



Gıda Biyoteknolojisi ve Biyoproseslerinde Yeni Gelişmeler

Salih Karasu^{1*}, Muhammed Zeki Durak¹ ve Ömer Said Toker¹

¹ Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Davutpaşa Kampüsü, 34210, Esenler, İstanbul, Türkiye

Özet

Canlı hücrelerin kendilerinin ya da onlardan çeşitli yollarla elde edilen komponentlerin kullanıldığı işlemlere biyoproses denilmektedir. Biyoproses ve biyoteknoloji, birbiri ile sıkı ilişkisi olan 2 alan olup biyoteknolojik yöntemlerle sağlanan yenilikler doğrudan gıda biyoproseslerinde uygulanabilmektedir. Arzu edilmeyen mikroorganizmaları, toksinleri ve diğer kontaminantları algılayarak tespit eden nano ölçekteki sensörler gıda kalite kontrolü ve güvenliğinin sağlanmasında gittikçe daha fazla uygulama alanı bulmaktadır. Mikroorganizmalardan üretilen enzimler, günümüzde büyük ölçüde bitkisel ve hayvansal kaynaklardan üretilen ticari enzim preparatlarının yerini almıştır. Genetik yapıları modifiye edilerek mikroorganizmalar; bakteriyosinler, enzimler, organik asitler gibi birçok ticari katkı maddesinin ve gıda bileşeninin üretiminde gittikçe artan oranlarda kullanılmaktadır. Sonuç olarak, gelecekte gıda biyoproseslerinde ve biyoteknolojide gelişmelerin devam edeceği ve daha fazla uygulama alanına sahip olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gıda biyoprosesi, biyoteknoloji, nanosensörler, rekombinant mikroorganizmalar

New Advances in Food Biotechnology and Bioprocessing

Bioprocess is defined as the process where alive cells themselves or their components are utilized. Bioprocess and biotechnology are two areas that are closely associated with each other and new advances provided by biotechnological methods can be used directly in food bioprocessing. Nano scale sensors that can detect undesirable microorganisms, their toxins or other contaminants have been finding increasing field of application for ensuring food quality control and food safety. Enzymes produced from microorganisms have largely substituted with commercial animal and plant based enzyme preparations. Genetically modified microorganisms have been used increasingly in the production of a number of food additives and ingredients including bacteriocins, enzymes and organic acids. In conclusion, it is thought that developments will be continue in the area of food bioprocessing and biotechnology and they will have larger application fields in the future.

Keywords: Food bioprocessing, biotechnology, nanosensors, recombinant microorganisms

1. Giriş

Biyoproses ya da biyoteknoloji; arzu edilen ürünlerin elde edilmesi amacıyla canlı hücrelerin kendisini ya da onların çeşitli aktif komponentlerinin kullanıldığı spesifik prosesler olarak tanımlanmaktadır. Biyoproses işlemlerinde mikroorganizma, hayvan ve bitki hücrelerinin yanı sıra enzim gibi hücre materyalleri yeni ürünlerin üretimi ya da zararlı atıkların imha edilmesinde kullanılmaktadır. Biyoproses yoluyla gıda, kimya ve ilaç endüstrisinde çok sayıda ürün elde edilebilmektedir (Doran, 2012). Gıda endüstrisinde fırın ürünleri, şekerlemeler ve meyve suları gibi çok çeşitli alanlarda biyoproseslerden uzun yıllardan beri yararlanılmaktadır. Bununla birlikte nanoteknolojideki ve biyoteknolojideki yeni gelişmeler, biosensörlerin geliştirilmesi, enzimlerin saflaştırılarak kullanım alanlarının artırılması gibi birçok yenilik sayesinde biyoproseslerin gıda bilimi ve teknolojisindeki kullanım ve çeşitliliği önemli ölçüde artmıştır.

Bu derleme çalışmasında, yeni gelişmeler ışığında biyoteknoloji ve biyoproseslerin gıda bilim ve teknolojisindeki kapsamındaki kullanım olanakları üzerinde bilgiler aktarılacaktır.

2. Gıda Kalite Kontrolü ve Nanosensörler

Nanoteknoloji genellikle 10^{-9} m boyutundaki materyallerin, aygıtların ve sistemlerin tasarımı, üretimi ve uygulamalarını kapsayan bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. Uluslararası ölçekte yaygın olarak herhangi bir kesiti 100 nm altında olan materyaller nano ölçekli olarak kabul edilmektedir. Gıda proseslerinde, örneğin depolama, kalite kontrol, gıda işleme ve gıda ambalajlama gibi birçok alanda nanoteknolojinin sayısız potansiyel uygulama alanı bulunmaktadır. Dolayısıyla ülkelerin nanoteknolojiye ayırdıkları bütçeler yıldan yıla artmaktadır.

* İletişim bilgileri: Tel: 212 383 45 84, Fax: 212 383 45 71, eposta: skarasu@yildiz.edu.tr

Tüketicilerin güvenilir ve üstün özellikli ürünleri tercih etmeleri, devletlerin ise gıda hijyen ve güvenliğini sağlamak amacıyla sıkı tedbir ve düzenlemeler yapmaları nedeniyle gıda biyoproses endüstrisinde kalite güvenliği oldukça önem arz etmektedir. Nanosensörler; mikroorganizmaları, toksinleri ve diğer kontaminantları takip ederek onları tespit eden, yakalayan ve böylece gıdalarda kalite güvenliğini sağlayan aygıtlardır. Ambalaj materyaline yerleştirilerek ambalaj içerisinde yer alan gıdanın tüketime kadarki kalitesini takip eden düşük maliyetli nanosensörler de geliştirilmiştir (Neethirajan ve Jayas, 2011). Konvansiyonel moleküler tanı teknikleri tüm dünyada laboratuvar boyutunda patojenik ajanları ve diğer zararlı maddeleri tanımlamakta yüksek hassasiyetle ve tekrarlanabilir olarak kullanılabilir. Bununla birlikte bunların birçoğunun alanda ve endüstride kullanımları söz konusu değildir (Merkoci, 2010). Bunlar düşünüldüğünde yeni geliştirilen nanosensörler birçok avantaja sahiptir. Bunlar arasında hedef maddeye oldukça duyarlı olmaları, düşük enerji ihtiyaçları, küçük olmaları ve düşük kütleyle sahip olmaları yer almaktadır (Neethirajan ve Jayas, 2007).

Florasan kuantum noktacıları, florasan silika nanopartikülleri ve karbon nanotüpleri DNA tespiti ve bakteriler ve toksinlerinin belirlenmesi gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Goldman ve ark., 2004; Edgar ve ark., 2006). Dwarakanath ve ark. (2004) tarafından *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* hücreleri ve *Bacillus subtilis* sporlarının tespitinde kullanılmak üzere bakteri tutulduğunda emisyon dalgalı boyundaki artışa bağlı olarak bakterinin tespitini sağlayabilen bir yöntem geliştirilmiştir.

Fu ve ark. (2008) tarafından geliştirilen biyosensör; nano ölçekteki bir silikon/altın çubuk üzerindeki anti-salmonella antikolarına bağlanmış florasan boya partiküllerine sahiptir. Test edilen gıdada *Salmonella* mevcut ise sensör üzerindeki nano ölçekli boya partikülleri görünür hale gelmektedir.

Balık tazeliğinin belirlenmesine yönelik elektrik ileten polimerlere dayalı nanobiyosensörler geliştirilmiştir (Ghosh ve ark., 1998). Bu sensör ambalaj materyali içerisine yerleştirilmiş ve gıda tarafından salınan gazlara oldukça hassas olduğu için gıdanın bozulup bozulmadığı hakkında fikir vermiştir. Toksinler de hastalıklara yol açan potansiyel biyomoleküller olduğu için bu materyallerin hızlı tespiti de büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla da çeşitli nanopartikül problemlerinin kullanıldığı renge dayalı nanosensörler geliştirilmiştir. Schofield ve ark. (2007) tarafından toksin konsantrasyonuna bağlı olarak nanopartikül süspansiyonunun renginin kırmızından koyu pembeye doğru döndüğü ve rengin görsel ve spektrofotometrik olarak tespit edilebildiği, böylelikle toksinin varlığı ve miktarının belirlenebildiği sistemler rapor edilmiştir. Söz konusu kolorimetrik esaslı sistemlerin yanında elektrokimyasal yöntemler de popülerite kazanmıştır. Elektrokimyasal tespit yöntemleri optik yöntemlerin sahip olduğu çeşitli problemleri (bazı gıda bileşenlerinden ışık saçılması ve absorpsiyonu vs.) bertaraf etmesi nedeniyle avantajlı olarak görülmektedir.

3. Enzimlerin Kullanımı

Enzimler, yüzyıllar boyunca dolaylı olarak maya ve bakteriler vasıtasıyla birçok gıda maddesinin üretiminde kullanılmıştır. Enzimler ilk olarak 1914 yılında mikroorganizmalardan izole edilmiş ve deterjanlarda kullanılmıştır, onların protein yapısı ise 1926 yılında ispat edilmiştir. Büyük ölçekli ilk mikrobiyal enzim üretimi 1960'lı yıllarda başlamıştır (Leisola ve ark., 2002). Günümüzde

üretilen enzimler; fırın ürünleri, içecek endüstrisi, süt endüstrisi, diyetel desteklerin üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Kirk ve ark., 2002). Gıda endüstrisi dışında ise deterjan, kişisel bakım ürünleri, deri, tekstil ve kâğıt endüstrisi gibi alanlarda kullanım alanı bulmaktadır (Schafer ve ark., 2007). Gıda endüstrisinde enzimler, biyokimyasal ön işlemlerde (örneğin peynir yapımında sütün rennin ile pıhtılaştırılması) kullanıldığı gibi çeşitli spesifik ürünlerin (örneğin glukoz şurubu) üretiminde de kullanılabilir. Gıda endüstrisinde yaygın olarak yararlanılan enzimler arasında amilazlar, hidrolazlar, invertazlar, pektinazlar, proteazlar, glutaminaz ve tannaz yer almaktadır. Bununla birlikte son yıllarda enzimlerin kullanımı üzerine çok sayıda araştırma gerçekleştirilmiştir. Steffolani ve ark. (2012) donmuş hamurların dondurarak depolamaları esnasında meydana gelen zararların minimize edilmesi amacıyla pentozanaz, glukoz oksidaz ve glutaminaz etkisini araştırılmıştır. Pentozanaz enzimi ile fermentasyon sırasında gaz kaybı olmadan hacim artışı sağlanmış, orta düzey transglutaminaz enzimi ilavesi ise kontrole göre ekmekte daha fazla hacim artışı gerçekleştirmiştir.

Enzimlerin en fazla kullanıldığı maddelerden birisi nişastadır. Nişastada enzim kullanımı, çok eski dönemlerden beri uygulanmaktadır. Bugün nişasta endüstrisi, enzimler açısından deterjan endüstrisinden sonra ekonomik büyüklük olarak 2. sırada gelmektedir. Birçok hidrolaz enzimi α -1,4-glukanı substrat olarak kullanarak nişastayı hidrolize etmektedir. Ekzohidrolazlar, nişastanın indirgen olmayan uçlarından başlayarak α -1,4-glikozidik bağları parçalar ve glukozdan gluko-oligosakkaritlere kadar değişik ürünler meydana getirirler. α -Amilaz nişastada α -1,4-glikozidik bağları rastgele parçalayan tek endo-hidrolaz olup farklı boyutlarda ürünler üretirler (Hua ve Yang., 2016).

Glukozun fruktoza izomerizasyonu yüksek fruktoz şurubu üretiminin temel biyoprosesidir. Ksiloz izomeraz; aldoz ve ketoz şekerlerinin büyük bir substrat spesifikliği göstererek dönüşümünü katalizlemektedir. Transglükolizasyon ise özel fizikokimyasal özellikler taşıyan biyofonksiyonel oligosakkaritler ve siklodekstrinlerin üretiminde başvurulan bir biyoprosesdir. Nişasta; 1,4- α -glukan 6- α -glukoziltransferaz, 4- α -glukanotransferaz ve oligosakkarit 4- α -D-glukoziltransferaz gibi glukozil transferaz enzimleri için iyi bir substrattır (Hua ve Yang., 2016). Nişastayı substrat olarak kullanan söz konusu amilolitik enzimler büyük ölçüde mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir. Bu enzimlerin endüstriyel üretimi ya derin fermentasyon ya da katı faz fermentasyonu yolu ile sağlanmaktadır (Subramanyam ve Vimala, 2012).

Enzimlerin yeni kullanım alanlarından bir tanesi de çözücü ekstraksiyonuna alternatif olarak enzim destekli ekstraksiyondur. Çözücü ekstraksiyonunda yaygın olarak organik çözücüler kullanılmasına rağmen bunların yüksek enerji ihtiyacı, çevresel risk ve toksisite gibi dezavantajları vardır (Teo ve ark., 2010). Enzim bazlı biyoaktif madde ekstraksiyonu, çözücü ekstraksiyon sistemine potansiyel bir alternatif olarak görülmektedir. Bu tekniklere örnek olarak lakkaz enzimi ile posa ve kâğıdın ağartılması, vücut bakım ürünlerinde lipaz kullanımı ve soya yağında gamsı materyallerin giderilmesinde fosfolipazların kullanımı verilebilir (Veit, 2004; Fu ve ark., 2005; De Maria ve ark., 2007). Pektinaz, selülaz ve hemiselülaz gibi enzimler meyve suyu işlemede ve bira ağartmada hücre duvarlarını degrade ederek su ekstrekte edilebilirliğinin artırılmasında kullanılmaktadır. Böylece fenolik maddeler gibi bileşenler de

hücre duvarından ürüne geçmekte ve ürünün kalitesi de artmaktadır. Enzim destekli ekstraksiyon hem ekstraksiyon sürecini hızlandırmakta hem de polisakkarit, yağ, doğal pigmentler, aroma maddeleri ve tıbbi bileşenler gibi materyallerin ekstraksiyon verimini artırmaktadır (Puri ve ark., 2012).

4. Biyoteknolojide Mikroorganizmaların Kullanımı

Gıda bilim ve teknolojisinde yaygın olarak kullanılan enzimler, bakteriyosinler, amino asitler, vitaminler, organik asitler, çoklu doymamış yağ asitleri, düşük kalorili ve bazı kompleks karbonhidratlar ve aroma maddeleri; son yıllarda mikroorganizmalar kullanılarak üretilmektedir. Geçmişte enzimler bitkisel ve hayvansal kaynaklardan yüksek maliyetlerle izole edilmekte iken artık bakteri ve fungal kaynaklar bu amaçla verimli şekilde kullanılabilir. Mikrobiyal kaynaklı enzimler aktivitelerinin yüksek olması daha stabil olmaları ve yüksek saflıkta ve büyük ölçekte üretilebilmeleri nedeniyle bitkisel ve hayvansal kaynaklı olanlarına oranla daha çok tercih edilmektedir (Şahin ve ark., 2013).

Ticari enzimler ve gıda teknolojisinde kullanılan birçok katkı maddesi artık günümüzde rekombinant mikroorganizmalar vasıtasıyla üretilmektedir. Rekombinant DNA teknolojisi 1970'lerden sonra gelişen bir alan olup ilk gelişmeler *Streptomyces* türlerinin antibiyotik üreten sistemlerinin genetik transformasyonu ile gerçekleşmiştir (Diez ve ark., 1997). Bu tarihten günümüze kadar başarılı gelişmeler sayesinde başta tarım, gıda ve ilaç endüstrisi olmak üzere birçok alanda teknolojinin ihtiyaçları göz önünde bulundurularak genetik yapıları manipüle edilerek elde edilen rekombinant mikroorganizmalar ile yüksek verimlilikte ürünler elde edilmektedir. Rekombinant mikroorganizmalar tarafından gıda desteği, lezzet artırıcı, tekstür verici, asidulant, koruyucu, antioksidan, emülsifiye edici, sürfaktan veya fonksiyonel gıda bileşenleri üretilebilmektedir. Bu amaçla en fazla kullanılan bakteriler arasında laktik asit bakterileri, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Corynebacterium glutamicum* yer almaktadır. Bu mikroorganizmalar genlerin çoğaltılması, baskılanması ve yer değiştirilmesi, yüksek verimlilikte geniş spektrumda karbon kaynaklarını kullanabilmesi, ucuz azot ve karbon kaynaklarında hızlı üreyebilmesi, GRAS (genellikle güvenilir olarak kabul edilen) statüsünde olması, bakteriyofajlara dayanıklılığı, son ürünü hücre dışına etkili şekilde taşıyabilmesi ve o maddeye yüksek toleransı ve endüstriyel bazda üretilebilmesi gibi birçok faktör göz önünde bulundurularak seçilmiştir (Gonzales, 2006).

Basit polifenollerin bir grubu olan gallik asit, vanilik asit, kafeik asit, ferulik asit, kumarik asit ve klorojenik asit gibi fenolik asitlerin örneğin biyoteknolojik yöntemlerle mikroorganizmalar tarafından üretilebileceği belirtilmiştir. Örneğin glukozdan yüksek düzeyde (974 mg/L) p-kumarik asit üretebilen *E. coli* suşu geliştirilmiştir (Kang ve ark., 2012). Diğer bir çalışmada baskılanmış *E. coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşları ile üretilen pinosembren ve naringenin flavonoidleri elde edilmiştir (Hwang ve ark., 2003; Jiang ve ark., 2005). Franklin ve ark. (2011) tarafından yağ bileşimi ve içeriği yüksek genetik modifiye mikroalglerden üretilmiş gıda destekleri üretilmiştir. Günümüzde endüstriyel uygulamalara daha uygun rekombinant ekme mayaları geliştirilmiştir (Prieto ve ark., 2006).

5. Sonuç

Gıda biyoteknolojisi ve biyoprosesi, son derece dinamik bir araştırma alanı olup sürekli gelişim göstermektedir. Yapılan araştırmalar, gıdaların işlenmesi, muhafazası ve tüketimi öncesi tüm safhalarda yeni uygulama alanları geliştirmiştir. Nanoteknolojinin getirdiği yenilikler, mikroorganizmaların özelliklerinin bilinmesi ve onların manipüle edilebilmesi, gıda biyoproseslerinde önemli ve uygulama alanı bulma potansiyeline sahip yenilikler getirmiştir. Gıdaların veya ambalaj materyallerinin bünyesinde bulunabilecek herhangi bir patojen mikroorganizmayı, onların toksinini veya diğer arzu edilmeyen maddeleri tespit edebilecek nanosensörler geliştirilmiştir. Mikroorganizmalardan biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen ve üretilen enzimler, artık hayvansal ve bitkisel kaynaklı ticari enzimlerin yerini büyük ölçüde almış durumdadır. Yine mikroorganizmaların genetik yapıları değiştirilerek elde edilen rekombinant mikroorganizmalar bir dizi gıda katkı maddesi ve bileşeninin yüksek verimde üretimine olanak sağlamaktadır. Söz konusu alanlarda yapılan çalışma sayısının ve bunların endüstride uygulanabilme potansiyelinin yüksek olması, ileride yeni birçok gelişmelere şahit olacağımızı da göstermektedir.

Kaynaklar

- De Maria, L., Vind, J., Oxenball, K.M., Svendsen, A., Patkar, S. 2007. Phospholipases and their industrial applications: Mini review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74, 290-300.
- Diez, B., Mellado, E., Rodriguez, M., Fouces, R., Barredo, J.L. 1997. Recombinant microorganisms for industrial production of antibiotics. *Biotechnology and Bioengineering*, 55(1), 216-226.
- Doran, P.M. 2012. *Bioprocess Engineering Principles*. 2nd Ed. Elsevier, United Kingdom.
- Dwarakanath, S., Bruno, J.G., Shastry, A., Phillips, T., John, A., Kumar, A., Stephenson, L.D. 2004. Quantum dot-antibody and aptamer conjugates shift fluorescence upon binding bacteria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 325(3), 739-743.
- Edgar, R., McKinstry, M., Hwang, J., Oppenheim, A.B., Fekete, R.A., Giulian, G., Merrill, C., Nagashima, K., Adhya, S. 2006. High-sensitivity bacterial detection using biotin-tagged phage and quantum-dot nanocomplexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(13), 4841-4845.
- Franklin, S., Somanchi, A., Wee, J., Rudenko, G., Moseley, J.L., Rakitsky, W., 2011. US patent başvuru No 2011/0293785 A1.
- Fu, G.Z., Chan, A., Minns, D. 2005. Preliminary assessment of the environmental benefits of enzyme bleach boosting for pulp and paper making. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 10, 136-142.
- Fu, J., Park, B., Siragusa, G., Jones, L., Tripp, R., Zhao, Y.P., Cho, Y.J. 2008. An Au/Si heteronanorod-based biosensor for *Salmonella* detection. *Nanotechnology*, 19(15), 1-7.
- Ghosh, S., Sarker, D., Misra, T.N. 1998. Development of an amperometric enzyme electrode biosensor for fish freshness detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 53(1-2), 58-62.
- Goldman, E.R., Clapp, A.R., Anderson, G.P., Uyeda, H.T., Mauro, J.M., Medintz, I.L., Mattoussi, H. 2004.

- Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents. *Analytical Chemistry*, 76(3), 684-688.
- Gonzales, R. 2006. Metabolic engineering of bacteria for food ingredients. In: *Food Biotechnology*, Ed. Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A., Levin, R. E., CRC Press, New York, ABD.
- Hua, X., Yang, R. 2016. Enzymes in starch processing. In *Applications of Enzymes in Food and Beverage Industries*. Ed. Chandrasekaran, M. CRC Press, Florida, ABD.
- Hwang, E.I., Kaneko, M., Ohnishi, Y., Horinouchi, S. 2003. Production of plant-specific flavanones by *Escherichia coli* containing an artificial gene cluster. *Applied Environmental Microbiology*, 69, 2699-2706.
- Jiang, H., Wood, K.V., Morgan, J.A. 2005 Metabolic engineering of the phenylpropanoid pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Environmental Microbiology*, 71, 2962-2969.
- Kang, S.Y., Choi, O., Lee, J.K., Hwang, B.Y., Uhm, T.B., Hong, Y.S. 2012. Artificial biosynthesis of phenylpropanoic acids in a tyrosine overproducing *Escherichia coli* strain. *Microbial Cell Factories*, 11:153.
- Kirk, O. Borchert, T. V. Fuglsang, C. C. 2002. Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 345-351.
- Leisola, M., Jokela, J., Pastinen, O., Turunen, O., Schoemaker, H. 2002. Industrial use of enzymes. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, EOLSS Publishers Co., Oxford, UK.
- Merkoci, A. 2010. Nanoparticles-based strategies for DNA, protein and cell sensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 26(4), 1164-1177.
- Neethirajan, S., Jayas, D. S. 2007. Sensors for grain storage. *ASABE Annual International Meeting*, 17-20 Haziran 2007, Minneapolis, ABD.
- Neethirajan, S., Jayas, D.S. 2011. Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 39-47.
- Prieto, J.A., Aguilera, J., Randez-Gil, F. 2006. Genetic engineering of baker's yeast: challenges and outlook. In *Food Biotechnology: Second Edition, Revised and Expanded*, Ed. K. Shetty, A. Pometto, G. Paliyath (Eds.), CRC Press, Boca Raton, pp. 245-279.
- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C.J. 2012. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30(1), 37-44.
- Schafer, T. Borchert, T. W. Nielsen S. S., Skagerlind, P., Gibson, K., Wenger, K., Hatzak, F., Nilsson, D.L., Salmon, S., Pedersen, S., Heldt-Hansen, H. P., Poulsen, B. P., Lund, H., Oxenboll, K.M., Wu, G.F., Pedersen, H. H., Xu, H. 2007. Industrial enzymes. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 105, 59-131.
- Schofield, C.L., Field, R.A., Russell, D.A. 2007. Glyconanoparticles for the colorimetric detection of cholera toxin. *Analytical Chemistry* 79(4), 1356-1361.
- Steffolani, M.E., Ribotta, P.D., Perez, G.T., Puppo, M.C., Leon, A.E. 2012. Use of enzymes to minimize dough freezing damage. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2422-2255.
- Subramaniyam, R., Vimala, R. 2012. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: A comparative study. *International Journal of Science & Nature*, 3(3), 480-486.
- Şahin, F., Arat, S., Tura, M., Eşitken, A., Sağdıç, O., Kesmen, Z., Ünal, E.Ö. 2013. Bölüm 3, Kısım-3: Türkiye'de agro-biyoteknoloji. *Biyoteknoloji Sektörel İnovasyon Sistemi*, Ed. Kiper M., Türkiye Teknoloji Geliştirme Vakfı, 173-203, Ankara, Türkiye.
- Teo, C.C., Tan, S.N., Hong Yong, J. W., Hew, C.S., Ong, E.S. 2010. Pressurized hot water extraction. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2484-2494.
- Veit, T. 2004. Biocatalysis for the production of cosmetic ingredients. *Engineering in Life Sciences*, 4, 508-511.