

HALOFİLİK LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ÜRETTİĞİ HİDROLİTİK ENZİMLER

Sedef Yüce, Seda Tahtacı, Gülden Başyigit Kılıç*

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur

Geliş tarihi / *Received*: 05.09.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 05.11.2016

Kabul tarihi / *Accepted*: 23.12.2016

Online baskı tarihi / *Published online*: 25.01.2017

Öz

Halofilik laktik asit bakterileri (HLAB), tuz konsantrasyonu yüksek olan ortamlarda gelişen mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmaların tuzlu ortamlarda gelişebilmesi biyoteknolojinin çeşitli alanlarında kullanılma potansiyellerini arttırmaktadır. Enzimler endüstrinin hemen her alanında kullanılmaktadır ve genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Mikrobiyel enzimlerin endüstride kullanılmalarının bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre avantajları vardır. Bunlar; katalitik aktivitelerinin çok yüksek olmaları, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, daha stabil ve ucuz olmaları, fazla miktarda elde edilebilmeleridir. Enzim teknolojisinin giderek gelişmesi, ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle biyoteknolojinin endüstriyel enzimler ile ilgili alanında yapılan çeşitli araştırmalar daha da önem kazanmaktadır. HLAB tarafından üretilen enzimler farklı sektörlerde kullanım alanına sahiptir. Bu makalede endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılan HLAB'tan elde edilen proteaz, amilaz, selülaz, ksilanaz, lipaz gibi enzimler hakkında bilgi verilmiş ve yapılan araştırmalardan örnekler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: Halofilik, laktik asit bakterileri, hidrolitik enzim

THE HYDROLYTIC ENZYMES PRODUCED BY HALOPHILIC LACTIC ACID BACTERIA

Abstract

Halophilic lactic acid bacteria (HLAB) are microorganisms that grow in environments with high salt concentration. The survivability of these microorganisms under salty environments increases their usage potential in various fields of biotechnology. Enzymes are used in almost in every field of industry and usually obtained from microorganisms. The use of the microbial enzymes in industrial process has several distinct advantages compared to the plant or animal derived enzymes. These advantages are; high catalytic activity, no formation of undesirable side products, more stability, less production cost and high enzyme production yield. Biotechnological research in the field of industrial enzymes is gaining more importance due to the development of enzyme technology, the diversity in the fields of product usage and high economical value. The enzymes which are produced by HLAB have many application areas in different industrial sectors. In this review article, information about enzymes such as lipases, xylanase, cellulase, amylase and protease obtained from HLAB is provided and the results of research in this area is presented and it has been presented some examples.

Keywords: Halophilic lactic acid bacteria, hydrolytic enzymes

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ gklic@mehmetakif.edu.tr,

☎ (+90) 248 213 2724,

☎ (+90) 248 213 2727

GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB), gıda fermantasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu bakteriler üründe hem arzu edilen duyuşsal özellikleri geliştirmek, hem de mikrobiyolojik koruma sağlamak amacı ile kullanılırlar (1). LAB, karbonhidrat fermantasyonu sırasında son ürün olarak laktik asit üretmeleriyle tanımlanan Gram pozitif, fakültatif anaerob, katalaz negatif, hareketsiz, sitokromdan yoksun olup, bitki atıklarından, et ve süt ürünlerinden, sıcakkanlı canlıların sindirim sisteminden sıklıkla izole edilebilen bakterilerdir (2-4). LAB organik asit, antimikrobiyel bileşenler gibi pek çok faydalı bileşik ve organik bileşikleri parçalayabilen enzimler üretmektedir (5). Halofilik laktik asit bakterileri (HLAB) gelişmeleri için tuza (sodyum klorür) gereksinim duyan ve yüksek tuz konsantrasyonuna sahip ortamlarda canlılığını devam ettirebilen organizmalardır (6). Bu mikroorganizmalar halofilik ve halotolerant olarak sınıflandırılmıştır. Optimum %3 (w/v) tuz konsantrasyonunda gelişebilenler hafif halofilik, %3-15 (w/v) tuz konsantrasyonunda gelişme gösterenler orta halofilik, %25 (w/v) tuz konsantrasyonunda gelişme gösterenler ise aşırı halofilik mikroorganizmalar olarak sınıflandırılmaktadır (7). Halofiller tuza toleranslı olan enzimler için mükemmel bir kaynaktır. Aynı zamanda bu bakteriler yüksek sıcaklık ve pH değerlerinde etkili olabilmektedir (8). Son zamanlarda halotolerant LAB mavi, Brie, Camembert ve Tilsiter gibi bazı olgunlaşmış peynirlerin dış yüzeyinde keşfedilmiştir (9).

Fermente ürünlerden izole edilen HLAB arasında en çok bulunan türler *Tetragenococcus* ve *Pediococcus* cinslerine ait olarak belirlenmiştir (10). Bunlar arasında *T. halophilus*, *T. muriaticus*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus plantarum* türleri fermantasyon aşamalarında sıkça bulunan türler olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bu derleme çalışmasında HLAB hakkında bilgi verilmiş ve bu bakterilerin ürettikleri enzimler ile ilgili yapılmış çalışmalardan örnekler sunulmuştur.

HALOFİLİK LAKTİK ASİT

BAKTERİLERİNİN ÜRETTİĞİ ENZİMLER

Bir enzimin endüstriyel üretimde güvenilirlikle kullanılabilmesi için düşük maliyetli olması, farklı

alanlarda kullanılabilme imkânının bulunması ve toksik etkisinin olmaması önemlidir (11). Ticari olarak kullanılan enzimlerin %59'unu proteazlar, %28'ini karbonhidratları parçalayan enzimler, %3'ünü lipazlar ve %10'unu ise diğer enzimlerin oluşturduğu belirtilmektedir. Karbonhidratları parçalayan enzimler grubuna giren α -amilaz enzimi %13'lük oran ile önemli bir yer tutmaktadır (12). Günümüzde endüstriyel kaynaklı enzimlerin çoğu mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Mikrobiyal enzimler, bitkisel veya hayvansal kaynaklı enzimlere göre daha yüksek katalitik aktivite göstermeleri, istenmeyen yan ürün oluşturmamaları, stabilite özellikleri, ekonomik olmaları ve fazla miktarlarda elde edilebilme özellikleriyle üstünlük sağlamaktadır (12).

Endüstriyel uygulamalarda mezofilik ve termofilik organizmalar tarafından üretilen enzimler tercih edilmektedir. Ancak son zamanlarda, yüksek tuzlu ortamlarda gelişebilen mikroorganizmaların ürettiği halofilik enzimler ilgi çekmeye başlamıştır. Bu enzimler, zorlu endüstriyel koşullarda gösterdikleri yüksek aktivite, geniş substrat özgüllüğü ve kararlılıklarından dolayı deterjan katkılarında, biyoyakıt üretiminde, tekstil sanayisinde, atık arıtmada ve diğer birçok biyoteknolojik uygulamada kullanılmaktadır (13).

Lipaz

Lipaz, lipidlerin ester bağlarının hidrolizini katalizleyen, esterazların bir alt sınıfını oluşturan enzim olarak bilinmektedir. Lipazların temel fonksiyonu, trigliseritlerin hidrolizini sağlamak olup aynı zamanda bu enzimler esterifikasyon, interesterifikasyon ve transesterifikasyon reaksiyonlarını da katalize edebilmektedir. Lipazlar gıda, deterjan, ilaç, deri, tekstil, kozmetik ve kâğıt sektörlerinde yaygın olarak kullanılan enzimlerdir (14, 15).

Lipazlar, gıdaların fermantasyonu ve olgunlaşması aşamalarında önemli bir role sahiptir. Bu süreçlerin çoğunda tuzlama adımları mevcuttur (16). Gıda ürünlerinin hazırlanmasında fermantasyon sürecinde kullanılan lipazlar yüksek tuz konsantrasyonlarında aktif olmalı, bu amaçla halofil veya halotolerant enzimler kullanılmalıdır. Bu anlamda ekstrem mikroorganizmalardan izole edilen lipazlar endüstriyel işlemler için mükemmel bir alternatiftir (17). Bugüne kadar halofilik lipaz veya esterazlar ve onların uygulamaları konusunda sınırlı sayıda

araştırma yapılmıştır. Termofilik lipazlar halofilik lipazlara göre daha fazla dikkat çekmiştir. Ancak araştırmacıların biyoteknolojik uygulamalar için yeni ürün geliştirme çalışmaları ile halofilik organizmalar ve ürettikleri enzimler üzerine yapılan araştırmalar artmıştır (15, 18).

Halofilik yaşama özel uyum sağlayan bu mikroorganizma gruplarının lipolitik enzimleri biyoteknoloji gibi çeşitli alanlarda kullanım imkanına sahiptir (19). Endüstriyel işlemler genel olarak zor şartlar altında gerçekleştirildiğinden optimum pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarının doğru tespit edilmesi endüstriyel işlemler için önemlidir. Halofilik lipaz enzimleri de ekstrem şartlara uyum sağlama yeteneğinde oldukları için endüstriyel üretim için kullanılacak uygun enzimler grubunu oluşturmaktadır.

LAB içerisinde *Lactobacillus plantarum* endüstriyel olarak önemli bir türdür. Bu mikroorganizmanın yüksek tuz konsantrasyonlarında canlılığının, lipolitik ve esteraz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yapılmış farklı araştırmalar bulunmaktadır (20, 21). Anderson ve ark. (22) %5 NaCl konsantrasyonunda gelişebilen *L. plantarum* MF32 suşundan lipaz enzimini saflaştırmıştır. Yapılan başka bir çalışmada, Doğu Himalayaların geleneksel işlenmiş balık ürünlerinden izole edilmiş LAB'ın teknolojik ve fenotipik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla farklı ürünlerden oluşan toplam 40 örneğin mikrobiyal çeşitliliği incelenmiştir. İzole edilen LAB'dan sadece 5 adedinde lipolitik aktivite tespit edilmiştir (23).

Meksika'da geleneksel olan Cotija ve doble crema peynirlerinden izole edilen halotolerant veya halofilik LAB'ın lipolitik, proteolitik aktiviteleri ve asit oluşturma kapasiteleri incelenmiştir. En yüksek proteolitik aktivite gösteren türler arasında *Tetragenococcus halophilus* ve *L. plantarum* belirlenmiştir. Lipolitik aktivite tayininde *T. halophilus*'un substratı hidroliz ederek lipolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek asit üretme yeteneğine sahip olan bakteri ise *L. pentosus* ve *L. plantarum*'dur (24).

Moreno ve ark. (17) tarafından yapılan bir çalışmada, aşırı halofilik bakteri olan *Salicola marasensis* IC10'un, salipro olarak adlandırılan ekstrasellüler proteaz ve LipL olarak adlandırılan lipaz ürettiği tespit edilmiştir. Lipolitik aktivitesi esas olarak sitoplazmik bölümde yer alan *S. marasensis* IC10'un farklı substratlarda aktivite

gösterebildiği saptanırken, en yüksek lipaz üretimi eksponansiyel fazın sonunda gerçekleşmiştir. 0-4 M NaCl ortamında enzim üretimi belirlenirken, en yüksek enzim aktivitesi 1 M NaCl içeren ortamda tespit edilmiştir.

Esteban-Torres ve ark. (21) ise *L. plantarum* WCF S1 suşundan Lp_3562 proteininin klonlanıp, *E. coli* BL21 suşuna aktarılması ve bu proteinin biyokimyasal karakterizasyonu üzerinde çalışmıştır. Araştırmacılar Lp_3562'nin tribütirin ve diğer uzun zincirli yapılarda lipaz aktivitesi gösterdiğini tespit etmiştir. Enzim pH 5-8 arasında aktivite gösterirken, en yüksek aktivite pH 7'de tespit edilmiştir. Lp_3562 optimum lipaz aktivitesini 40°C'de gösterirken, buzdolabı sıcaklığında (5°C) maksimum aktivite % 40 olarak tespit edilmiştir.

Amilaz

α -amilaz enzimi nişasta molekülündeki α -1,4 bağlarını parçalayarak glukoz, maltoz, maltotrioz ve α -limit dekstrinlerin oluşumunu sağlamaktadır. Nişasta çok sayıda glukoz molekülünün farklı şekillerde bağlanmasıyla oluşmuş polisakkarit özellikte bir bileşiktir. Bazı bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen α -amilaz, β -amilaz, glikoamilaz ve glikoizomeraz gibi enzimler nişastayı parçalama yeteneğine sahiptirler (25). Amilazlar biyoteknolojik açıdan enzimlerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Klinik ve analitik kimyasalların yanı sıra nişasta sakkarifikasyon uygulamalarında ve yaygın olarak tekstil, gıda, bira ve damıtma endüstrilerinde halofil amilazlar kullanılmaktadır (26). Gıda endüstrisinde, nişastanın α -amilaz enzimi ile hidrolize edilmesi sonucu açığa çıkan ürünler yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu ürünlerden dekstrin, nişastanın glikoza kadar hidrolize olmasından önce oluşan kısa molekülü ilk üründür. α -amilaz enzimi ekmekçilikte ekmeğin bayatlamasını geciktirmesi ve raf ömrünü uzatmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Meyve suyu endüstrisinde de uygulanmakta olan enzim, elma ve armut sularının berraklaştırılmasında kullanılmaktadır (27).

Nişasta molekülünün öncelikle α -amilaz enzimi tarafından sıvılaştırılıp, daha sonra da ortama izoamilaz ve pullulanaz enzimlerinin ilavesi ile nişastanın maltoza kadar parçalanması sağlanmaktadır. Açığa çıkan maltoz, reçel, şekerleme, ekmek, bira üretiminde ve gıdalarda tatlandırıcı olarak da kullanılmaktadır. Nişastanın

hidrolizi sırasında yan ürün olarak açığa çıkan maltotetrozun ise nem tutucu olarak kullanılabilirdiği belirtilmektedir (28).

Thapa ve ark. (23), Doğu Himalayaların geleneksel işlenmiş balık ürünlerinden izole edilmiş 40 adet LAB'ın teknolojik ve fenotipik özelliklerini incelemişlerdir. İncelenen LAB türlerinin *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Weissella confusa*'ya ait olduğu belirlenmiştir. İzolatların proteaz, amilaz ve lipaz aktiviteleri araştırılmış, izole edilen bakterilerden 14 adedinde 1.5-5.8 U/mL amilaz aktivitesi belirlenmiştir. Bakterilerin çok düşük proteolitik aktivitelere sahip olduğu ve herhangi bir lipaz aktivitesi göstermediği belirlenmiştir.

Daha önceden 55°C'de faaliyet gösteren bir biyogaz pilot tesisinden izole edilmiş DNA izolatlarından oluşmuş metagenom kütüphanesinden termofilik mikroorganizmaların ürettiği yeni enzimlerin araştırılması için yapılmış bir çalışmada, izolatların amilazı parçalama yeteneği incelenmiş ve bir adet aktif amilaz üreten klon saptanmıştır. Amy13A geninin ise, yüksek seviyede rekombinant amilaz aktivitesi gösteren *Escherichia coli* içinde kodlandığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda Amy13A geninin yüksek konsantrasyonda tuzu ve yüksek sıcaklığı tolere edebilen birkaç enzimden biri olduğu ve ekstrem şartlarda gerçekleştirilecek nişasta işleme basamakları için potansiyel aday olduğu belirtilmiştir (29).

Pathak ve ark. (30) tarafından yapılan bir çalışmada ise tuzlu balık olan *Rastrelliger kanagurta*'da *Lactobacillus* spp. baskın türü oluşturmuştur. 8 izolattan 3 adedinin yeterli düzeyde amilaz ürettiği belirlenmiş ve Petri yüzeyinde amilaz üretiminde en yüksek zonü oluşturan türün ise *Lactobacillus yamanashiensis* olduğu belirtilmiştir.

Proteaz

Proteazlar, hem fizyolojik hem de ticari alandaki uygulamaları açısından çok önemli bir yere sahip olan, proteinleri hidrolize eden enzimler olarak tanımlanmaktadır. Proteolitik enzimler proteinler arasındaki peptit bağlarının parçalanmasını katalize etmektedirler. Günümüzde proteazlar, dünyada endüstriyel olarak satılan üç büyük enzim

grubundan birini oluşturmaktadır. Proteazlar deterjan ve gıda endüstrisindeki uygulamalarda da geniş yer almaktadır. Proteazların geniş çeşitliliği bu enzimlerden fizyolojik ve biyoteknolojik alanlarda yararlanılmasını öne çıkarmıştır. Günümüzde artan talep doğrultusunda bitki ve hayvan kaynaklı proteazların yetersizliği mikrobiyel proteazlara olan ilginin artmasına yol açmıştır. Proteaz enzimi üretimi birçok bakteri ve küf türünde oldukça yaygındır. Biyoteknolojik uygulamalardaki arzu edilen karakteristik özelliklere sahip olmaları nedeniyle mikrobiyel kaynaklı proteazlar bitki ve hayvan kaynaklı proteazlara göre daha çok tercih edilmektedirler (31).

Mikrobiyel proteazlar, geniş pH aralıklarında aktivite göstermeleri sebebiyle asidik, nötral ve alkali olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Bununla birlikte *Bacillus* cinsinde yer alan çeşitli suşlar enzim endüstrisinde çok önemli bir yere sahiptirler (32). Özellikle nötr ve alkali olan çoğu ticari proteazın *Bacillus* cinsine ait bakteriler tarafından üretildiği belirtilmiştir. Orta düzeyde reaksiyon hızları nedeniyle nötral proteazlar gıda proteinlerinin hidrolizinde daha az acılık oluşturmaktadır. Bu enzimler sahip oldukları düşük sıcaklık toleransı sebebiyle gıda hidrolizlerinin kontrol aşamalarında avantaj oluşturmaktadırlar (33, 34).

Proteazların gıda endüstrisinde kullanılması eski çağlara dayanmaktadır. Peynir, ekmek yapımı, soya hidrolizatlarını hazırlama ve et tenderizasyonu (yumuşatma) gibi çeşitli alanlarda kullanılmakta olan proteazların süt endüstrisinde en çok uygulandığı alan ise peynir üretimidir. Sütü koagüle eden enzimler olarak rol oynayan mikrobiyal proteazlar dünyada buzağı rennetinin elde edilmesinin getirdiği sıkıntıyı giderecek alternatif oluşturmuştur (35). Süte özgü proteinazlar, rennet ve başlatıcı kültür olarak kullanılan LAB'ın proteolitik aktiviteleri ile gerçekleşen proteoliz süreci peynirin olgunlaşması için önemli bir olaydır (36, 37). Peynirin olgunlaşması sırasında meydana gelen biyokimyasal değişiklikler; pıhtılaştırıcı enzimler, doğal süt enzimleri, proteinazlar, lipazlar, başlatıcı kültürler ve ikincil mikroorganizmalar ve onların enzimleri gibi çeşitli enzimlerin sinerjik etkisi ile meydana gelmektedir. (38). Ekmek üretiminde ise proteazlar, hamurun yoğunluğunu azaltmak için, hamurda bütünlüğü sağlamak için, ekmekteki gluten gücünü düzenlemek için, doku kontrolünü ve tadı geliştirmek için ilave edilmektedir

(39). Proteazlar aynı zamanda tıbbi teşhis, ilaç, deterjan, bira sanayi ve biyomoleküler uygulamalarda kullanılmaktadır (40, 41).

Kanlayakrit ve Bovornreungroj (42) tarafından balık sosu örneklerinden tuz seven proteaz üreten bakterilerin izolasyonu ve karakterizasyonu amacıyla yapılan bir başka çalışmada ise, izolasyon için Tayland'ın Doğu tarafında yer alan bazı balık sosu fabrikalarından alınan fermente balık örnekleri kullanılmıştır. Araştırmada 285 halofilik bakteri izole edilmiştir. İzole edilen suşlar arasında 10 tanesinin yüksek tuz seven proteaz üretme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Bu suşlar, 4M NaCl içeren ortamda maksimum gelişme gösterip, proteaz üretirken, 2M gibi düşük NaCl konsantrasyonu içeren ortamda proteaz üretimi gerçekleştirilememiştir. En yüksek tuz seven proteaz üreten suşlar; Gram negatif, çubuk morfolojisine sahip olup, koloniler etrafında kırmızı renkli zon oluşumları ile karakterize edilmiştir. Thapa ve ark. (23)'nin çalışmasında ise, incelenen LAB izolatlarının proteaz, amilaz ve lipaz aktiviteleri araştırılmıştır. Bu izolatlar Doğu Himalayaların geleneksel işlenmiş balık ürünlerinden izole edilmiştir. İzole edilen bütün suşların 2 mm'den fazla zon çapı ile yaklaşık 0,5-1,3 U/mL arasında proteolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Udomsil ve ark. (43)'nin balık sosu püresinden proteinaz üreten HLAB izolasyonu yaptığı ve bu bakterilerin ürettiği uçucu bileşenlerini incelediği çalışmada, izole edilen 74 HLAB izolatından 7 tanesi %25 NaCl konsantrasyonunda gelişerek proteolitik aktivite göstermiştir. Çalışmada bütün izolatların Gram negatif kok şeklinde oldukları ve %0-25 NaCl konsantrasyonunda gelişebildikleri tespit edilirken, yapılan rRNA dizi analizine göre izolatlar *T. halophilus* olarak tanımlanmıştır.

Fibrinolitik Enzimler

Fibrinolitik enzimler kemoterapötik ajan olarak kanın pıhtılaşmasında klinik uygulamalar için önemlidir. Aynı zamanda proteazın bir alt sınıfı olan fibrinolitik enzimler fibrin indirgeme yeteneğine sahiptir. Geçmiş yıllarda bu enzim genellikle kertenkeleler, solucanlar ve yılan gibi çeşitli hayvanlardan izole edilmekteydi (44). Günümüzde bu enzimlerin üretilmesi için bazı bakteriler ve mantarlar kullanılmaktadır. Fibrinolitik enzimler birçok araştırmacı için mükemmel bir kaynaktır. Bu enzim çeşitli fermente

gıdalarda, hayvanlarda, bitkilerde ve farklı mikroorganizmalarda bulunabilir (45). Bu enzim *in vivo* olarak sadece plazminojenden plazmine dönüşümü değil aynı zamanda trombin de hidrolize etmektedir. Özellikle Uzak Doğu ülkelerinde tüketilen farklı fermente gıdalarda fibrinolitik enzimler tespit edilmiştir. Shiokara fermente bir balık ürünüdür ve Japonya'da 1000 yıldan fazla süredir tüketilmektedir. Benzer şekilde tüketilen Douchi ise Çin'de üretilen fermente soya ürünüdür ve özel tat ve lezzetli olması nedeniyle birkaç bin yıldan daha eskiye uzanan bir geçmişe sahiptir (46).

Katsuwokinase Japon geleneksel tuzlu fermente gıdası olan kızıl orkinos 'Shiokara' da bulunan bir fibrinolitik enzimdir. Bu enzimin tuza karşı oldukça dayanıklı olduğu bulunmuştur (47). Endonezya'nın farklı alanlarında tüketilen geleneksel fermente balıklarda da Man Rogosa Sharpe (MRS) ve M17 agar besiyeri kullanılarak 74 halofilik LAB suşu izole edilmiştir. Bu bakterilerin proteolitik ve fibrinolitik aktiviteleri yağsız süt agar ve plazminojen içermeyen fibrin plaka kullanılarak belirlenmiştir. Bu izolatlardan 4 adeti fibrinolitik enzime sahipken, 25 adetinde ise proteaz aktivitesi belirlenmiştir (48).

Fibrinolitik enzim varlığı tespit edilen bazı türlerin bir Japon yemeği olan Natto, skipjack shiokara, bal mantarı olarak bilinen *Armillariella mellea*, Uzak Doğu'ya ait geleneksel ürün olan Kimçi, deniz ürünleri içeren fermente gıdalar ve soya fasülyesinden izole edilen mikroorganizmalar olduğu daha önceden yapılmış çalışmalarda belirlenmiştir (49, 50). Prihanto ve ark. (48) HLAB'ın proteolitik ve fibrinolitik enzim aktivitelerini incelediği çalışmada 70 adet izolat elde etmişlerdir. İzolatlardan 25 tanesi proteaz aktivitesi gösterirken, 4 tanesi de fibrinolitik enzim üretme yeteneği göstermiştir. Bunlar arasında *Bacillus coagulans* TB1 suşu en yüksek proteolitik ve fibrinolitik enzim üretme yeteneği göstermiştir.

Dekarboksilaz

Biyojen aminler; hayvan, bitki ve mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucunda, amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu ile oluşan düşük molekül ağırlıklı azotlu bileşiklerdir (51). Biyojen aminler gıdalardaki aminoasitlerin, bazı mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimleri ile

dekarboksilasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Biyojen amin oluşumu ortamın pH'sını yükselterek mikroorganizmayı asidik ortam etkisinden korumaktadır. Birçok araştırmayla, farklı bakteri suşlarının biyojen amin ürettiği ortaya konmuştur. Histamin, tiramin, triptamin, serotonin, putresin, kadaverin, oktopamin, dopamin, agmatin, spermin, spermidin, diaminobutan ve feniletilamin, çeşitli çalışmalar ile gıdalarda tespit edilmiş önemli biyojen aminler olarak gösterilebilir (52). Gıdalarda yüksek derecede bulunan biyojen aminlerin, insanlarda önemli sağlık tehlikesi yaratabileceği düşünülmektedir (53).

Kimura ve ark. (54) ve Konagoya ve ark. (55) Japon fermente kalamar karaciğer sosundan *T. muriaticus* izole etmiş ve bakteride histidin dekarboksilaz aktivitesi tespit edilmiştir. Fermente deniz ürünlerinde histamin birikimine sebep olduğu bilinen *T. muriaticus* türünün histamin üreticisi olduğu belirlenmiştir. *T. muriaticus* türüne ait *T. muriaticus* a9 suşunun incelendiği bir başka araştırmada ise bu suşun histamin üretmediği tespit edilmiştir (56).

Kimura ve ark. (54) HLAB olan *T. muriaticus*'u balık sosundan izole ederek histamin oluşumunu araştırmıştır. *T. muriaticus*'un düşük asitte (pH 5.8) ve optimum %5-7 NaCl konsantrasyonunda histamin ürettiği gözlemlenmiştir. Balıkta histamin varlığı bakteriyolojik olarak bozulmaya neden olduğu için kimyasal bir indeks olarak kabul edilmektedir. (57).

Tayvan'da satılan 33 adet tuzlu uskumruda histamin ve histamin oluşturan bakterilerin varlığını belirlemek için yapılan bir incelemede, tüm örneklerdeki 9 biyojen aminin her biri ortalama 30 ppm düzeyinde tespit edilmiştir. Toplanan 18 örnekten ikisinde 70.1 ve 120.2 ppm düzeylerinde histamin üretimi belirlenerek, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin önerdiği limit olan 50 ppm'den daha fazla biyojen amin üretimi tespit edilmiştir (58).

Pektolitik Enzimler

Pektinazlar evlerde kullanılan ilk enzimlerdir. İlk ticari uygulamaları şarap ve meyve suyunda kullanılmalarıdır. Pektinazlar meyve ve tekstil sektörünün yanı sıra çeşitli biyoteknolojik uygulamalar için son derece önemlidir. Aynı zamanda mikrobiyal kaynakların pektinaz

üretiminde önemli bir işlevi vardır (59). Pektolitik enzimler gıda işleme, sanayi ve alkollü içecek endüstrisinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu enzimler pektini indirgeyerek çözeltinin viskozitesini azaltır. Pektolitik enzimler esas olarak bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenmektedir (60). Yapılan literatür taramasında HLAB'ın ürettiği pektolitik enzimler ile ilgili yapılmış sınırlı sayıda araştırmaya ulaşılmıştır.

Vidhyasagar ve ark. (61)'nin yaptığı çalışmada *P. pentosaceus* VJ13, VJ41, VJ56, *L. plantarum* ssp. *argentoratensis* SJ6, SJ35, SJ37, SJ40 ve *L. pentosus* SJ65 suşlarında Kongo kırmızısı ile yüksek pektinaz varlığı tespit edilmiştir. Pektinaz üretimi diğer izolatlarla karşılaştırıldığında *P. pentosaceus* VJ41 (306±6 U/mL) ve *L. pentosus* SJ65 (338±6 U/mL) suşlarında belirlenmiştir.

Ksilan ve Ksilanazlar

Ksilan, β -1,4 bağları ile bağlanmış ksilopiranosil birimlerinden oluşan bitki hücre duvarlarının ana bileşenidir ve doğada en çok bulunan ikinci polisakkarittir. Ksilan, hemiselülozun yapısında mannan, galaktan ve arabının yanı sıra ana bileşen olarak yer alır. Selüloz ve lignin ile beraber hemiselüloz yapısına katılan bir bileşen olarak bitki hücre duvarlarının ana kompozisyonunu oluştururlar. Ksilanın ya da hemiselülozun lignin ve selüloz arasına yerleşmesi selülozun bütünlüğünün devamı ve selüloz degradasyonuna karşı liflerin korunması açısından önemlidir (62). Ksilan çok karmaşık bir moleküldür. Bu nedenle ksilanın hidrolizi için farklı enzimlere ihtiyaç duyulur. Ksilan molekülünün hidrolizini gerçekleştiren enzimlerin tamamına "ksilanolitik enzim sistemi" denir. β -1,4-endoksilanaz, β -ksilozidaz, α -L-arabinofuranosidaz, α -glukuronidaz, asetil ksilan esteraz ve fenolik asit (ferulik ve p-kumarik asit) esteraz enzimleri bu bahsedilen enzim sistemi içinde yer almaktadır (63). Bu enzimler özellikle kağıt ve kağıt hamuru başta olmak üzere gıda ve hayvan yemi endüstrisi alanlarında temel endüstriyel enzim olmaları sebebiyle çok büyük öneme sahiptir. Ksilanazlar tek hücre proteini, enzimler, sıvı ya da gaz yakıtların üretimi, çözücüler ve şeker şuruplarının üretimi gibi genel uygulamalarda kullanılmaktadır (62).

Wejse ve ark. (64), halofilik bakteriden iki adet ekstrem halotolerant ksilan enzimi üreterek karakterizasyonunu yapmışlardır. Moleküler ağırlığı

43 ve 62 kDa olan iki alt birimden meydana gelmiş ksilanaz-1 optimum aktivitesini pH 6.0 ve 60°C'de göstermektedir. Ksilanaz-2 ise optimum 65°C ve 4 M NaCl'de etki göstermektedir. Enzimlerin yarılanma ömürleri 60°C'de 97 ve 192 dakika olarak belirlenmiştir.

WainQ ve Ingvorsen (65), ekstrem halofilik arkeon *Halorhabdus utahensis*'den β-ksilanaz ve β-ksilozidaz üretimi gerçekleştirmişlerdir. Her iki enzim de % 0-30 arasında NaCl konsantrasyonu gibi geniş bir aktivite spektrumuna sahip olup kısmen de olsa termofilik özelliktedirler. Enzimlerden β-ksilanaz 55°C ve 70°C olarak iki optimum aktivite sıcaklığına sahiptir. β-ksilozidazın optimum sıcaklığı 65°C'dir. Yapılan literatür taramasında HLAB'ın ürettiği ksilan ve ksilanaz enzimleri ile ilgili yeterli sayıda çalışmanın bulunmadığı gözlenmiştir

SONUÇ

HLAB'ın, teknolojik özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde önemli oldukları bilinmektedir. Gıdalarda bulunan HLAB, tuz içeriği yüksek fermente gıdalarda görülen baskın mikroorganizmalar olmaları sebebiyle, aroma ve lezzet gelişiminde başlatıcı veya destek kültür olarak rol oynamaktadır. HLAB tarafından üretilen hidrolitik enzimler farklı sektörlerde kullanıldıkları gibi çeşitli özellikleri de bulunmaktadır. Tuza dayanıklı enzimler, yiyecek, fermantasyon ve temizlik sektörü gibi yüksek NaCl konsantrasyonları ya da aseptik koşullar gerektiren birçok üretim süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Değişik kaynaklardan elde edilen enzimler unlu mamullerin üretiminde, meyve suyu, şarap, süt ürünleri ve nişasta gibi gıda sektöründe kullanılmaktadır. Gıda kaynaklarından izole edilen HLAB'dan elde edilecek enzimler endüstriyel uygulamalarda ticarileştirme potansiyeline sahiptir. HLAB'ın ürettiği invertaz enzimi hakkında sınırlı bilgiye ulaşılmıştır. Özellikle HLAB tarafından üretilen bu enzim üzerinde yapılacak çalışmalara önem verilmesi gerekmektedir. Ayrıca enzim teknolojisinin giderek gelişmesi, ürünlerin kullanım alanlarının çeşitliliği ve ekonomik değerinin çok yüksek olması nedeniyle, endüstriyel enzimlerle ilgili yapılacak çeşitli çalışmaların enzimlerin üretiminde önemli olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Salvucci E, LeBlanc J.G, Perez G. 2016. Technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw cereal material. *LWT - Food Sci Technol*, 70, 185-191.
2. Yüksekdağ Z.N, Beyatlı Y. 2009. Bazı laktik asit bakterilerinin fizyolojik, biyokimyasal, plazmit DNA ve protein profil özelliklerinin incelenmesi. *GIDA*, 34 (2): 91-98.
3. Başyigit Kılıç G, Kuleaşan H, Eralp İ, Karahan A.G. 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. *LTW-Food Sci Technol*, 42, 1003-1008.
4. Sağdıç O, Öztürk İ, Cankurt H, Tornuk F. 2011. Interaction between some phenolic compounds and probiotic bacterium in functional ice cream production. *Food Bioprocess Tech*, DOI 10.1007/s11947-011-0611-x.
5. Hayek S.A, İbrahim S.A. 2013. Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: A Review. *Food Nut Sci*, 4, 73-87.
6. Roohi A, Ahmed I, Iqbal M, Jamil M. 2012. Preliminary isolation and characterization of halotolerant and halophilic bacteria from salt mines of Karak. *Pak J Bot*, 44, 365-370.
7. Surve V.V, Patil M.U, Dharmadekari S.M. 2012. Moderately halophilic bacteria from solar salt pans of Ribander, Goa: a comparative study. *Int J Adv Biotec Res*, 3, 635-643.
8. Gomes J, Steiner W. 2004. The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes. *Food Technol Biotechnol*, 42 (4) 223-235.
9. Ishikawa M, Kodama K, Yasuda H, Okamoto-Kainuma A, Koizumi K, Yamasato K. 2006. Presence of halophilic and alkaliphilic lactic acid bacteria in various cheeses. *Lett Appl Microbiol*, 44, 308-313.
10. Uchida M, Miyoshi T, Yoshida G, Niwa K, Mori M, Wakabayash H. 2014. Isolation and characterization of halophilic lactic acid bacteria acting as a starter culture for sauce fermentation of the red alga Nori (*Porphyra yezoensis*). *J Appl Microbiol*, 116, 1506-1520.
11. Gurung N, Ray S, Bose S, Rai V. 2013. A Broader View: Microbial enzymes and their relevance in industries, medicine and beyond. Hindawi Publishing Corporation BioMed Res Int, Article ID 329121, p:8, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/329121>.

12. Alpan L.G. 2008. Bazı ekstrem termofil anaerobik bakterilerin alkali proteazlarının özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
13. Singh A.K, Mukhopadhyay M. 2012. Overview of fungal lipase: a review. *Appl Biochem Biotechnol*, 166 (2): 486-520.
14. Houde A, Kademi A, Leblanc D. 2004. Lipases and their industrial applications: an overview. *Appl Biochem Biotechnol*, 118 (1-3): 155-70.
15. Anisha C, Mathew J, Radhakrishnan E.K. 2012. Extracellular lipolytic enzyme production by a novel extremely halophilic bacterium. *Universal J Environ Res Technol*, 2 (3): 143-148.
16. Arroyo-López F.N, Romero-Gil V, Bautista-Gallego J, Rodríguez-Gómez F, Jiménez-Díaz R, García-García P, Querol A, Garrido-Fernández A. 2012. Yeasts in table olive processing: Desirable or spoilage microorganisms? *Int J Food Microbiol*, 160, 42-49.
17. Moreno M.D.L, Pérez D, García M.T, Mellado E. 2013. Halophilic bacteria as a source of novel hydrolytic enzymes. *Life*, 3, 38-51.
18. Schreck S.D, Grunden A.M. 2014. Biotechnological applications of halophilic lipases and thioesterases. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98, 1011-1021.
19. Ghasemi Y, Rasoul-Amini S, Kazemi A, Zarrini G, Morowvat M. H, Kargar M. 2011. Isolation and characterization of some moderately halophilic bacteria with lipolytic activity. *Microbiol*, 80 (4): 483-487.
20. Kleerebezem M, Boekhorst J, Van Kranenburg R, Molenaar D, Kuipers O.P, Leer R, Turchini R, Peters S.A, Sandbrink H.M, Fiers M.W.E.J, Stiekema W, Lankhorst R.M.K, Bron P.A, Hoffer S.M, Nierop Groot M.S, Kerkhoven R, de Vries M, Ursing B, de Vos W.M, Siezen R.J. 2003. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (4): 1990-1995.
21. Esteban-Torres M, Manche J.M, Rivas B, Muñoz R. 2015. Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. *LWT - Food Sci Technol*, 60 (1): 246-252.
22. Andersen H.J, Ostdal H. 1995. Partial purification and characterisation of a lipase from *Lactobacillus plantarum* MF32. *Food Chem*, 53 (4): 369-373.
23. Thapa N, Pal J, Tamang J.P. 2006. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *Int J Food Microbiol*, 107 (1): 33-8.
24. Morales F, Morales I.J, Hernandez C.H. 2011. Isolation and partial characterization of halotolerant lactic acid bacteria from two Mexican cheeses. *Appl Biochem Biotechnol*, 164, 889-905.
25. Güven R.G. 2011. Termofilik bakteriler ve biyoteknolojik açıdan önemli bazı enzimler. *Elektronik Mikrobiyol Derg*, TR (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi), 09 (1): 1-10.
26. Pandey A, Nigam P, Soccol C.R, Soccol V.T, Singh D, Mohan R. 2000. Advances in microbial amylases. *Biotechnol Appl Biochem*, 31 (2):135-52.
27. Şimşek T. 2006. Türkiye'nin değişik bölgelerinden termostabil alfa amilaz üreten *Bacillus* sp. türlerinin izolasyonu karakterizasyonu ve alfa amilaz geninin klonlanması. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
28. Tatar S. 2007. Termofil moderately halofilik *Bacillus* sp. suşlarından amilaz enzimi üretimi ve endüstriyel kullanım olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana.
29. Jabbour D, Sorger A, Sahm K, Antranikian G. 2013. A highly thermoactive and salt-tolerant α -amylase isolated from a pilot-plant biogas reactor. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97 (7): 2971-1978. doi: 10.1007/s00253-012-4194-x.
30. Pathak A.P, Sardar A.G, Janaj P.C. 2014. Exploring the salted fish for salt stable amylase producing bacteria. *Indian J Geo-Marine Sci*, 43(10): 1967-1971.
31. Kıran Eren Ö, Çömlekçioğlu U, Dostbil N. 2006. Bazı Mikrobiyal enzimler ve endüstrideki kullanım alanları. KSÜ Fen ve Mühendislik Derg, 9 (1): 12-18.
32. Adrio J.L, Demain A.L. 2014. Microbial enzymes: Tools for biotechnological processes. *Biomolecules*, 4, 117-139; doi:10.3390/biom4010117.
33. Qadar S.A.I, Shireen E, Iqbal S, Anwar A. 2009. Optimization of protease production from newly isolated strain of *Bacillus* sp. PCSIR EA-3. *Indian J Biotechnol*, 18, 286-290.

34. Mushtaq Z, Irfan M, Nadeem M, Naz M, Syed Q. 2015. Kinetics study of extracellular detergent stable alkaline protease from *Rhizopus oryzae*. *Braz Arch Biol Technol*, 58 (2): 175-184.
35. Çerçi B, Koçyiğit A, Karaboz İ. 2011. Gıdaların işlenmesinde kullanılan enzimlerin rekombinant DNA teknolojisi ile üretimi. *Elektronik Mikrobiyol Derg TR* (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi), 09 (3): 1-7. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702110301.pdf
36. Sousa M. J, Ardo Y, McSweeney P. L. H. 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int Dairy J*, 11, 327-345.
37. Maoz A, Mayr R, Scherer S. 2003. Temporal stability and biodiversity of two complex antilisterial Cheese-Ripening. Microbial Consortia. *Appl Environ Microbiol*, 69 (7): 4012-4018.
38. Akuzawa R, Fox P.F. 2004. Acid phosphatase in cheese. *Animal Sci J*, 75, 385-391.
39. Hassan A.A, Mansour E.H, El Bedawey A.E.A, Zaki M.S. 2014. Improving dough rheology and cookie quality by protease enzyme. *American J Food Sci Nut Research*, 1(1): 1-7.
40. Li A.N, Li D.C. 2009. Cloning, expression and characterization of the serine protease gene from *Chaetomium thermophilum*. *J Appl Microbiol*, 106 (2): 369-80.
41. Mótýán J.A, Tóth F, Tózsér J. 2013. Research applications of proteolytic enzymes in molecular biology. *Biomolecules*, 3 (4): 923-942.
42. Kanlayakrit W, Bovornreungroj P. 2005. Isolation and characterization of salt loving protease producing bacteria form fish Sauce Samples. *Kasetsart J Nat Sci*, 39, 88-97.
43. Udomsil N, Rodtong S, Tanasupawat S, Yongsawatdigul J. 2010. Proteinase-producing halophilic lactic acid bacteria isolated from fish sauce fermentation and their ability to produce volatile compounds, *Int J Food Microbiol*, 141, 186-194.
44. Cho I.H, Choi E.S, Lim H.G, Lee H.H. 2004. Purification and characterization of six fibrinolytic serine-proteases from Earthworm *Lumbricus rubellus*. *J Biochem Mol Biology*, 37 (2): 199-205.
45. Ningthoujam D.S, Thokchom S. 2016. Screening of fibrinolytic enzymes from microorganisms especially *Actinomycetes* from different biotopes in manipur. *Arch Clin Microbiol*, 7, 3.
46. Peng Y, Huang Q, Zhang R, Zhang Y. 2003. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amynoliquefaciens* DC-4 screened from *douchi*, a traditional Chinese soybean food. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 134, 1, 45-52.
47. Sumi H, Nakajima N, Yatgai C. 1995. A unique strong fibrinolytic enzyme (katsuwokinase) in skipjack 'Shiokara' a Japanese traditional fermented food. *Comp Biochem Physiol*, 112 (3): 543-547.
48. Prihanto A.A, Darius, Firdaus M. 2013. Proteolytic and fibrinolytic activities of halophilus lactic acid bacteria from two Indonesian fermented foods, *J Microbiol Biotechnol Food Sci*, 2 (5): 2291-2293.
49. Borah D, Yadav R.N.S, Sangra A, Shahin L, Chaubey A.K. 2012. Production, purification and characterization of nattokinase from *Bacillus subtilis*, isolated from tea garden soil samples of Dibrugarh, Assam, *Asian J Pharm Clin Res*, 5 (3): 124-125.
50. Aradhya P.K, Chavan M.D. 2014. Production and characterization of fibrinolytic enzyme from *Aspergillus niger*, *World J Pharmacy and Pharmaceutical Sci*, 3 (9): 843-851.
51. Uylaşer V, Konak A. 2004. Gıdalardaki biyojen aminler ve insan sağlığı açısından önemi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 6, 26-33.
52. Alper N, Temiz A. 2001. Gıdalardaki biyojen aminler ve önemi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 58 (2): 71-80.
53. Collins J.D, Noerrung B, Budka H, Andreoletti O, Buncic S, Griffin J, Hald T, Havelaar A, Hope J, Klein G, Koutsoumanis K, McLauchlin J, Müller-Graf C, Nguyen-The C, Peixe L, Maradona M.P, Ricci A, Sofos J, Threlfall J, Vagsholm I, Vanopdenbosch E. 2011. Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA J*, 9 (10): 2393.
54. Kimura B, Konagaya Y, Fujii T. 2001. Histamine formation by *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce, *Int J Food Microbiol*, 70, 71-77.
55. Konagaya Y, Kimura B, Ishida M, Fujii T. 2002. Purification and properties of a histidine decarboxylase from *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium. *J Appl Microbiol*, 92, 1136-1142.

56. Kobayashi T, Kajiwara M, Wahyuni M, Kitakado T, Hamada-Sato N, Imada C, Watanabe E. 2003. Isolation and characterization of halophilic lactic acid bacteria isolated from 'terasi' shrimp paste: A traditional fermented seafood product in Indonesia. *J Gen Appl Microbiol*, 49, 279-286.
57. Françoise L. 2010. Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Int J Syst Evol Microbiol*, 27 (6): 698-709, doi: 10.1016/j.fm.2010.05.016.
58. Tsai Y.H, Lin C.Y, Chang S.C, Chen H.C, Kung H.F, Wei C.I, Hwang D.F. 2005. Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan, *Food Microbiol*, 22, 461-467.
59. Pushpa S, Murthy and Madhava M. 2010. Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation utilizing coffee by-products. *World Appl Sci J*, 8 (2), 199-205.
60. Soares I, Távora Z, Barcelos R.P, Baroni S. 2012. Microorganism produced enzymes in the food industry. *Scientific, Health and Social Aspects of The Food Industry*, Benjamin Valdez (ed), ISSN 978-953-307-916-5.
61. Vidhyasagar V, Saraniya A, Jeevaratnam K. 2013. Identification of pectin degrading lactic acid bacteria from fermented food sources. *In J Adv Lif Sci*, 6, 1.
62. Beg Q. K, Kapour M, Mahajan L, Hoondal G.S. 2001. Microbial xylanase and their industrial applications: a review. *Appl Microbiol Biotechnol*, 56, 326-338.
63. Subramaniyan S, Prema P. 2000. Cellulase-free xylanases from *Bacillus* and other microorganisms. *FEMS Microbiol Lett*, 183 (1): 1-7.
64. Wejse P.L, Ingvorsen K, Mortensen K.K. 2003. Xylanase production by a novel halophilic bacterium increased 20-fold by response surface methodology. *Enzyme Microb Technol*, 32, 721-727.
65. WainQ M, Ingvorsen K. 2003. Production of β -xylanase and β -xylosidase by the extremely halophilic archaeon *Halorhabdus utahensis*. *Extremophiles*, 7, 87-93.