

## GIDA ATIKLARININ PEKTİNAZ ENZİMİ ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Sibel Uzuner<sup>1,2</sup>, Deniz Çekmecelioglu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

<sup>2</sup>Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu

Geliş tarihi / *Received*: 29.12.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 15.02.2016

Kabul tarihi / *Accepted*: 17.02.2016

### Özet

Fermantasyon teknolojisindeki hızlı gelişmeler, enzimlerin kullanım alanlarının artması (gıda, çevre, kimya, eczacılık gibi) ve maliyetlerinin yüksek olması bu alandaki çalışmaların ivmesini giderek arttırmaktadır. Bu nedenle, başta artan gereksinimi karşılamak ve enzim üretim maliyetini düşürmek amacıyla, fermantasyon koşullarının optimize edilmesi ve mikroorganizmaların gelişimi için karbon kaynağı olarak ucuz hammadde kullanımının sağlanması öncelikli bir öneme sahiptir. Türkiye’de yılda 25 milyon ton tarımsal atık açığa çıkmakta, ancak sınırlı endüstriyel kullanımları nedeniyle halen çevresel ve sağlık açısından tehdit oluşturmaktadırlar. Bu derlemede, başta gıda endüstrisi olmak üzere, yaygın olarak kullanılan pektinaz enziminin üretimi, kullanılmakta olan karbon kaynakları açısından irdelenmiş, tarımsal-gıda atıklarının kullanım kapasitesi tartışılmış ve kullanıma açık yeni ham maddeler tavsiye edilmiştir. Ayrıca, pektinaz enziminin gıda sanayinde kullanımı ile ilgili örneklerle de yer verilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Pektinolitik enzimler, tarımsal-gıda atıkları, biyodönüşüm, lignoselülozik biyokütle

## UTILIZATION OF FOOD WASTES IN PECTINASE PRODUCTION

### Abstract

Rapid advances in fermentation technology, increasing application areas of enzymes (such as food, environmental, chemical, pharmaceuticals) and high cost of enzymes have gradually caused increased acceleration of studies in this area. Therefore, optimization of fermentation conditions and utilization of inexpensive raw materials as a carbon source for growth of microorganisms have leading priority in order to meet the increasing demand and reduce the enzyme production costs. Annual production of agricultural wastes is 25 million tons in Turkey, however due to their limited industrial use, these wastes still cause environmental and health threat. In this review, production of pectinase enzyme, widely used in food industry, has been discussed in terms of carbon sources being used during production, the potential usage of agro-food wastes was evaluated and new raw materials have been recommended. In addition, examples of pectinase application to food industry were also included.

**Keywords:** Pectinolytic enzymes, agro-food wastes, bioconversion, lignocellulosic biomass

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ denizc@metu.edu.tr,

☎ (+90) 312 210 5631,

☎ (+90) 312 210 2767

## GİRİŞ

Enzimler, hücredeki biyokimyasal reaksiyonları kataliz eden protein yapısına sahip maddelerdir. Endüstriyel birçok alanda kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan elde edilmektedirler. Bugüne kadar 2000'den fazla enzim tanımlanmış ve bunlardan yaklaşık 100 tanesi ticari olarak kullanıma uygun bulunmuştur. Fakat günümüzde sadece 18 tanesi endüstriyel amaçla üretilmektedir (1). Biyoteknolojik öneme sahip olan enzimler, alfa amilaz, selüloz, ksilanaz, proteaz, lipaz, pektinazlar, renin, glukoamilaz ve lakkazdır (2). Gıda ve içecek sektöründe kullanılan enzimler, yaklaşık %50 oranla endüstriyel enzim pazarının en büyük kısmını oluşturmaktadır. Gıda enzim üretiminin %25'ini oluşturan pektinolitik enzimler veya pektinazlar ise, pektik bileşikleri farklı mekanizmalarla parçalayabilen bir enzim grubudur (3). Pektinazlar dünya enzim piyasasında büyük payı bulunan ve gıda, tekstil, kâğıt ve atık suların arıtılması gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (4).

Ancak enzim maliyetinin halen yüksek oluşu endüstriyel son ürünü de etkilemektedir. Ucuz karbon kaynaklarının kullanımı önemli bir maliyet düşüşü sağlayabilmektedir. Son zamanlarda maliyeti düşürmek amacıyla, mikrobiyal enzimler, biyoyakıtlar, organik çözücüler gibi katma değerli ürünlerin, karbon kaynağı olarak sürdürülebilir tarımsal atıklar (başta lignoselülozikler olmak üzere) kullanarak üretimi üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır, hatta ürüne bağlı olarak da geleneksel kimyasal yöntemlerin de önüne geçmiştir. Lignoselülozik maddeler doğada bol miktarlarda bulunan yenilenebilir biyokütle kaynağıdır (5). Lignoselülozik maddelerin büyük bir kısmı; orman, tarım, kâğıt, gıda ve endüstriyel atıklardan oluşmaktadır (6). Bu atıklar kısmen ya yakılmakta ya da toprak kalitesini iyileştirmek amacı ile toprağa katılmaktadır. Dolayısıyla, çok az bölümü geri dönüştürülmektedir. Halbuki lignoselülozik maddeler yapısındaki polisakkaritlerin çeşitli önışlemlerle hidrolizi ve devamında fermantasyon ile enzim, biyoyakıtlar, organik çözücüler (etil alkol, metil alkol vb) üretimi için ucuz ve sürdürülebilir alternatif ham maddelerdir.

Endüstriyel ölçekte lignoselülozik ham maddelerden pektinaz üretiminin yaygınlaşması için geniş bilgi birikimi ile bu bilgilerin de sürekli güncellenmesi gereklidir. Genellikle, pektinazla ilgili derleme

makalelerinde pektin yapısı, pektinolitik enzim çeşitleri ve etki mekanizmaları ile bu enzime ait uygulama alanları hakkındaki bilgiler ön plandadır (7). Öte yandan, bu derlemede düşük maliyetli pektinaz üretimini yaygınlaştırmak amacıyla tarımsal ve gıda sanayi atıklarının enzim üretiminde karbon kaynağı olarak kullanım kapasitesi irdelenmiş ve yeni çalışmalarla kazandırılan ham maddelere dikkat çekilmiştir. Ham madde seçiminin fermantasyon yöntemini etkilemesi nedeniyle (derin kültür veya katı kültür fermantasyon) genel enzim üretim yöntemlerine de kısaca değinilmiştir.

## PEKTİNİZ ENZİMİ ÜRETİMİNDE KULLANILAN KARBON KAYNAKLARI

Endüstriyel fermantasyon proseslerinde kullanılan mikroorganizmaların besin gereksinimleri komplekstir ve mikroorganizmadan mikroorganizmaya değişmektedir. Biyokütlenin kuru ağırlığının %50'si karbondur. Karbonhidratlar mükemmel karbon, oksijen, hidrojen ve enerji kaynaklarıdır. Katabolizma sırasında glikoz karbondioksit, su ve enerjiye dönüşür. Nişasta, glikoz, sakkaroz ve melas gibi karbon kaynakları enzim, antibiyotik ve ikincil metabolitlerin fermantasyonla üretiminde gelişim substratı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fermantasyon ortamında birden fazla karbon kaynağı olduğu zaman karbon kaynaklarının düzenli ve ardışık bir şekilde kullanımı mümkündür. Bu koşullar altında, hücre ortamda mevcut olan en iyi karbon kaynağını (gelişim için karbon ve enerjiyi en hızlı bir şekilde temin edileni) katabolize eder (8).

Öte yandan, endüstriyel enzim maliyetinin %30-40'ını kültür ortamının maliyeti oluşturduğu göz önüne alındığında, bu maliyeti düşürmek amacıyla bol ve ucuz ham maddelerin kullanımı son yıllarda araştırmacıların üzerinde önemle durduğu hususlardan biridir. Son yıllarda karbon kaynağı olarak doğada bol miktarlarda bulunan ve yenilenebilir lignoselülozik maddelerin kullanımı hızla popüler olmuştur. Ağaçlar, tarla ürünleri, çeşitli organik çöpler ve mutfak artıkları lignoselülozik maddelere örnektir. Çeşitli lignoselülozik maddeler ve kullanım şekilleri Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelge 1'e göre bu maddelerin en basit ve çevre dostu olmayan kullanım şekli ısı elde etme amacıyla yakılmalarıdır.

Çizelge 1. Lignoselülozik maddeler ve kullanım şekilleri

Lignoselülozik materyal	Artıkları	Kullanım yerleri
Şeker kamışı ve diğer şeker ürünleri İşlenmiş mısır, buğday, pirinç Meyve sebze işleme	Posa Atık su, kepek Tohum, kabuk,	Yakacak Hayvan yemi Hayvan ve balık yemi, bazı tohumlardan yağ özütleme
Yağlı tohum bitkileri, sert kabuklular, pamuk tohumu, zeytin Hayvan atığı	Kabuklar, lif, pres atığı, kabuk zarı Gübre ve diğer atıklar	Hayvan yemi, gübre, yakacak Gübre

Lignoselülozik atıklar ham petrol, doğal gaz, soya yağı gibi diğer kaynaklardan oldukça daha ucuzdur. Lignoselülozik atıklar her yıl çok fazla miktarda açığa çıkmaktadır. 2005 yılı verilerine göre ABD’de tarımsal kaynaklı lignoselülozik atıklar yılda 933 milyon ton iken orman kaynaklı olanları ise 368 milyon tondur (9). Kanada ise biyokütle üretiminde ikinci sırada yer almaktadır. Ticari prosesler yoluyla Kanada’da yıllık 200 milyon ton lignoselülozik atık üretilmektedir (9). Türkiye’de ise 2012 yılı verilerine göre yıllık 25 milyon ton üzerinde tarım ve gıda endüstrisi atıkları açığa çıkmaktadır (10). Bu yan ürünlerin endüstriyel kullanımı sınırlıdır ve potansiyel çevresel tehdit oluşturmaktadır.

Son yıllarda pektinaz üretiminde çeşitli gıda-tarım endüstrisi atıklarının kullanımı artmıştır. Pektinazların üretiminde, narenciye kabuğu (11), portakal kabuğu özütü (12), elma posası ve mısır unu karışımı (13), buğday kepeği (14), bal kabağı küspesi (pumpkin oil cake) (15) ve diğer tarımsal atıkların karbon kaynağı olarak kullanıldığı görülmektedir. Li ve ark. (16) karbon kaynağı olarak şeker pancarı posasının katı kültür fermantasyonu yoluyla *Bacillus gibsonii* S-2 ile alkali pektinaz üretmişlerdir. Maksimum poligalakturonaz aktivitesi 35 °C ve 48 saat inkübasyon sonucunda 3600 U/g kuru şeker pancarı posası olarak belirtilmiştir. Joshi ve ark. (17) elma posası kullanarak *A. niger*’den pektin metil esteraz enzimini katı ve derin kültür ortamlarında üretmişlerdir. Enzim aktivitesi, pH 4.0 ve 25 °C’de 96 saat sonunda katı kültür fermantasyonunda derin kültür fermantasyonuna göre 2.3 kat yüksek bulunmuştur. Palaniyappan ve ark. (18) buğday ve mısır unu gibi farklı doğal hammaddeler ile sentetik pektinin pektinaz enzimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Mısır unu, buğday unu ve pektinin enzim aktivitesi üzerine etkisi incelendiğinde, en yüksek pektinaz aktivitesi (6.1 U/mL) buğday unu kullanılarak *A. niger* (MTCC:281)’den derin kültür fermantasyonu ile elde edilmiştir.

Sharma ve Satyanarayana (19), turunc kabuğu, nar kabuğu, turunc kabuğu tozu, ananas posası, çay yaprağı, ayçiçek, ayçiçek sapı, susam yağlı tohum pres atığı, ve buğday kepeği gibi çeşitli tarımsal atıkların pektinaz enzimi üretimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Test edilen farklı tarımsal atıklardan en yüksek pektinaz aktivitesinin (210.22 U/g kuru bakteriyel kepek, KBK) susam tohumu pres atığı kullanılarak elde edildiği belirtilmiştir.

Bu çalışmalar lignoselülozik atıkların, ucuz ve bol bulunması ve zengin içeriği ile pektinazlar için oldukça elverişli olduklarını göstermektedir. Bunun yanısıra mikrobiyal gelişimi ve enzim sentezini en üst düzeyde sağlamak amacıyla enzim üretimini etkileyen önemli faktörlerin optimize edilmesi gerekmektedir. Fermantasyon optimizasyonunun diğer amacı, büyük ölçekli sistemlerin düşük maliyet ve yüksek verimde çalışmasını sağlamaktır.

#### KATI VE DERİN KÜLTÜR FERMANTASYONU İLE ÜRETİLEN PEKTİNAZ ENZİM ÇALIŞMALARI

Pektinolitik enzimler bitki, bakteri, küf veya mayalardan üretilmektedir (20). Bitkisel pektinazların temel kaynağı domates ve portakaldır (21). Mikrobiyal pektinaz enzimi üretiminde *Erwinia*, *Bacillus*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* en sık kullanılan mikroorganizmalardır (21).

Literatürde hem derin kültür fermantasyonu hem de çeşitli tarımsal sanayi atıklar kullanarak katı kültür fermantasyonu ile pektinaz enzim üretimi ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır, bu çalışmaların bazıları enzim aktiviteleriyle birlikte Çizelge 2’de verilmiştir.

*Bacillus* sp. MG-cp-2 kullanılarak yapılan bir çalışmada buğday kepeği gibi ucuz tarımsal atıklar kullanılarak katı kültür fermantasyonunda alkali pektinazlardan poligalakturonaz üretiminin yüksek

Çizelge 2. Literatürde yer alan bazı pektinolitik enzim üretim çalışmaları ve fermantasyon koşulları (KKF: Katı Kültür Fermantasyonu, DKF: Derin Kültür Fermantasyonu)

Mikroorganizma	Karbon kaynağı (substrat)	Fermantasyon koşulları (tipi/ süre/sıcaklık)	Enzim tipi ve aktivitesi	Kaynak
<i>Sporotrichum thermophile</i>	Buğday kepeği:limon posası (1:1-10 g)	KKF/45 °C/4 gün/6*10 <sup>8</sup> spor	PG (500 U/g kuru kepek)	(22)
<i>A.niger DMF 27&amp;45</i>	Çekirdeksiz ayçiçeği başı (8g/100 mL)	DKF/30 °C/72 sa/10 <sup>5</sup> spor/ mL;/200 rpm/pH 5 KKF/30 °C/96 sa/10 <sup>7</sup> spor/ mL;/%65 nem	DMF 27 Endo-pektinaz (12.6 U/mL) DMF 45 Ekzo-pektinaz (34.2 U/g)	(23)
<i>Bacillus sp. MFW7</i>	Laktöz ve manyok (cassava) atığı	DKF/35 °C/96 sa/pH 6.5	PG (1.8 U/mL)	(24)
<i>Bacillus sp. SMIA-2</i>	Elma pektini ve mısır şırası şurubu	DKF/50 oC/36 sa/pH 10.0	PG (39 U/mL)	(25)
<i>Bacillus sphaericus</i>	Turunçgil pektini	DKF/30 °C/72 sa/ pH 6.8	PG (6.2 U/mL)	(26)
<i>A. sojae ATCC 20235</i>	Portakal kabuğu	KKF/30 °C/6 gün/2.8 10 <sup>9</sup> spore/mL	PG (93.48 U/mL)	(27)
<i>Bacillus subtilis</i>	Fındık kabuğu hidrolizatı	DKF/30 °C/72 sa/130 rpm/pH 7	PG (5.60 U/mL)	(28)
<i>A.sojae ATCC 20235</i>	Buğday kepeği	KKF/37 °C/4 gün/10 <sup>7</sup> spor/g hammadde	PG (144.91U/mL)	(29)

verimlilikle elde edildiği belirtilmiştir (30). Sharma ve Satyanarayana (31) yaptıkları çalışmada, sentetik ortam kullanarak çalkalamalı fermantasyon ile *Bacillus pumilus* dcsr1'den alkali ve ısıya dayanıklı pektinaz üretimini gerçekleştirmiş ve enzim üretimini arttırmak amacıyla kritik değişkenleri yanıt yüzey metodu kullanarak optimize etmişlerdir. Ayrıca, Sharma ve Satyanarayana (31) besinlerin düzgün dağılımını sağlaması nedeniyle enzim üretiminin fermentörde uygulanması halinde, pektinaz üretiminin 41 kat arttığını belirtmişlerdir. Li ve ark. (16), *B. gibsonii* S-2'nin alkali ortamlarda (pH 12) gelişebilme özelliği gösterdiğini, şeker kamışı posasının karbon kaynağı ve pektinaz uyarıcı olarak *B. gibsonii* S-2 tarafından pektinaz üretiminde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Buna ilaveten yapılan diğer bir çalışmada, *Bacillus sp.* suşları ile üretilen poligalakturonaz aktivitesinin *Aspergillus niger* (32), *Aspergillus sp.* CH-Y 1043 ve *A. niger* ATCC 20107 (33), *Aureobasidium pullulans* (34) ve *Tubercularia vulgaris* (35) ile üretilenden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Uzuner ve Çekmecelioğlu (28) çalkalamalı inkübatörde erlenmayerler ile yapılan çalışmada, karbon kaynağı olarak fındık kabuğu hidrolizatı kullanmış ve *B. subtilis*-pektinaz enzimi üretim koşullarını irdemişlerdir (Çizelge 2). Bu çalışmada kullanılan fındık kabuğu hidrolizatı, 130 °C'de % 3.42 seyreltik sülfürik asit ile 31.7 dakika boyunca otoklavda ön-işleme tabi tutulduktan sonra Viscozyme L (200U/g) enzimi ile 24 saat boyunca

hidroliz edilmesi sonucu elde edilmiştir (28). Bu çalışmalar, atıkların enzim üretiminde daha uzun yıllar boyu kullanılacağı gerçeğini vurgulamaktadır. Ayrıca, fındık kabuğu hidrolizatının pektinaz üretiminde kullanılması fındık kabuğunun benzer enzimlerin üretiminde yaygınlaşmasını ve katma değerinin artmasını sağlayacaktır.

#### PEKTİNİZ ENZİMİNİN UYGULAMA ALANLARI

Pektinazlar meyve suyu, kâğıt ve tekstil endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Pektinazlar, meyve sularının ve şarabın ekstraksiyonu ve durultulmasında (36, 37), gıda işleme endüstrilerinden kaynaklanan atıksuların arıtımında, tekstil ve bitkisel liflerin işlenmesinde (19), çay ve kahve fermantasyonu (38, 39) ve yağ ekstraksiyonu (40) gibi çeşitli endüstriyel proseslerde kullanılmaktadır. Pektinazların en kapsamlı endüstriyel uygulama alanı ise meyve suyu ekstraksiyonu ve berraklaştırılmasıdır. Pektinaz enziminin gıda sanayindeki uygulama alanları önem ve geniş kapsamı nedeniyle sonraki bölümde ayrıca verilmiştir.

#### GIDA SANAYİNDE PEKTİNİZ ENZİMİNİN UYGULAMA ALANLARI

Son yıllarda, meyve-sebze suyu tüketiminde bir artış gözlemlenmektedir. Bununla birlikte ham meyve suyu, depolama boyunca bulanık ve viskozdur (41). Meyve ve sebzeler, meyve sularının

berraklaştırılması, filtrasyonu ve ekstraksiyonu sırasında bulanıklık ve viskozite artışı gibi sorunlara neden olan pektin ve diğer polisakkaritleri içermektedir (42). Pektin parçalayan enzimler (pektinazlar) gıda endüstrisinde özellikle meyve sularını presleme sırasında dokuları yumuşatarak meyve suyu veriminin artmasında (43), meyve suyu üretiminde filtrasyonu kolaylaştırıp verimin artırılmasında, C vitamini sentezi için çıkış maddesi olan galakturonik asit eldesinde, şarap endüstrisinde, yağların ekstraksiyonunda, pigmentlerin ve selüloz liflerin hazırlanmasında, kahve ve çay fermantasyonunda fonksiyonel gıda maddeleri olarak oligosakkaritlerin üretiminde kullanılmaktadır (38). Bunlara ek olarak, berraklaştırma amacıyla kullanılan pektinolitik enzimler, yoğunlaştırılmış meyve sularının rafta jelleşmesini önlemek amacıyla da kullanılmaktadır. Ayrıca, kahve çekirdeği etrafındaki 3/4'ü pektinden oluşan müsülaj kılıfın uzaklaştırılmasında da kullanılmaktadır ve bu sayede fermantasyon süresinin azalmasına yardımcı olmaktadır (38).

Literatürde meyve sularının berraklaştırılmasında kullanılan küf orijinli ticari pektinazlarla ilgili çok fazla çalışma bulunmakla birlikte bakteri orijinli pektinazlarla ilgili olarak çok az sayıda araştırma bulunmaktadır (Çizelge 3). Mantovani ve ark. (48) elma, üzüm ve çarkifelek (*passion*) meyve sularının berraklaştırılmasında dört farklı küf suşundan elde edilen ham pektin liyaz enzimini kullanmışlardır. En iyi sonuçların, elma suyunun *A. niger* CF4 ham enzimi ile 40 dakika berraklaştırılması ile elde edildiğini belirtmişlerdir (%92). Kareem ve Adebowale (49) narenciye kabuğu üzerinde gelişen küf orijinli (*Rhizopus oryzae*) pektinaz üretmişler ve viskozite, bulanıklık ve enzim veriminin performansını değerlendirmişlerdir. Nadaroğlu ve ark. (50)'nin yaptığı çalışmada *Bacillus pumilus* (P9)'dan saflaştırılan pektin liyazın meyve suyu üretiminde kullanılabileceği belirtilmiş ve bu araştırmanın

pektin liyaz üretimi üzerine ilk çalışma olduğu da ilave edilmiştir.

Swain ve Ray (51), havuç suyunun ekstraksiyonunda *B. subtilis* CM5 suşunun piyasadaki standart pektinaz enziminden (Pektinex, Novozyme) (%13.3 daha fazla verim) daha çok ısıya dayanıklı ekzo-poligalakturonaz ürettiğini rapor etmişlerdir. Joshi ve ark. (52)'na göre, elma posasının katı kültür fermantasyonu ile *Aspergillus niger*'den üretilen pektin metil esteraz enzimi elma ve armut suyunun verimini arttırmıştır. Kumar ve Sharma (53) buğday, mısır ve pirinç kepeği, pirinç samanı ve narenciye (*kinnow*) kabuğu gibi çeşitli karbon kaynaklarının *A. niger* NCIM 548 ile katı ve derin kültür fermantasyonuyla ürettikleri pektinaz ve selüloz enzimlerini ananas suyundan gam uzaklaştırılması (*degumming*) işleminde kullanmışlardır. Ananas suyunun berraklığı ham enzim kullanılmasıyla %65.1 ile 81.6 aralığında değişirken, ticari pektinaz uygulamasıyla %86 olarak elde edildiği belirtilmiştir (53). Bir başka çalışmada ise, *Aspergillus awamori* MTCC 9166 kullanılarak üretilen poligalakturonaz enziminin derişimi, uygulama süre ve sıcaklığının mango suyunun berraklaştırılması üzerindeki etkisi incelenmiştir (54). Bu çalışmada, 1.5 U/mL enzim derişimi ve 40 °C'de 30 dakika boyunca uygulanan enzimatik işlem sonucunda meyve suyunun viskozitesinde %60'luk bir azalma gözlemlendiği belirtilmiştir (54). Uzuner ve Cekmecelioglu (47) fındık kabuğu hidrolizatının derin kültür fermantasyonu ile *B. subtilis*'den üretilen pektinazın pH, derişimi ve uygulama süresinin havuç suyunun berraklaştırılması üzerine etkisini yüzey yanıt metodu kullanarak incelemiştir (47). Havuç suyunun berraklaştırılması için elde edilen optimum koşulların % 0.5 enzim derişimi, pH 7.0, ve 6 saat süre olduğu belirtilmiştir. Ticari Pektinex 3XL (%78) ile karşılaştırıldığında *B. subtilis*'ten üretilen pektinazın havuç suyunu pH 7.0 ve sözü edilen koşullarda daha iyi berraklaştırdığı

Çizelge 3. Ticari ve laboratuvar koşullarında üretilen pektinazların çeşitli meyve ve sebze sularında uygulamaları

Mikroorganizma	Endüstriyel uygulama alanları	Optimum Koşullar	Berraklaştırma verimi (%)	Kaynak
<i>Pectinase</i> * ( <i>A. niger</i> )	Mosambi suyu	42 °C, %0.004 enzim, 99 dakika	84	(44)
<i>Pektinex 3XL</i> *	Sapodilla suyu	40 °C, %0.1 enzim, 2 saat	-	(45)
<i>Aspergillus aculeatus</i> *	Yeşil kuşkonmaz suyu	41 °C, %1.5 enzim, pH 4.4	-	(46)
<i>B. subtilis</i> **	Havuç suyu	50 °C, %0.5 enzim, pH 7.0 & 6 saat	100	(47)

\*Ticari enzim

\*\*Laboratuvar koşullarında üretilen enzim

bulunmuştur (%100). Bu çalışma, meyve-sebze sularının berraklaştırılmasında ham enzim kullanımının etkili olduğunu ve böylece işlem maliyetini düşürmede ham enzim kullanılabileceğini göstermektedir.

### SONUÇ

Tarımsal ve gıda-endüstri atıkları mikrobiyel pektinolitik enzim üretimi için değerli ham maddelerdir. Atık maddelerin enzim üretiminde kullanımı çevresel bir tehdit olan bu yan ürünlerin birikmesini önleyecektir. Yerel olarak mevcut tarımsal atıkların (fındık kabuğu gibi) enzim üretiminde kullanımı, sadece bu atıklara değer kazandırmakla kalmayacak aynı zamanda çevrenin temiz kalmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca, ülkemizde gelişen ekonomi ve teknoloji ile birlikte kullanılan enzim miktarlarında bir artış söz konusudur. Ancak çoğu enzimler dışalım yoluyla karşılanmaktadır. Enzim maliyetlerinin düşürülmesi için kullanılacak tarımsal atıklar ile üretilen pektinaz enzimi ile meyve-sebze suyu ve şarap endüstrilerine ve dolayısıyla ülke ekonomisine katkı sağlaması ve dışa bağımlılığın azalması öngörülmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Kıran ÖE, Çömlekçioğlu U, Dostbil N. 2006. Bazı mikrobiyal enzimler ve endüstrideki kullanım alanları. *KSÜ, Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(1): 12-19.
2. Polaina J (ed), MacCabe AP (ed). 2007. *Industrial Enzymes, Structure, Function and Applications*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 633 p.
3. Alkorta I, Garbisu C, Liama MJ, Serra JL. 1998. Industrial applications of pectin enzymes: A review. *Process Biochem*, 33(1): 21-28.
4. Jayani RS, Saxena S, Gupta R. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochem*, 40: 2931-2944.
5. Saha BC. 2003. Hemicelluloses bioconversion. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 30: 279-291.
6. Arslan Y. 2007. Fındık kabuğunun etil alkol üretiminde kullanılabilirliği. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 341 s.

7. Uçan F, Akyıldız A. 2012. Meyve suyu sanayiinde enzimatik uygulamalar. *GIDA*, 37 (6): 363-370.
8. Sanchez S, Demain AL. 2002. Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzym Microb Technol*, 31: 895-906.
9. Perlack RD, Wright RL, Turhollow AF, Graham RL, Stokes BJ, Erbach DC. 2005. Biomass As Feedstock For A Bioenergy and Bioproducts Industry: The Technical Feasibility of A Billion-ton Annual Supply, USDA, Tennessee, USA. [http://www.feedstockreview.ornl.gov/pdf/billion\\_ton\\_vision.pdf](http://www.feedstockreview.ornl.gov/pdf/billion_ton_vision.pdf) (Erişim tarihi 01.04.2005).
10. TÜİK. 2012. Belediye Atık İstatistikleri, Sayı 16170. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=16170> (Erişim tarihi 20.02.2014).
11. Joshi M, Nerurkar M, Adivarekar R. 2013. Use of citrus limetta peels for pectinase production by marine *Bacillus subtilis*. *Innovat Rom Food Biotechnol*, 12: 75-83.
12. Rangarajan V, Rajasekharan M, Ravichandran R, Sriganesh K, Vaitheeswaran V. 2010. Pectinase production from orange peel extract and dried orange peel solid as substrates using *Aspergillus niger*. *Int J Biotech Biochem*, 6: 445-453.
13. Mojsov K. 2010. Experimental investigations of submerged fermentation and synthesis of pectinolytic enzymes by *Aspergillus niger*: Effect of inoculum size and age of spores. *Appl Technol Innov*, 2(2): 40-46.
14. Ahlawat S, Dhiman SS, Battan B, Mandhan RP, Sharma J. 2009. Pectinase production by *Bacillus subtilis* and its potential application in biopreparation of cotton and micropoly fabric. *Process Biochem*, 44: 521-526.
15. Pericin DM, Madarev SZ, Radulovic LM, Skrinjar M. 2007. Production of exo-pectinase by *Penicillium roqueorti* using pumpkin oil cake. *Proc Nat Sci*, 113: 313-320.
16. Li Z, Bai Z, Zhang B, Xie H, Hu O, Hao C, Xue W, Zhang H. 2005. Newly isolated *Bacillus gibsonii* S-2 capable of using sugar beet pulp for alkaline pectinase production. *World J Microbiol Biotechnol*, 21: 1483-1486.
17. Joshi VK, Parmar M, Rana NS. 2006. Pectin esterase production from apple pomace in solid-state and submerged fermentations. *Food Technol Biotechnol*, 44(2): 253-256.

18. Palaniyappan M, Vijayagopal V, Viswanathan R, Viruthagiri T. 2009. Screening of natural substrates and optimization of operating variables on the production of pectinase by submerged fermentation using *Aspergillus niger* MTCC 281. *Afr Biotechnol*, 8 (4): 682-686.
19. Sharma DC, Satyanarayana T. 2012. Biotechnological potential of agro residues for economical production of thermoalkali-stable pectinase by *Bacillus pumilus* dcsr1 by solid-state fermentation and its efficacy in the treatment of ramie fibres. *Enzym Res*, doi: 10.1155/2012/281384.
20. Khairnar Y, Krishna V, Boraste A, Gupta N, Trivedi S, Patil P, Gupta G, Gupta M, Jhadav A, Mujapara A, Joshi B, Mishra D. 2009. Study of pectinase production in submerged fermentation using different strains of *Aspergillus niger*. *Int J Microbiol Res*, 1(2): 13-17.
21. Favela-Torres E, Volke-Sepulveda T, Viniegra-Gonzales G. 2006. Production of hydrolytic depolymerizing pectinases. *Biotechnol*, 44(2): 221-227.
22. Kaur G, Satyanarayana T. 2004. Production of extracellular pectinolytic, cellulolytic, xylanolytic enzyme by thermophilic mould *Sporotrichum thermophile* Apinis in solid state fermentation. *Ind J Biotechnol*, 3: 552-557.
23. Patil SR, Dayanand A. 2006. Optimization of process for the production of fungal pectinases from deseeded sunflower head in submerged and solid-state conditions. *Bioresour Technol*, 97: 2340-2344.
24. Mukesh Kumar DJ, Saranya GM, Suresh K, Andal Priyadharshini D, Rajakumar R, Kalaichelvan PT. 2012. Production and optimization of pectinase from *Bacillus* sp. MFW7 using Cassava Waste. *Asian J Plant Sci Res*, 2 (3): 369-375.
25. Andrade MVV, Delatorre AB, Ladeira SA, Martins MLL. 2011. Production and partial characterization of alkaline polygalacturonase secreted by thermophilic *Bacillus* sp. SMIA-2 under submerged culture using pectin and corn steep liquor. *Cienc Technol Aliment Campinas*, 31(1): 204-208.
26. Jayani RS, Shukla SK, Gupta R. 2010. Screening of bacterial strains for polygalacturonase activity: Its production by *Bacillus sphaericus* (MTCC 7542). *Enzym Res*, doi: 10.4061/2010/306785.
27. Gogus N, Taze BH, Demir H, Tari C, Unluturk S, Lahore MF. 2014. Evaluation of orange peel, an industrial waste, for the production of *Aspergillus sojae* polygalacturonase considering both morphology and rheology effects. *Turkish J Biol*, 38: 537-548.
28. Uzuner S, Cekmecelioglu D. 2015. Enhanced pectinase production by optimizing fermentation conditions of *Bacillus subtilis* growing on hazelnut shell hydrolyzate. *J Mol Catal B: Enzym*, 113: 62-67.
29. Demir H, Tari C. 2016. Bioconversion of wheat bran for polygalacturonase production by *Aspergillus sojae* in tray type solid-state fermentation. *Int Biodeter Biodegr*, 106: 60-66.
30. Kapoor M, Beg QK, Brushan B, Dadhich KS, Hoondal GS. 2000. Production and partial purification and characterization of a thermo-alkali stable polygalacturonase from *Bacillus* sp. MG-cp-2. *Process Biochem*, 36: 467-473.
31. Sharma DC, Satyanarayana T. 2006. A marked enhancement in the production of a highly alkaline and thermostable pectinase by *Bacillus pumilus* dcsr 1 in submerged fermentation by using statistical methods. *Bioresour Technol*, 97: 727-733.
32. Pereira SS, Torres EF, Gonzalez GV, Rojas MG. 1993. Effect of different carbon sources on the synthesis of pectinase by *Aspergillus niger* in submerged and solid fermentations. *Appl Microbiol Biotechnol*, 39: 36-41.
33. Larios G, Garcia JM, Huiton C. 1989. Endopolygalacturonase production from untreated lemon peel by *Aspergillus* sp CH-Y-1043. *Biotechnol Lett*, 11: 729-734.
34. Federici F, Petruccioli M. 1985. Growth and polygalacturonase production by *Aureobasidium pullulans* on orange peel waste. *Microb Alim Nutri*, 3: 39-46.
35. Fonseca MJV, Said S. 1995. The pectinase produced by *Tubercularia vulgaris* in submerged culture using pectin or orange-pulp pellets as inducer. *Appl Microbiol Biotechnol*, 42: 32-35.
36. Lee WC, Yusof S, Hamid NSA, Baharin BS. 2006. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). *J Food Eng*, 73: 55-63.
37. Sandri IG, Fontana RC, Barfknecht DM, Da Silveira MM. 2011. Clarification of fruit juices by fungal pectinases. *LWT-Food Sci Technol*, 44: 2217-2222.

38. Carr JG. 1985. Tea, coffee and cocoa, In: B.J.B. Wood (Editor), *Microbiology of fermented foods* (vol.2), London: Elsevier Science Ltd.
39. Murthy PS, Naidu MM. 2011. Improvement of robusta coffee fermentation with microbial enzymes. *Eur J Appl Sci*, 3: 130-139.
40. Najafian L, Ghodsvali A, Khodaparast MHH, Diosady LL. 2009. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. *Food Res Int*, 42: 171-175.
41. Nagar S, Mittal A, Gupta VK. 2012. Enzymatic clarification of fruit juices (apple, pineapple, and tomato) using purified *Bacillus pumilus* SV-85S xylanase. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 17: 1165-1175.
42. Gonzales MF, Ubeda JF, Vasudevan TG, Cordero Otero RR, Briones AI. 2004. Evaluation of polygalacturonase activity in *Saccharomyces cerevisia* wine starins. *FEMS Microbiol Lett*, 237: 261-266.
43. Koffi EK, Sims CA, Bates RP. 1991. Viscosity reduction and prevention of browning in the preparation of clarified banana juice. *J Food Quality*, 14: 209-218.
44. Rai P, Majumdar GC, Dasgupta S, De S. 2004. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. *J Food Eng*, 64: 397-403.
45. Sin HN, Yusof S, Hamid NSA, Rahman RA. 2006. Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *J Food Eng*, 73: 313-319.
46. Chen X, Xu F, Qin W, Ma L, Zheng Y. 2012. Optimization of enzymatic clarification of green asparagus juice using response surface methodology. *J Food Sci*, 77(6): 665-670.
47. Uzuner S, Cekmecelioglu D. 2015. Optimizing clarification of carrot juice by bacterial crude pectinase. *Int J Food Sci Technol*, 50: 2707-2712.
48. Mantovani CF, Geimba MP, Brandelli A. 2005. Enzymatic clarification of fruit juices by fungal pectin lyase. *Food Biotechnol*, 19(3): 173-181.
49. Kareem SO, Adebowale AA. 2007. Clarification of orange juice by crude fungal pectinase from citrus peel. *Nigerian Food J*, 25(1): 130-137.
50. Nadaroğlu H, Taşkın E, Adıgüzel A, Güllüce M, Demir N. 2010. Production of a novel pectin lyase from *Bacillus pumilus* (P9), purification and characterization and fruit juice application. *Rom Biotech Lett*, 15(2): 5167-5176.
51. Swain MR, Ray RC. 2010. Production, characterization and application of a thermostable exo-polygalacturonase by *Bacillus subtilis* CM5. *Food Biotechnol*, 24: 37-50.
52. Joshi VK, Parmar M, Rana N. 2011. Purification and characterization of pectinase produced from apple pomace and evaluation of its efficacy in fruit juice extraction and clarification. *Indian J Nat Prod Resour*, 2(2): 189-197.
53. Kumar S, Sharma HK. 2015. Enzymatic degumming of pineapple (*Ananas comosus*) mill juice using crude and commercial enzymes. *Food Measure*, 9: 414-425.
54. Anuradha K, Naga Padma P, Venkateshwar S, Reddy G. 2016. Mango juice clarification with polygalacturonase produced by *Aspergillus awamori* MTCC 9166-optimization of conditions. *Int Food Res J*, 23(1): 147-151.