazlar; EC 3.1.1.3) uzun zincirli yağ asitlerinin gliserol esterlerini parçalayan enzimlerdir (Prazeres ve ark., 2006; Babu ve Rao, 2007). Günümüzde enzimler için yapılan

sınıflandırma sisteminde lipazlara E.C.3.1.1.3 numarası verilmiştir (Şekil 1).

Lipazların katalizlediği reaksiyonlar (Şekil 2); hidroliz, alkoliz, asidoliz, aminoliz, esterifikasyon, transesterifikasyon ve interesterifikasyon reaksiyonları şeklindedir (Davranov, 1994; Savitha ve ark., 2007).

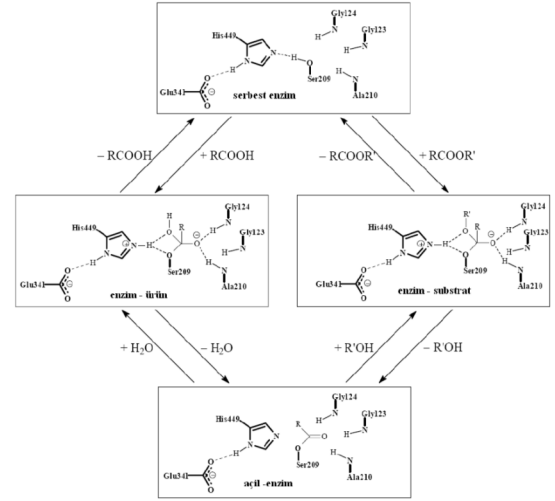


Şekil 1. Lipaz enziminin sınıflandırılması



Şekil 2. Lipazların katalizlediği reaksiyonlar; (a) hidroliz, (b) esterifikasyon, (c) asidolizle transesterifikasyon, (d) alkolizle transesterifikasyon, (e) interesterifikasyon, (f) aminoliz

Lipazların görev aldığı biyokimyasal yolda enzim substrat etkileşimi iki basamakta olmaktadır (Şekil 3). Birinci basamakta tetrahedral etkileşim ile açıl-enzim kompleksi meydana gelir. Bu esnada etkileşim bölgesindeki oksijen atomları negatif yüklenerek peptit zincirindeki iki NH grubunun kararlı hale gelmesini sağlar. Oluşan bu yapıya oksianyon deliği denir. İkinci basamak ise açıl-enzim kompleksinin hidrolizidir. His kalıntısı nükleofilik su molekülünü aktive eder ve reaksiyon ikinci etkileşim ile devam eder. Oluşan asidik ürün ayrılır ve enzim serbest kalır (Monecke ve ark., 1998).



Şekil 3. Lipazların görev aldığı biyokimyasal yolda enzim substrat etkileşimi

Lipazlar tarafından katalizlenen reaksiyonlar çift yönlüdür ve bu enzimler gliserolün mono, di ve trigliserit esterifikasyonunu katalizlemektedir (Nwuche ve Ogbonna 2011). Lipazların en önemli özelliklerini aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Büyük oranda kemoselektivite, regioselektivite ve stero-selektivite gösterirler (Snellman ve ark., 2002).
- Mantar, maya ve bakteri gibi mikroorganizmalarca büyük miktarda üretilirler.
- Birçok lipazın kristal yapıları çözülmüştür ve istenen amaç doğrultusunda protein mühendisliği yoluyla olası dizaynları yapılmaktadır.
- Kofaktör gerektirmezler ve yan reaksiyonları katalizleyebilirler.
- Organik çözücülerde kararlıdır.
- Çok geniş substrat spesifikliği gösterirler.

Bu özelliklerinden dolayı lipazlar biyoteknolojide yaygın olarak kullanılan enzimler arasında önemli bir grubu oluştururlar. Özellikle mikrobiyal lipazlar üretiminin kolaylığından dolayı ticari öneme sahiptirler (Jaeger ve Eggert, 2002). Çeşitli bakteri türleri ve fungus türleri mikrobiyal lipazları üretmektedirler. Fungus türleri pH, sıcaklık gibi faktörlere karşı dayanıklı oldukları ve ekstraksiyonları diğer mikrobiyal lipazlara göre daha ucuz olduğu için lipaz üretiminde tercih edilmektedirler (Kishore ve ark., 2011). Fungal

lipazlar gıda, deterjan ve farmosötik endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptirler (Houde ve ark., 2004). Bu çalışmada fungal lipazların üretimi ile endüstriyel alanda güncel ve potansiyel uygulama alanlarından söz edilecektir.

## 2. Fungal Lipaz Üretimi

Lipaz üreten mikroorganizmalar, endüstriyel atıklar (Sztajer ve ark., 1988, Gombert ve ark., 1999), bitkisel yağ işleme fabrikaları, süt ürünleri (Abdou 2003, Kim ve ark., 2004), yağlarla kontamine olmuş topraklar başta olmak üzere değişik topraklar (Haba ve ark., 2000, Jinwall ve ark., 2003), yağ içeren tohumlar (Köse ark., 2002), çürümüş gıdalar (Sztajer ve ark., 1988) ve kompost yığınları (Tsai ve ark., 2007) gibi çeşitli habitatlardan izole edilmektedirler. Süt yağı ve zeytinyağı gibi yağlar, lipaz üretimini uyarmaları nedeniyle (Stead 1986, Aires-Barros ve ark., 1994) lipaz aktivitesi gösteren mikroorganizmaların izolasyonu için uygun bir vasat niteliği taşır. Genel olarak lipaz üretimi için bir organik azot kaynağının ve yağlar, yağ asitleri, gliserol gibi lipidik karbon kaynağının bulunması yeterlidir (Gupta ve ark., 2004). Bunların yanı sıra mutasyonlara neden olan çeşitli kimyasallar ve bazı metal iyonları fungal lipaz üretimini arttırmaktadır. Fungal lipazlar mantar türleri tarafından lipitleri parçalamak için üretilen enzimlerdir. Lipitler suda çözünmedikleri için hücre içine alınamazlar. Dolayısıyla onları hücre dışında parçalamak gerekmektedir. Bu nedenle birçok lipaz hücre dışına salgılanmaktadır. Lipaz enzimi üreten mantar türleri Tablo 1’de verilmiştir. Yapılan araştırmalar gösteriyor ki sıcaklık, pH, karbon, azot ve lipit kaynakları ve çözünmüş oksijen konsantrasyonu gibi birçok çevresel faktör lipaz üretimini etkilemektedir (Sharma ve ark., 2001).

### 2.1. Lipaz üretime karbon kaynaklarının etkisi

Lipaz üretimini etkileyen faktörlerden biride karbon kaynağıdır (Immanuel ve ark., 2008). Lipaz üreten bir fungus olan *C. rugosa* türünün besiyerine karbon kaynağı olarak oleik asit eklendiğinde lipaz üretimi indüklenmektedir. *R. oryzae* türünün geliştirildiği besiyeri bileşimine karbon kaynağı

olarak mısır yağı eklendiğinde hem lipaz üretimi hem de hücre büyümesi artmaktadır (Sharma ve ark., 2001). Son yıllarda yapılan bir çalışmada fungal lipaz üretimine besiyeri içeriğinde bulunan glikoz, nişasta, maltoz ve fruktoz gibi karbon kaynaklarının etkisi araştırılmış ve fungal kültürler tarafından en iyi lipaz üretiminin fruktoz bulunan ortamda gerçekleştiği tespit edilmiştir (Thota ve ark., 2012).

**Tablo 1.** Lipaz enzimi üreten mantar türleri

Cins	Tür	Referanslar
Rhizopus	<i>R. delemar</i>	(Klein ve ark., 1997)
	<i>R. oryzae</i>	(Resina ve ark., 2004)
	<i>R. arrhizus</i>	(Elibol and Ozer 2001)
	<i>R. nigricans</i>	(Ghosh ve ark.,1996)
	<i>R. homothallicus</i>	(Diaz ve ark., 2006)
	<i>R. niveus</i>	(Thota ve ark., 2012)
Mucor	<i>M. miehei</i>	(Handayani ve ark., 2012)
Humicola	<i>H. lanuginosa</i>	Venkateshwarlu ve Reddy, 1993)
Aspergillus	<i>A. flavus</i>	(Long ve ark., 1998)
	<i>A. niger</i>	(Mhetras ve ark., 2008)
	<i>A. japonicus</i>	(Jayaprakash ve Ebenezer, 2010)
Candida	<i>C. rugosa</i>	(Pernas ve ark., 2001)
	<i>C. cylindracea</i>	(Suen ve ark., 2004)
	<i>C. deformans</i>	(Brunel ve ark., 2004)

### 2.2. Lipaz üretime azot kaynaklarının etkisi

Termofilik bir mantar olan *R. oryzae* türünün lipaz üretim besiyerine azot kaynağı olarak pepton eklendiğinde maksimum düzeyde lipaz ürettiği saptanmıştır. Termofilik mantar olan *Aspergillus rugulosus*, *Humicola sp.* ve *Thermomyces lanuginosus* türünün termostabil lipaz üretimi için besiyerine azot kaynağı olarak maya ekstraktı eklendiğinde en yüksek düzeyde enzim üretimi gerçekleşmiştir (Sharma ve ark., 2001).

### 2.3. Lipaz üretime pH'nin etkisi

Lipaz üreten bir mantar türü olan *R. nigricans* pH (4.0- 7.0) arası asidik ortamlarda iyi geliştiği, ancak besiyerindeki asitliğin artmasının lipaz aktivitesini azalttığı gözlenmiştir. Başka bir mantar türü olan *Aspergillus terreus* ise pH 3.0–12.0 arasında gelişmekte olup, yüksek miktarda lipaz üretmektedir (Bourne ve ark., 2004). Yağlı atıklardan izole edilmiş olan *Sporobolomyces*

*salmonicolor* türü en yüksek lipaz üretimini pH 6 da gerçekleştirmiştir (Thabet ve ark., 2012).

#### 2.4. Lipaz üretimine sıcaklığın etkisi

*R. nigrigans* ve *M. heimalis* gibi mantarların optimum 22- 35 C 'de maksimum düzeyde besiyeri ortamında geliştiği ve lipaz ürettiği gözlenmiştir (Sharma ve ark., 2001).

#### 2.5. Lipaz üretimine mutajenik maddelerin etkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalarda lipaz üreten mikroorganizmalarda meydana gelen mutasyonların üretim kapasitesini arttırdığı gösterilmiştir (Farshad ve ark., 2011, Thabet ve ark., 2012). Biyoteknoloji alanında lipazların kullanımında görülen hızlı artış nedeniyle lipazların aşırı üretimini sağlamak amacıyla yönlü mutasyonlar yardımıyla suş geliştirme çalışmalarına ağırlık verilmiştir. Mutant suşlar mikroorganizmaların ultra viyole ışınları (UV), etil metan sulfonat (EMS) ve N-metil-NO-nitro-N-nitrosoguanidin (NTG) gibi kimyasallara maruz bırakılması suretiyle elde edilmektedir (Winston, 2008). EMS ve UV'ye maruz kalan *Y. lipolytica* suşu 24 saat sonunda 356 U/ml lipaz enzimi üretmiştir ki bu miktar mutant olmayan türün ürettiğinin 10.5 katı daha fazladır (Farshad ve ark., 2011). Etidyum bromür ve UV kullanılarak elde edilen *S. salmonicolor* mutant suşu ise mutant olmayana göre 3.2 kat daha fazla lipaz üretmektedir (Thabet ve ark., 2012).

#### 2.6. Lipaz üretimine metal iyonlarının etkisi

*Candida* sp. tarafından lipaz üretiminin magnezyum ( $Mg^{+2}$ ), sodyum ( $Na^{+}$ ) ve potasyum ( $K^{+}$ ) iyonlarının bulunduğu ortamda arttığı saptanmıştır (Tan ve ark., 2003). Lipaz aktivitesi potasyum ( $K^{+}$ ), kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) ve magnezyum ( $Mg^{+2}$ ) iyonlarının bulunduğu ortamda artmış ancak Civa ( $Hg^{+2}$ ) bulunan ortamda azalmıştır (Sharma ve ark., 2009).

### 3. Fungal Lipazların Analizi ve Saflaştırılması

Lipazlar trigliseridleri hidroliz ederek yağ asiti ve gliserol oluştururlar. Analiz metodu olarak; spektrofotometrik yöntemler, radyoaktif

işaretleme yöntemi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), Tribütirin plak yöntemi ve titrimetri gibi yöntemler kullanılmaktadır. Tribütirin plak yöntemi yöntemi lipaz üreticisi olan mantarları ve lipaz aktivitesini belirlemede en çok kullanılan yöntemdir (Sharma ve ark., 2001).

Fungal lipazların saflaştırılmasında; amonyum sulfat presipitasyonu, jel filtrasyonu, iyon değişim kromatografisi, affinite kromatografisi, immuno saflaştırma gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden affinite kromatografisi basamak sayısını azaltığı için tercih edilmektedir (Saxena ve ark., 2003).

### 4. Fungal Lipazların Genel Özellikleri ve Substrat Spesifikliği

Mikrobiyal hücrelerden saflaştırılan lipazların saflaştırdıkları orijine bağlı olarak molekül ağırlıkları, optimum pH ve sıcaklık değerleri, substrat spesifitesi gibi fiziksel ve biyokimyasal özellikleri açısından farklılık göstermektedir (Saeed ve ark., 2005; Kyu ve ark., 2005). Fungal hücrelerden saflaştırılan lipazların biyokimyasal özellikleri Tablo 2'de verilmiştir.

Lipazların substrat spesifikliğini kontrol eden mekanizmalar enzimin moleküler özelliği, substratın yapısı ve enzimin substrata bağlanmasını etkileyen faktörlerdir. Açılgliserol substratlarındaki regiospesifite temel alındığında lipazlar iki gruba ayrılır.

*Grup I* lipazlar triaçilgliserolün yağ asiti ve gliserole kadar parçalanması reaksiyonlarını katalizlerler. Ara ürün olarak diaçilgliserol ve monoaçilgliserol oluşur. *C. cylindrica*e tarafından üretilen lipazlar bu grupta bulunur.

*Grup II* lipazlar yağ asitlerindeki 1 ve 3 pozisyonlarındaki açıl gliserollerini regiospesifik olarak tanırlar. Bu lipazlar triaçilgliserollerini hidrolizleyerek yağ asitleri, 1,2-diaçilgliserol ve 2-monoaçilgliserol oluşumunu sağlar. *A. niger*, *R. arrhius*, *R. japonicus* tarafından üretilen lipazlar bu gruba örnek olarak verilebilir (Cajal ve ark., 2000).

**Tablo 2.** Fungal lipazların biyokimyasal profili

Fungal Kaynak	pH	Sıcaklık (°C)	MA* (kDa)	Referanslar
<i>Aspergillus carneus</i>	9.0	37	27	(Saxena ve ark., 2003)
<i>A. niger</i>	5.2	47.5	-	(Nambodiri ve Chattopadhyaya, 2000)
<i>A. niger NCIM 1207</i>	8.5	50	-	(Mhetras ve ark., 2008)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	7.8	35	-	(Kudanga ve ark., 2007)
<i>Candida rugosa</i>	7.0	30	117	(Pernas ve ark., 2001)
<i>Fusarium solani</i>	7.2 5	25	-	(Poulsen ve ark., 2005)
<i>Rhizopus homothallicus</i>	-	50	29.5	(Diaz ve ark., 2006)
<i>R. oryzae</i>	7.5	35	32	(Sharma ve ark., 2001)

(MA\*: Molekül Ağırlığı)

## 5. Fungal Lipazların Endüstride Kullanım Alanları

Lipazların endüstride kullanım alanları oldukça geniştir (Tablo 3). Gıda ve deterjan endüstrisi gibi endüstriyel alanlarda ve ilaçlar, zirai kimyasallar ve yeni biyopolimerik materyaller gibi önemli kimyasalların sentezinde lipazlar kullanılmaktadır (Houde ve ark., 2004).

### 5.1. Deterjan endüstrisinde lipazların kullanımı

Yağların çok değişik kompozisyonlarını hidroliz edebilmeleri, pH 10- 11 ve 30- 60 °C gibi sert yıkama koşullarına dayanıklı olmaları ve deterjanların bileşiminde bulunan proteazlar gibi enzimlere ve lineer akil benzen sülfonat gibi yüzey aktif maddelere karşı dayanıklı olmaları lipazların deterjan endüstrisinde kullanılmalarını mümkün kılmıştır.

1988 yılında NOVO/Nordisk firmasının Lipolase TM ürününü piyasaya sürmesi lipazların deterjan endüstrisinde kullanımında çığır açmıştır. Bu ürün fungal bir lipaz olan *Humicola lanuginosa* lipaz geninin *Aspergillus niger* türüne aktarılmasıyla elde edilmiştir.

**Tablo 3.** Lipazların endüstriyel uygulamalarda kullanımı

Endüstri Alanı	Reaksiyon	Ürün Uygulama Alanı
Süt	Süt, yağ ve peynir hidrolizi	Peynir ve tereyağı aroması
İçecekler	Aroma arttırıcı	Alkollü içkiler
Sağlıklı Yiyecekler	Transesterifikasyon	Sağlıklı yiyecekler
Et ve balık	Aroma arttırıcı	Yağı uzaklaştırılmış et ve balık ürünleri
Katı ve sıvı yağlar	Transesterifikasyon Hidroliz	Kakao yağı, margarin Gliserol, mono ve digliseritler
Kozmetik	Esterifikasyon	Deri ve güneş kremleri, güneş yağları
Temizlik	Biyoparçalayıcı suşları azaltmada	Gıyeeceklerin temizliği
Zirai Kimyasallar	Esterifikasyon	Herbisitler
Farmasötikler	Alkollerin hidrolizi	ilaç yapımında kullanılan ara ürünlerin üretimi
Petrol Endüstrisi	Transesterifikasyon	Biyodizel üretimi
Kirlilik kontrolü	Hidroliz ve yağların transesterifikasyonu	Zararlı suşların uzaklaştırılması ve atık yağların hidrolizi

### 5.2. Önemli kimyasalların sentezinde lipazların kullanımı

ilaçlar, zirai kimyasallar ve tatlandırıcılar önemli kimyasal maddeler arasında yer almaktadır. Bunların sentezindeki anahtar ara ürünler genellikle kimyasal metotlarla sentezlenmesi zor olan karmaşık ve kiral bileşiklerdir.

Fungal bir lipaz olan *Candida rugosa* lipazı antimikrobiyal bileşikler olan (S) ve (R) elvirol ve bunların türevi olan (S)+ ve (R)- curcufenollerin enzimatik resolüsyonunu katalizler.

Çeltik tarlalarında yabancı otlara karşı kullanılan yeni bir herbisit olan (S)- indanofanın saf enantiyomerinin üretiminde lipazlar etkin olarak kullanılmaktadır.

Yeni biyopolimerik materyaller biyolojik olarak parçalanabildiği ve yenilenebilir doğal kaynaklardan elde edildiği için dikkat çekmektedir. Yüksek seçicilik avantajına sahip olan lipazlar polifenol ve poliester gibi polimerlerin sentezini katalizlemek



için kullanılırlar. Çoklu reaktif gruplara sahip yapısal olarak karmaşık monomerler, farklı kaynaklardan elde edilen ticari lipazlar kullanılarak yüksek verimle polimerleştirilirler.

## 6. Sonuç

Günümüzde biyoteknolojik yöntemlerin gelişmesi ile üretilen ticari öneme sahip ürünlerin başında enzimler gelmektedir. Endüstriyel enzimlerle ilgili yapılan araştırmalar ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle önem kazanmıştır. Lipazlar endüstride geniş uygulama alanı bulan biyokatalizörlerdir. Bu enzimler mantar, maya, bakteri, hayvan ve bitki kaynaklı olabilir. Mantar türlerinden elde edilen lipazlar pH ve sıcaklık toleranslarından dolayı diğer canlı türlerinden elde edilenlere göre daha avantajlıdır. Lipaz üretimine yönelik çalışmalar geçmişten günümüze devam etmekle birlikte yeni geliştirilecek tekniklerle üretimin arttırılmasına yönelik yeni araştırmalara ihtiyaç vardır. Her bir endüstriyel uygulama spesifik özellikte enzimlere ihtiyaç duyduğu için spesifik özellikte lipaz üreten mikroorganizmaların belirlenmesi gerekmektedir. Özellikle mikroorganizmaların lipaz üretim kapasitelerinin geliştirilmesi için optimal ortam koşullarının ve üretimi arttırıcı etki eden çeşitli faktörlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Ticari öneme sahip olan fungal lipazların geniş çaplı üretimi için yeni teknolojilerin geliştirilmesi hem günümüzde hem de gelecekte bilim insanlarının araştırma konuları arasında yer almaya devam edecektir.

## Kaynaklar

- Abdou, A.M., 2003. Purification and partial characterization of psychrotrophic *Serratia marcescens* lipase. *Journal of Dairy Science*, 86, 127–132.
- Aires-Barros, M.R., Taipa, M.A. ve Cabral, J.M.S., 1994. Isolation and purification of lipases. In: *Lipases: Their structure, biochemistry, and application* (ed. Wooley P, Petersen S), 243–270. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Babu, I.S. ve Rao G.H., 2007. Optimization of process

- parameters for the production of lipase in submerged fermentation by *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Res.J. Microbiol.*, 2, 88-93.
- Bourne, Y., Hasper, A., Chahinian, H. ve Juin, M. 2004. *Aspergillus niger* Protein EstA Defines a New Class of Fungal Esterases within the/ Hydrolase Fold Superfamily of Proteins. *Structure*, 12, 1545.
- Brunel, L., Neugnot, V. ve Landucci, L., 2004. High level expression of *Candida parapsilosis* lipase/acyltransferase in *Pichia pastoris*. *J.Biotechnol.*, 111, 41- 50.
- Cajal Y., Svendsen A., De Bolós J., Patkar S. ve Alsina M., 2000. Effect of the lipid interface on the catalytic activity and spectroscopic properties of a fungal lipase. *Biochimie.*, 82, 1053-1061.
- Davranov, K., 1994. Microbial lipases in biotechnology. *Appl. Biochem. and Microbiol.*, 30, 427 – 432.
- Diaz J.C.M., Rodríguez J.A., Roussos S. ve Cordova, J., 2006. Lipase from the thermotolerant fungus *Rhizopus homothallicus* is more thermostable when produced using solid state fermentation than liquid fermentation procedures. *Enzyme & Microbial Technol.*, 39, 1042–1050.
- Elibol, M. ve Ozer, D., 2001. Influence of oxygen transfer on lipase production by *Rhizopus arrhizus*. *Process Biochem.*, 36, 325- 329.
- Farshad, D., Jacqueline, D., Iraj, N., Philippe, T. ve Hamid, Z.E., 2011. High –level production of extracellular lipase, *Yarrowia lipolytica*. *New Biotechnol.*, 28, 756-760.
- Ghosh, P.K., Saxena, R.K., Gupta, R., Yadav, R. P. ve Davidson, S., 1996. Microbial lipases: Production and applications. *Sci. Prog.*, 79, 119-157.
- Gombert, A.K., Pinto, A.L., Castilho, L.R. ve Freire, D.M.G., 1999. Lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state fermentation using babassu oil cake as substrate. *Process Biochem.*, 35, 85–90.
- Gupta, R., Gupta, N. ve Rathi, P., 2004. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64,763- 781.
- Haba, E., Bresko, O., Ferrer, C., Marqués, A., Busquets, M. ve Manresa, A., 2000. Isolation of lipase-secreting bacteria by deploying selective substrate. *Enzyme and Microbial Technol.*, 26, 40–44.
- Handayani, N., Loos, K., Wahyuningrum, D., Zulfikar B. ve Zulfikar M. A., 2012. Immobilization of *Mucor miehei* lipase onto macroporous aminated polyethersulfone membrane for enzymatic reactions, *Membranes*, 2, 2, 198-213.
- Houde, A., Kademi, A. ve Leblanc D., 2004. Lipases and

- their industrial applications: an overview. *Appl Biochem. and Biotech.*, **118**, 155-170.
- Immanuel, G., Esakkiraj, P., Jebadhas, A., Iyapparaj, P. ve Palavesam, A., 2008. Investigation of lipase production by milk isolate *Serratia rubidaea*. *Food Technol. Biotechnol.*, **46**, 60-65.
- Jaeger, K.E. ve Eggert, T., 2002. Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology.*, **13**, 390-397.
- Jayaprakash, A. ve Ebenezer, P., 2010. Investigation on extracellular lipase production by *Aspergillus japonicus* isolated from the paper nest of *Ropalidia marginata*. *Indian J. Sci. Technol.*, **3**, 113-117.
- Jinwal, U.K., Roy, U., Chowdhury, A.R., Bhaduri, A.P., Roy, P.K., 2003. Purification and Characterization of an Alkaline Lipase from a Newly Isolate *Pseudomonas mendocina* PK-12CS and Chemoselective Hydrolysis of Fatty Acid Ester. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **11**, 1041- 1046.
- Kim, K.R., Kwon, D.Y., Yoon, S.H., Kim, W.Y. ve Kim K.H., 2004. Purification, refolding and characterization of recombinant *Pseudomonas fluorescens* lipase. *Protein Expression & Purification*, **39**, 124-129.
- Kishore, J. P., Chopda, M. Z. ve Mahajan, R. T., 2011. Lipase biodiversity. *Indian J.Sci.Technol.*, **4**, 971- 982.
- Klein, R.R, King, G., Moreau, R.A. ve Haas M., 1997. Altered acyl chain length specificity of *Rhizopus delemar* lipase through mutagenesis and molecular modeling. *Lipids*, **32**, 123- 130.
- Köse, Ö., Tüter, M. ve Aksoy, H.A., 2002. Immobilized *Candida antarctica* lipase-catalyzed alcoholysis of cotton seed oil in a solvent-free medium. *Bioresource Technol.*, **83**, 125– 129.
- Kudanga, T., Mwenje, E., Mandivenga, F. ve Read, J., 2007. Esterases and putative lipases from tropical isolates of *Aureobasidium pullulans*. *J. Basic Microbiol.*, **47**, 138–147.
- Kyu R.K., Kwon D.Y., Yoon, S.H., Kim, W.Y ve Kim K.H., 2005. Purification, refolding and characterization of recombinant *Pseudomonas fluorescens* lipase. *Protein Expr. and Purif.*, **39**, 124 – 129.
- Long R.F., Corbett A., Lamb C., Reberg-Horton C., Chandler J. ve Stimmann M. 1998. Beneficial insects move from flowering plants to nearby crops. *Cal Ag.* **52**, 23-26.
- Mhetras, N.C., Bastawde, K.B. ve Gokhale, D.V., 2008. Purification and characterization of acidic lipase from *Aspergillus niger* NCIM 1207. *Bioresour. Technol.*, **100**, 1486-1490.
- Monecke, P., Friedemann, R., Naumann, S. ve Csuk R., 1998. Modelling studies on the catalytic mechanism of *Candida rugosa* lipase. *Journal of Molecular Modeling*, **4**, 395-404.
- Namboodiri, V.M.H. ve Chattopadhyaya, R., 2000. Purification and biochemical characterization of a novel thermostable lipase from *Aspergillus niger*. *Lipids*. **35**, 495-502.
- Nwuche, C.O. ve Ogbonna, J.C., 2011. Isolation of lipase producing fungi from palm oil mill effluent (POME) dump sites at Nsukka. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **54**, 113-116.
- Pernas, M.A., Lopez, C., Rua, M.L. ve Hermoso J., 2001. Influence of the conformational flexibility on the kinetics and dimerization process of two *Candida rugosa* lipase isoenzymes. *FEBS Lett.* **501**, 87-91.
- Poulsen, K.R., Snabe, T., Petersen, E.I., Fojan, P., Fojan, P., Neves- Petersen, M.T., Wimmer, R. ve Petersen, S.B., 2005. Quantization of pH: evidence for acidic activity of triglyceride lipases, *Biochem.*, **44**, 11574-11580.
- Prazeres, J.N., Cruz, J.A.B. ve Pastore, G.M., 2006. Characterization of alkaline lipase from *Fusarium oxysporum* and the effect of different surfactants and detergents on the enzyme activity. *Braz. J. of Microbiol.*, **37**, 505 -509.
- Resina, D., Serrano, A., Valero, F. ve Ferrer P., 2004. Expression of *Rhizopus oryzae* lipase in *Pichia pastoris* under control of the nitrogen source-regulated formaldehyde dehydrogenase promoter. *J.Biotechnol.*, **109**, 103- 113.
- Saeed, H.M., Zaghoul, T.I., Khalil A.I. ve Abdelbaeth, M.T., 2005. Purification and characterization of two extracellular lipases from *Pseudomonas aeruginosa* Ps-x. *Pol. J. of Microbiol.*, **54**, 233 -240.
- Savitha, J., Srividya, S., Jagat, R., Payal, P., Priyanki, S., Rashmi, G.W., Roshini, K.T. ve Shantala, Y.M., 2007. Identification of potential fungal strain(s) for the production of inducible, extracellular and alkalophilic lipase. *Afric. J. of Biotech.*, **6**, 564 -568.
- Saxena, R.K., Davidson, W.S., Sheoram, A ve Girri, B., 2003. Purification and characterization of an alkaline lipase from *Aspergillus carneus*. *Process Biochem.*, **9**, 239-247.
- Sharma, R., Chisti, Y. ve Banerjee, U.C., 2001. Production, purification, characterization and applications of lipases. *Biotechnology Advances.*, **19**, 627- 662.
- Sharma, A., Bardhan, D. ve Patel, R., 2009. Optimization of physical parameters for lipase production from *Arthrobacter* sp. BGCC#490. *Indian J. Biochem. Biophys.*, **46**, 178-183.
- Snellman, E.A., Sullivan, E.R. ve Colwell, R.R., 2002.

- Purification and properties of the extracellular lipase, LipA, of *Acinetobacter* sp. *Biochem. Eng. J.*, **11**, 269-274.
- Stead, D., 1986. Microbial lipases: their characteristic, role in food spoilage and industrial uses. *Journal of Dairy Research*, **53**, 481- 505.
- Suen, W.C., Zhang N., Xiao L., Madison V. ve Zaks A., 2004. Improved activity and thermostability of *Candida antarctica* lipase B by DNA family shuffling. *Protein Eng. Des. Se.*, **17**, 133- 140.
- Sztajer, H., Maliszewska, I. ve Wieczorek, J., 1988. Production of exogenous lipase by bacteria, fungi and actinomycetes. *Enzyme and Microbial Technol.*, **10**, 492- 497.
- Thabet, H. M., Pasha C., Ahmed M. M. ve Linga V. R., 2012. Isolation of Novel Lipase Producing *Sporobolomyces salmonicolor* OVS8 from Oil Mill Spillage and Enhancement of Lipase Production. *Jordan Journal of Biological Sciences*, **5**, 301- 306.
- Tan, T., Zhang, M., Wang, B., Ying, C. ve Li, D., 2003. Screening of high lipase producing *Candida* sp. and production of lipase by fermentation. *Process Biochem.*, **39**, 459- 465.
- Thota, P., Bhogavalli, P.K., Rao, V.P. ve Sreerangam, V., 2012. Screening and identification of potential fungal strains for the production of extracellular lipase from soil. *Plant Sciences Feed*, **2**, 79-84.
- Tsai, S-H., Liu, C-P., Yang, S-S., 2007. Microbial conversion of food wastes for biofertilizer production with thermophilic lipolytic microbes. *Renewable Energy*, **32**, 904–915.
- Venkateshwarlu, N. ve Reddy S.M. 1993. Production of lipase by five thermophilic fungi. *Indian J. Microbiol.* **33**, 119-124.
- Winston, F., 2008. EMS and UV mutagenesis in yeast. *Curr. Proto. Mol. Biol.*, **82**, 1–5.