



# Aydın ve Denizli'deki Sıcak Su Kaynaklarından İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Lipaz, Amilaz ve Proteaz Aktivitelerinin Araştırılması

Mehmet Aytar<sup>1\*</sup>, Bülent Bozdoğan<sup>2</sup>, Gamze Başbülbul<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Aydın, Türkiye, (ORCID: 0000-0002-8083-7358), [maytar90@gmail.com.tr](mailto:maytar90@gmail.com.tr)

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Aydın, Türkiye (ORCID: 0000-0003-2469-9728), [bbozdogan@gmail.com.tr](mailto:bbozdogan@gmail.com.tr)

<sup>3</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aydın, Türkiye (ORCID: 0000-0001-8151-6321), [gbasbulbul@adu.edu.tr](mailto:gbasbulbul@adu.edu.tr)

(İlk Geliş Tarihi 25 Ağustos 2021 ve Kabul Tarihi 25 Eylül 2021)

(DOI: 10.31590/ejosat.987198)

**ATIF/REFERENCE:** Aytar, M., Bozdoğan, B. & Başbülbul, G. (2021). Aydın ve Denizli'deki Sıcak Su Kaynaklarından İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Lipaz, Amilaz ve Proteaz Aktivitelerinin Araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 570-574.

## Öz

Termofilik bakteriler sıcak çevrelerde gelişebilen mikroorganizmalardır. Bu bakterilerin ürettikleri enzimler bitki ve hayvan kaynaklı enzimlere göre daha stabil olabilmekte ve daha ucuz olarak elde edilmektedirler. Termostabil enzimler ekstrem şartlarda esneklik ve tolerans göstermektedirler. Lipazlar biyoteknoloji ile ilişkili önemli gruplardır ve gıda, mandıra, deterjan ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadırlar. Diğer önemli bir enzim grubu olan amilazlar kağıt, şeker, tekstil, deterjan, fırında pişirme ve demleme endüstrisi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Proteazlar hidrolitik enzimlerdir ve deterjan üretimi, deri ürünleri, ilaç, et yumuşatıcı olarak, gıda ürünleri ve katı atık arıtma sanayii gibi çeşitli endüstriyel işlemlerde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Aydın ve Denizli'deki bazı termal alanlardan elde edilen 30 suşun 16S rDNA bölgeleri PCR ile çoğaltılmış ve moleküler tanıları yapılmıştır. Otuz izolat arasında suşların % 50'si lipaz, % 63.3'ü amilaz, % 56.6'sı proteaz enzimlerini üretmektedirler. Lipaz-proteaz üreten üç, amilaz-proteaz üreten yedi izolat saptanırken, her üç enzimi de üreten altı izolat olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen suşlar ve ürettikleri enzimler endüstriyel biyoteknolojide kullanılma potansiyeline sahiptir.

**Anahtar Kelimeler:** Termofilik Bakteriler, Lipaz, Amilaz, Proteaz, 16S rDNA.

## Lipase, Amylase and Protease Activities of Thermophilic Bacteria Isolated from Hot Springs in Aydın and Denizli

### Abstract

Thermophilic microorganisms are able to grow at high temperatures. Enzymes produced by these kind of bacteria are more stable and cost effective. Thermostable enzymes have flexibility and tolerance in extreme conditions. Lipases dealing with biotechnology are important groups of enzymes. These enzymes are used in food, dairy, detergent and pharmaceutical industry. Amylases that are also important groups are used in various biotechnological fields such as paper, sugar, textile, detergent, baking and infusion industry. Proteases are hydrolytic enzymes and they are used in various industries such as producing detergent, leather products, pharmaceutical, meat tenderizer, food products and solid waste treatment industry. In this study, 16S rDNA regions of thirty bacterial strains isolated from thermal areas in Aydın and Denizli are amplified by PCR and isolates were identified by molecular methods. Among 30 isolates, percentage of strains that produce one enzyme is that; lipase % 50, amylase % 63.3, protease % 56.6. Three of strains were found to be produce both Lipase and protease, while seven strains were amylase and protease producers. Six strains were found to capable of producing all three enzymes. As a result, isolates obtained in our study and their enzymes have an important potential in industrial biotechnology.

**Keywords:** Thermophilic Bacteria, Lipase, Amylase, Protease, 16S rDNA.

\*Sorumlu Yazar: [maytar90@gmail.com.tr](mailto:maytar90@gmail.com.tr)

## 1. Giriş

Termofilik mikroorganizmalar yüksek sıcaklıklarda gelişebilmektedirler. Ekstrem çevrelerde üç farklı sıcaklık aralığında gelişen gruplar (termofiller 35-70 °C, ekstrem termofiller 55-85 °C, hipertermofiller 75-113 °C) tespit edilmiştir (Baker ve ark., 2001). Jeotermal kaynaklar açısından ülkemiz oldukça zengindir. Resmi kayıtlara alınmış 140 adet jeotermal alan bulunmaktadır (ANONİM, 2001). Bu bakterilerin ürettiği enzimler bitki ve hayvan kaynaklı enzimlere göre daha stabildirler, fazla üretilmekte ve ucuz olarak elde edilmektedirler. Termotabil enzimler ekstrem şartlara karşı esneklik ve tolerans göstermektedirler (Güven, 2011). Termofilik bakteriler tarafından üretilen birçok enzim bulunmaktadır. Bu çalışmada, biyoteknolojide çok kullanılan lipaz, amilaz ve proteaz enzimleri çalışılmıştır. Lipazlar biyoteknoloji ile ilişkili önemli gruplardır ve gıda, mandıra, deterjan ve ilaç endüstrisinde kullanılmaktadırlar (Royter ve ark., 2009). Diğer önemli grup olan amilazlar da çeşitli biyoteknolojik alanlarda örneğin, kağıt, şeker, tekstil, deterjan, fırında pişirme ve demleme endüstrisinde kullanılmaktadır (de Souza & Magalhães, 2010). Proteazlar hidrolitik enzimlerdir. Proteinlerin daha küçük yapıya peptid ve aminoasitlere parçalanmasını hızlandırmaktadırlar. Proteazların kullanımı deterjan üretimi, deri ürünleri, ilaç, et yumuşatıcı olarak, gıda ürünleri ve katı atık arıtma sanayii gibi çeşitli endüstriyel işlemlerde kaydedilebilir artış göstermiştir (Fıtrıanı, 2018). Endüstride çalışma sıcaklığı yüksek olabilmektedir. Termofilik olmayan enzimler kullanıldığında aktivite kaybı yaşanmaktadır. Bu yüzden birçok alanda termofilik enzimlere ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda Aydın ve Denizli çevresindeki termal alanlardan alınan sıcak su ve çamur örneklerinden elde edilen izolatlardaki lipaz, amilaz ve proteaz enzim aktivitelerine bakılmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Materyal

Hasköy, Kabağaç, Pamukkale (Denizli), Buharkent ve Ortakçı (Aydın)'da bulunan kaynaklardan su ve çamur örnekleri steril kaplara alınmıştır. Örneklerin pH'ları ve sıcaklıkları yerinde ölçülmüş lokasyon koordinatları kaydedilmiştir (Tablo 1) Arazi sonrası laboratuvara getirilen örneklerden aynı gün içerisinde ekimler yapılmıştır.

Tablo 1. Örneklerin pH, Sıcaklık ve Lokasyon Koordinatları

İstasyon	Sıcaklık	pH	Koordinatlar
Pamukkale Traverten	22°C	7,0	37°55'11"N 29°07'26"E
Hasköy İnaltı (Denizli)	60°C (Çamur)	7,0	37°55'36"N 28°48'29"E
Umut Termal (Denizli)	62°C (Alt Havuz)	10,0	37°55'17"N 28°49'43"E
Umut Termal (Denizli)	40°C (Çamur havuzu)	7,0	37°55'14"N 28°49'41"E
Kayta Otel (Buharkent)	47°C (Musluk)	10,0	37°56'50"N 28°49'43"E
Güney Termal Otel (Buharkent)	61°C (Musluk)	10,0	37°56'48"N 28°49'42"E
Ortakçı (Aydın)	32°C (Çamur)	7,0	37°58'29"N 28°42'47"E

### 2.2 Termofilik Bakterilerin İzole Edilmesi ve Saflaştırılması

Denizli ve çevresinden toplanan sıcak su ve çamur örneklerinden 1/9 oranında fizyolojik tuzlu su (FTS) ile dilüsyon yapılarak eküvyon çubuğu ile TSA besiyerine yayma ekim yapılmıştır. 50°C'de gecelik inkübasyona bırakılmıştır. Karışık bakteri kolonilerinden en az iki pasaj ile saflaştırma yapılarak 30 izolat elde edilmiştir.

### 2.3 DNA İzolasyonu ve 16S rDNA PCR

Saflaştırılan şuşlardan easyDNA, DNA izolasyon kiti (R-Tech, Türkiye) ile total DNA izolasyonu yapılmıştır. Total DNA'dan 16S rDNA korunmuş gen bölgeleri, 16S 20F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')-1390R (5'-GACGGGCGGTGTGTACAA-3') primerleri ile amplifiye edilmiştir. PCR reaksiyonu, 94°C 4dk, (94 °C 30sn, 56 °C 30sn, 72 °C 1dk) 35 döngü, 72 °C 7dk şartlarında yapılmıştır. PCR master mix içeriğinde; final konsantrasyon olarak 1x taq buffer{+(NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, -MgCl<sub>2</sub>}, 25 unit/mL Taq DNA polimeraz, dNTP(10mM), 16S rDNA primerleri (100 pmol), MgCl<sub>2</sub> (2mM) kullanılmıştır. PCR reaksiyonundan sonra ampikonlar istenilen DNA'nın amplifiye edilip edilmediğini anlamak için agaroz jel elektroforezinde her kuyuya 5µl DNA eklenip 30dk yürütülmüştür. Marker olarak λ Pst marker kullanılmıştır. Sonuç UV Transilluminatörde UV ışıkta gözlemlenmiştir.

### 2.4 RFLP

Elde edilen 30 izolatın 16S rDNA PCR ampikonları Nla III ve Rsa I restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir. Reaksiyon için: 10µl DNA (ampikon), 7µl dH<sub>2</sub>O, 2µl fast digest buffer, 1µl enzim kullanılmıştır. Termal çalkalayıcıda 37°C'de 30dk inkübe edilmiştir. İşlem sonunda DNA agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve oluşan bant profilleri değerlendirilerek farklı bant profiline sahip şuşlar sekans analizi için seçilmiştir.

### 2.5 Sekans Analizi

RFLP sonucu farklı DNA profiline sahip olduğu belirlenen 8 izolatın 16S rDNA fragmanlarının dizi analizi hizmet alımı ile yaptırılmıştır (MedSantek). Diziler BLAST analizi ile veritabanındaki diziler ile karşılaştırılmış ve moleküler tanı için homolojiler belirlenmiştir ([blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi))

### 2.6 Enzim Aktivitelerinin Kalitatif Tayini

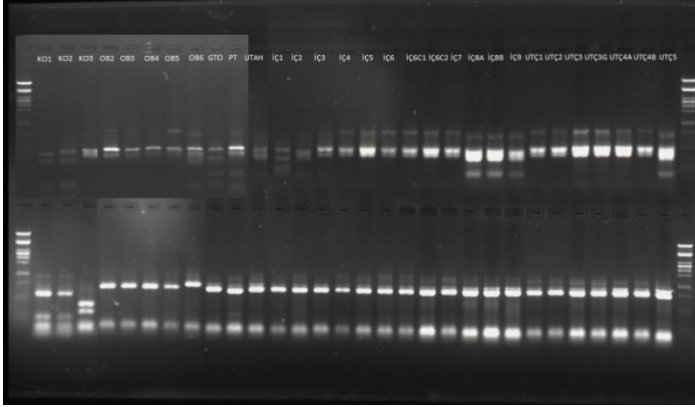
İzole edilen 30 izolatın lipaz, amilaz, proteaz aktiviteleri taranmıştır. Lipaz enzimi tayini için Tween 20 agar ((g/L); 10 g pepton, 5 g NaCl, 0.1 g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 20 g agar ve 10 ml (v/v) Tween 20) (Ramnath ve ark., 2017), amilaz tayini için Nişasta agar (%0.01 CaCl<sub>2</sub>, %0.5 nişasta ve TSA besiyeri) (Başbülbül ve ark., 2018) ve proteaz tayini için Skim milk agar (20g/L skim milk tozu ve TSA besiyeri) kullanılmıştır. İzolatlar besiyerlerine ekildikten sonra 50°C'de inkübe edilmişlerdir. Besiyerlerinde gelişim gösteren bakteri kolonilerinin etrafında hale şeklindeki zonların oluşması enzim aktivitesi göstergesi olarak kabul edilmiştir. Ertesi gün oluşan zon varlığına ve boyutuna göre aktiviteler kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Oluşan zon büyüklükleri izolatlar arasında gözleme dayalı karşılaştırılarak büyük (+++) orta(++) ve küçük (+) olarak değerlendirilmiştir.

### 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Çalışmada izole edilen 30 suşun 16S rDNA PCR ampliconlarından RFLP metodu ile farklı profillere sahip olduğu tespit edilen 8 suşun 16S rDNA'sı hizmet alımı yoluyla sekanslatılmıştır. Farklı olan suşların tanısı BLAST analizi ([blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)) yoluyla yapılmıştır. Sonrasında 30 izolatu lipaz, amilaz ve proteaz enzim aktiviteleri tayin edilmiştir. Bulgular sırasıyla aşağıda verilmiştir.

#### 3.1. RFLP

İzolatlardan elde edilen 16S rDNA ampliconları RsaI ve NlaIII restriksiyon enzimlelele ile kesilerek oluşan bant profillelele değerlendirilmiştir. Otuz izolat arasından 8 farklı bant profili tespit edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1 İzole edilen 30 suşun RsaI (üst) ve NlaIII (alt) restriksiyon enzimlelele ile kesimi

RFLP sonucuna göre tayin edilen gruplar ve izolat kodları Tablo 2'de verilmiştir.

#### 3.2 Sekans Analizi

Sekiz adet grup içerisinde yer alan izolatlardan birer tane seçilerek, 16S rDNA dizi analizi yapılmıştır. Sekans sonuçlarına göre tespit edilen homolojiler Tablo 2 de verilmiştir.

Tablo 2. RFLP Sonucu Seçilen 8 Farklı İzolatu 16S rDNA Sekanslama Sonucu

Suş Kodu	Bakteri Adı	Benzerlik	Karşılaştırılan Baz Uzunluğu
KO1	<i>Tepidicella xaverii</i> TU-16 <sup>T</sup> ( <a href="#">16585714</a> )	% 97	700
KO3	<i>Paracoccus aestuarii</i> KNUC9015 <sup>T</sup> ( <a href="#">JF505949</a> )	% 99	700
OB2	<i>Bacillus safensis</i> KMF402 <sup>T</sup> ( <a href="#">MT642941</a> )	% 100	700
OB6	<i>Paenibacillus lactis</i> PF4J_1-2 <sup>T</sup> ( <a href="#">KT720088</a> )	% 100	700
PT	<i>Exiguobacterium profundum</i> APBSMLB42 <sup>T</sup> ( <a href="#">MG705821</a> )	% 80	600
İÇ1	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i> LB-1 <sup>T</sup> ( <a href="#">CP040441</a> )	% 100	700
İÇ9	<i>Brevibacillus agri</i> ChemUPES_4 <sup>T</sup> ( <a href="#">MK281590</a> )	% 100	700
UTÇ1	<i>Bacillus paralicheniformis</i> NYGR20 <sup>T</sup> ( <a href="#">MN922812</a> )	% 100	700

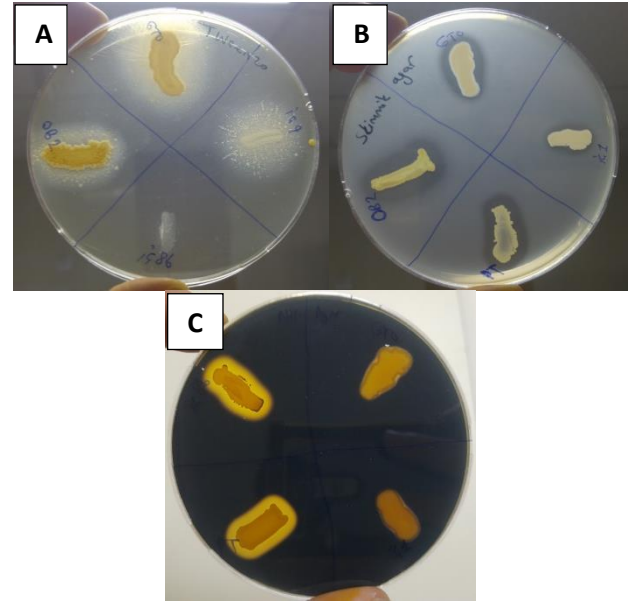
#### 3.3 Kalitatif Enzim Aktivitesi Tayini

Otuz adet termofilik izolatu lipaz, amilaz, proteaz aktivite sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Toplamda 30 suş içinden lipaz enzimi aktivitesi açısından pozitif 15, amilaz enzimi aktivitesi açısından pozitif 19, proteaz enzimi aktivitesi açısından pozitif 17 adet suş tespit edilmiştir.

Tablo 3. İzole Edilen Termofilik Bakterilerin Lipaz, Amilaz ve Proteaz Enzim Aktivitesi Açısından Kalitatif Bulgular

Suş Adı	16S rDNA Blast Sonucu	RFLP Grubu	Lipaz	Amilaz	Proteaz
KO1	<i>Tepidicella xavieri</i>	1	-	-	-
KO2	<i>Tepidicella xavieri</i>	1	-	-	-
KO3	<i>Paracoccus aestuarii</i>	2	++	-	-
OB2	<i>Bacillus safensis</i>	3	+	-	+++
OB3	<i>Bacillus safensis</i>	3	-	+++	++++
OB4	<i>Bacillus safensis</i>	3	++	-	+++
OB5	<i>Bacillus safensis</i>	3	+	+++	++
OB6	<i>Paenibacillus lactis</i>	4	+	-	-
GTO	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	++	+	++
PT	<i>Exiguobacterium profundum</i>	5	-	+++	+++
UTAH	<i>Exiguobacterium profundum</i>	5	+	++	-
İÇ1	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	+++	+	+
İÇ2	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	-	-
İÇ3	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	+++	-	+++
İÇ4	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	+++	+
İÇ5	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	+	++	+
İÇ6	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	+++	+
İÇ6C1	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	+++	+
İÇ6C2	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	+++	-
İÇ7	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	+++	+
İÇ8A	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	-	-	-
İÇ8B	<i>Alkalihalobacillus halodurans</i>	6	+	+++	-
İÇ9	<i>Brevibacillus agri</i>	7	++	-	-
UTÇ1	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	-	-	++
UTÇ2	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	-	+++	+
UTÇ3	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	-	++	-
UTÇ3G	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	-	+++	-
UTÇ4A	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	++	+++	++
UTÇ4B	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	+	++	+
UTÇ5	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	8	++	+	-

Kalitatif olarak lipaz, amilaz ve proteaz enzimleri açısından pozitif bulunan bazı suşların petri resimleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 2. A: Lipaz enzim aktivitesi, B: Proteaz enzim aktivitesi, C: Amilaz enzim aktivitesi açısından yüksek aktivite gösteren bazı suşlar

Dünyada var olan bölgesel sıcak kaynaklar olağandışı hayat, gen ve metabolit formları için önemli noktaları temsil etmektedir. Thomas Brock, Yellowstone Milli Parkı'nın termal bölgelerinden *Thermus aquaticus*'un varlığını keşfettiğinden beri, birçok araştırmacı tüm dünyada benzer ortamları araştırmıştır. Yaşadığımız dünya araştırmacıların hala identifikasyon ve izolasyonunu tamamlayamadığı çeşitli mikroorganizmalar ile doludur ve bu umut vaadeden mikroorganizmaları araştırmak için pek çok çalışma devam etmektedir (Mohammad ve ark., 2017). Çalışmamızda örnek toplanılan sıcak su alanlarından % 83,3 oranında *Bacillus* cinsi izole edilmiştir. Bunun sebebi bu cinsin endosporlu ve çok çeşitli çevre şartlarına dirençli olmasından kaynaklanmaktadır (Connor ve ark., 2010).

Bu çalışmada sıcak su kaynaklarından izole edilen aynı türlere ait farklı suşların gelişimi 50°C sıcaklık şartlarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen izolatların lipaz, amilaz ve proteaz enzim aktivitelerine bakılmıştır. İÇ1 ve İÇ3 suşlarının çalışılan otuz izolat içerisinde en yüksek lipaz aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Blastlama sonucuna göre *Alkalihalobacillus halodurans* LB-1<sup>T</sup> ile %100 benzerlik gösteren İÇ1 suşu izolatlar arasında en yüksek lipaz aktivitesi göstermiştir. Çalışılan izolatlar kendi içinde karşılaştırıldığında OB3, OB5, PT, İÇ4, İÇ6, İÇ6C1, İÇ6C2 ve İÇ7 suşları amilaz enzim aktivitesi açısından en yüksek aktiviteyi göstermişlerdir. *Exiguobacterium profundum* ile %80 benzerlik gösteren PT suşu çalışılan suşlar arasında en yüksek amilaz aktivitesine sahiptir. Yüksek proteaz enzim aktivitesine sahip OB2, OB3, OB4, PT ve İÇ3 suşları içinden OB3 suşunun otuz izolat içinde en yüksek proteaz enzim aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus safensis* ile %100 benzerliğe sahip olan OB2, RFLP sonucuna göre yukardaki suşlar ile aynı DNA profiline sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen termofilik izolatların büyük çoğunluğu *Bacillus* cinsine ait olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus* cinsine ait türler ile yapılmış pek çok enzim çalışması literatürde bulunmaktadır (Nawani ve Kaur, 2007), *Bacillus subtilis* 168 (Lesuisse ve ark., 1993), *Bacillus*

*thermoleovorans* CCR11(Castro-Ochoa ve ark., 2005), *Bacillus sphaericus* 205y (Sulong ve ark., 2006) ve *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 (Bakir ve Metin, 2016) gibi birçok *Bacillus* türünde lipaz aktivitesine bakılmıştır. Bizim çalışmamızda Aydın ve Denizli sıcak su kaynaklarından izole edilen termofilik bakteri, *Alkalihalobacillus halodurans*'ın çalışılan otuz izolat arasında en yüksek lipaz aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Chang ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 16S rDNA sekans analizi sonucu a-amilaz enzimi elde edilen DAU5 suşunun *Exiguobacterium profundum* 10C

#### 4. Sonuç

Aydın ve Denizli çevresinden izole edilmiş termofilik bakterilerden lipaz, amilaz ve proteaz enzim aktiviteleri görüntülenmiştir. Otuz izolat içerisinde yüksek enzim aktivitelerine sahip birçok suş tespit edilmiştir. Otuz izolat arasında enzimleri üreten suşların yüzdesi; lipaz % 50, amilaz % 63.3, proteaz % 56.6'dır. Lipaz-proteaz üreten 3, amilaz-proteaz üreten 7 izolatın her iki enzimi ürettiği tespit edilmiştir. Lipaz-amilaz-proteaz üreten 6 izolatın her üç enzimi ürettiği tespit edilmiştir. Çalışmadaki bazı *Bacillus halodurans* ve *Bacillus paralicheniformis* suşlarının üçlü enzim üretimi yaptığı bununla birlikte diğer bazı, *Bacillus safensis*, *Exiguobacterium profundum*, *Bacillus halodurans*, *Bacillus paralicheniformis* suşlarının da ikili enzim üretimi yaptığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen suşların ürettiği enzimler termostabil olduklarından endüstriyel açıdan yüksek değere sahiptir. İlaç, gıda, temizlik, deri, katı atık arıtma, kağıt ve tekstil endüstrilerinde kullanım potansiyeline sahiptir.

#### Kaynakça

ANONİM. Kaplıcaya Sahip Belediyeler Birliği. (2001).

Baker, G. C., Gaffar, S., Cowan, D. A., & Suharto, A. R. (2001). Bacterial community analysis of Indonesian hot springs. *FEMS Microbiology Letters*, 200(1), 103-109.

Bakir, Z. B., & Metin, K. (2016). Purification and characterization of an alkali-thermostable lipase from thermophilic *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(6), 1087-1097.

Başbülbül G., Dabanca M. B., Kaya K. G., Oryaşın E. ve Bozdoğan B. (2018). Acıgöl (Denizli)'den İzole Edilen Alkalifilik Bakterilerin Enzimatik Aktivitelerinin Araştırılması. *1st International Health Science And Life Congress (IHSLC 2018)*.

Castro-Ochoa, L. D., Rodríguez-Gómez, C., Valerio-Alfaro, G., & Ros, R. O. (2005). Screening, purification and characterization of the thermoalkalophilic lipase produced by *Bacillus thermoleovorans* CCR11. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(6), 648-654.

Chang, J., Lee, Y. S., Fang, S. J., Park, I. H., & Choi, Y. L. (2013). Recombinant expression and characterization of an organic-solvent-tolerant  $\alpha$ -amylase from *Exiguobacterium* sp. DAU5. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(6), 1870-1883.

Connor, N., Sikorski, J., Rooney, A. P., Kopac, S., Koepfel, A. F., Burger, A., ... & Cohan, F. M. (2010). Ecology of speciation in the genus *Bacillus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(5), 1349-1358.

bakterisine %99 oranında benzerliği tespit edilmiştir (Chang ve ark., 2013). Bu çalışmada ise *Exiguobacterium profundum* suşundan yüksek amilaz aktivitesi tespit edilmiştir. Rekik ve arkadaşları tarafından *Bacillus safensis* RH12 suşundan serin alkalın proteaz enzimi elde edilmiş ve ticari çamaşır deterjanlarında %100 stabil kaldığı bildirilmiştir (Rekik ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda OB3 koduna sahip olan ve en yüksek homolojiyi *Bacillus safensis* türü ile gösteren izolatımızda yüksek proteaz aktivitesi görüntülenmiştir.

de Souza, P. M. & e Magalhães, P. de O. (2010). Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry - a review. *Brazilian Journal of Microbiology* 41, 850-861.

Fitriani, S., & Güven, K. (2018). Isolation, screening, partial purification and characterization of protease from halophilic bacteria isolated from Indonesian fermented food. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 7(2), 130-142.

Güven, R. G. (2011). Termofilik bakteriler ve biyoteknolojik açıdan önemli bazı enzimleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 9(1), 1-10.

Lessuisse, E., Schanck, K., & Colson, C. (1993). Purification and primary characterization of the extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extreme basic tolerant enzyme. *Eur. J. Biochem*, 216, 155-160.

Mohammad, B. T., Al Daghistani, H. I., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., & Kennes, C. (2017). Isolation and characterization of thermophilic bacteria from Jordanian hot springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* isolates as potential producers of thermostable enzymes. *International journal of microbiology*, 2017.

Nawani, N., & Kaur, J. (2007). Studies on lipolytic isoenzymes from a thermophilic *Bacillus* sp.: Production, purification and biochemical characterization. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4), 881-887.

Royter, M., Schmidt, M., Elend, C., Höbenreich, H., Schäfer, T., Bornscheuer, U. T., & Antranikian, G. (2009). Thermostable lipases from the extreme thermophilic anaerobic bacteria *Thermoanaerobacter thermohydrosulfuricus* SOL1 and *Caldanaerobacter subterraneus* subsp. *tengcongensis*. *Extremophiles*, 13(5), 769-783.

Ramnath, L., Sithole, B., & Govinden, R. (2017). Identification of lipolytic enzymes isolated from bacteria indigenous to Eucalyptus wood species for application in the pulping industry. *Biotechnology Reports*, 15, 114-124.

Rekik, H., Jaouadi, N. Z., Gargouri, F., Bejar, W., Frikha, F., Jmal, N., ... & Jaouadi, B. (2019). Production, purification and biochemical characterization of a novel detergent-stable serine alkaline protease from *Bacillus safensis* strain RH12. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1227-1239.

Sulong, M. R., Rahman, A., & RN, S. AB, & Basri, MA (2006). Novel organic solvent tolerant lipase from *Bacillus sphaericus* 205y: extracellular expression of a novel OST-lipase gene. *Protein Expression and Purification*, 49(2), 190-195.