GIDA (2013) 38 (2): 111-118 Derleme / *Review*

ÇİFT AKTİVİTELİ KATALAZ-FENOL OKSİDAZININ VE DİĞER KATALAZLARIN GIDA SANAYİSİNDEKİ ÖNEMİ

Yonca Yüzügüllü*[1], Zümrüt Begüm Ögel[2]

[1] Kocaeli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kocaeli
[2] Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / *Received*: 04.10.2012
Kabul tarihi / *Accepted*: 31.10.2012

Özet

Katalazlar, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren, antioksidan metalloenzimler grubuna dahil, hücre ömrünün uzamasına önemli katkıları olduğu bilinen enzimlerdir. Gıdalarda, gerek tek başlarına süt pastörizasyonunda ve peynir yapımında, gerekse glukoz oksidaz ile beraber glukoz içermeyen diyetetik içecekler, fruktoz içermeyen invert şeker ve glukoz içermeyen maltoz üretiminde kullanılmaktadırlar. Son yıllarda hidrojen peroksitin endüstride kullanımının artması, ekonomik ve oldukça kararlı katalaz enziminin üretilmeye çalışılmasını gerekli kılmıştır. Katalaz enziminin fonksiyonel ve yapısal karakterizasyonu uzun yıllardır çalışılmış olmasına rağmen halen enzimin bilinmeyen karakteristik özellikleri ortaya çıkmaktadır. Örneğin, termofilik bir mantar olan *Scytalidium thermophilum*'un büyümeye bağlı olarak sürekli (konstitütif) bir şekilde ürettiği katalaz, hidrojen peroksit yokluğunda fenol oksidaz aktivitesi de göstermektedir. Bu özelliğin keşfi ile birlikte, insan da dâhil çok farklı organizmaların katalazlarında değişen oranlarda oksidaz aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Katalazlar üzerine yaklaşık yüz yıldır çalışıldığı halde, bu enzimlerin peroksitten bağımsız ikincil oksidaz aktivitesi literatürde yeni bir bulgudur. Katalazın oksidaz aktivitesinin etkinliğini arttırmak için üç boyutlu yapısının protein mühendisliği ile değiştirilmesi çalışmalarına başlanmıştır. Bu şekilde, tek aşamada hem hidrojen peroksiti hem de oksijeni ortamdan uzaklaştırabilecek maliyeti düşük ve yüksek verimli katalazların üretilmesi olasılığı, bu enzimlerin araştırılmasında yepyeni ufuklar açmıştır.

Anahtar kelimeler: Gıda, hidrojen peroksit, katalaz, oksidaz, *Scytalidium thermophilum*

THE VALUE OF BIFUNCTIONAL CATALASE-PHENOL OXIDASE AND OTHER CATALASES IN FOOD INDUSTRY

Abstract

Catalases, responsible for hydrogen peroxide degradation into water and oxygen and belonging to a group of antioxidant metalloenzymes, are known as promoting cellular life. They are widely used in food either alone in milk pasteurization and cheese production or its combination with glucose oxidase in the production of dietetic beverages and maltose excluding glucose and invert sugar that does not contain fructose. The need for economic and highly stable catalase production has recently become inevitable due to an increase in the use of hydrogen peroxide in the industry. Despite catalases have been functionally and structurally studied for many years, some unknown characteristics of these enzymes are still coming up. For example, the thermophilic fungus *Scytalidium thermophilum* constitutively produces a catalase in a growth-associated manner, and this catalase possesses an additional phenol

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;
yyuzugullu@yahoo.com, (+90) 262 303 2811 (+90) 262 303 2803

oxidase activity in the absence of hydrogen peroxide. With this discovery, it was also shown that catalases, found in various organisms including humans, exhibit oxidase activity at varying degrees. Although research on catalases has been going on for more than a century, the peroxide independent secondary oxidase activity of these enzymes is a new discovery in the literature. Studies of changing three dimensional structure of enzyme with protein engineering to increase the effectiveness of oxidase activity in catalase have already been started. In this manner, the chance of catalase production with low cost and high yield, which can remove both hydrogen peroxide and oxygen at one step, has encouraged the in-depth investigation of these enzymes.

Keywords: Food, hydrogen peroxide, catalase, oxidase, *Scytalidium thermophilum*

GİRİŞ

Katalazlar, en çok çalışılan enzim gruplarındandır. "Katalaz" terimi ilk kez 1901 yılında araştırmacı Loew tarafından Hidrojen peroksiti (H_2O_2) parçalayan enzim olarak literatürde tanımlanmış ve daha sonra bu protein birçok moleküler biyolog ve biyokimyacının çalışma hedefi haline gelmiştir. Substratının ucuz ve dolayısıyla rahat bulunabilir olmasının yanında aktivitesinin de kolay ölçülebilir olması neticesinde birçok bilim adamı katalaz enzimi ile çalışmaya başlamıştır (1). Katalazların katalizlediği reaksiyon genel olarak H_2O_2'in su ve moleküler oksijene parçalanması şeklindedir (reaksiyon 1).

$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ (reaksiyon 1)

Bu katalitik reaksiyon iki ayrı basamaktan oluşmaktadır (1-3). İlk basamakta birinci hidrojen peroksit enzimdeki hem grubunu oksiferril (Compound I, Cpd I) formuna çevirir (reaksiyon 2). İkinci hidrojen peroksit molekülü ise ilk basamakta oluşan bileşiği tekrar indirgeyip enzimin orijinal formuna dönüşmesinde ve su ile oksijenin oluşumunda görev alır (reaksiyon 3).

Enz ($Por–Fe^{III}$) + H_2O_2 → Cpd I ($Por^{+\cdot}–Fe^{IV}=O$) + H_2O (reaksiyon 2)

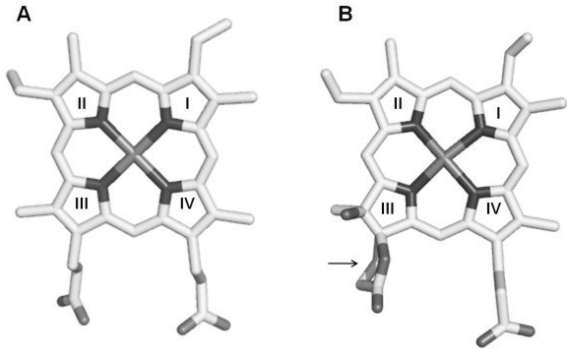
Cpd I ($Por^{+\cdot}–Fe^{IV}=O$) + H_2O_2 → Enz ($Por–Fe^{III}$) + H_2O + O_2 (reaksiyon 3)

Katalazların Sınıflandırılması

Katalazlar genel olarak dört gruba ayrılır: monofonksiyonel hem (heme, haem) grubu içeren katalazlar, katalaz peroksidazlar, demir/hem içermeyip Mn içeren katalazlar ve düşük katalaz aktivitesi gösteren çeşitli proteinler (1, 2, 4). Hem grubu içeren monofonksiyonel katalazlar (Hidrojen peroksit oksidoredüktazlar, E.C. 1.11.1.6), katalaz ailesinin en yaygın grubunu oluşturmaktadır (1, 2). Bu gruptaki katalazlar, yukarıda belirtildiği gibi hidrojen peroksitin yıkımını iki ayrı basamakta gerçekleştirirler. Tetramerik bir yapıya sahip olan bu enzimler, monomerleri 75-80 kDa ve 55-69 kDa arasında değişen iki alt gruba daha ayrılırlar. Bu iki gruptaki katalazlar arasında en temel fark hem grubunun karakteristik yapısıdır (Şekil 1). Yapıları şimdiye kadar karakterize edilmiş olan hemen hemen tüm küçük katalazların *b* tipi hem grubu ihtiva ettikleri ve ayrıca NAD(P)H bağlanma bölgesi içerdikleri bilinmektedir (1). Buna karşılık, büyük katalazlarda ise *d* tipi hem grubu bulunmakla birlikte bunların yüksek sıcaklığa ve proteolize karşı önemli derecede dayanıklı oldukları keşfedilmiştir (1). Katalaz peroksidazlar hem içeren ve monofonksiyonel katalazlara benzeyen enzimlerdir. Uygun organik elektron vericinin ortamda bulunmasıyla ve hidrojen peroksit seviyesinin düşük olduğu durumda peroksidaz aktivitesi de gösterebilmektedirler. Ancak; şimdiye kadar bu enzimlere uygun peroksidatik substrat henüz tanımlanamamıştır. Bu nedenle enzimlerin peroksidatik reaksiyonları belirlenememiştir (1-3). Mn içeren enzimler ise aynı zamanda yalancı-katalazlar olarak da tanımlanabilir. Bu tip katalazlar hem içeren katalazlara göre daha az yaygındırlar; şimdiye kadar sadece *Lactobacillus plantarum, Thermus thermophilus* ve *Thermoleophilum album*'dan izole edilen katalazlar karakterize edilmiştir (1, 5, 6). Katalaz ailesindeki en az öneme sahip grup ise hem grubu içeren ve düşük katalaz aktivitesi gösteren enzimlerden oluşmaktadır. Kloroperoksidazlar (*Caldariomyces fumago*), haloperoksidazlar ve bromoperoksidazlar bu grupta yer alan katalazlara örnek olarak verilebilir (7-9).

Katalaz Oksidazlar

Katalazlarla yaklaşık yüzyıldır çalışılmasına rağmen bu enzimlerin peroksitten bağımsız ikincil oksidaz aktivitesi literatürde yeni bir bulgudur. Yakın bir geçmişte yayınlanan ilk bulgulara göre *S. thermophilum* büyüme ile paralel olarak ortaya



Şekil 1. A. Hem *b*'nin (Sitokrom P450, Protein Data Bankası Kodu: 3TNK) üç boyutlu görüntüsü. B. Hem *d*'nin (HPII Katalaz, Protein Data Bankası Kodu: 1GGE) üç boyutlu görüntüsü. İki hem tipi arasındaki en önemli fark, III nolu halkaya hem *b*'de karboksil zinciri bağlı iken hem *d*'de ise lakton halkası bağlıdır (ok ile gösterilmektedir).

çıkan ve fenolik maddeler varlığında üretimi tetiklenen bir hücre-dışı fenol oksidaz üretmektedir (10). Bu enzim öncelikle bilinen hiç bir fenol oksidaz sınıfına dahil edilememiş ancak ağırlıklı olarak katekol oksidaz özelliği sergilemiştir. Daha sonra yapılan ayrıntılı saflaştırma ve dizi analizleri sonucunda *S. thermophilum*'un hücre-dışı fenol oksidaz enziminin aslında çift aktiviteli bir katalaz olduğu belirlenmiştir (11, 12). *S. thermophilum* katalaz-fenol oksidaz (CATPO) enzimi her biri yaklaşık 80 kDa'dan oluşan tetramerik bir enzimdir. Aminoasit dizilimi ve tahmini 3-boyutlu yapısı itibarı ile "monofonksiyonel büyük katalazlar" ailesinin bir bireyi olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan literatür araştırması sonucu CATPO'ya benzer özelliğe sahip bir enzimin varlığına dair sadece tek bir yayın bulunabilmiştir. Bu enzim memeli (chinese hamster) hücrelerinde bulunan katalaz-oksidaz enzimi olup, CATPO gibi, monofonksiyonel büyük katalazlar ailesine dahildir (13). Memeli katalaz-oksidaz ile ilgili çalışmada (13) bu tür bir bulgunun bir "ilk" olduğu vurgulanmakta ve fenol oksidaz aktivitesinin mekanizmasının bilinmediği belirtilmektedir. Buradan, çift aktiviteli katalaz-fenol oksidaz türü enzimlerin çok daha yaygın olabileceği, hatta insanda da olabileceği anlaşılmaktadır. Nitekim farklı kaynaklardan (*Aspergillus niger*, insan eritrositleri ve sığır karaciğeri) elde edilen katalazların katekol oksidaz aktiviteleri test edildiğinde bu çift katalaz-fenol oksidaz aktivitenin aslında katalazlar için genel bir özellik olabileceğini düşündürmektedir (11).

Endüstriyel enzim üretimi sırasında karşılaşılan problemlerin başında enzimlerin inaktive edici koşullarla karşı karşıya kalması neticesinde çok miktarda kayba uğramaları gelmektedir. Bu sorunu çözmek için sıcaklığa direnç genlerinin mezofilik konaklara klonlanması ve mutasyon çalışmaları, enzimin immobilize edilmesi ya da kristalizasyonu gibi çeşitli yollara başvurulmaktadır (14). Termofilik bir mantar olan *S. thermophilum*'un hücre dışı katalazı sıcaklığa dayanıklı bir enzim olup etanol ve DMSO (Dimetil sülfoksit) gibi organik çözgenlerde kararlılığını korumaktadır (10). Bu nedenle, termofilik bir mantardan elde edilen bu katalazın kararlı yapıda olmasının, enzimin olası uygulamalarda kullanımını oldukça pahalı olan enzim preparatlarının işletmeye olan maliyetini azaltması açısından önemli hale getirdiği düşünülmektedir.

Katalazların Canlılar için Önemi

Katalazlar hücre ömrünü etkileyen antioksidan enzimlerden biridir. Bu özellikleri, oksidatif stres varlığında oluşan reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species; ROS) ile hücrenin baş edebilmesi esnasındaki katkılarından kaynaklanmaktadır. Yapılan araştırmalar, katalaz üreten hücrelerde, katalazdan yoksun olanlara göre, hidrojen peroksit varlığında hücre ömrünün uzadığını göstermiştir (15). Bunun yanı sıra, katalazlar aerobik solunum yapan canlıların durağan fazda uzun süre yaşamlarını sürdürebilmelerini de sağlar (16). Katalazın ayrıca bakteriyel virülans sırasında önemli bir etken olduğu önerilmektedir. Örneğin, *Staphylacoccus aureus* patojeni, farelerin periton kesesinde yaşayabilmesi için katalaza ihtiyaç duyar (17).

Hidrojen peroksitin uzaklaştırılması, hücre ömrünü uzatma ve virülans gibi özelliklerinin yanı sıra katalazlar etanol ve metanol metabolizmasında da rol alır (7, 18). Son olarak, katalazların hidrojen peroksiti mikromolar seviyelerin altına indirerek hücre-içi ve hücreler arası sinyal iletimini tetikleyip büyümeyi kısmen uyarabildikleri savunulmuştur (19-21). Bütün bunlar göz önüne alındığında, katalazın sinyal iletimi, detoksifikasyon, antioksidan mekanizmasına katkı, ya da henüz bilinemeyen önemli birçok biyolojik rolü olabileceği anlaşılmaktadır.

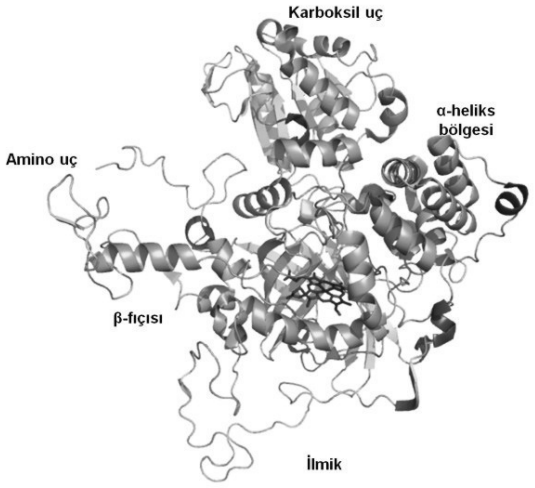
Hücre-İçi Katalaz Üretiminin Kontrolü

Oksidatif strese karşı bakterilerin savunma mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalar katalaz üretiminin farklı hücrelerde nasıl kontrol edildiğine ışık tutmaktadır. Özellikle *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* ile yapılan çalışmalar, bakterilerde katalaz genlerinin ifadesinden

sorumlu iki kontrol mekanizması olduğunu göstermiştir (22-24). *E. coli* hücrelerinde iki tip katalaz enzim üretimi gerçekleşir; bunlar çift aktiviteli katalaz-peroksidaz (HPI) ve monofonksiyonel katalaz (HPII) şeklinde adlandırılmıştır. HPI ve HPII katalazlarının üretimi birbirinden bağımsız olup HPI sentezi büyüme ortamına hidrojen peroksit ilavesiyle başlatılırken HPII sentezi ise büyüme evresinin durağan fazında gerçekleşir. HPI katalazını kodlayan *katG* geni, oksidatif strese cevap olarak uyarılan OxyR regülonu tarafından kontrol edilir. HPII katalazını kodlayan *katE* geninin kontrol mekanizması ise biraz daha farklıdır ve pozitif efektör olarak fonksiyonel *katF* genine ihtiyaç duyar. HPII katalazı, hücreler durağan faza girdikleri zaman yüksek düzeyde salgılanır ve hidrojen peroksit ya da anaerobik ortamdan etkilenmez (25). HPII katalazı tripsin, kimotripsin, proteinaz K gibi çeşitli proteazlara karşı olağan dışı bir dayanıklılık gösterir. Normalde globüler proteinler belli bir dereceye kadar proteazlara karşı direnç gösterirler; ancak HPII katalazı 1:1 (protein:proteaz) oranında dahi yüksek bir kararlılık göstermektedir. Bu özelliğinin yanı sıra enzim sıcaklığa karşı da dayanıklıdır. Proteazlara ve sıcaklığa gösterdikleri direncin bir şekilde birbiri ile etkileşimli olup olmadığı halen araştırılmakla birlikte HPII katalazının durağan fazda üretilmesinin bu dönemde hücrelerin hayatta kalması için bu enzime ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Bu nedenle, bu enzim inaktive olmamak açısından hayatta kalmak için proteazlara karşı direnç gösterir (26).

Katalazların Yapısal Analizi

Katalaz enzimi kristali elde edilen ilk enzimlerdendir. Günümüze kadar kristal yapısı belirlenmiş olan monofonksiyonel katalazların üç boyutlu yapıları incelendiğinde hemen hemen hepsinin büyük ölçüde korunmuş olan β-fıçı çekirdek yapısı içerdikleri gözlenmiştir. Enzimin her bir alt birimi beş farklı bölgeden oluşmaktadır: Amino ucu, sekiz adet anti-paralel sıralanmış β-ipliklerinin oluşturduğu β-fıçısı, uzun ilmik kısmı, α-heliks bölgesi ve karboksil ucu (Şekil 2). Amino uç kısmının uzunluğu katalazlar arasında oldukça değişkendir; örneğin *Proteus mirabilis* katalazında (27) bu kısım 53 amino asitten oluşurken HPII katalazında (28) ise 127 kalıntıdan oluşmaktadır. Bu bölgede monomerler arası etkileşim oldukça yoğun olup enzimin moleküler stabilitisinden sorumludur. İkinci kısım olan β-fıçısı, katalazların karakteristik özelliğini oluşturmaktadır. Bu bölgenin ilk yarısını oluşturan aminoasitler "hem"



Şekil 2. E. coli HPII Katalazının monomerinin üç boyutlu yapısı (Protein Data Bankası Kodu: 1GGE).

grubunun distal kısmını oluşturmakta iken ikinci yarısı ise özellikle küçük katalazlarda NAD(P)H'nin bağlanma bölgesine denk gelmektedir. Proteindeki uzun ilmik yapı, β-fıçısı ile α-heliks bölgesini bağlamaktadır ve bu bölgede ikincil yapılara rastlanmaz. Karboksil uç kısmı ise katalazlarda uzunluk bakımından farklılık göstermekte ve bu farklılığın enzimin yüksek sıcaklık ya da proteoliz gibi etkenlere karşı dayanıklılığını belirlediği öne sürülmektedir (7).

Katalazlar ve Gıda Sanayisindeki Rolleri

Gıdaların bozulmadan uzun süre kalmasını sağlamak için birçok enzim (proteaz, lipaz, laktaz, ksilinaz, pektinaz, amilaz, fitaz, katalaz, vb) kullanılmaktadır (29). Bu enzimler genelde; bozulmaya neden olan mikroorganizmaların, enzimlerin etkileri sonucu oluşan bir metabolit ile inhibisyonu amacıyla ya da mikroorganizmalar tarafından üretilen antimikrobiyel etkili metabolitlerin oluşumunu sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu gruptaki enzimlerden biri olan katalaz gıda sanayisi dâhil birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Çizelge 1). Gıdalarda özellikle soğuk sterilizasyon ajanı olarak kullanılan hidrojen perokisiti, sütün işlenmesi sırasında ortamdan uzaklaştırmak için ihtiyaç duyulur (30). Normalde süte herhangi bir katkı maddesi ilavesi istenen bir durum değildir; ancak sütün ekşimesini geciktirmek amacıyla hidrojen peroksit (<0.8 g/L) ilave edilir. Bunun daha sonradan tüketiciye ulaştırılmadan sütten uzaklaştırılması gerekir ki bu da katalaz ilavesi ile mümkün olur (31). Katalaz aynı zamanda peynir

yapımında da kullanılabilir (31, 32). Örneğin, İsviçre peyniri gibi aroması hoş olan peynirlerin yapımı sırasında peynire güzel tadı veren laktik asit bakterilerinin gelişimini önlememek açısından bu bakterilerin hassas oldukları hidrojen peroksitin sütten uzaklaştırılması gerekir (32).

Katalaz ayrıca glukoz oksidaz ile birlikte glukoz içermeyen diyetetik içecekler, fruktoz içermeyen invert şeker ve glukoz içermeyen maltoz üretiminde de kullanılır (33). Fırın ürünlerinin yapımı sırasında, bu enzim kombinasyonu az miktarda hidrojen peroksit ile birlikte kullanılır. Bunun sebebi, gıdalarda kararmaya sebep olan glukozun okside olarak uzaklaştırılması için yeterli oksijeni sağlamaktır (34). Bu enzim kompleksinin başka kullanım alanları arasında ise cam şişelerdeki, konserve ve kutu içeceklerin ağız kısmındaki oksijenin uzaklaştırılması, şaraplarda ve mayonezde gözlenen biyolojik olmayan kararmayı önlemek sayılabilir (34). Son olarak gıda paketlerinde bu iki enzim kullanılarak gıdalarının çabuk bozulması engellenir. Genel olarak katalaz ve oksidaz enzimlerinin beraber kullanılması, birçok gıdadan oksijeni uzaklaştırmak içindir ve dolaylı olarak mikroorganizmaların gelişimi de engellenir. Böylece gıdaların raf ömrü uzun olmaktadır. Günümüzdeki en büyük problemlerden biri olan gıda israfının önlenmesine bu şekilde katkı sağlanabilir.

Genel olarak gıda sanayisinde kullanılan enzimler küçük kapsüller içine hapsedilmiş (35-37) ya da immobilize (tutuklanmış) edilmiş halde hazırlanır (36, 37). Endüstride kullanılan katalazlar da yine kapsül içinde ya da immobilize halde üretilir (Calzyme Lab). İmmobilizasyon işlemi enzimlere tekrar kullanabilme, kontaminasyona dirençli olma gibi birçok önemli yararlar sağlarlar (38, 39). Ancak bu avantajlarının yanında yüksek maliyetin yanı sıra enzimlerin hücre içinde oldukça iyi çalışırken hücreden arındırıldıklarında aktivitelerini kaybetme risklerinin olması gibi dezavantajları da mevcuttur. Katalazların farklı özelliklere sahip membranlar üzerine tutunması birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve bunlardan kimyasal olarak aktifleştirilmiş teflon (40), kitosan (41), polistrin-divinilbenzen (42) gibi polimerler üzerine enzimin immobilizasyonu olumlu sonuçlar vermiştir. Ayrıca katalazın, kollajen veya albumin gibi proteinler ile aktive edilmiş nanofibriller üzerine immobilizasyonu ile aktivitedeki kaybın önemli oranda azaldığı gözlenmiştir (43). Yine bir diğer denemede demir ile aktifleştirilmiş kollajen fibrillere tutunan katalazın aktivitesinin %57'sinin 26 denemeden sonra hala kaldığı bulunmuştur (44). İmmobilizasyon denemelerinde enzim yerine aktivite kaybını önlemek amacıyla bütün hücre yapısı da kullanılabilmektedir. Örneğin, katalaz üreten maya (*Saccharomyces cerevisiae*) hücreleri toksik özellik göstermeyen tavuk yumurta beyazına glutaraldehit varlığında çapraz bağlanma yoluyla immobilize edilerek hem enzim aktivitesi korunmuş hem de düşük maliyetle üretim sağlanabilmiştir (45).

Günümüzde katalazlar ticari olarak birçok firma tarafından üretilmektedir (Novodis, Innovadex, Sigma, vb). Bu tip katalazların eldesinde kullanılan başlıca mikroorganizmalar *A. niger* ve *Micrococcus lysodeikticus*'dur. Ticari olarak üretilen bu katalazlar çizelgede de belirtildiği gibi gıda sanayisi dâhil olmak üzere çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadırlar. Bunların yanı sıra katalaz içeren gıda ürünleri de günümüzde yaygındır. Örneğin katalaz, sitokrom

Çizelge 1. Katalazın endüstrideki kullanım alanları

	Kullanım alanı	Mikroorganizma	Kaynakça
Gıda Sanayisi	Süt pastörizasyonu	*A. niger*	33, 34, 35
	Peynir üretimi	*A. niger*	34, 35
	Yumurta işlenmesi (Glukoz oksidaz ile birlikte)	*A. niger, M. lysodeikticus*	37
	İçeceklerden kalıntıların arındırılması (Glukoz oksidaz ile birlikte)	*A. niger*	37
	Şişelerde ve konserve yiyecek ya da kutu içeceklerde ağız kısmındaki oksijenin uzaklaştırılması (Glukoz oksidaz ile birlikte)	*A. niger*	37
	Mayonez ve şaraplarda kararmayı önlemek amacıyla (Glukoz oksidaz ile birlikte)	*A. niger, M. lysodeikticus*	37
	Diyetetik içecek imalatı (Glukoz oksidaz ile birlikte)	*A. niger*	36
	Fırın ürünleri (Glukoz oksidaz ile birlikte)	*A. niger*	37
Kozmetik Sanayisi	Lens solüsyonlarında temizleyici ajan olarak	*A. niger*	50
	Yüz maskesi imalatı	*A. niger*	50
Tekstil Sanayisi	Pamuk liflerinden peroksit uzaklaştırmada	*A. niger*	51

oksidaz, hekzokinaz, lipaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi birçok enzimi içeren çimen suyu ticari olarak satılmakta ve yaygın olarak kullanılmaktadır (46). Son yıllarda katalazın saç beyazlamasını geciktirici özelliği keşfedilmiş ve bu amaçla tablet halde üretilen katalazlar piyasadaki yerini almıştır (47).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Katalazlar H_2O_2'nin su ve moleküler oksijene parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir ve doğada yaygın olarak bulunurlar. Katalazlar, antioksidan metalloenzimler grubuna dahil olup çoğunlukla tetramer halindedirler. Monomerleri birbirine benzemekle birlikte 60-90 kDa arasında değişen molekül ağırlığına sahiptirler. Her bir monomer ayrıca yapısında ferriprotoporfirin içermektedir (1, 2). Son yıllarda grubumuz tarafından *S. thermophilum*'un fenol oksidaz enziminin çift aktivite gösterebilen bir katalaz-fenol oksidaz (CATPO) olduğu belirlenmiştir (10). Elde ettiğimiz bulgular *S. thermophilum*'un da oksidaz aktivitesi gösteren bir katalaz ürettiği ve bu enzimin bazı fenolik maddelerin varlığında oluşumunun arttığı neticesindedir. *S. thermophilum*'un hücre dışı fenol oksidaz enziminden elde edilen aminoasit dizilimi sonrası bu enzimin Novo Nordisk tarafından dizilimi belirlenmiş *Scytalidium* katalaz enzimi ile birebir örtüşmekte olduğu görülmüştür (48), ancak bu patent içinde enzimin bir fenol oksidaz aktivitesine sahip olduğuna dair bir bilgi bulunamamıştır. Literatürde katalaz ve oksidaz enzimlerinin özelliklerini tek bir enzimin bünyesinde toplayabilen bir enzime tek bir yayında rastlanmıştır (13). Memeli hücrede (chinese hamster) bulunan katalaz-oksidaz enzimi oksidaz aktivitesi için oksijene gereksinim duymaktadır ve ortamda H_2O_2 ya da herhangi bir kofaktör bulunmadığında dahi elektron veren substratları kullanabilmektedir. Diğer yandan memeli katalaz-oksidaz olarak sözü edilen enzimin protein karakterizasyonu yapılmamıştır. Bu nedenle, ekibimizin yakın geçmişte yayınladığı CATPO'nun karakterizasyonu (11, 12, 49), bu tür bir çift aktiviteli enzimin karakterize edildiği ilk çalışma niteliğindedir. Katalaz enzimlerinin gerek oksidatif stres ile gerekse hücre ömrü ve yaşlanma ile ilgili önemleri bilinmekle beraber, bu tür bir ikincil fenol oksidaz aktivitesinin biyolojik açıdan nasıl bir öneme sahip olabileceği grubumuz tarafından halen araştırılmakta ve öncü sonuçlar genel olarak antioksidan gibi davranan fenolik maddeler ile enzim üretimi arasında karşılıklı ters bir ilişkinin olduğunu göstermektedir (49).

Son yıllarda hidrojen peroksitin endüstride kullanımının artması, H_2O_2'nin su ve oksijene dönüştürülmesini sağlayan ekonomik ve oldukça kararlı katalaz enziminin üretilmeye çalışılmasını gerekli kılmıştır. Özellikle gıda sanayisinde katalaz enzimi oksidazlarla birlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Katalaz enzimi ile uzun yıllardır çalışılmış olmasına rağmen daha önce keşfedilmemiş ikincil oksidaz aktivitesi enzimoloji açısından yeni bir bulgudur ve bu çift aktivitenin daha ayrıntılı çalışılmasının maliyeti düşük ve yüksek verimli katalaz üretimine geniş ufuklar kazandıracağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci*, 61, 192-208.

2. Switala J, Loewen PC. 2002. Diversity of properties among catalases. *Arch Biochem Biophys*, 401, 145-154.

3. Zamocky M, Furtmüller PG, Obinger C. 2008. Evolution of catalases from bacteria to humans. *Antioxid Redox Signal*, 10, 1527-1548.

4. Bhaskar B, Lad L, Poulos TL. 2006. Iron: Heme proteins, peroxidases, catalases and catalase-peroxidases. In: *Encyclopedia of inorganic chemistry*, King RB (chief ed), J. Wiley & Sons, New York, NY, pp. 1-21.

5. Stich TA, Whittaker JW, Britt RD. 2010. Multifrequency EPR studies of Manganese catalases provide a complete description of proteinaceous nitrogen coordination. *J Phys Chem*, 114, 14178-14188.

6. Rochat T, Bermúdez-Humarán L, Gratadoux JJ, Fourage C, Hoebler C, Corthier G, Langella P. 2007. Antinflammatory effects of *Lactobacillus casei* BL23 producing or not a manganese-dependant catalase on DSS-induced colitis in mice. *Microb Cell Fact*, 6, 22.

7. Mate M, Murshudov G, Bravo J, Melik-Adamyan W, Loewen PC, Fita I. 2001. Heme-catalases. In: *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, Scott RA (chief ed), J. Wiley & Sons Press, New York, NY, pp. 486-502.

8. Liu JZ, Wang M. 2007. Improvement of activity and stability of chloroperoxidase by chemical modification. *Biotechnol*, 7, 23.

9. Anh DH, Ullrich R, Benndorf D, Svatos A, Muck A, Hofrichter M. 2007. The coprophilus mushroom *Coprinus radians* secretes a haloperoxidase that catalyzes aromatic peroxygenation. *Appl Environ Microbiol*, 73, 5477-5485.

10. Ögel ZB, Yüzügüllü Y, Mete S, Bakir U, Kaptan Y, Sutay D, Demir AS. 2006. Production, properties and application to biocatalysis of a novel extracellular alkaline phenol oxidase from the thermophilic fungus *Scytalidium thermophilum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 71, 853-862.

11. Sutay Kocabas D, Bakir U, Phillips SEV, McPherson MJ, Ogel ZB. 2008. Purification, characterization, and identification of a novel bifunctional catalasephenol oxidase from *Scytalidium thermophilum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 79, 407-415.

12. Sutay Kocabas D, Pearson AR, Phillips SEV, Bakir U, Ogel ZB, McPherson MJ, Trinh C. 2009. Crystallization and preliminary X-ray analysis of a bifunctional catalase-phenol oxidase from *Scytalidium thermophilum*. *Acta Crystallogr Sect F: Struct Biol Cryst Commun*, 65, 486-488.

13. Vetrano AM, Heck DE, Mariano TM, Mishin V, Laskin DL, Laskin JD. 2005. Characterization of the oxidase activity in mammalian catalase. *J Biol Chem*, 280, 35372-35381.

14. Nita M, Raducan A, Puiu M, Oancea D. 2007. Stabilization of catalase in the presence of additives.

http://gw-chimie.math.unibuc.ro/anunivch/2007-2/AUBCh2007XVI23944.pdf (Erişim tarihi 21.09.2012)

15. Volkert MR, Loewen PC, Switala J, Crowley D, Conley M. 1994. The _(argF-lacZ)205(U169) deletion greatly enhances resistance to hydrogen peroxide in stationary-phase *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 176, 1297-1302.

16. Loewen PC. 1999. Catalase. In: *Encyclopedia of molecular biology*, Creighton T (chief ed), J. Wiley & Sons, New York, NY, pp. 351-353.

17. Das D, Bishayi B. 2010. Contribution of catalase and superoxide dismutase to the intracellular survival of clinic isolates of *Staphylacoccus aureus* in murine macrophages. *Ind J Microbiol*, 50, 375-384.

18. Comporti M, Signorini C, Leoncini S, Gardi C, Ciccoli L, Giardini A, Vecchio D, Arezzini B. 2010. Ethanol-induced oxidative stress: basic knowledge. *Genes Nutr*, 5, 101-109.

19. Gough DR, Cotter TG. 2011. Hydrogen peroxide: a Jekyll and Hyde signaling molecule. *Cell Death Dis,* 2, e213; Doi: 10.1038/cddis.2011.96.

20. Onumah OE, Jules GE, Zhou L, Yang H, Guo Z. 2009. Overexpression of catalase delays G0/G1- to S-phase transition during cell cycle progression in mouse aortic endothelial cells. *Free Radic Biol Med*, 46, 1658-1667.

21. Takebe F, Hara I, Matsuyama H, Yumoto I. 2007. Effects of H_2O_2 under low- and high-aeration -level conditions on growth and catalase activity in *Exiguobacterium oxidotolerans* T-2-2T. *J Biosci Bioeng*, 104, 464-469.

22. Imlay JA. 2008. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annu Rev Biochem*, 77, 755-776.

23. Uhlich GA. 2009. KatP contributes to OxyR-regulated hydrogen peroxide resistance in *Escherichia coli* serotype O157 : H7. *Microbiol*, 155, 3589-3598.

24. Pacello F, Rotillo G, Battistoni A. 2012. Low-shear modeled microgravity enhances *Salmonella enterica* resistance to Hydrogen peroxide through a mechanism involving KatG and KatN. *Open Microbiol J*, 6, 53-64.

25. Mulvey MR, Switala J, Borys A, Loewen PC. 1990. Regulation of transcription of *katE* and *katF* in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 172, 6713-6720.

26. Chelikani P, Ramana T, Radhakrishnan TM. 2005. Catalase: A repertoire of unusual features. *Ind J Clinic Biochem*, 20, 131-135.

27. Gouet P, Jouve HM, Dideberg O. 1995. Crystal structure of Proteus mirabilis PR catalase with and without bound NADPH. *J Mol Biol*, 249, 933-954.

28. Bravo J, Mate MJ, Schneider T, Switala J, Wilson K, Loewen PC, Fita I. 1999. Structure of catalase HPII from *Escherichia coli* at 1.9 Å resolution. *Proteins*, 34, 155-66.

29. Kirk O, Borchert TV, Fuglsang CC. 2002. Industrial enzyme applications. *Curr Opin Biotechnol,* 13, 345-351.

30. Anon. http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu809/enzim_ve_mikroorganizma.pdf (Erişim tarihi 13.09.2012)

31. Lück H. The use of hydrogen peroxide in milk and dairy products. http://www.whqlibdoc.who.int/monograph/WHO_MONO_48_(p423).pdf (Erişim tarihi 21.09.2012)

32. Phillips T. Enzymes used in diary industry.

http://wwwbiotech.about.com/od/casestudies/tp/dairyenzymes.htm (Erişim tarihi 21.09.2012)

33. Anonymous. http://www.food.ege.edu.tr/files/bolm10.pdf (Erişim tarihi 13.09.2012)

34. Chaplin M. Glucose oxidase and catalase in the food industry. http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/god.html (Erişim tarihi 23.09.2012)

35. Vidhyalakshmi R, Bhakyaraj R, Subhasree RS. 2009. Encapsulation "The future of probiotics"- a review. *Adv Biol Res*, 3, 96-103.

36. Apinan S. Encapsulation technology. http://www.nanotec.or.th/fckeditor/FCKeditor/UserFiles/Encapsulation%20technology%20in%20Food%20Industry%20new.pdf (Erişim tarihi 14.09.2012)

37. Anonymous. http://www.capsulae.com/eng/markets-industries/food-nutrition (Erişim tarihi 14.09.2012)

38. Panesar PS, Kumari S, Panesar R. 2010. Potential applications of immobilized β-Galactosidase in food processing industries. *Enzyme Res*, Volume 2010, Article ID 473137, 16 pages, Doi: 10.4061/2010/473137.

39. Petkova GA, Zaruba K, Zvatora P, Kral V. 2012. Gold and silver nanoparticles for biomolecule immobilization and enzymatic catalysis. *Nanoscale Res Lett*, 7, 287.

40. Alves Da Silva M, Helena Gil M, Piedade AP, Redinha JS, Oliveira Brett A, Caridade Costa JM. Immobilization of catalase on membranes of Poly(ethylene)-g-co-acrylic acid and Poly (tetrafluoroethylene)-g-co-acrylic acid and their application in hydrogen peroxide electrochemical sensors. http://www1.ci.uc.pt/pessoal/anabrett/pdfs/PDF-1984-1995/5-Catalase-JPolSci.pdf (Erişim tarihi 14.09.2012)

41. Çetinus ŞA, Öztop HN, Saraydın D. 2007. Immobilization of catalase onto chitosan and cibacron blue F3GA attached chitosan beads. *Enzyme Microb Tech*, 41, 447-454.

42. Bayramoglu G, Karagoz B, Yilmaz M, Bicak N, Arica MY. 2011. Immobilization of catalase via adsorbtion on poly(styrene-d-glycidylmethacrylate) grafted and tetraethyldiethylenetriamine ligand attached microbeads. *Bioresour Technol*, 102, 3653-3661.

43. Wang ZG, Wan LS, Xu ZK. 2009. Immobilization of catalase on electrospun nanofibrus membranes modified with bovine serum albumin or collagen: Coupling site-dependent activity and protein-dependent stability. *Soft Matter*, 5, 4161-4168.

44. Chen S, Song N, Liao X, Shi B. 2011. Immobilization of catalase on Fe(III) modified collagen fiber. *Sheng Wu Gong Chenq Xue Bao*, 7, 1076-1081 [in Chinese].

45. Kubal BS, D'Souza SF. Immobilized-BARC. http://www.barc.gov.in/publications/nl/2006/200610-20.pdf (Erişim tarihi 14.09.2012)

46. Anonymous. http://www.dynamicgreens.com/wheatgrass-enzymes.html (Erişim tarihi 27.09.2012)

47. Anonymous. http://www.emaxhealth.com/1020/115/29550/catalase-culprit-gray-hair.html (Erişim tarihi 27.09.2012)

48. Christensen B, Lange NK, Daimon K. Catalase, its production and use. US Patent 5,571,719 (Erişim tarihi 27.09.2012)

49. Yüzügüllü Y, Ögel ZB, Bölükbaşı UB, Çoruh N, Karakaş G. 2011. Production and biocatalytic activity of a novel bifunctional catalase-phenol oxidase of Scytalidium thermophilum in the presence of phenolic compounds. *Turk J Biol*, 35, 697-704.

50. Anonymous. http://www.gmo-compass.org/eng/database/enzymes/89.catalase.html (Erişim tarihi 27.09.2012)

51. Amorim AM, Gasques MDG, Andreus J, Scharf M. 2002. The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *Ann Brazil Acad Sci*, 74, 433-436.