

## ***Streptomyces sp. MC10* SUŞUNUN ALFA AMİLAZ ÜRETİM KABİLİYETİNİN BELİRLENMESİ**

**Ali ÖZDEMİR<sup>1\*</sup>, Uğur SIDAL<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü , 45140, Manisa

**Özet:** Amilazlar en önemli endüstriyel enzimlerden biridir. Amilaz üreticisi olan *Streptomyces* MC10 suşu Manisa Celal Bayar Üniversitesinden alınan toprak örneklerinden izole edilmiştir. Bu çalışmada *Streptomyces* MC10 suşundan  $\alpha$ -amilaz üretimi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla suşun besiyerinde üremesi ve  $\alpha$ -amilaz üretme yeteneği ve aktivite gösterdiği optimum sıcaklık, pH, inkübasyon süresi ve substrat konsantrasyon değerleri saptanmıştır. Amilaz üretimi için fermentasyon şartları optimize edilmiştir. Optimum fermentasyon şartları üretim süresi 4 gün, substrat konsantrasyonu %1, pH 7.5 ve üretim sıcaklığı 28°C olarak saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:**  $\alpha$ -amilaz, *Streptomyces*, nişasta

## **DETERMINATION OF ABILITY OF ALPHA AMYLASE PRODUCTION BY *Streptomyces sp. MC10* STRAIN**

**Abstract:** Amylases are one of the most important and oldest industrial enzymes. The amylase producer *Streptomyces sp. MC 10* strain was isolated from soil samples from Celal Bayar University in Manisa. In this study, the  $\alpha$ -amylase from *Streptomyces sp. MC10* strain was produced and characterized. The effect of initial pH and temperature, fermentation time and substrate concentration was investigated. The effect of initial pH, fermentation time, incubation temperature and initial substrate concentration was investigated. The highest  $\alpha$ -amylase concentration of 3,05 IU was obtained for a fermentation of period of 96 h with the initial substrate concentration equivalent to %1 and incubation temperature at 28°C, pH 7.5

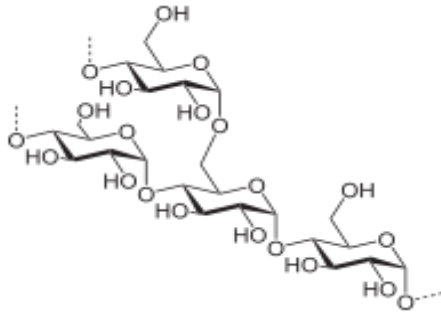
**Keywords:**  $\alpha$ -amylase, *Streptomyces*, soluble starch

---

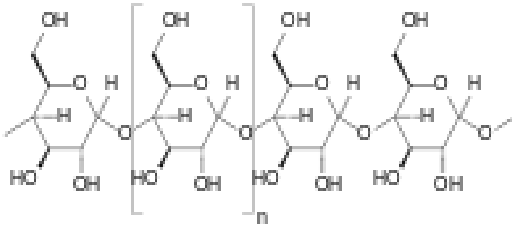
\*Ali ÖZDEMİR  
ebola1985@hotmail.com

## 1. GİRİŞ

Niştasta soğuk suda çözünmeyen granüller formunda olup, organizmalar için depo materyali olarak bitki hücrelerinde depolanan önemli bir karbonhidrattır. Mısır, patates, pirinç ve buğday gibi birçok hububatın ana bileşenidir. Niştasta granülleri amiloz ve amilopektin olarak adlandırılan  $\alpha$ -D-glukoz birimlerinden meydana gelmiş iki tip molekülden oluşmaktadır. Amiloz, glukoz birimleri arasında  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağ ile bağlanmasından oluşan ve dallanma göstermeyen düz bir yapıdadır. Amilopektin ise glukoz birimleri arasında  $\alpha$ -1,4 bağlantısına ilaveten  $\alpha$ -1,6-glikozidik dallanma bağ noktalarını da içermektedir [1].



a)



b)

Şeki 1 a) Amilopektin b) Amiloz

Amilazlar (1,4- $\alpha$ -D-glukanohidrolaz; EC 3.2.1.1.) niştastadaki  $\alpha$ -1,4 bağlarını hidrolize eden endüstriyel açıdan en önemli enzimlerdir. Doğada bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda bulunur ve amiloz, amilopektin ve glikojeni oluşturan glukoz birimleri arasındaki glikozidik bağları parçalayabilme yeteneğine sahiptir. Genel olarak amilazlar amilolitik parçalanmaya çok dirençli olan ham niştasta granülleri üzerine iyi bir etkiye sahip değildirlir. Bundan dolayı

amilazlar ile niştastanın hidrolizasyonu 24 ya da 48 saat gibi uzun bir parçalama zamanına ihtiyaç duymaktadır. Çeşitli mikroorganizmalardan elde edilen, ham niştastayı doğrudan hidroliz edebilen  $\alpha$ -amilazların pH, sıcaklık, molekül ağırlığı, termostabilite ve diğer fiziko kimyasal parametreleri farklılık ve benzerlik göstermektedir [2, 1].  $\alpha$ -amilaz ekmek yapımında, glukoz ve/veya fruktoz şurup üretiminde, bira, niştasta, tekstil, kâğıt endüstrisi, deterjan endüstrisi gibi alanlarda geniş çapta kullanılır (Upadek ve Kottwitz, 1997) [3]. Medikal ve klinik kimya analizleri ile biyoteknoloji uygulamalarında da amilaz enzimi kullanılmaktadır. Amilaz uzun moleküllu oligosakkaritlerin saptanmasında gümüş nitrat testinden daha başarılı olarak kullanılmaktadır (Giri ve ark., 1990). Aynı zamanda elektrolit, izolatör ve yarı-iletken kapasitörlü biyosensörlerde de amilaz enzimi kullanılmaktadır [2, 4].

*Streptomyces* (Waksman ve Henrici, 1943), aktinomisetler içerisinde gerek morfolojisi gerekse toprakta bol bulunan cins olmasından dolayı çok iyi tanımlanmış; antibiyotik üretimi ve sekonder metabolitleri üretmesi yönünden çok önemli bir genustur. Çok sayıda izolatu, hücre dışı hidrolitik enzimleriyle; polisakkaritleri (niştasta, selüloz ve hemiselüloz), proteinleri ve yağları parçalayabilir [5].

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Mikroorganizma ve Kültürasyon

Celal Bayar Üniversitesi Muradiye Kampüs Alanından alınan toprak örneklerinden izole edilen *Streptomyces sp. MC10*, ham niştastayı hidrolizleyen amilaz taraması sonucunda en iyi aktivite gösteren bir suştur. Mikroorganizma NNA (Nutrient Niştasta Agar) üzerinde +4°C'de saklanmış ve her 3 haftada bir taze ortama ekim yapılarak kültür yenilenmiştir. Taze ortama ekilen mikroorganizma 28°C de 2 gün boyunca geliştirilmiştir. Öncelikle NNA üzerindeki

mikroorganizma iki öze dolusu alınarak hazırlanan agarlı kültür ortamına aşılanmış ve 28°C sıcaklıkta 48 saat boyunca mikroorganizmanın geliştirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra agarlı kültür ortamında gelişen mikroorganizma iki öze dolusu alınarak agar içermeyen sıvı kültür ortamına aşılanmış ve 200 rpm çalkalama hızında 28°C sıcaklıkta 48 saat boyunca mikroorganizmanın geliştirilmesi sağlanmıştır. Kültür ortamı kompozisyonu ( g/ l): asparagin 1.0, glukoz 2.0, nutrient broth 8.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0, agar 17.0, ve NaCl 0.5 ( pH: 7.5) 'dır [5].

Kültür ortamında geliştirilen mikroorganizma, fermentasyon başlangıcında aseptik koşullarda % 1 (v/v) oranında, kompozisyonu ( g/ l): nişasta 10, CaCO<sub>3</sub> 1, pepton 5, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 1, ve KCl 5 ( pH: 5.5) olan üretim ortamına inoküle edilmiştir. Fermentasyon süresince her 24 saatte bir örnek alınarak biyomas ve α-amilaz miktarları belirlenmiştir.

## 2.2. Analitik Metotlar:

### 2.2.1. Kuru Hücre Ağırlığı:

Fermentasyon sıvısından alınan 1,0 ml örnek 8000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir ve saf su ile iki defa yıkanmıştır. Yıkanan hücreler 80°C'de sabit tartıma kadar kurutularak kuru hücre ağırlığı belirlenmiştir [6].

### 2.2.2. α-Amilaz Tayini:

Fermentasyon sıvısından alınan 1,0 ml örnek 8000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Alınan supernatant kısmına (1 ml) %1'lik substrat-tampon (1ml) karışımı ilave edilmiştir. 50°C sıcaklıkta 5 dk inkübasyona bırakılmıştır. Karışımın üzerine 2 ml DNS ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. DNS reaktifi içeren karışım 90°C sıcaklıkta 5 dk sıcak su banyosunda tutulmuştur. Uygun seyreltmeler yapıldıktan sonra okumalar spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda yapılmıştır [6].

### 2.2.3. İnkübasyon Süresinin Etkisi:

İnkübasyon süresinin etkisinin belirlenmesi için çalkalamalı inkübatörde pH 7.5 ve 28°C sıcaklıkta 5gün boyunca denemeler yapılmıştır.

### 2.2.4. Sıcaklık Etkisi:

Sıcaklık etkisinin belirlenmesi için çalkalamalı inkübatörde 4 gün pH 7.5'da 22°C, 25°C, 28°C, 31°C ve 34°C başlangıç sıcaklık değerlerinde denemeler yapılmıştır.

### 2.2.5. pH Etkisi:

pH etkisinin belirlenmesi için çalkalamalı inkübatörde 4 gün 28°C'de 6, 6.5, 7, 7.5 ve 8 başlangıç pH değerlerinde denemeler yapılmıştır.

### 2.2.6. Substrat Konsantrasyonunun Etkisi:

Substrat konsantrasyonunun etkisinin belirlenmesi için çalkalamalı inkübatörde 4 gün, 28°C'de ve pH 7'de % 0.25, % 0.5, % 1, % 1.5 ve % 2 nişasta içeren başlangıç değerlerinde denemeler yapılmıştır.

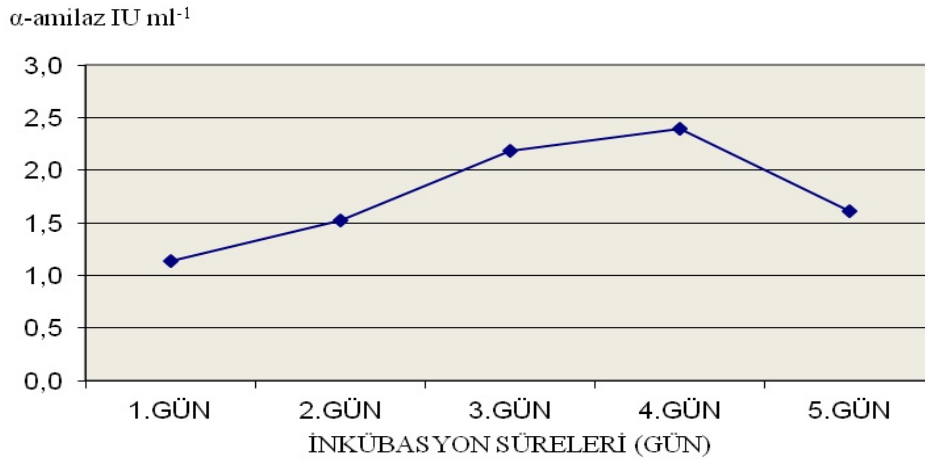
## 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA:

Bu çalışmada *Streptomyces* sp. MC10 suşu kullanılarak nişasta içeren fermentasyon ortamında farklı parametreler kullanılarak α-amilaz enziminin üretimi hakkında araştırma yapılmıştır. Fermentasyon aşamasında çalkalamalı kültürler kullanılarak sentetik üretim ortamın inkübasyon süresi, en iyi α-amilaz üreten ortamın farklı substrat konsantrasyonları, farklı başlangıç pH vefarklı sıcaklık değerlerinin α-amilaz üzerindeki etkisi hakkında bilgiler karşılaştırılmıştır. Maksimum α-amilaz üretimi 28°C sıcaklıkta (Grafik 2) pH 7.5'de (Grafik 3) elde edilmiştir. En iyi üretim fermentasyonun 4. gününde elde edilmiştir (Grafik 1).

### 3.1. İnkübasyon Sürelerinin $\alpha$ -amilaz Üretimine Etkisi

*Streptomyces* sp. MC10 suşu kullanılarak nişasta içeren fermentasyon ortamında  $\alpha$ -amilaz üretiminde optimum inkübasyon süresinin bulunması için çalkalamalı inkübatörde pH 7.5 ve 28°C sıcaklıkta 5gün

boyunca denemeler yapılmıştır. Deneysel verilerimiz Grafik 1’de verilmiştir. Görüldüğü gibi maksimum  $\alpha$ -amilaz (2.4 IU ml<sup>-1</sup>) üretimi 4.günde elde edilmiştir. İnkübasyon süreleri 1, 2, 3 ve 5. gün değerleri sırasıyla 2.61, 6.66, 14.6 ve 7.87 mg ml<sup>-1</sup> biyomas ve sırasıyla 1.14, 1.52, 2.19 ve 1.61 IU ml<sup>-1</sup>  $\alpha$ -amilaz elde edilmiştir



**Grafik 1.** İnkübasyon sürelerinin  $\alpha$ -amilaz üretimine etkisi

Chakraborty ve arkadaşları (2009) *Streptomyces* sp. D1’in maksimum  $\alpha$ -amilaz üretimini inkübasyonun 12.gününde, hücre gelişiminin ise 7.günde gerçekleştiğini bulmuşlardır [7]. Mc Mahon ve arkadaşları (1997) *Streptomyces* sp. IMD 2679’dan  $\alpha$ -amilaz üretiminin inkübasyonun 10.saatinden sonra başladığını ve 72.saatte maksimuma ulaştığını belirtmişlerdir [8]. Kar ve arkadaşları (2008) *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 suşunun en iyi enzim aktivitesini 48.saatte gösterdiğini ifade etmişlerdir [9, 10].

Bahrim ve arkadaşları (2007) *Streptomyces* sp. MIUG 4.116 ve *Streptomyces* sp. 11P suşları ile maksimum enzim aktivitesini sırasıyla 11 ve 8.günde elde etmişlerdir. Cotarlet ve arkadaşları (2009) ise *Streptomyces* sp. 4 Alga suşu ile en iyi enzim aktivitesini 96.saatte elde etmişlerdir [11, 12]. Shyng Yang ve arkadaşları (1999) katı ve sıvı fermentasyon ortamlarında

*Streptomyces rimosus* TM-55 suşu ile çalışmışlardır ve en iyi enzim üretimini sırasıyla inkübasyonun 180 ve 48.saatte elde etmişlerdir [6].

Narayana ve arkadaşları (2008) *Streptomyces albidoflavus* suşu ile maksimum  $\alpha$ -amilaz üretiminin inkübasyonun 24.saatinden sonra başladığını ve 96.saatte maksimum aktivite elde edildiğini belirtmişlerdir [13].

Simpson ve Mc Coy (1953) *Streptomyces diastaticus* ‘dan elde edilen en yüksek  $\alpha$ -amilaz üretiminin inkübasyonun 52 ile 56. saatler arasında gerçekleştiğini ifade etmişlerdir [14].

Sharma ve arkadaşları (2007) *Streptomyces* sp. ‘dan elde edilen en yüksek  $\alpha$ -amilaz üretiminin inkübasyonun 60. saatinde gerçekleştiğini bulmuşlardır [15].

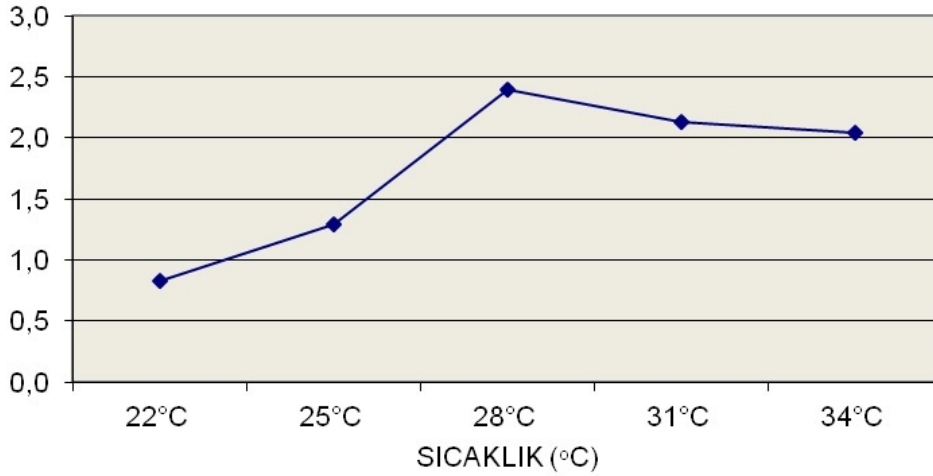
### 3.2 Farklı Başlangıç Sıcaklık Değerlerinin $\alpha$ -amilaz Üretimine Etkisi

*Streptomyces* sp. MC10 suşu kullanılarak nişasta içeren fermentasyon ortamında  $\alpha$ -

amilaz üretiminde optimum sıcaklık değerinin bulunması için çalkalamalı inkübatörde 4gün, pH 7,5 da sıcaklık 22°C, 25°C, 28°C, 31°C ve 34°C başlangıç değerlerinde denemeler yapılmıştır. Farklı başlangıç sıcaklık değerlerinin  $\alpha$ -amilaz üretimine etkisi incelendiğinde optimum değer 28°C olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık değerleri arttıkça biyomas miktarlarında artış

görülmüştür. Deneysel verilerimiz Grafik 2’de verilmiştir. Görüldüğü gibi maksimum  $\alpha$ -amilaz ( 2.4 IU ml<sup>-1</sup> ) üretimi 28°C sıcaklıkta elde edilmiştir. Sıcaklık 22°C, 25°C, 31°C ve 34°C değerleri sırasıyla 13.6, 14.98, 20.97 ve 20.46 mg ml<sup>-1</sup> biyomas ve sırasıyla 0.83, 1.29, 2.13 ve 2.04 IU ml<sup>-1</sup>  $\alpha$ -amilaz elde edilmiştir.

$\alpha$ -amilaz IU ml<sup>-1</sup>



**Grafik 2.** Farklı sıcaklık değerlerinin kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar

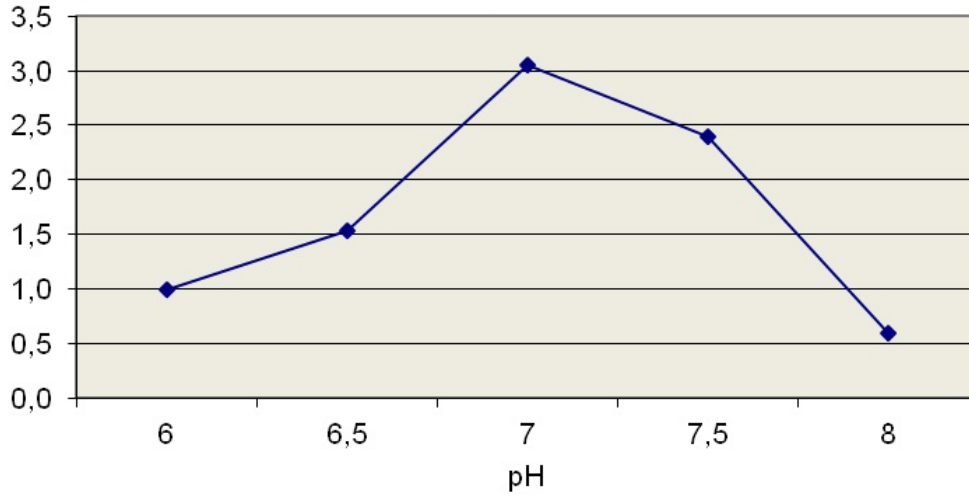
Chakraborty ve arkadaşları (2009) *Streptomyces* sp. D1’in maksimum  $\alpha$ -amilaz üretimini 45°C sıcaklıkta gerçekleştiğini belirtmişlerdir [7]. Kar ve arkadaşları (2008) *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 suşunun en iyi enzim aktivitesini 50°C sıcaklıkta gösterdiğini belirtmişlerdir [9]. Bahrim ve arkadaşları (2007) *Streptomyces* sp. MIUG 4.116 ve *Streptomyces* sp. 11P suşları ile maksimum enzim aktivitesini sırasıyla 50°C ve 60°C sıcaklıkta elde etmişlerdir. Cotarlet ve arkadaşları (2009) ise *Streptomyces* sp. 4 Alga suşu düşük sıcaklıklarda enzim aktivitesini incelemişlerdir ve en iyi üretimi 30°C sıcaklıkta elde etmişlerdir [11, 12]. Kaneko ve arkadaşları (2005) izole ettikleri *Streptomyces* türlerinden; *Streptomyces* sp. E2248 suşu için optimum sıcaklık değerini 50°C olduğunu belirtmişlerdir [3]. *Streptomyces hygrosopicus* (Hidaka ve ark., 1974-1980), *Streptomyces praecox* ( Tokaya

ve ark., 1979), *Streptomyces limosus* (Fairbairn ve ark., 1986; Long ve ark., 1987) ve *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* (Hangue ve ark., 1986) suşları için optimum sıcaklık değerleri sırasıyla 50, 40, 35 ve 40°C olarak belirtilmiştir [1, 3]. Poornima ve arkadaşları (2008) *Streptomyces aureofosciclus* suşu ile çalışmışlar ve  $\alpha$ -amilaz üretimi için optimal sıcaklık değerinin 45°C olarak belirlemişlerdir [16]. Shyng Yang ve arkadaşları (1999) katı ve sıvı fermentasyon ortamlarında *Streptomyces rimosus* TM-55 suşu ile çalışmışlardır ve en iyi enzim üretiminin her iki ortamda da 40°C sıcaklıkta elde etmişlerdir [16]. Narayana ve arkadaşları (2008) *Streptomyces albidoflavus* suşu ile maksimum  $\alpha$ -amilaz üretiminin 30°C sıcaklıktan elde edildiğini belirtmişlerdir [13].

### 3.3. Farklı Başlangıç pH Değerlerinin $\alpha$ -amilaz Üretimine Etkisi

*Streptomyces* sp. MC10 suşu kullanılarak nişasta içeren fermentasyon ortamında  $\alpha$ -amilaz üretiminde optimum pH değerinin bulunması için çalkalamalı inkübatörde 4gün, 28°C sıcaklıkta pH 6, 6.5, 7, 7.5 ve 8 başlangıç değerlerinde denemeler yapılmıştır. Farklı başlangıç pH değerlerinin  $\alpha$ -amilaz üretimine etkisi incelendiğinde optimum değer pH 7.5 olduğu belirlenmiştir. Asidik

$\alpha$ -amilaz IU ml<sup>-1</sup>



**Grafik 3.** Farklı pH değerlerinin kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar

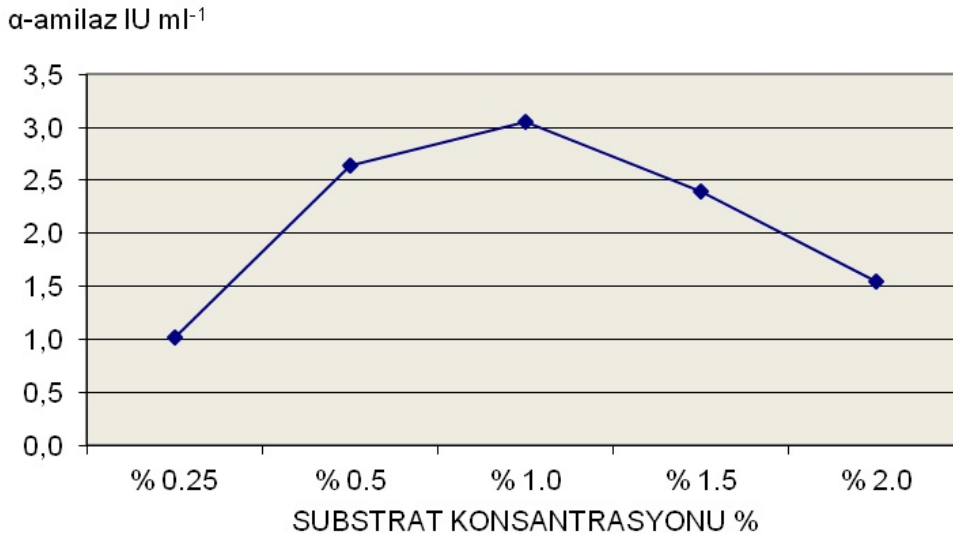
Poornima ve arkadaşları (2008) *Streptomyces aureofosciclus* suşu ile çalışmışlar ve  $\alpha$ -amilaz üretimi için optimal pH değerinin 9 olarak belirlemişlerdir [16]. Shyng Yang ve arkadaşları (1999) katı ve sıvı fermentasyon ortamlarında *Streptomyces rimosus* TM-55 suşu ile 'dan elde etmişlerdir [6]. Narayana ve arkadaşları (2008) *Streptomyces albidoflavus* suşu ile maksimum  $\alpha$ -amilaz üretiminin pH 6.5'dan elde edildiğini belirtmişlerdir [13]. Chakraborty ve arkadaşları (2009) *Streptomyces* sp. D1'in maksimum  $\alpha$ -amilaz üretimini pH 9'da gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir [7]. Kar ve arkadaşları (2008) *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 suşunun en iyi enzim aktivitesini pH 6'da gösterdiğini belirtmişlerdir [9]. Bahrim ve arkadaşları

(2007) *Streptomyces* sp. MIUG 4.116 ve *Streptomyces* sp. 11P suşları ile maksimum enzim aktivitesini pH 7.87'den elde etmişlerdir [11]. Kaneko ve arkadaşları (2005) izole ettikleri *Streptomyces* türlerinden; *Streptomyces* sp. E2248 suşu için optimum pH değerini 5-6 olduğunu belirtmişlerdir [17]. *Streptomyces hygrosopicus* (Hidaka ve ark., 1974-1980), *Streptomyces praecox* (Tokaya ve ark., 1979), *Streptomyces limosus* (Fairbairn ve ark., 1986; Long ve ark., 1987) ve *Streptomyces thermocyaneoviolaceus* (Hangue ve ark., 1986) suşları için optimum pH değerleri sırasıyla 5-6, 6, 7 ve 6.5 olarak belirtilmiştir [1, 3].

### 3.4 Substrat Konsantrasyonunun $\alpha$ -amilaz Üretimi Üzerine Etkisi

*Streptomyces* sp. MC10 suşu kullanılarak nişasta içeren fermentasyon ortamında  $\alpha$ -amilaz üretiminde optimum substrat konsantrasyon değerinin bulunması için çalkalamalı inkübatörde 4gün, pH 7 ile 28°C sıcaklıkta % 0.25, % 0.5, % 1, % 1.5 ve % 2 nişasta içeren başlangıç değerlerinde denemeler yapılmıştır. Artan substrat

konsantrasyonunun  $\alpha$ -amilaz üretimini inhibe edici etkisi vardır Grafik 4’de görüldüğü gibi en iyi sonuç % 1 nişasta içeren ortamdan elde edilirken; substrat konsantrasyonu arttıkça (% 2’de)  $\alpha$ -amilaz üretiminin engellendiği ortaya çıkmaktadır. Substrat konsantrasyonları % 0.25, % 0.5, % 1.5 ve % 2 değerleri sırasıyla 6.8, 23.47, 21.4 ve 8.6 mg ml<sup>-1</sup> biyomas ve sırasıyla 1.02, 2.64, 2.4 ve 1.55 IU ml<sup>-1</sup>  $\alpha$ -amilaz elde edilmiştir.



**Grafik 4.** Farklı substrat konsantrasyonlarının kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar

Narayana ve arkadaşları (2008) *Streptomyces albidoflavus* suşu ile  $\alpha$ -amilaz üretiminin en yüksek değerinin nişasta konsantrasyonunun % 1 ‘den % 1,5’a kadar artırıldığında elde edildiğini gözlemlemişlerdir [13]. Sharma ve arkadaşları (2007) *Streptomyces* sp. SDI ile yaptıkları çalışmada maksimum  $\alpha$ -amilaz üretiminin 20 g/L nişasta kullanıldığında elde etmişlerdir [15].

## 4. SONUÇ

Sonuç olarak, endüstriyel bir enzim olan  $\alpha$ -amilaz, çeşitli mikroorganizmalardan elde edilebilmektedir. Endüstride kullanılan en önemli ham materyallerden biri olan nişastayı doğrudan hidroliz edebilme yeteneğindedirler.  $\alpha$ -amilazın uygulama alanı oldukça genişlemiş ve çeşitlenmiştir. Bu enzimler tekstil ve kağıt endüstrisinde,

nişastanın sıvılaştırılmasında, ekmek, glikoz ve fruktoz şurupları ve tutkal üretiminde, alkol fermantasyonunda kullanılmaktadır. Günümüzde birçok endüstriyel kullanım alanı bulmuş olan  $\alpha$ -amilazın, yapılan çalışmaların ışığında kullanım alanlarının gelecekte daha da artacağı açıktır.

Etkili ham nişasta sakkarifikasyonu için yeni enzim kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yüzden birçok bilim adamı,  $\alpha$ -amilaz üretimi üzerine kapsamlı bir çalışma yürütmüşlerdir.  $\alpha$ -amilazın özelliklerini göz önünde alarak özelliklerini geliştirmeli ayrıca kullanım alanlarını genişletmek için araştırma yapılmalıdır.

## Kaynaklar

- [1] Balkan, B., 2008. Katı substrat fermentasyonu ile ham nişastayı parçalayan yeni bir fungal amilaz üretimi, saflaştırılması ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (yayınlanmamış).
- [2] Aygan, A., 2008. Haloalkalofil *Bacillus* sp. izolasyonu, amilaz, selüloz ve ksilenaz enzimlerinin üretimi, karakterizasyonu ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilirliği. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (yayınlanmamış).
- [3] Kaneko, T., Ohno, T., Ohisa, N., 2005. Purification and characterization of a thermostable raw starch digesting amylase from a *Streptomyces* sp. isolated in a milling factory. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 69(6):1073-1081.
- [4] Özşahin, A. D., 2006. Kahramanmaraş ili kağıt fabrikaları çevresinden izolasyonu yapılan *Bacillus* sp. suşlarından elde edilen selüloz enziminin karakterizasyonu ve biyoteknolojide kullanılabilirliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (yayınlanmamış).
- [5] Oskay, M., 2006. Kuzey Kıbrıs topraklarından antimikrobiyal aktivitesi yüksek *Streptomyces* suşlarının izolasyonu, taksonomisi ve fermentasyon çalışmaları üzerine bir araştırma. Doktora Tezi, C. B. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü (yayınlanmamış).
- [6] Shyng Yang S. and Jan-Yi Wang, 1999. Protease and amylase production of *Streptomyces rimosus* in submerged and solid state cultivations. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 40:259-265.
- [7] Chakraborty, S., Khopade, A., Kokare, C., Mahadik, K., Chopade, B., 2009. Isolation and characterization of novel  $\alpha$ -amylase from marine *Streptomyces* sp. D1. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 58: 17-23.
- [8] Mc Mahon H. E. M., Kelly C. T. and Fogarty W. M., 1999. High maltose reducing amyolytic system of a *Streptomyces* species. *Journal of Biotechnology Letters*, 21:23-26.
- [9] Kar, S. and R. C. Ray, 2008.  $\alpha$ -amylase production by *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 in solid state fermentation using response surface methodology CRSM. *Polish Journal of Microbiology*, 57 (4):289-296.
- [10] Kar, S. and R. C. Ray, 2009. Statistical optimization of  $\alpha$ -amylase production with immobilized cells *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 in *luffa cylindrica* L. Sponge discs. *Applied of Biochemistry and Biotechnology*, 152:177-188.
- [11] Bahrim, G. E., Scantee, M., Negoita, T., 2007. Biotechnological conditions of amylase and protease complex production and utilization involving filamentous bacteria. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati.
- [12] Cotarlet, M., Negoita, T., Bahrim, G., Stougaard, P., 2009. Cold adapted amylase and protease from new *Streptomyces* 4 alga antarctic strain. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 5:23-30.
- [13] Narayana, K. J. P. and M. Vijayalakshmi, 2008. Production of extracellular  $\alpha$ -amylase by *Streptomyces albidoflavus*. *Asian Journal of Biochemistry*, 3:194-197.
- [14] Simpson, F. S. and E. McCoy, 1953. The amylases of five *Streptomyces*. *Applied Microbiology*, 1:228-236.
- [15] Sharma, H., Behl, R. K., Singh, K.P., Narula, N., Jain, P., 2007. Root and plant characters in wheat under low input field conditions with dual inoculation of mycorrhiza and *Azotobacter chroococcum*: Gene effects. *Cereal Research Communications*, 35(4):1573-1582
- [16] Poornima, R., M. K. Sahu, K. Sivakumar and V. Pushpavalli, 2008. Optimization of  $\alpha$ -amylase production by actinomycete strain AE-19 isolated from shrimp pond. *Trends in Applied Sciences Research*, 3:45-52.
- [17] Haq, I., H. Ashraf, J. Iqbal and M. A. Qader, 2003. Production of alpha amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium. *Bioresource Technology*, 87:57-61.

**Geliş Tarihi: 11.03.2013**

**Kabul Tarihi: 29.05.2013**