

**TAVUK TÜYÜ ATIĞINDAN ELDE
EDİLEN PEPTONUN MİKROORGANİZMALARIN
ÜRETİMİNDE KULLANIMI**

Mesut TAŞKIN

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Doç. Dr. Esabi Başaran KURBANOĞLU
2011
Her Hakkı Saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**TAVUK TÜYÜ ATIĞINDAN ELDE EDİLEN
PEPTONUN MİKROORGANİZMALARIN ÜRETİMİNDE
KULLANIMI**

MESUT TAŞKIN

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**ERZURUM
2011**



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**Tavuk Tüy Atığından Elde Edilen
Peptonun Mikroorganizmaların Üretiminde Kullanımı**

Doç. Dr. Esabi Başaran KURBANOĞLU danışmanlığında, Arş. Gör. Mesut TAŞKIN tarafından hazırlanan bu çalışma 11/01/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Genel Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (3./5) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. İsmet HASENEKOĞLU

İmza

Üye : Prof.Dr. Ömer Faruk ALGUR

İmza

Üye : Prof. Dr. Ekrem ATALAN

İmza

Üye : Doç. Dr. Esabi Başaran KURBANOĞLU

İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr. Selami YEŞİLYURT

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. Ömer AKBULUT
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

TAVUK TÜYÜ ATIĞINDAN ELDE EDİLEN PEPTONUN MIKROORGANİZMALARIN ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Mesut TAŞKIN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Esabi Başaran KURBANOĞLU

Bu çalışmada, atık tavuk tüylerinden elde edilen peptonun mikroorganizmaların sıvı ve katı besiyerlerinde substrat olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Tavuk tüyü peptonunun (TTP) hazırlanması için sırasıyla asit hidrolizi (6 N H₂SO₄, 6 N H₃PO₄ ve 6 N HCl), nötürleştirme, süzme ve buharlaştırma işlemleri uygulanmıştır. TTP' nin zengin kül (42,1 g/100 g) ve protein (55,8 g/100 g) içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Mikroorganizmaları büyüme kapasitesi bakımından, TTP üç ticari peptonla (Typtone pepton =TP, Fish pepton = FP ve Protease pepton = FP) karşılaştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 15 test mikroorganizmasından dördü (*B. subtilis*, *R. glutinis*, *C. albicans* ve *A. niger*) için en iyi büyüme performansları TTP içeren besiyerlerinde gözlenmiştir. TTP içeren sıvı besiyerlerinde, *B. subtilis*, *R. glutinis*, *C. albicans* ve *A. niger* için elde edilen maksimum biyomas verimleri sırasıyla litrede 3,13, 5,54, 4,96 ve 7,47 g olarak belirlenmiştir. Sıvı kültürlerde test küfleri için en küçük hacimli tek tip peletler TTP ve FP ile elde edilmiştir. En az pH değişimleri TTP içeren sıvı kültürlerde saptanmıştır. TTP içeren agar besiyerlerinde *B. subtilis*, *R. glutinis* ve *C. albicans* tarafından oluşturulan maksimum koloni sayıları sırasıyla 83x10⁸, 89x10⁵ ve 63x10⁵ CFU/ml olarak belirlenmiştir. *A. niger* için en iyi radyal büyüme performansı, TTP ve FP agar besiyerlerinde gözlenmiştir. 196 saatlik büyüme periyodu sonunda, bu küfün TTP, FP, TP ve PP agar besiyerlerindeki koloni çapı sırasıyla 90, 90, 78 ve 67 mm olarak ölçülmüştür. *X. Campestris*, *C. famata* ve *G. roseum* hariç diğer test mikroorganizmalarında TTP içeren sıvı ve agar besiyerlerinde iyi büyüme performansı göstermiştir. TTP' nin substrat olarak kullanılabilirliği ayrıca çevresel örneklerdeki (toprak, et, süt ve su) bakteri, maya ve küflerin sayımı için değerlendirilmiştir. Et örneğindeki aerobik bakteriler en fazla sayıda koloniyi PP içeren agar besiyerinde (132x10⁵ CFU/g) bunu takibende TTP içeren agar besiyerinde (116x10⁵ CFU/g) meydana getirmiştir. Et ve su örneklerindeki maya ve küfler TP ve PP agar besiyerlerine oranla TTP ve FP agar besiyerlerinde daha fazla koloni meydana getirmiştir. Bu çalışmada ayrıca, ısı ve soğuk şoku ile yaralanmış bakteri ve mayaların iyileştirilmesi için tryptic soy agar (TSA) besiyerinde TTP' nin katkı maddesi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Et ve su örneklerindeki yaralanmış bakteri ve mayaların yanısıra, yaralanmış *B. subtilis*, *R. glutinis* ve *C. albicans*' da en fazla sayıda koloniyi TTP ilave edilmiş TSA besiyerinde oluşturmuştur.

2011, 109 sayfa

Anahtar Kelimeler: atık tavuk tüyü, asit hidrolizi, pepton, mikrobiyal büyüme

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

USE OF PEPTONE FROM WASTE CHICKEN FEATHERS in PRODUCTION of MICROORGANISMS

Mesut TASKIN

AtaturkUniversity
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Esabi Başaran KURBANOĞLU

In this study, usability of peptone prepared from waste chicken feathers was investigated as substrate in liquid and solid media of microorganisms. For the preparation of chicken feather peptone (TTP), acid hydrolysis (6 N H₂SO₄, 6 N H₃PO₄ and 6 N HCl), neutralization, filtration and evaporation processes were used, respectively. TTP was found to be rich in ash (42.1 g/100 g) and protein (55.8 g/100 g) contents. In terms of the capacity to growth microorganisms, TTP was compared with three commercial peptones (Typtone peptone =TP, Fish peptone = FP and Protease peptone = FP). Among the total 15 test microorganisms, the best growth performances for four of them (*B. subtilis*, *R. glutinis*, *C. albicans* and *A. niger*) were observed in the media containing TTP. The obtained maximum biomass yields for *B. subtilis*, *R. glutinis*, *C. albicans* and *A. niger* in liquid media containing TTP was determined as 3.13, 5.54, 4.96 and 7.47 g/l, respectively. Uniform pellets with the smallest size for test moulds in liquid cultures were obtained with TTP and FP. The least pH changes were detected in liquid cultures containing TTP. The maximum colony numbers formed by *B. subtilis*, *R. glutinis* and *C. albicans* on agar media containing TTP were found to be 83x10⁸, 89x10⁵ and 62x10⁵ CFU/ml, respectively. The best radial growth performance for *A. niger* was observed on TTP and FP agar media. The colony diameter of this mould was assayed as 90, 90, 78 and 67 mm on TTP, FP, TP and PP agar media at the end of 196-hours growth period, respectively. The other test microorganisms except for *X. campestris*, *C. famata* and *G. roseum* also showed good growth performances in liquid and agar media containing TTP. Usability of TTP as substrate was also evaluated for enumeration of bacteria, yeasts and moulds in environmental samples (soil, meat, milk and water). Aerobic bacteria in meat sample developed the most number of colonies on PP-containing agar medium (132x10⁵ CFU/g) and following this TTP- containing agar medium (116x10⁵ CFU/g). The yeasts and moulds in meat and water samples developed more colonies on TTP and FP agar media compared to TP and PP agar media. In this study, it was also demonstrated that TTP could be used as a supplement in tryptic soy agar (TSA) medium for repair of heat and freeze-injured bacteria and yeasts. In addition to injured bacteria and yeasts in meat and water samples, injured *B. subtilis*, *R. glutinis* and *C. albicans* formed the most number of colonies on TSA supplemented with TTP.

2010, 109 Pages

Keywords: waste chicken feather, acid hydrolysis, peptone, microbial growth

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu araştırma, Fen-Fakültesi Biyoloji Bölümünde yapılmıştır.

Tezimin hazırlanması sırasında bilgilerinden faydalandığım danışman hocam Doç. Dr. Esabi Başaran KURBANOĞLU' na, manevi desteklerinden dolayı da Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR, Prof. Dr. Ökkeş ATICI, Doç. Dr. Ümit İNCEKARA, Yar. Doç. Turgay ŞİŞMAN, Yar. Doç. Dr. Hakan AŞKIN, Arş. Gör. Mucip GENİŞEL, Arş. Gör. Nevzat ESİM, Arş. Gör. Ahmet POLAT ve Arş. Gör. Özden CANLI' ya teşekkür ederim. Gerek tezimin hazırlanmasında gerekse günlük yaşamımda benden hiçbir desteğini esirgemeyen manevi abim olarak gördüğüm Arş. Gör. Serkan ERDAL' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kendimi bildiğimden beri bana hayatta herşeylerini veren, bugünlere gelmemde en büyük pay sahipleri olan ANNEM ve BABAM'a, değerli abim Mustafa Taşkın'a şükranlarımı sunarım.

Mesut TAŞKIN

Ocak 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM	14
3.1. Materyaller	14
3.1.1. Yararlanılacak alet ve cihazlar	14
3.1.2. Kimyasal maddeler.....	14
3.1.3. Tavuk tüyü	15
3.1.4. Et, süt, toprak ve su örnekleri.....	15
3.1.5. Mikroorganizmalar	15
3.2. Yöntemler	16
3.2.1. Tavuk tüyünün fiziksel olarak parçalanması	16
3.2.2. Tavuk tüy peptonunun üretilmesi	16
3.2.3. Tavuk tüyü peptonu (TTP)'nun kimyasal içeriğinin belirlenmesi	18
3.2.3.1. Toplam şeker miktarının belirlenmesi.....	18
3.2.3.2. Toplam kül ve kuru madde miktarının belirlenmesi	18
3.2.3.3. Bazı elementlerin miktarının belirlenmesi	18
3.2.3.4. Protein, aminoasit ve yağ içeriğinin belirlenmesi	18
3.2.3.5. Test mikroorganizmalarının sıvı ve katı kültürleri için inokülasyon kültürlerinin hazırlanması	19
3.2.3.6. Biyomas ağırlıklarının belirlenmesi	20
3.2.3.7. Sıvı kültürde test mikroorganizmalarının gelişimi için en uygun TTP konsantrasyonunun belirlenmesi.....	20
3.2.3.8. Katı agar kültüründe test mikroorganizmalarının gelişimi için en uygun TTP konsantrasyonunun belirlenmesi.....	21

3.2.3.9. TTP ve diğer standart peptonların sıvı kültürde test mikroorganizmalarını üretme potansiyellerinin karşılaştırılması	21
3.2.3.10. TTP ve diğer standart peptonların katı kültürde test mikroorganizmalarını üretme potansiyellerinin karşılaştırılması	22
3.2.3.11. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki toplam aerobik mikroorganizma sayılarının TTP ve diğer standart peptonlarla hazırlanan besiyerleri üzerinde belirlenmesi	23
3.2.3.12. TTP ve diğer standart peptonların yaralı (injured) ve yaralanmamış mikroorganizmaları üretme potansiyellerinin karşılaştırılması	24
3.3. İstatistiksel analiz.....	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1. Tavuk tüyünün Hidroliz Edilmesinde İzlenen Yol.....	25
4.2. Tavuk Tüy Peptonunun (TTP) Kimyasal İçeriği.....	25
4.3. Sıvı Kültürde Test Mikroorganizmalarının Gelişimi İçin En Uygun TTP Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Araştırma Sonuçları	27
4.4. Katı Agar Kültüründe Test Mikroorganizmalarının Gelişimi İçin En Uygun TTP Konsantrasyonunun Belirlenmesi	28
4.5. TTP ve Diğer Standart Peptonların Sıvı Kültürde Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması	29
4.6. TTP ve Diğer Standart Peptonların Katı Kültürde Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması	41
4.7. Et, Süt, Su ve Toprak Örneklerindeki Toplam Aerobik Mikroorganizma Sayılarının TTP ve Diğer Standart Peptonlarla Hazırlanan Besiyerleri Üzerinde Belirlenmesi.....	46
4.8. TTP ve Diğer Standart Peptonların Yaralı (Injured) ve Yaralanmamış Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması	50
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	59
5.1. Mikroorganizmaların Genel Besin İhtiyaçları.....	
5.2. Test Mikroorganizmalarının Seçimi	
5.3. Peptonlar ve Tavuk Tüyü	63
5.4. Tavuk Tüyünün Hidroliz Edilmesinde İzlenen Yol	64

5.5. TTP ve Diğer Standart Peptonların Kimyasal İçeriklerinin Karşılaştırılması.....	66
5.6. Sıvı ve Katı Kültürde Test Mikroorganizmalarının Gelişimi İçin En Uygun TTP Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Araştırma Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	69
5.7. TTP ve Diğer Standart Peptonların Katı ve Sıvı Kültürde Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması	70
5.8. Et, Süt, Su ve Toprak Örneklerindeki Aerobik Mikroorganizma Sayılarının Belirlenmesinde TTP ve Diğer Standart Peptonların Performanslarının Karşılaştırılması.....	73
5.9. TTP ve diğer standart peptonların yaralı (injured) mikroorganizmaları üretme potansiyellerinin karşılaştırılması.....	77
5.10. TTP' nin fizyolojik ve kimyasal özellikleri	82
KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	97

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

l	Litre
ml	Mililitre
mg	Miligram
g	Gram
g/l	Gram/Litre
N	Normal
nm	Nanometre
⁰ C	Santigrat Derece
%	Yüzde
CFU	Koloni oluşturan birim
ÜY	Üreme yok
TU	Tüy unu
TTH	Tavuk tüyü hidrolizatı
TTP	Tavuk tüyü peptonu
TP	Tryptone pepton (Bacto-tryptone)
FP	Fish peptone
PP	Proteaz peptone
ND	Tespit edilemedi
TSA	Trypticase soy agar
TSB	Trypticase soy broth
PDA	Patato dextrose agar
PDB	Patato dextrose broth

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tavuk tüy peptonunun üretim şeması.....	17
Şekil 4.1. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> bakterilerinin büyüme eğrileri	31
Şekil 4.2. Farklı peptonlar üzerine geliştirilen <i>X. campestris</i> ve <i>L. delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> bakterilerinin büyüme eğrileri	32
Şekil 4.3. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen <i>R. glutinis</i> , <i>C. albicans</i> ve <i>S. cerevisiae</i> mayalarının büyüme eğrileri	35
Şekil 4.4. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen <i>C. famata</i> ve <i>C. laurentii</i> mayalarının büyüme eğrileri	36
Şekil 4.5. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen <i>A. niger</i> , <i>P.chrysogenum</i> ve <i>A. flavus</i> küflerinin büyüme eğrileri	39
Şekil 4.6. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen <i>C. echinulata</i> ve <i>G.roseum</i> küflerinin büyüme eğrileri	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	TTP' nin kimyasal içeriği.....	26
Çizelge 4.2.	TTP' nin aminoasit içeriği	26
Çizelge 4.3.	Sıvı kültürde geliştirilen test mikroorganizmalarının biyomas verimi üzerine TTP' nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	27
Çizelge 4.4.	TTP' nin farklı konsantrasyonlarının agar besiyerinde geliştirilen test bakterilerinin koloni sayıları üzerine etkisi	28
Çizelge 4.5.	TTP' nin farklı konsantrasyonlarının agar besiyerinde geliştirilen test mayalarının koloni sayıları üzerine etkisi.....	29
Çizelge 4.6.	TTP' nin farklı konsantrasyonlarının agar besiyerinde geliştirilen test küflerinin radyal büyüme performanslarına etkisi	29
Çizelge 4.7.	TTP ve diğer test peptonlarının sıvı kültürde geliştirilen test bakterilerinin biyomas verimleri üzerine etkisi.....	33
Çizelge 4.8.	TTP ve diğer test peptonlarının sıvı kültürde geliştirilen test mayalarının biyomas verimleri üzerine etkisi	37
Çizelge 4.9.	TTP ve diğer test peptonlarının sıvı kültürde geliştirilen test küflerinin biyomas verimleri üzerine etkisi.....	41
Çizelge 4.10.	TTP ve diğer standart peptonların katı kültürde test bakterilerini üretme potansiyellerinin karşılaştırılması.....	43
Çizelge 4.11.	TTP ve diğer standart peptonların katı kültürde test mayalarını üretme potansiyellerinin karşılaştırılması	44
Çizelge 4.12.	TTP ve diğer standart peptonların test mayaları ve bakterilerinin koloni çapları üzerine etkisi.....	45
Çizelge 4.13.	TTP ve diğer standart peptonların agar besiyerinde geliştirilen test küflerinin büyüme performansları üzerine etkisi.....	46
Çizelge 4.14.	Et, süt, su ve toprak örneklerindeki aerobik bakterilerin farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları	47

Çizelge 4.15. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki mayaların farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları	48
Çizelge 4.16. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki küflerin farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları.....	49
Çizelge 4.17. Yaralanmış test bakterileri üzerine TTP’ nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	51
Çizelge 4.18. Yaralanmış test mayaları üzerine TTP’ nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	52
Çizelge 4.19. Yaralanmış test bakterilerinin TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları	55
Çizelge 4.20. Yaralanmış test mayalarının TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları	56
Çizelge 4.21. Et, süt, toprak ve su örneklerindeki yaralanmış bakterilerin TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları	57
Çizelge 4.22. Et, süt, toprak ve su örneklerindeki yaralanmış mayaların TTP ve diğer standart peptonlar peptonların üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları	58
Çizelge 5.1. TTP ve diğer standart test peptonlarının kimyasal içeriği.....	67
Çizelge 5.2. TTP ve diğer standart test peptonlarının aminoasit içeriği.....	68

1.GİRİŞ

Mikroorganizmaların laboratuvar koşullarında üretilmelerine, saf olarak izole edilmelerine, koloni ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesine, teşhislerinin yapılmasına, saklanmasına ve biyolojik ürünlerinin elde edilmesine yönelik çalışmalar, onların ihtiyaç duyduğu besin maddelerini ihtiva eden cansız ortamlarda gerçekleştirilir. Bu ortamlara besiyeri veya kültür ortamı adı verilir (Bilgehan 1992; Halkman 2005).

Mikrobiyoloji biliminin başlangıcından itibaren besiyerleri üzerindeki çalışmalar artan bir yoğunlukta devam etmektedir. Mikroorganizmalar için besiyeri hazırlama çalışmaları, ilk olarak 1860 yılında Pasteur'ün bakterileri çoğaltmak için et ekstratı kullanmasıyla başlamıştır. Özellikle bakteriyoloji biliminin ortaya çıktığı yıllarda, içeriğinde çeşitli besleyici maddeler bulunduran sebze suları, bitki haşlamaları, süt, serum ve et suyu gibi ortamlar besiyeri olarak kullanılmıştır. Ayrıca serum pıhtısı, pişmiş patates ve yumurta akı gibi bazı maddeler üzerine de ekimler yapılmıştır. İlerleyen yıllarda besiyerlerini geliştirmeye yönelik pek çok çalışma daha yapılmıştır. 1869 yılında Ferdinand Cohn, besiyeri bileşiminde mineral maddelerin önemini göstermiştir. 1872 yılında Oscar Brefeld, sıvı besiyerine jelatin ekleyerek elde ettiği katı besiyerinde tek spordan küf kolonilerini ürettiğini bildirmiştir. Robert Koch 1876 yılında patojenik bir bakteri olan *Bacillus anthracis*'i konukçu hücre dışında (*in vitro*) saf halde izole eden ilk bilim adamı olarak tarihe geçmiştir. 1880 yılında İsviçreli bir botanikçi olan Karl Wilhelm Naegel' in ilk kez bakteri üretiminde peptonu teklif etmesinden sonra, bu madde besiyerlerinin çok önemli bir elemanı olmuş ve “ et sulu pepton” temel besiyeri olarak bakteriyolojiye girmiştir. 1882 yılında Koch'un çalışma arkadaşları olan Walter Hesse ile eşi Fanny Eilshemius Hesse sıvı besiyerlerinin katılaştırılmasında agar kullanımını önererek mikrobiyolojide yeni bir dönem başlatmıştır. Gayon ve Gabriel Dupetit 1883 yılında, şekerler ve alkoller gibi basit organik bileşiklerin kompleks organiklerin yerini alabileceğini göstermişlerdir. Limbourg 1889 yılında ve Coprrado ise 1891 yılında besiyerlerinde selektif izolasyon için inhibitör maddelerin kullanılabileceğini belirtmiştir. 1900'lü yılların başlarında MacConkey, Hill, Wilhelm von Drigalski ve Heinrich Conradi, bakterilerin şeker

metabolizmalarındaki farkları kullanarak selektif izolasyon kavramını daha da belirginleştirmişlerdir. E.L. Marx 1909 ve W.D. Frost ise 1910 yılında besiyerleri için dehidre tekniğini ortaya koyduktan sonra, ilk ticari besiyeri üretimi Nutrient Agar ve Nutrient Broth ile başlamıştır. Günümüzde bazı besiyeri üretici firmalar (Merck, Difco, Oxoid, BBL, Sigma, LabM vb.) tarafından kullanıma hazır dehidre besiyerleri üretilmekte ve pazarlanmaktadır (Kurbanoglu 1999; Halkman 2005).

Besiyerleri, fiziksel özelliklerine, elde edildiği kaynağa ve kullanım alanlarına göre gruplandırılabilir. Örneğin besiyerleri, fiziksel özelliklerine göre sıvı, katı ve yarı katı olarak üçe ayrılırken, başka bir bakış açısı ile bitkisel, hayvansal, sentetik, karışık vb. şekillerde de sınıflandırılabilir. Besiyerleri, kullanım amacına göre sınıflandırıldığı da ise genel besiyerleri ve özel besiyerleri diye ikiye ayrılır. Genel besiyerleri herhangi bir inhibitör madde içermeyen, özel olarak bir mikroorganizma grubunun gelişimini değil de çok sayıda mikroorganizma grubunun gelişimini sağlayacak şekilde hazırlanan besiyerleridir. Plate count agar, nutrient agar, nutrient broth ve tryptic soy agar en çok kullanılan genel amaçlı besiyerleridir. Özel besiyerleri ise kendi arasında selektif besiyerleri, transport besiyerleri, diferansiyel (ayırt edici) besiyerleri, zenginleştirilmiş besiyerleri diye dörde ayrılır. Transport besiyerleri, herhangi bir kaynaktan incelenmek üzere laboratuara getirilecek mikroorganizmaların taşınmasında kullanılır. Bu besiyerlerinde sadece tamponlar ve tuzlar bulunur. Zenginleştirilmiş besiyerleri, beslenme için çok özel istekleri olan mikroorganizmalar da dahil olmak üzere hemen her türlü mikroorganizmanın gelişmesini sağlayacak maddelerle desteklenirler. Besleyici yönleri fazla olan kanlı agar ve çikolata agar bu tip besiyerleridir. Selektif besiyerleri, bazı mikroorganizmaların gelişmesini sağlarken diğerlerini baskılayarak gelişmelerine engel olurlar. Mesela MacConkey agar ve eozin metilen blue (EMB) agar böyle selektif besiyerleri olup gram-pozitif bakterilerin gelişmesini engelleyen, fakat gram-negatif bakterilerin gelişmesine izin veren boyalar içerirler. Benzer şekilde selektif besiyerleri antibiyotiklerin kullanılması ile de hazırlanabilir. Diferansiyel besiyerleri kültürü yapılan mikroorganizmaların karakteristik özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlayan kültür ortamlarıdır. Mesela EMB agar bu amaçla kullanılan bir diferansiyel besiyeridir. Besiyerlerinin sınıflandırılmasında kullanılan diğer bir yaklaşım

ise besiyerinin kimyasal yapısının göz önünde bulundurulmasıdır. Bu yaklaşıma göre besiyerleri, kimyasal yapısı tam olarak bilinmeyen doğal besiyerleri ve kimyasal yapısı bilinen yapay besiyerleri diye ikiye ayrılır. Yapay besiyerleri formüllerinde belirtilen kimyasal maddelerin çok hassas bir şekilde ölçülerek saf su ile karıştırılması ile hazırlanmaktadır. Doğal besiyerleri genellikle daha ucuz olduklarından, fermentasyon teknolojisinde çok kullanılırlar. Bunlara örnek olarak üzüm ve bira şıraları, melas, soya küspesi, süt ve artıkları, pepton, toprak ekstraktı, soya fasülyesi ve maya ekstratı gibi maddeler gösterilebilir (Kurbanoğlu 1999; Hasenekoğlu, 2002; Halkman 2005).

Mikroorganizmaları laboratuvar şartlarında ve endüstriyel ölçüde yetiştirmek için onların ihtiyaç duyacağı besleyici maddeler besiyerlerine eklenmektedir. Besiyerlerinin bileşimine giren başlıca maddeler su, tuz, agar, inhibitörler, maya ekstratı (maya özütü, yeast extract), et ekstratı (et özütü, meat extract), malt ekstratı (malt özütü, malt extract), beyin ekstraktı (brain extract) ve kalp ekstraktı (heart extract), tampon maddeler, pH indikatörleri, redoks indikatörleri, karbonhidratlar ve peptonlardır (Halkman 2005).

Mikrobiyal hücrelerin ve biyolojik ürünlerin üretimi için kullanılan besiyeri bileşenlerinin büyük maliyet oluşturduğu ve besiyeri bileşenleri arasında da azot kaynaklarının en pahalıları olduğu bilinmektedir. Pepton terimi, proteinlerin hidrolizi ile elde edilen ürünlere verilen genel isimdir. Peptonlar besiyerlerinde kullanılan en önemli organik azot kaynaklarından birisidir. Bu maddeler suda kolayca çözünebilen, ısı ya da alkali muamelesi veya amonyum sülfat ile koagüle olmayan protein hidrolizatları olarak tanımlanmaktadırlar (Poernomo and Buckle 2002; Vasileva-Tonkova *et al.*, 2007).

Büyüme faktörleri bazı hücreler tarafından sentezlenemeyen ve çok düşük miktarlarda ihtiyaç duyulan özel organik maddelerdir. Büyüme faktörü olarak kabul edilen maddeler ise vitaminler, aminoasitler, pürinler ve pirimidinlerdir. Bazı mikroorganizmalar bu maddeleri sentezleyememekte dolayısıyla da dışarıdan hazır olarak almak zorunda kalmaktadırlar. Bu tarz beslenme istekleri olan mikroorganizmaların geliştirilmesi içinde büyüme faktörlerini içeren maya ekstratı ve pepton gibi maddeler besiyerlerine eklenmektedir (Brock *et al.*, 1994).

Peptonlar besiyerlerinde mikroorganizmalar tarafından sadece azot değil, karbon kaynağı kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca, peptonların bileşiminde bulunan bazı aminoasitler ve vitaminler de bazı mikroorganizmalar için gelişme faktörü olarak işlev görmektedir. İçeriğindeki besleyici öğeler sayesinde, peptonlar mikrobiyolojide tek başlarına besiyeri olarak kullanılabilen ender maddelerden birisi olarak kabul edilmektedir. Pek çok bakteri, bileşimi sadece %1 pepton olan besiyerin de kolaylıkla gelişebilmektedir (Bilgehan 2002; Halkman 2005).

Peptonlar, mikroorganizmalar için istenilen yoğunlukta hücre süspansiyonaları hazırlanırken diluent olarak da kullanılmaktadır. Yapılan bir çok çalışmada da steril fizyolojik su, fosfat tamponu vb. maddelere oranla % 0,1' lik pepton suyunun çok daha iyi bir diluent olduğu rapor edilmiştir (Mc Feters *et al.*, 1982; Mian *et al.*, 1997; Beuchat *et al.*, 2002).

Özellikle endüstriyel mikrobiyoloji çalışmalarında, üretilmesi istenilen bir ürünün verimini artırmak için seçilen mikroorganizmaya göre çevresel ve besinsel faktörlerin optimizasyonu büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda da, araştırmacılar besinsel faktör olarak besiyerlerinde farklı organik (pepton, malt ekstrat, maya ekstratı, üre v.b) ve inorganik (amonyum sülfat, sodyum nitrat, amonyum nitrat v.b) azot kaynaklarını test etmektedir. Yapılan çalışmalarda, organik azot kaynaklarının (özellikle pepton ve maya ekstratı) inorganik olanlara kıyasla daha yüksek verimler verdiği belirtilmektedir (Kunamneni *et al.*, 2005; Cho *et al.*, 2006; Erdal and Taskin 2010).

Peptonların üretiminde bitkisel ya da hayvansal orijine sahip olan farklı materyaller kullanılmaktadır. Bu doğrultuda genellikle, karides atıkları, ayçiçeği, balık eti ve balık atıkları, soya fasulyesi ve süt tercih edilmektedir (Rao *et al.*, 1980; Parrado *et al.*, 1993; Reissbrodt *et al.*, 1995; Green *et al.*, 1997; Nedkov, 1998; Martone *et al.*, 2005; Uzeh *et al.*, 2006).

Peptonlar, protein içeren bu materyallerden asit hidrolizi veya enzimatik muamele ile elde edilmektedir. Asit hidrolizi yüksek verim vermesine rağmen, hidroliz işlemini takiben nötürleştirme işlemi yapılması gerektiğinden dolayı elde edilen final ürününde yüksek miktarda kül meydana gelmektedir (Dufosse 1997; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2004).

Son zamanlarda, araştırmacılar özellikle yapısında büyük oranda fibroz protein içeren hayvansal orijinli atıkları pepton üretiminde kullanma yoluna gitmişlerdir (Kurbanoglu and Kurbanoglu, 2002; Vasileva-Tonkova *et al.*, 2007). Atık özelliğinde olan organik maddelerin besiyerlerinde substrat olarak kullanımı çok sıkça başvurulmuş bir uygulamadır. Atık özelliğinde olan materyallerin doğrudan ya da bazı işlemlerden geçirildikten sonra besiyerlerinde substrat olarak kullanılmasıyla hem çevreyi kirliliği probleminin çözümüne hem de besiyerlerinin maliyetinin düşürülmesine katkıda bulunmaktadır (Tinoi *et al.*, 2005; Taskin *et al.*, 2010).

Fibröz proteinler hayvanlarda bol miktarda bulunan, ektodermal hücrelerden orijinlenen, suda çözünmeyen ve yapısındaki disülfid bağları (-S-S) sayesinde kimyasal maddelere ve enzimatik olarak sindirilmeye karşı dayanıklı olan proteinlerdir (Cohlberg 1993; Steinert 1993; Kornilowicz-Kowalska 1997).

Fibroz proteinler kendi arasında keratinler ve kollagenler diye ikiye ayrılır. Kollagenler çok hücreli hayvanlar ve omurgalılarda bol miktarda bulunmakta olup, uzamaya ve kopmaya karşı büyük direnç gösterirler. Bağ dokunun büyük bir kısmını oluşturan kollagenler kemik, diş, kan damarları, derinin fibröz matriksleri ve tendonlarda bulunur. Keratinler ise derinin yapısal elemanlarını oluşturur ve tüy, saç, yün, pul, tırnak, ipek ve boynuz gibi oluşumların yapısına katılır (Harrap and Woods 1964; Cherry *et al.*, 1975; Luong and Payne 1977).

Ülkemizde tarıma dayalı olarak faaliyet gösteren gıda ve içecek, tekstil, deri, kağıt ve tütün endüstrilerine ait pek çok üretim tesisi vardır ve bu tesisler tarafından her yıl

büyük miktarlarda sıvı ya da katı atık üretilmektedir. Özellikle gıda ve içecek sanayisine ait tesislerin atıklarının organik madde içeriği fazla olmaktadır. Süt endüstrisinde peynir altı suyu, yoğurt suyu, tereyağı yıkama suyu, salamura çözeltileri, meyve suyu endüstrisinde meyve çekirdeği, sap ve posa, bira endüstrisinde arpa yıkama suyu, şeker endüstrisinde melas, bitkisel yağ endüstrisinde zeytin karasuyu, kabuk, çekirdek küspe ve yıkama suları atık niteliği taşımaktadır (Demirbaş 2005).

Ülkemizde kanatlı hayvan sektörüne ait üretim tesisleri, gıda sanayimizin diğer önemli kuruluşlarındandır. Bu sektör ilk olarak 1970' li yıllarda aile işletmeleri şeklinde, pahalı ve sınırlı üretim kapasiteleriyle faaliyete başlamış olup, günümüzde ise iç pazarın ihtiyacını karşılayanın yanı sıra pek çok ülkeye de ihracat yapacak seviyeye gelmiştir. Sektör esas olarak tavukçuluk üzerine kurulmuş olup, sektöre ait tesislerde beyaz et ve yumurta üretimi gerçekleştirilmektedir (Çakı 2007).

Tavukçuluk sektörünün geliştiği ülkelerde bu sektöre ait kesimhanelerden büyük miktarlarda artık madde üretilmektedir ve bu artıklarda esas olarak kan, baş, ayak, yenmeyen iç organlar, yağlar ve tüylerden meydana gelmektedir. Bir etlik pilicin ortalama canlı ağırlığı 2 kg olduğu kabul edilirse, her bir tavuktan elde edilecek kesimhane artığı $2 \times 0,25 = 0,5$ kg olacaktır. Günde on binlerce bazen yüz binlerce tavuk kesilen kesimhanelerde tonlarca artık meydana gelecektir. Olgun bir tavukta, toplam ağırlığının yaklaşık olarak %10' u tüylerden oluşmaktadır. Bu oran göz önüne alındığında dünya genelinde atık olarak üretilen tüy miktarı da yıllık olarak $7,7 \times 10^8$ kg ulaşmaktadır (El-Boushy *et al.*, 1990; Webster *et al.*, 1996; Demirulus ve Aydın 1996).

Tavuk tüyünün yaklaşık olarak %90' nı bir fibroz protein olan keratinden meydana gelmiştir. Tavuk tüyü keratininde glisin, alanin, serin, sistein ve valin aminoasitlerinin içeriği yüksek lizin, metiyonin ve triptofan'ki ise düşüktür (Gessesse *et al.*, 2003; Grazziotin *et al.*, 2006).

Keratinin düşük sindirilebilme özelliğinden dolayı, keratinaz enzimine sahip olan bazı bakteri ve mantarların dışında doğada yaşayan canlıların çoğu yapısında keratin içeren maddeleri doğrudan besin maddesi olarak kullanamaz. Dolayısıyla, tavuk tüyü keratininin, bir işleme tabi tutulmaksızın başta hayvanlar olmak üzere canlılar tarafından doğrudan protein kaynağı olarak kullanımı umut verici görünmemektedir. Tavuk tüyündeki yüksek keratin içeriğini dikkate alan bazı araştırmacılar, son zamanlarda tüy keratini canlıların kullanabileceği besinsel forma dönüştürmek için çalışmalar yürütmektedir. Bu doğrultuda araştırmacılar buhar basıncında hidroliz, kimyasal maddelerle hidroliz ve enzimatik hidroliz gibi değişik hidroliz yöntemleri kullanılmaktadır. Uygulanan hidroliz işlemlerinin tavuk tüyündeki aminoasitlerin sindirilebilme özelliğini kısmen artırdığı ve bu işlemlerin sonunda elde edilen son ürünlerin ise başta tavuk ve balık yemi olmak üzere hayvanlar için besin maddesi olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Davis *et al.*, 1961; Papadopoulos 1984; El-Boushy *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 2001; Gessesse *et al.*, 2003; Grazziotin *et al.*, 2006).

Fibröz proteinlerin zor parçalanabilen yapıları nedeniyle, onların hidroliz edilmelerinde, diğer proteinlere ve hidrokarbon kaynakları fazla olan diğer materyallere göre daha ağır şartlar uygulanmaktadır. Kullanılan asit ya da bazın konsantrasyonu artırmak, hidroliz süresini uzatmak, yüksek sıcaklık ve basınçlarda hidroliz işlemlerini gerçekleştirmek gibi uygulamalar fibröz proteinlerin parçalanmasında istenilen sonuçların elde edilmesini sağlamaktadır. Örneğin proteinlerin parçalanmasında kullanılan 6N HCl asit polipeptit zincirindeki aminoasitleri birbirinden ayırmakta fakat sülfür içeren aminoasitleri zincirden ayıramamaktadır. Bu durumda sülfür içeren amino asitlerin zincirden ayrılması için yüksek sıcaklık uygulaması gerekmektedir. Ancak, gereğinden daha yüksek sıcaklık ve basınç, aşırı derecede yüksek konsantrasyonlarda hazırlanmış asitler ya da bazlar ve çok uzun hidroliz süresi uygulamaları, hidroliz işlemleri sırasında bazı aminoasitlerin yapılarının bozulmasına neden olmaktadır. Örneğin tavuk tüyünün aşırı derecede buhar hidrolizine tutulması sonucunda yapısındaki sistein amino asidi lanthionine, lizin amino asidi de lisinoalanine dönüşmektedir. Lanthionine ve lisinoalanine ise sistein ve lizine oranla canlılar tarafından daha az verimle kullanılmaktadır. Fibröz proteinlerin hidroliz işlemlerinde ayrıca enzimler, asitler ve

bazılar birlikte uygulanarak daha yüksek hidroliz verimleri elde edilmeye çalışılmaktadır (Papadopoulos *et al.*, 1985; Kurbanoglu 1999; Latshaw *et al.*, 1994).

Tavuk tüyleri protein oranı yüksek olan ancak hayvan yemi ve enzim üretimi dışında pek fazla değerlendirilmeden çevreye bırakılan tavukçuluk sektörünün önemli atıklarından birisidir. Dolayısıyla bu atıkların tam olarak değerlendirilmemesi hem ekonomik zarara hemde çevre kirliliğine neden olmaktadır.

Gerek ülkemiz gerekse dünyada mikrobiyolojik çalışmaların artmasına paralel olarak, besiyeri ihtiyacı da artmaktadır. Bu besiyerleri ise son derece yüksek fiyatlarla pazarlanmaktadır. Eğitim, araştırma, geliştirme ve kontrol çalışmalarını yürüten hastane, üniversite, çeşitli sağlık ve araştırma kuruluşlarının kullandıkları besiyerlerinin miktarı düşünülürse, bunun ekonomimize yüklediği maliyetin ağırlığı daha da iyi anlaşılabilir. Ülkemizde ticari besiyeri üretimi olmaması sebebiyle, mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan besiyerleri Difco, oxoid ve Merck gibi dış kaynaklı firmalardan sağlanmaktadır. Rutin kontrollerde bile çok miktarlarda kullanılan temel besiyerlerinin ithali, ülkemiz ekonomisi için önemli miktarlarda döviz kaybına neden olmaktadır ve kendi besiyerimizi üretmeye yönelmememiz de bizleri devamlı dışarıya bağımlı hale getirmektedir. Bu sebeplerden dolayı, yerli kaynaklardan besiyeri hazırlama çalışmalarının artırılmasına şiddetle ihtiyaç vardır (Kurbanoglu 1999).

Araştırmamız, bir besiyeri bileşeni olan peptonun atık özelliğinde olan tavuk tüylerinden elde edilmesi amacıyla yapılmıştır. Elde edilen peptonun tıbbi, endüstriyel veya biyoteknolojik öneme sahip olan mikroorganizmaların yetiştirilmesinde besiyeri bileşeni olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmada ayrıca, elde edilen peptonun yaralanmış mikroorganizmaları üretmedeki potansiyelide araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Vasileva-Tonkova (2007) ekstraksiyon yöntemi ile hayvan deri ve kan atıklarından yüksek molekül ağırlıklı proteinleri ayırmış, daha sonrada bu proteinleri enzimatik olarak hidroliz etme yoluna giderek kan ve deri hidrolizatları hazırlamıştır. Enzimatik hidroliz için *Bacillus subtilis*' den elde edilen ve yüksek spesifik aktiviteye sahip olan subtilisin' i kullanmıştır. Kan ve deri hidrolizatların protein, azot, kül ve amino asit analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar da ticari kazein hidrolizatının kimyasal içeriğiyle karşılaştırılmıştır. Bu hidrolizatların *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakteriler tarafından substrat olarak kullanılabilirliğini test etmiştir.

Poernomo and Buckle (2002) *Trygon sephen* türü balığın işlenmesi sırasında ortaya çıkan atıkları propionik ve formik asit kullanarak hidroliz etme yoluna gitmiştir. Elde edilen peptonu mikroorganizmaları yetiştirme performansı bakımından üç ticari peptonla karşılaştırmıştır. Çalışmada, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus flavus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*' u test mikroorganizmaları olarak kullanmıştır. İnkübasyon periyodu sonunda sıvı kültürde üretilen biyomasları ölçerek peptonların gücünü ortaya çıkarmıştır. Elde edilen peptonun azot kaynağı olarak diğer peptonlara yakın hatta daha iyi sonuçlar verdiğini belirlemiştir.

Vazquez *et al.*, (2004) balık atıklarından hazırlanan peptonların bakteriyosinlerinin üretiminde kullanılabilirliğini test etmiştir. Nisin ve pediosin bakteriyosinlerinin üretiminde sırasıyla *Lactococcus lactis* ve *Pediococcus acidilactici* kullanılmıştır. Üretim çalışmalarında iki farklı besiyeri test edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin geliştirilmesinde kullanılan MRS birinci test besiyeri olarak seçilmiştir. İkinci besiyerinin hazırlanmasında ise MRS' nin içeriğindeki bakto pepton yerine balık atıklarından üretilen pepton kullanılmıştır.

Mian *et al.* (1997) besinlerdeki veya saf kültürlerdeki mayaların sayım işlemelerinde farklı diluentlerin etkisini araştırmıştır. Bunun içinde saf su, tuzlu su (% 0,85' lik NaCl), 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7.0), 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7.0) içerisinde % 0,1' lik pepton, % 0,1' lik pepton, maya ekstratı ve malt ekstratı farklı diluentler olarak test edilmiştir. Bütün besin örnekleri için en iyi sayım sonuçları % 0,1' lik pepton ile elde edilmiştir. Mayaların saf kültürlerinin sayım işlemlerinde de üç tür hariç en yüksek koloni sayılarına yine % 0,1' lik pepton ile ulaşıldığı belirtilmiştir.

Vecht-Lifshitz *et al.*, (1990) mikroorganizmaların geliştirilmesinde ve onlardan metabolitlerin üretilmesinde fish pepton ve bacto pepton' un potansiyellerini karşılaştırmıştır. Fish peptonun bacto peptona oranla daha fazla biyomas rettirdiğini ortaya çıkarmıştır. Bununla, birlikte fish peptonun metabolit üretiminde fazla etkili olmadığını belirtmiştir.

Romero *et al.*, (2007) etil alkol endüstrisinin yan ürünlerini proteaz enzimi ve pepton üretiminde kullanmıştır. Enzimatik olarak pepton üretim işleminde *Bacillus licheniformis* bakterisi kullanışmıştır. Araştırmacılar elde edilen peptonunun peptitleri ve oligopeptitleri içerdiğini ve bütün pH' larda znebildiğini belirtmiştir.

Kurbanoglu and Algur (2006) ısı ve soğuk şoku ile yaralanmış bakterilerin iyileştirilmesinde boynuz hidrolizatı' nın etkisini araştırmıştır. Bunun içinde boynuz hidrolizatı yaralanmış bakterilerin (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa*) iyileştirilmesinde standart besiyeri olarak kullanılan Tryptic soy agar (TSA)' ya katkı maddesi olarak eklenmiştir. Boynuz hidrolizatı eklenmiş TSA' nın normal TSA besiyerine oranla yaralanmış bakterilerin iyileştirilmesinde daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

Jamdar and Harikumar (2008) tavukçuluk sektöründe atık özelliği taşıyan i organlardan hazırlanan protein hidrolizatını bakteriler için substrat olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. Elde edilen hidrolizatın yüksek protein içeriğine ve

zengin aminoasit kompozisyonuna sahip olmasının yanı sıra geniş bir pH aralığında çözünürlük gösterdiğide belirtilmiştir.

Grazziotin *et al.*, (2006) *Vibrio* sp. strain kr2 bakterisini kullanarak enzimatik olarak tavuk tüylerinden protein hidrolizatı üretmiş ve üretilen hidrolizatında hayvan yemi olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. Hidrolizatın histidin, metiyonin ve lizin aminoasitleri bakımından fakir olduğu belirtilmiştir. In vitro olarak yapılan çalışmalarda, tüy protein hidrolizatı' nın ham tavuk tüyüne ve tüy yemine oranla daha yüksek, soy proteine oranla ise daha düşük sindirilebilme özelliği gösterdiği bildirmiştir.

Suntornsuk and Suntornsuk (2003) *Bacillus* sp. FK 46 bakterisini kullanarak tavuk tüyünü enzimatik olarak hidroliz etmeye çalışmıştır. Optimal fermentasyon koşulları altında (substrat olarak % 1 tavuk tüyü, pH 9, 37⁰ C ve 250 rev/min çalkalama hızı) tavuk tüyünün tamamen parçalandığını belirtmiştir. Besiyerine eklenen glikoz, metanol, Tween 80 ve Triton X-100' ün tüyün parçalanmasında hiçbir etkiye sahip olmadığını rapor etmiştir. Tüyün parçalanmasından sonra elde edilen kültür sıvısının hayvanlar için protein kaynağı olarak kullanımını önermiştir.

Bhaskar and Mahendrakar (2008) balık atıklarından enzimatik olarak protein hidrolizatı hazırlamak için hidroliz koşullarını optimize etmiştir. Bunun içinde farklı hidroliz süreleri ve sıcaklıklarının yanı sıra enzim/substrat oranında araştırmıştır. Hidroliz işlemi için en uygun şartların 55⁰ C sıcaklık, 165 dakikalık süre ve %1,25 (v/w) enzim/subsrat oranı olduğunu belirtmiştir. Elde edilen hidrolizatın balık yemi olarak kullanımı önerilmiştir.

Essien *et al.*, (2005) atık muz kabuklarından elde edilen ekstratı küfler (*Aspergillus fumigatus* ve *Mucor hiemalis*) için gerek sıvı kültürde gerekse katı kültürde substrat olarak kullanmayı denemiştir. Bunun içinde içerisinde muz kabuğu ekstratı bulunan sıvı (BPB) ve katı (BPA) besiyerleri hazırlanmıştır. BPA ve BPB test küflerini yetiştirme

açısından malt ekstrat agar (MEA) ve broth (MEB) ile karşılaştırılmıştır. Test küflerinin BPA ve BPB besiyerlerindeki büyüme performansları MEA ve MEB’ da gözlenen büyüme performanslarına oldukça yakın bulunmuştur.

Kurbanoglu and Kurbanoglu (2004) atık boynuzlardan asit hidrolizi ile hazırlanan peptonu *Aspergillus niger* küfü tarafından sitrik asit üretimi için substrat olarak kullanmayı denemiştir. Boynuz peptonun sitrik asit üretimi için en uygun konsantrasyonu % 4 olarak belirlenmiştir. Boynuz peptonu ile elde edilen sonuçlar diğer standart peptonlarla elde edilenlere yakın bulunmuştur.

Kurbanoglu and Algur (2004) bir başka çalışmada boynuz hidrolizatının çeşitli örneklerdeki (et, süt, toprak ve su) aerobik bakterilerin sayımlarında besiyeri bileşeni olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. Bunun içinde 1 litre su içerisinde 10 g glikoz, 1 g maya ekstraktı, 40 ml hidrolizat, 1 g KH_2PO_4 ve 15 g agar içeren katı besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyeride Kurbanoglu-Algur agar (KAA) olarak isimlendirilmiştir. KAA besiyeri, toprak, su, süt ve et gibi örneklerdeki bakterileri üretme potansiyeli bakımından, plate count agar (PCA), nutrient agar (NA) ve trypticase soy agara (TSA) karşı test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, KAA besiyerinin PCA ve NA besiyerlerine göre önemli derecede yüksek bakteri sayısı oluşturduğunu göstermiştir. Fakat, bu değerler TSA’ dan elde edilen değerlerden biraz daha düşük bulunmuştur.

Aspmo *et al.* (2005a) *Gadus morhua* türü balığın iç organlarından farklı yöntemlerle hazırlanan protein hidrolizatlarını bazı laktik asit bakterileri (*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus sakei* ve *Pediococcus pentosaceus*) için azot kaynağı olarak kullanma yoluna gitmiştir. Elde edilen hidrolizatlar diğer standart peptonlarla veya azot kaynaklarıyla karşılaştırıldığında ise bu hidrolizatların ya eşit derecede ya da onlardan daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir.

Vazquez and Murado (2008) ahtapot' un endüstriyel olarak işlenmesinden ortaya çıkan sıvı atığı enzimatik muameleye tabi tutarak pepton üretmeye çalışmıştır. Elde edilen peptonunda laktik asit bakterilerinden bakteriyosin üretiminde kullanılabilirliğini araştırmıştır. *Lactococcus lactis* tarafından nisin üretimi için papain hidroliziyle elde edilen pepton, *Pediococcus acidilactici* tarafından pedisosin üretimi içinde pepsin hidroliziyle elde edilen pepton' un en yüksek verim sağladığı bildirilmiştir.

Vazquez et al. (2009) bir laktik asit bakterisi olan *Streptococcus zooepidemicus*' dan hyaluronik asit ve laktik asit üretimi için köpek balığı ve vatoz' dan hazırlanan peptonların besiyerlerinde substrat olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. Trypton peptonun en yüksek verimler verdiğini, bununla birlikte köpek balığından hazırlanan peptonun da trypton pepton ile elde edilenlere yakın verimler sağladığı rapor edilmiştir.

Ghorbel et al. (2005) sardalya balığının etinden hazırlamış olduğu protein hidrolizatını *Rhizopus oryzae* küfünden lipaz enzimi üretiminde kullanmıştır. Yağı giderilmiş sardalya balığı hidrolizatının soy peptona oranla daha fazla lipaz enzimi ürettirdiğini ortaya çıkarmıştır. Litrede 24 g protein hidrolizatı ve 10 g glikoz içeren besiyerinde maksimum miktarda enzim üretimi gerçekleştirebileceğini belirtmiştir.

Uzeh et al., (2006) soya fasulyesi ve keçi boynuzu bitkilerinden enzimatik olarak hazırlamış olduğu peptonları bazı bakterilerin besiyerlerinde substrat olarak kullanmayı denemiştir. Çalışmalarında, elde edilen peptonların bütün test bakterilerinde büyümeyi sağladığı belirtilmiştir. Ayrıca, *E.coli* en iyi hücre gelişimini kendi üretmiş oldukları soya pepton ile gösterdiği rapor edilmiştir.

Martone et al., (2005) balık atıklarından hazırladığı protein hidrolizatını arkebakteriler (*Halobacterium salinarum*) ve eubakteriler (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus epidermidis*) için substrat olarak kullanma yoluna gitmiştir. Gerek agar besiyeri gerekse sıvı besiyerinde elde edilen sonuçlara göre balık hidrolizatının eubakterilerin ve arkebakteriler için substrat olarak kullanılabileceğini belirtmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Materyaller

3.1.1. Yararlanılacak alet ve cihazlar

Sanrifüj	Universal 320R, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany
Spektrofotometre	Shimadzu UVmini-1240, Kyoto, Japan
pH metre	WTW unilab pH metre
Hassas terazi	Metler H 51 Gallenkamp
Buzdolabı	Profilo
Karıştırıcı	Vortex-Genie, Model K-55: GE, Sci, IND., Inc.
Manyetik karıştırıcı	Chiltern Hotplate Magnetic Stirrer HS31, Wendower, Buck, UK
Çalkalamalı inkübatör	ZHWY-200B, Zhicheng Analytical Co, Shanghai, China
Öğütücü	Wiley-mill, Arthur, Philadelphia, PA, USA
Blender	Waring products corp. New York City, USA
Otomatik pipetler	Nichipet EX ve Socorex
Otoklav	HVE-50; Hirayama corp., Tokyo, JAPAN
Homejenizatör	Ultra-Turrax T25 basic IKA-Werke, Germany
Kül fırını	Thermolyne 62700; Barnstead/Thermolyne Corp., USA
Fırın	Gallenkamp, Model OV-160, England
Su banyosu	CB2 5Q2, Grant Instruments Ltd., Barrington, Cambridge

3.1.2. Kimyasal maddeler

Bu araştırmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, MERCK, OXOID, DIFCO, RIEDEL, SIGMA ve FLUKA firmalarından temin edilmiştir. Mikroorganizmaları yetiştirmek için dehidre hazır besiyeri olarak trypticase soy agar (TSA), trypticase soy broth (TSB), patato dextrose agar (PDA) ve patato dextrose broth

(PDB), test peptonları olarakda tryptone pepton (TP), fish pepton (FP) ve proteaz pepton (PP) kullanılmıştır.

3.1.3. Tavuk tüyü

Çalışmada, Banvit (Bandırma Vitaminli Yem Sanayi ve Ticaret A.Ş., Balıkesir) tavuk kesim hanesinden temin edilen beyaz renkli tüyler kullanılmış ve tüylerin en fazla bir günlük olmasına dikkat edilmiştir.

3.1.4. Et, süt, toprak ve su örnekleri

Çalışmada kullanılan et ve işlenmemiş süt örneği Erzurum Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümün' den temin edilmiştir. Su olarak kaynak suyu, toprak örneği olarak da Erzurum Atatürk Üniversitesi Kampüs Toprağı kullanılmıştır. Test örnekleri 2 saat içerisinde labatuvara getirilmiş ve gerekli mikrobiyal analizlere tabi tutulmuştur.

3.1.5. Mikroorganizmalar

Çalışmada test bakterileri olarak *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Xanthomonas campestris* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, test mayaları olarak *Rhodotorula glutinis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida famata* ve *Cryptococcus laurentii* ve test küfleri olarak da *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus*, *Cunninghamella echinulata* ve *Gliocladium roseum* kullanılmıştır.

3.2. Yöntemler

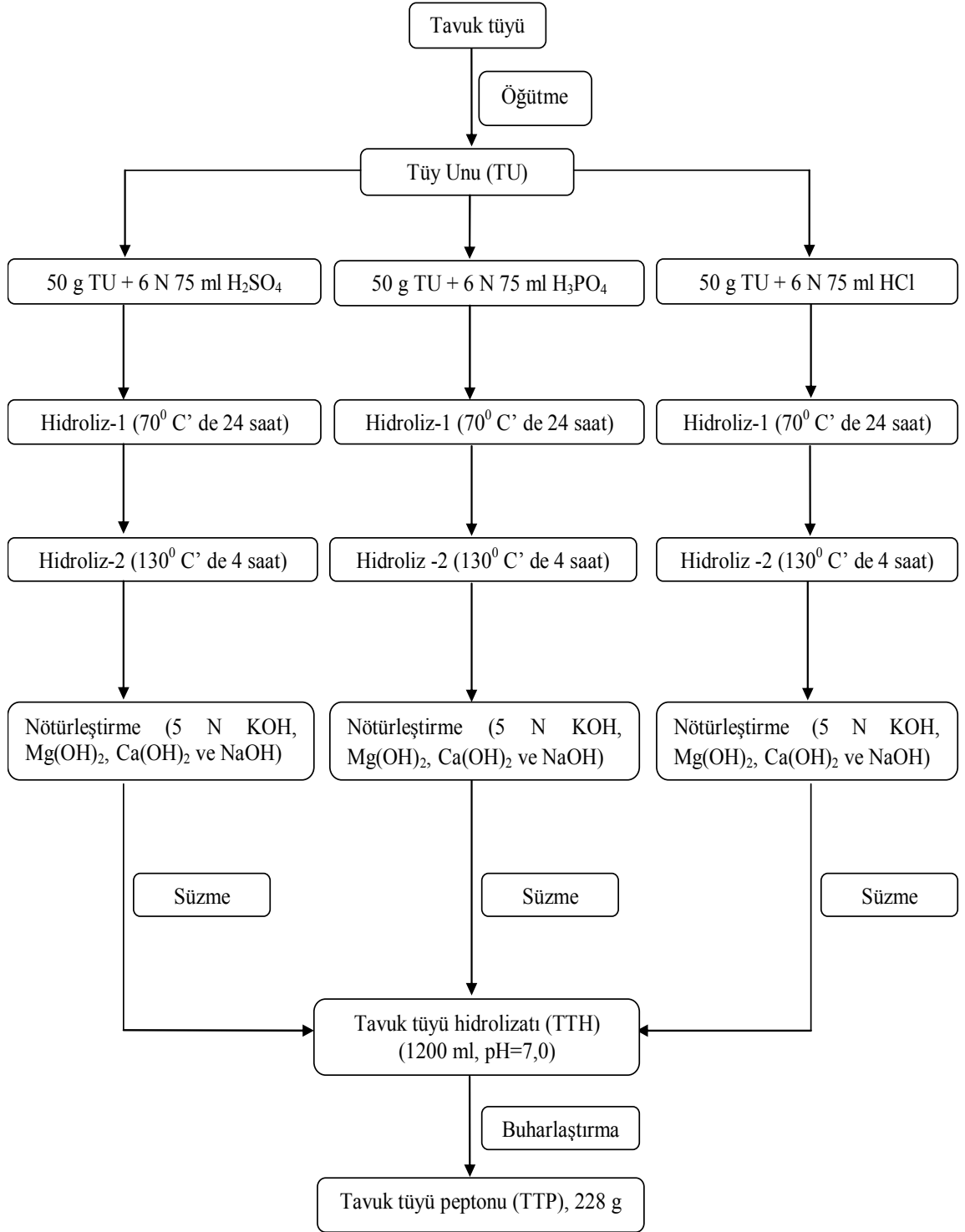
3.2.1. Tavuk tüyünün fiziksel olarak parçalanması

Tüyler ilk önce musluk suyu ile daha sonrada deiyonize su ile iki kez yıkanmış ve 105⁰C’ de fırında kurutulmuştur. Kurutulmuş tüyler ilk önce öğütücüde küçük parçalara ayrılmış, son olarak da Waring blender ile un haline (1 mm çapında) getirilmiştir. Elde edilen tüy unu (TU) hidroliz işlemlerine kadar cam kavanoz içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Tavuk tüyü peptonunun üretilmesi

Tavuk tüy peptonunun üretilmesinde Kurbanoglu and Kurbanoglu (2004) tarafından belirtilen yöntem bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Peptonun üretiminde izlenen yol şekil 1’ de gösterilmiştir. Peptonun üretimi için 150 g TU kullanılmıştır. Şekilde de gösterildiği gibi TU’ nun 50 g’ı H₂SO₄ (sülfirik asit), 50 g’ı H₃PO₄ (fosforik asit), 50 g’ı ise HCl (hidroklorik asit) ile hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Hidroliz işlemi iki basamaklı olarak uygulanmıştır. Hidroliz işlemi birinci basamakta 70⁰C’ de 24 saat süreyle, ikinci basamakta ise 130⁰C’ de 4 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen asidik karışım oda sıcaklığında soğutulduktan sonra nötürleştirilmiştir. Nötürleştirme işleminde kullanılmak üzere ilk olarak ayrı ayrı 5 N’ lik KOH, Mg(OH)₂, Ca(OH)₂ ve NaOH çözeltileri (her birinin hacmi 1 l) hazırlanmıştır. Daha sonrada her çözeltiliden 200 ml alınmış ve ayrı bir kapta birleştirilmiştir. Elde edilen final çözeltisi asidik karışımın nötürleştirilmesi için kullanılmıştır. Asidik karışıma nötürleşinceye kadar baz çözeltisi ilave edilmiştir. Nötürleştirilen sıvı karışım Whatman no. 1 filtre kağıdı ile süzülerek 1200 ml tavuk tüyü hidrolizatı (TTH) elde edilmiştir. TTH’ de buharlaştırma (evaporation) işlemine tabi tutularak tavuk tüy peptonu (TTP) elde edilmiştir.



Şekil 1. Tavuk tüyü peptonunun üretim şeması

3.2.3. Tavuk tüyü peptonu (TTP)'nun kimyasal içeriğinin belirlenmesi

3.2.3.1. Toplam şeker miktarının belirlenmesi

TTP'nin ve diğer standart peptonların toplam şeker içeriği standart glikoz çözeltisi kullanılarak Antrone yöntemi ile belirlenmiştir (Hodge and Hofreiter 1962).

3.2.3.2. Toplam kül ve kuru madde miktarının belirlenmesi

TTP'nin ve diğer standart peptonların toplam kül ve kuru madde miktarının belirlenmesi ise The Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990) tarafından açıklanan yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Kül miktarının tespiti için numunemiz fırında 550°C' de 24 saat süreyle kül fırınında yakılmıştır. Kuru madde miktarının belirlenmesi içinse numuneler 105°C' de sabit ağırlığa gelinceye kadar fırında bekletilmiştir.

3.2.3.3. Bazı elementlerin miktarının belirlenmesi

TTP'de bulunan Mg, Ca, Na, S, K, P, Fe, Cu, Mn ve Zn elementlerinin miktarı ICP OES spektrofotometresi (Inductively Couple Plasma spectrophotometer) (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT 06484-4794, USA) kullanılarak belirlenmiştir (Mertens, 2005a; Mertens, 2005b).

3.2.3.4. Protein, aminoasit ve yağ içeriğinin belirlenmesi

TTP ve diğer standart peptonların aminoasit (HPLC kolon öncesi türevlendirme yöntemiyle), toplam protein (Kjeldal yöntemiyle) ve toplam yağ (soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle) analizleri Düzen Norwest Laboratuvarında (Ankara) yapılmıştır. Kjeldhal

metodu ile elde edilen toplam azot miktarı 6,25 faktörü ile çarpılarak toplam protein içeriği belirlenmiştir.

3.2.3.5. Test mikroorganizmalarının sıvı ve katı kültürleri için inokülasyon kültürlerinin hazırlanması

Test küfleri, PDA besiyeri içeren petrilerde 196 saat süreyle sporulasyon işlemine tabi tutulmuş ve bu sürenin sonunda her küfün aktif olarak gelişen miselinden steril lanset yardımıyla 5 mm çapında parçalar kesilip çıkarılmıştır. Sıvı kültür çalışmaları için bu parçalardan 2 tanesi 250 ml' lik erlenmayer içerisindeki steril patates dektroz broth besiyeri içerisine aşılansın, çalkalamalı inkübatör içerisinde 30⁰C ve 200 rpm de 144 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kültür santrifüj edilmiş, elde edilen misel biyomasıda steril fizyolojik su ile yıkanmış ve steril fizyolojik su içerisinde homojenizatör yardımıyla homojen hale getirilmiştir. İnokülasyon işlemlerinde homojenize edilmiş misel biyomasının yaklaşık olarak 0,1 gramı (kuru ağırlık olarak) kullanılmıştır. Bu işlemler her test küfö için gerçekleştirilerek eşit inokülasyonun sağlanması amaçlanmıştır. Test bakterileri ve mayaları ise ilk önce agar besiyerinde 48 saat süreyle aktifleştirilmiştir. Aktifleştirme işlemi sırasında bakteriler için TSA, mayalar içinse PDA besiyeri kullanılmıştır. Daha sonrada agar besiyeri üzerinden bir öze dolusu mikroorganizma hücresi alınmış ve 100 ml besiyeri (bakteriler için TSB, mayalar içinse PDB) içeren 250 ml'lik erlenmayerler içerisine aşılansın. Erlenmayerler 200 rpm ve 30⁰C' de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnübasyon sonunda ilk olarak kültürlerin yoğunluğu % 0,1'lik steril pepton suyu ile 600 nm dalga boyunda 2,0 absorbans verecek şekilde ayarlanmıştır. Takip eden sıvı kültür çalışmalarında da bu yoğunluğa sahip kültürlerin 1 ml' si inokülasyon amaçlı olarak kullanılmıştır.

Agar besiyerlerine test bakterileri ve mayaları yüzey ekimi yöntemiyle aşılansınken seyreltilmiş dilisyon örnekleri kullanılmıştır. Bunun içinde yoğunluğu 600 nm dalga boyunda 2,0 absorbans verecek şekilde ayarlanan kültürlerden 1 ml alınmış ve steril pepton suyu ile dilisyonları hazırlanmıştır. Elde edilen dilisyon örneğinin 0,1 ml'side

agar besiyeri üzerine yayılmıştır. Besiyerlerinde üremenin yoğunluğu bakteriler ve mayalar için CFU/ml olarak ifade edilmiştir (Vecht-Lifshitz *et al.*, 1990; Beuchat *et al.*, 2002). Agar besiyerlerine test küfleri için inokülasyon kültürü hazırlanırken, yukarıda belirtildiği gibi ilk olarak PDA besiyeri üzerinde gelişen aktif küf miselden steril bir lanset yardımıyla 5 mm çapında parçalar kesilip çıkarılmıştır. Daha sonrada bu parçalardan bir tanesi 90 mm çaplı cam petri içerisindeki agar besiyerinin merkezine inoküle edilmiştir. İnkübasyonun sonunda radyal büyümenin ölçüsü mm olarak ifade edilmiştir (Essien *et al.*, 2005). Test mikroorganizmalarının ekim yapıldığı agar besiyerleri 30 °C’ de inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.3.6. Biyomas ağırlıklarının belirlenmesi

Büyüme peryodu sonunda erlenmayerler içerisindeki mikroorganizma kültürleri santrifüj (5000 x g, 10 dk) edilmiş ve elde edilen ıslak hücrelerde steril fizyolojik su ile iki kere yıkandıktan sonra sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur.

3.2.3.7. Sıvı kültürde test mikroorganizmalarının gelişimi için en uygun TTP konsantrasyonunun belirlenmesi

TTP’ nin sıvı kültürde test mikroorganizmalarının gelişimi üzerine etkisini belirlemek için deneyler 100 ml test besiyeri içeren 250 ml’lik erlenmayerler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Test besiyerinin içeriği sadece glikoz (20 g/l) ve pepton’ dan oluşacak şekilde düzenlenmiş ve pH’ sı bakteriler için 7,3’e küfler ve mayalar içinse 5,6’ya ayarlanmıştır. TTP’ nin en uygun konsantrasyonu belirlenirken glikoz konsantrasyonu (20 g/l) sabit tutularak, saf su içerisinde TTP’ nin farklı konsantrasyonlarında (1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 g/l) sıvı besiyerleri hazırlanmıştır. Besiyeri içeren erlenmayerler otoklavda steril edilip, soğutulup ve inokulasyon amaçlı hazırlanan mikroorganizma hücreleriyle aşılandıktan sonra çalkalamalı inkübatörde 30°C ve 200 rpm’de inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi bakteriler ve mayalar için 72, küfler içinse 144 saat olarak seçilmiştir. Sıvı kültürlerde büyümenin ölçüsü biyomas verimi (g/l) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.8. Katı agar kültüründe test mikroorganizmalarının gelişimi için en uygun TTP konsantrasyonunun belirlenmesi

Katı test besiyerinin içeriği glikoz (20 g/l), agar (15 g/l) ve pepton' dan oluşacak şekilde düzenlenmiştir. Sıvı kültürde olduğu gibi katı besiyerinin hazırlanması sırasında TTP' nin farklı konsantrasyonları (1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 g/l) test edilmiş, besiyerinin pH' sı da bakteriler için 7,3' ye küfler ve mayalar içinse 5,6'ya ayarlanmıştır. Agar besiyerlerinde TTP' nin en uygun konsantrasyonu belirlenirken bakteriler ve mayalar için dilisyon örnekleri hazırlanmıştır. Test bakterileri ve mayaları için hazırlanan dilisyon örnekleri TTP' nin farklı konsantrasyonları ile hazırlanmış agar besiyerinin üzerine yayılmıştır. Agar besiyerlerinde de inkübasyon süresi bakteriler ve mayalar için 72, küfler içinse 196 saat olarak seçilmiştir.

3.2.3.9. TTP ve diğer standart peptonların sıvı kültürde test mikroorganizmalarını üretme potansiyellerinin karşılaştırılması

Sıvı besiyerlerine eklenen peptonların konsantrasyonu, TTP için en uygun olarak belirlenen konsantrasyona ayarlanmıştır. Sıvı kültürde maya ve bakteri büyümesinin ölçüsünü belirlemek için kültürlerden 12 saat aralıklarla 10 ml' lik örnekler alınmıştır. Örnekler santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve elde edilen hücreler saf su ile yıkandıktan sonra sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Alınan örneklerin ayrıca spektrofotometerde 600 nm' de absorbans ölçümleride yapılmıştır. Sıvı kültürde küflerin büyüme performansını belirlemek içinse her test peptonu için 6 tane besiyeri hazırlanmış ve bu besiyerleri homojenize edilmiş misel biyomasının 0,1 gramı (kuru ağırlık olarak) ile aşılandıktan sonra inkübasyona bırakılmıştır. 144 saatlik inkübasyon süresince hergün bu kültürlerden bir tanesi santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve elde edilen ıslak hücre kütlesi steril fizyolojik su ile yıkanıp kurutulduktan sonra misel biyoması hesaplanmıştır.

TTP ve diğer standart peptonların sıvı kültürde küflerin misel morfolojisi üzerine etkileride araştırılmıştır. Bunun için misel morfolojisi yumak, tektip pelet ve tektip olmayan pelet şeklinde değerlendirilmiştir. Tektip peletlerin çapıda mm cinsinden ifade edilmiştir.

Ayrıca, TTP ve diğer standart peptonlarla hazırlanan sıvı besiyerlerinde inkübasyonun sonunda pH değişimleride araştırılmıştır. Bunun içinde kültürlerin süpernatantı final pH'ının ölçümü için kullanılmıştır.

3.2.3.10. TTP ve diğer standart peptonların katı kültürde test mikroorganizmalarını üretme potansiyellerinin karşılaştırılması

Sıvı besiyerinde olduğu gibi katı besiyerine eklenen peptonların konsantrasyonu, TTP için en uygun olarak belirlenen konsantrasyona ayarlanmıştır. Yoğunlukları ayarlanmış bakteri ve maya kültürlerinden alınan 0,1 ml'lik örnekler farklı peptonlarla hazırlanan agar besiyerleri üzerine yayılmıştır. Besiyerleri daha sonra inkübasyona bırakılmış ve bu besiyerleri üzerinde gelişen kolonilerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri sonunda sayımları yapılmıştır. Bakteri için 30-300 koloni kapsayan petriler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu besiyerleri üzerinde gelişen kolonilerin çaplarıda ölçülmüş ve büyümenin ölçüsü mm olarak ifade edilmiştir (Harrigan and McCance 1976; Vecht-Lifshitz *et al.*, 1990; Beuchat *et al.*, 2002). Farklı peptonlar ile hazırlanan agar besiyerleri üzerine küflerin inokulasyonu için yöntem 3.2.3.8'de belirtilen işlem uygulanmıştır. İnokülasyon işleminden sonra 72, 144 ve 196. saatlerde her test küfü için her pepton besiyerinde koloni çapı ölçülmüş ve besiyerlerinde gelişmenin ölçüsü radyal büyüme olarak mm cinsinden değerlendirilmiştir.

3.2.3.11. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki toplam aerobik mikroorganizma sayılarının TTP ve diğer standart peptonlarla hazırlanan besiyerleri üzerinde belirlenmesi

Bu örneklerdeki toplam mikroorganizmaların sayım işlemleri için, katı besiyerlerinin pH'sı bakteriler için 7,3'e küfler ve mayalar içinse 3,5'e ayarlanmıştır. Besiyerlerindeki peptonların konsantrasyonu, test mikroorganizmaları için belirlenen optimal konsantrasyon olarak seçilmiştir.

Et örneğinden 10 g alınmış ve 0,1 %'lik 90 ml steril pepton suyu (Biolab, Merck) içerisinde 5 dakika süreyle bir homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir. Daha sonra da homojenattan 1 ml alınarak dilisyonları hazırlanmıştır. Diğer taraftan süttten 1 ml örnek alınarak dilisyonları hazırlanmıştır. Toprak örneğinin 10 g alınmış ve 250 ml'lik erlenmayer içerisindeki 90 ml steril pepton suyuna karıştırılmıştır. Toprak örneğindeki mikroorganizma sporlarının pepton suyuna tam olarak geçmesini sağlamak için erlenmayer 200 rpm de 10 dakika süreyle çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Çalkalama işleminden sonra karışım içerisindeki katı partiküllerin çökmesi için erlenmayer bir süre durağan fazda bekletilmiştir. En son olarakta sıvı kısımdan 1 ml alınmış ve dilisyonları hazırlanmıştır. Su örneği içinde kirlilik derecesine göre seyreltme yapılarak veya hiç seyreltme yapılmadan petri plakları üzerine ekimler yapılmıştır. Bütün işlemlerinde diluent olarak steril pepton suyu kullanılmıştır. Dilisyon örneklerinin 0,1 ml'si steril bir eküvyon yardımıyla petri plaklarının üzerine yayılmış ve petriler ters çevrilerek 30°C' de inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri ve maya sayımı için hazırlanan petrilerde 24, 48 ve 72 saat sonunda sayımlar yapılmıştır. Bakteriler için 30-300, maya ve küfler içinse 10-100 koloni kapsayan petriler değerlendirilmiştir (Harrigan and McCance 1976; Jarvis 1973; Mislivec *et al.*, 1992; Buyer 1995; Kurbanoglu 1999; Beuchat *et al.*, 2002; Foght and Aislabie 2005).

3.2.3.12. TTP ve diğer standart peptonların yaralı (injured) ve yaralanmamış mikroorganizmaları üretme potansiyellerinin karşılaştırılması

Yaralanmış mikroorganizmaların sayım işlemlerinde farklı peptonlarla zenginleştirilmiş TSA besiyeri kullanılmıştır. Materyal metot 3.2.3.5’de belirtildiği gibi test bakterileri ve mayaları 48 saatlik süreyle inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda da bütün kültürlerin yoğunluğu 600 nm dalga boyunda 2,0 absorbans verecek şekilde ayarlanmıştır. Daha sonrada bu yoğunluğa sahip her test bakterisi veya mayasının hücre süspansiyonundan 1 ml’ lik 2 ayrı örnek alınarak iki farklı tüpe aktarılmıştır. Soğuk şoku ile yaralama işlemi için, tüplerden birincisi -20⁰C’ de 7 gün süreyle bekletilmiş ve 25⁰C’ de çözünmesi beklenmiştir. Sıcak şoku ile yaralama işlemi için, tüplerden ikincisi çalkalamalı su banyosu içerisinde bakteriler için 5, mayalar içinse 20 dakika 55⁰C’ de bekletilmiş ve buz içerisinde hızlıca soğutulmuştur. Her iki yaralama işlemi sonucunda elde edilen mikroorganizma süspansiyonlarının 0,1 ml’si 9 cm çaplı petriler içerisindeki test peptonlarının herhangi biri ile zenginleştirilmiş TSA besiyeri üzerine steril bir eküvyon yardımıyla yayılmıştır. Et, süt, toprak ve su örnekleri de yaralama işlemlerine tabi tutulmuştur (Conner and Beuchat 1985; Rodrigues and Kroll 1989; Golden and Beuchat 1990; Sorqvist 1993; Kang and Siragusa 1999; Beuchat *et al.*, 2002; Kurbanoglu and Algur 2006). Bu işlem her test bakterisi ve mayası, her dilisyon örneği ve her test peptonu için tekrarlanmıştır. Kontrol amacıyla, yaralama işlemine maruz bırakılmamış bakteri, maya ve test örneklerinden de ekimler yapılmıştır. Petriler 30⁰C’ de 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyona tabi tutulmuş ve bu peryodlarının sonunda canlı bakteri ve maya sayıları (CFU/ml veya g) belirlenmiştir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Tez içerisinde sunulan sonuçlar, her bir uygulamadan üç örnek (3 paralel) ve her bir örnekten 2 tekerrür yapıldıktan sonra elde edilen 6 değer in ortalamasıdır. Sonuçların karşılaştırılması, SPSS 13.0 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış $P<0.05$ önem seviyesinde farklılıklar belirlenmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Tavuk Tüyünün Hidroliz Edilmesinde İzlenen Yol

Bu araştırmada 150 g tüy unu hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlem sonucunda tüy ununun 17 g'nın parçalanmadığı, 133 g'nın ise parçalanarak asit çözeltisine (sıvı kısım) geçtiği belirlenmiştir. Sıvı kısım, şekil 3.1'de belirtildiği gibi nötürleştirme ve süzme işlemlerine tabi tutularak tavuk tüyü hidrolizatı (TTH) elde edilmiştir. TTH'de buharlaştırma işlemine tabi tutulduktan sonra 228 g toz halinde kuru madde elde edilmiştir. Bu madde de tavuk tüyü peptonu (TTP) olarak isimlendirilmiştir.

4.2. Tavuk Tüy Peptonunun (TTP) Kimyasal İçeriği

TTP'nin kimyasal içeriği ve aminoasit bileşimi ile ilgili analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir. Bu çizelgelerden görüldüğü gibi TTP hem organik hemde inorganik maddeler bakımından zengindir. Özellikle mikroorganizmaların üremeleri için gerekli olan temel mineral maddeleri, azot ve karbon kaynaklarını içerdiği görülmüştür. TTP' nin en yüksek oranda protein (55,8 g/100 g) ve bunu takibende kül (42,1 g/100 g) içerdiği tespit edilmiştir. TTP' nin Mg, K, Ca, Na, S ve P elementleri bakımından son derece zengin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2'de özetlenen sonuçlardan ise TTP' nin aminoasit içeriği bakımından da oldukça zengin olduğunu, bununla birlikte kükürtlü aminoasitlerden metiyonini içermediği anlaşılmaktadır. Aminoasitlerden valin en yüksek miktarda (5939 mg/100 g) bulunmakta bunu sırasıyla glutamik asit (5413 mg/100g), glisin (4806 mg/100 g) ve löysin (4623 mg/100 g) izlemektedir.

Çizelge 4.1. TTP'nin kimyasal içeriği

Bileşenler	g/100 g TTP
Kuru madde	98,5
Azot	8,93
Toplam protein	55,8
Toplam Şeker	1,56
Yağ	0,47
Kül	42,1
K	12,52
Mg	4,21
Ca	6,08
Na	6,96
P	2,06
S	3,07
Fe	0,83
Mn	0,51
Zn	0,67
Cu	0,22

Çizelge. 4.2. TTP'nin aminoasit içeriği

Aminoasitler	mg/100g TTP
Prolin	3226
Glutamik asit	5413
Valin	5939
Aspartik asit	2821
Glisin	4806
Löysin	4623
Alanin	3471
Serin	3303
İsolöysin	2600
Fenilalanin	2370
Liysin	1944
Treonin	2072
Histidin	0,220
Tyrosin	1069
Hidoksil-L-prolin	1709
Sistin	0,891
Metiyonin	ND
Triptofan	ND

ND: Tespit edilemedi

4.3. Sıvı Kültürde Test Mikroorganizmalarının Gelişimi İçin En Uygun TTP Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Araştırma Sonuçları

TTP' nin farklı konsantrasyonlarında (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 g/l) test bakterileri, mayaları ve küfleri için elde edilen biyomas verimleri sırasıyla Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi TTP' nin en uygun konsantrasyonu test bakterileri ve mayaları için litrede 5, test küfleri içinse litrede 4 g bulunmuştur. Belirlenen en uygun konsantrasyonlarda maksimum biyomas verimi test bakterisi olarak *B. subtilis* (3,13 g/l), test mayası olarak *R. glutinis* (5, 54 g/l) ve test küfü olarak da *A. niger* (7, 47 g/l)'den elde edilmiştir. En düşük biyomass verimleri ise bakteri olarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (1,51 g/l), maya olarak *C. famata* (4,22 g/l) ve küf olarak da *G. roseum* (4,52 g/l) için kaydedilmiştir.

Çizelge 4.3. Sıvı kültürde geliştirilen test mikroorganizmalarının biyomas verimi üzerine TTP' nin farklı konsantrasyonlarının etkisi

Test Mikroorganizmaları	TTP Konsantrasyonu (g/l)/ Biyomas miktarı (g/l)						
	1	2	3	4	5	6	7
Bakteriler							
<i>B. subtilis</i>	1,68e	2,14d	2,64c	2,95ab	3,13a	2,87b	1,96d
<i>E. coli</i>	1,34d	1,94c	2,38b	2,43b	2,64a	2,55ab	2,05c
<i>S. aureus</i>	1,17e	1,83c	2,17b	2,23b	2,57a	2,33b	1,65d
<i>X. campestris</i>	0,98d	1,32c	1,76b	1,87ab	1,96a	1,86ab	1,24c
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	ÜY	ÜY	0,98c	1,24b	1,51a	0,84c	ÜY
Mayalar							
<i>R. glutinis</i>	1,45f	2,57e	3,55d	4,22c	5,54a	4,75b	3,67d
<i>C.albicans</i>	1,31e	2,29d	3,34c	4,06b	4,96a	4,16b	3,28c
<i>S.cerevisiae</i>	1,23e	2,02d	3,12c	3,94b	4,76a	4,08b	3,11c
<i>C.famata</i>	1,14f	1,57e	2,54d	3,33b	4,22a	3,09c	2,45d
<i>C.laurentii</i>	1,35f	2,43e	3,44c	4,11b	5,08a	4,26b	3,12d
Küfler							
<i>A.niger</i>	3,98g	4,85e	6,32c	7,47a	6,73b	5,21d	4,42f
<i>P.chrysogenum</i>	3,57g	4,56e	5,97c	6,89a	6,39b	5,08d	4,15f
<i>A. flavus</i>	3,45f	4,33e	5,44c	6,61a	6,14b	4,97d	4,09e
<i>C.echinulata</i>	3,09f	3,95e	5,33c	6,32a	5,76b	4,56d	3,25f
<i>G.roseum</i>	2,36e	3,25c	4,18b	4,52a	3,26c	2,92d	2,19e

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok

4.4. Katı Agar Kültüründe Test mikroorganizmalarının Gelişimi İçin En Uygun TTP Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Test bakterileri ve mayalarının TTP' nin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan agar besiyerleri üzerinde oluşturmuş oldukları koloni sayımlarıyla ilgili sonuçlar sırasıyla Çizelge 4.4 ve 4.5'de verilmiştir. Sıvı kültürde olduğu gibi katı agar besiyerinde de en uygun TTP konsantrasyonu bütün test bakterileri için litrede 5 g olarak bulunmuştur. En uygun TTP konsantrasyonunda, en fazla sayıda koloniyi *B. subtilis* (83×10^8 CFU/ml) meydana getirmiştir. Diğer bakterilerin (*E.coli*, *S.aureus*, *X. campestris* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*) oluşturduğu maksimum koloni sayıları ise sırasıyla 75×10^8 , 62×10^8 , 160×10^7 ve 90×10^7 CFU/ml olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. TTP' nin farklı konsantrasyonlarının agar besiyerinde gelişen test bakterilerinin koloni sayıları üzerine etkisi

Test bakterisi	TTP konsantrasyonu (g/l) / Koloni sayısı (CFU/ml)						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>B.subtilis</i>	42×10^8 e	49×10^8 d	59×10^8 c	74×10^8 b	83×10^8 a	72×10^8 b	58×10^8 c
<i>E.coli</i>	37×10^8 f	44×10^8 e	60×10^8 c	68×10^8 b	75×10^8 a	61×10^8 c	48×10^8 d
<i>S.aureus</i>	32×10^8 f	38×10^8 e	45×10^8 d	58×10^8 b	62×10^8 a	50×10^8 c	38×10^8 e
<i>X.campestris</i>	74×10^8 f	113×10^7 d	139×10^7 c	148×10^7 b	160×10^7 a	141×10^7 c	102×10^7 e
<i>L.delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	31×10^7 e	61×10^7 d	78×10^7 bc	82×10^7 b	90×10^7 a	74×10^7 c	16×10^7 f

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır.

Test bakterilerinde olduğu gibi test mayaları içinde en uygun TTP konsantrasyonu litrede 5 g olarak bulunmuştur. TTP' nin bu konsantrasyonunda *R.glutinis*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*, *C. famata* ve *C. laurentii*' nin oluşturmuş olduğu maksimum koloni sayıları ise sırasıyla 89, 63, 47, 32 ve 75×10^5 CFU/ml olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, her test mayası için TTP' nin farklı konsantrasyonlarında elde edilen koloni sayıları arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.5. TTP' nin farklı konsantrasyonlarının agar besiyerinde gelişen test mayalarının koloni sayıları üzerine etkisi

Test mayası	TTP konsantrasyonu (g/l) / Koloni sayısı (CFU/ml)						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>R.glutinis</i>	49x10 ⁵ e	68x10 ⁵ d	75x10 ⁵ c	81x10 ⁵ b	89x10 ⁵ a	52x10 ⁵ e	41x10 ⁵ f
<i>C.albicans</i>	27x10 ⁵ e	38x10 ⁵ d	46x10 ⁵ c	55x10 ⁵ b	63x10 ⁵ a	41x10 ⁵ cd	24x10 ⁵ e
<i>S.cerevisiae</i>	19x10 ⁵ e	26x10 ⁵ d	33x10 ⁵ c	41x10 ⁵ b	47x10 ⁵ a	31x10 ⁵ c	11x10 ⁵ f
<i>C.famata</i>	10x10 ⁵ e	19x10 ⁵ d	27x10 ⁵ c	37x10 ⁵ a	32x10 ⁵ b	17x10 ⁵ d	5x10 ⁵ f
<i>C.laurentii</i>	41x10 ⁵ d	52x10 ⁵ c	61x10 ⁵ b	70x10 ⁵ a	75x10 ⁵ a	43x10 ⁵ d	28x10 ⁵ e

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır.

Agar besiyerinde bütün test küfleri için en uygun TTP konsantrasyonu litrede 4 g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). TTP'nin en uygun konsantrasyonunda 196 saatlik inkübasyonun sonunda en büyük çaplı koloni (90 mm) *A. niger* için, en küçük çaplı koloni (36 mm) ise *G. roseum* için ölçülmüştür. TTP konsantrasyonlarının test küflerinin koloni çaplarını istatistiki olarak önemli derecede etkilediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. TTP' nin farklı konsantrasyonlarının agar besiyerinde geliştirilen test küflerinin radyal büyüme performanslarına etkisi

Test küfleri	TTP Konsantrasyonu (g/l) / Koloni çapı (mm)						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>A.niger</i>	43e	56d	86a	90a	85a	74b	61c
<i>P.chrysogenum</i>	32d	40c	59ab	64a	55b	43c	33d
<i>A.flavus</i>	32e	42d	61b	72a	55c	46d	35e
<i>C.echinulata</i>	26e	37c	41ab	45a	36c	31d	24e
<i>G.roseum</i>	21c	31ab	35a	36a	28b	24bc	17d

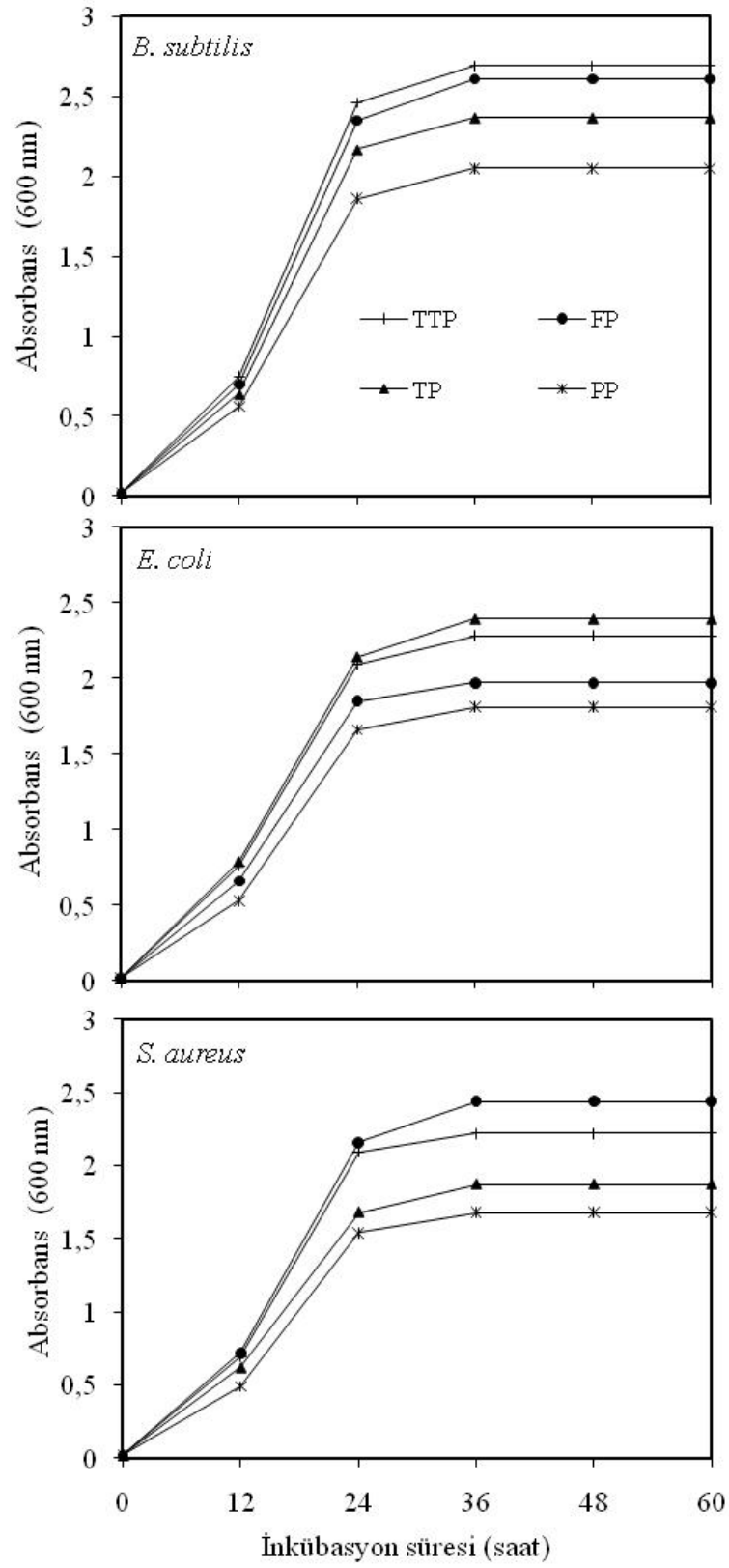
* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır.

4.5. TTP ve Diğer Standart Peptonların Sıvı Kültürde Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması

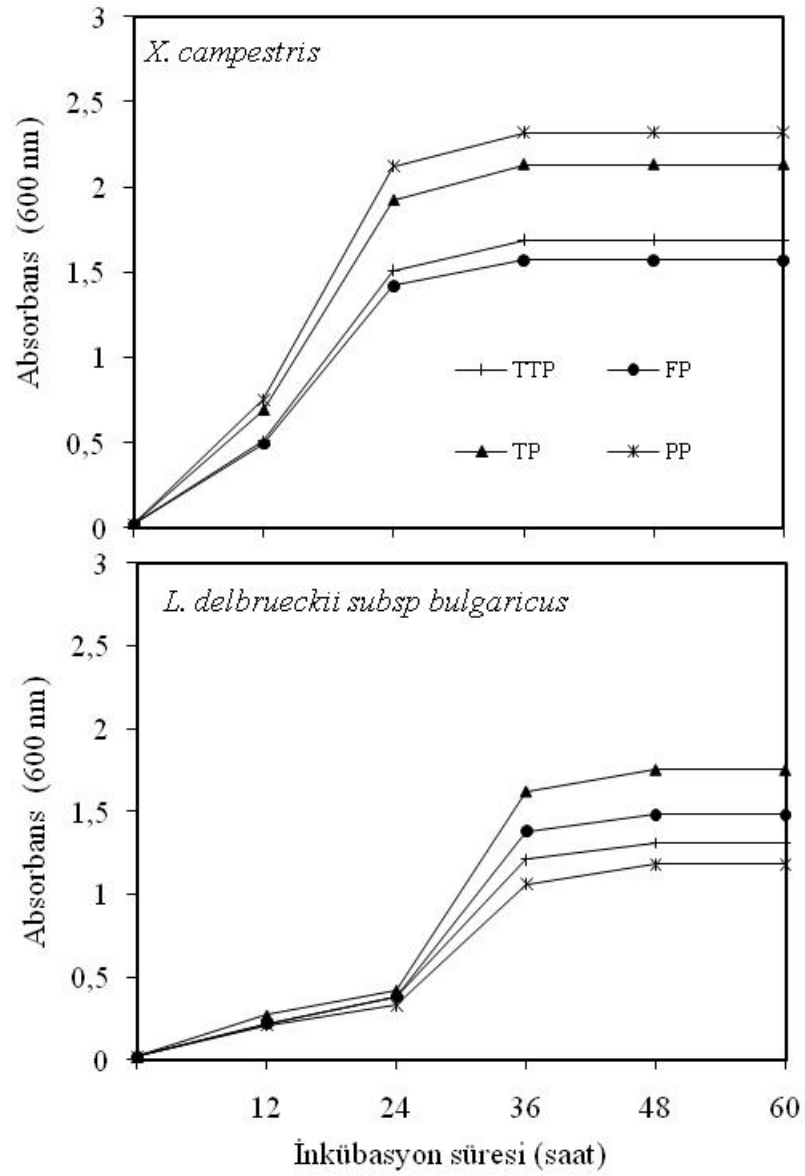
TTP test mikroorganizmalarını üretme gücü bakımından diğer standart peptonlarla karşılaştırılmıştır. Bunun içinde sıvı kültüre katılan diğer standart peptonların konsantrasyonunda bakteriler ve mayalar için litrede 5 ve küfler için de litrede 4 g olacak şekilde ayarlanmıştır.

Bakterilerin farklı pepton besiyerlerinde büyüme performansları şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar ayrıca Çizelge 4.7’de özetlenmiştir. Sonuçlardan da görülebileceği gibi *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* hariç diğer dört bakteri pepton besiyerlerinin hepsinde iyi gelişme göstermiştir. Bütün besiyerlerinde en kötü hücre büyümesi ise *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için gözlemlenmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için en düşük biyomass verimi (1,29 g/l) PP besiyerinde elde edilmiştir. En yüksek biyomas verimi *B. subtilis* (3,13 g/l) için TTP, *S. aureus* (2,83 g/l) için FP, *X. campestris* (2,69 g/l) için PP, *E. coli* (2,72 g/l) ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (2,03 g/l) içinse TP besiyerinde elde edilmiştir. *E. coli* ve *S. aureus* diğer besiyerleriyle karşılaştırıldığında, TTP besiyerinde de yüksek miktarda hücre biyoması oluşturmuştur (sırasıyla 2,64 g/l ve 2,57 g/l). Özellikle, *E. coli* için TTP ve TP besiyerinde elde edilen biyomas verimleri arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Ayrıca, inkübasyonun ilk 12 ve 24 saatlerinde *E. coli* ve *S. aureus*, TTP besiyerinde çok hızlı gelişme göstermiştir. Örneğin, *E. coli*’nin hücre yoğunluğu inkübasyonun ilk 12. saatinde TP ve TTP besiyerlerinde 600 nm dalga boyunda sırasıyla 0,76 ve 0,79 absorbans vermiştir. Inkübasyonun 24. saatinde bu türün TP ve TTP besiyerlerindeki absorbansları da sırasıyla 2,14 ve 2,09 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde inkübasyonun 12. ve 24. saatlerinde *S. aureus*’ un TTP besiyerindeki absorbansları (sırasıyla 0,69 ve 2,09), FP besiyerindeki absorbanslarına (sırasıyla 0,71 ve 2,16) çok yakın bulunmuştur.

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus* bütün pepton besiyerlerinde inkübasyonun ilk 24 saatinde zayıf, inkübasyonun 24 ile 36 saatleri arasında ise iyi gelişme göstermiştir. Diğer dört bakteri içinse, en hızlı hücre büyümesi bütün pepton besiyerlerinde, inkübasyon periyodunun 12 ile 24 saatleri arasında gözlenmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* hariç diğer dört test bakterisi için pepton besiyerlerinin hepsinde inkübasyonun 36. saatinden sonra hücre büyümesi tamamen durmuştur. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* içinse hücre büyümesi bütün besiyerlerinde 48. saate kadar devam etmiştir.



Şekil 4.1. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen *B. subtilis*, *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerinin büyüme eğrileri



Şekil 4.2. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen *X. campestris* ve *L. delbrueckii subsp bulgaricus* bakterilerinin büyüme eğrileri

Çizelge 4.7. TTP ve diğer test peptonlarının sıvı kültürde geliştirilen test bakterilerinin biyomas verimleri üzerine etkisi

Test bakterisi	Test peptonu (5 g/l)	Maksimum biyomas miktarı (g/l)	Maksimum absorbans (600 nm)	Final pH
<i>B. subtilis</i>	TTP	3,13a	2,69	4,64
	FP	3,02b	2,61	4,39
	TP	2,75c	2,37	4,21
	PP	2,37d	2,05	4,06
<i>E. coli</i>	TTP	2,64a	2,28	4,42
	FP	2,28b	1,97	4,38
	TP	2,72a	2,39	4,16
	PP	2,09c	1,81	4,11
<i>S. aureus</i>	TTP	2,57b	2,22	5,16
	FP	2,83a	2,44	4,87
	TP	2,17c	1,87	4,73
	PP	1,94d	1,68	4,71
<i>X. campestris</i>	TTP	1,96c	1,69	5,64
	FP	1,82d	1,57	5,58
	TP	2,47b	2,13	5,42
	PP	2,69a	2,32	5,07
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	TTP	1,51c	1,31	4,12
	FP	1,71b	1,48	4,07
	TP	2,03a	1,75	3,84
	PP	1,29d	1,18	3,76

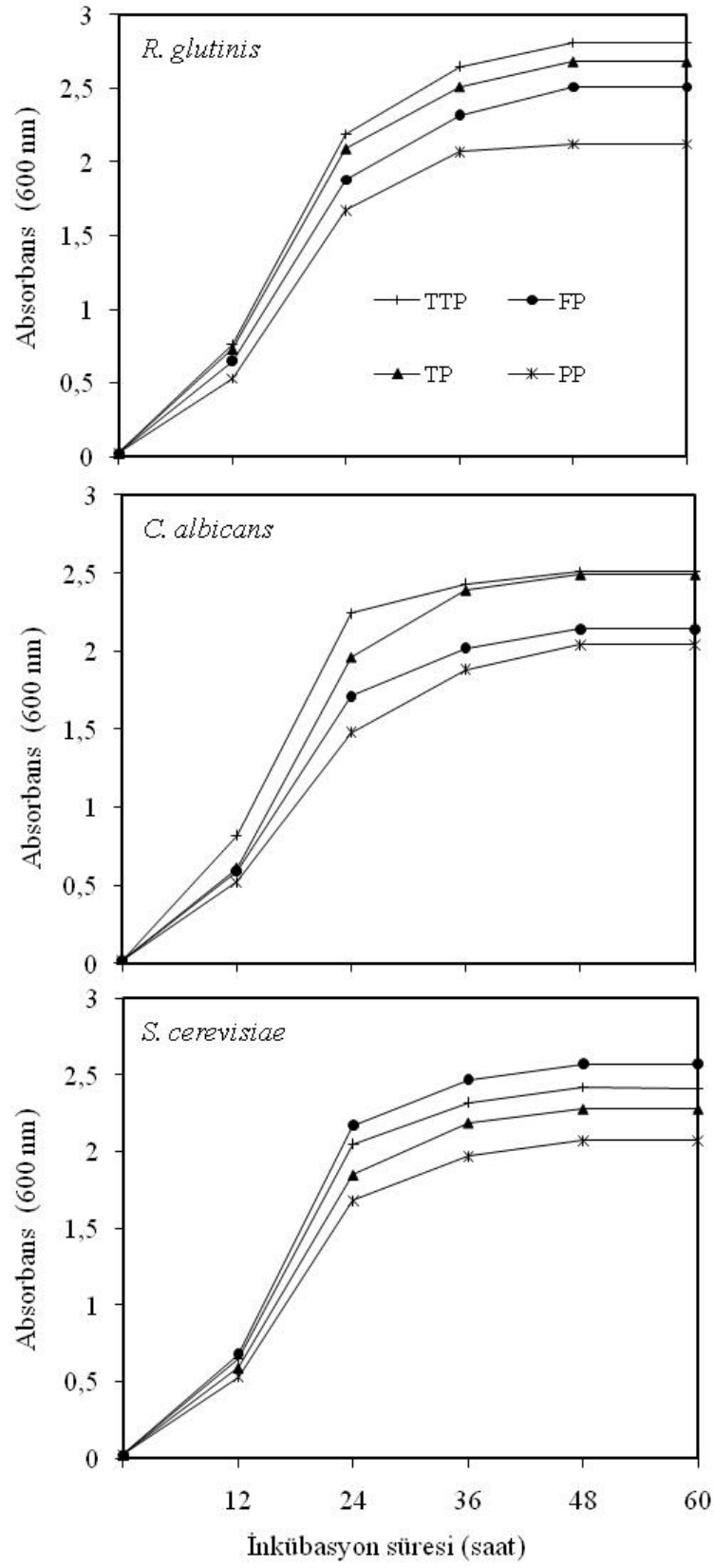
* Bir sütun içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır.

Şekil 4.3 ve 4.4'in yanı sıra Çizelge 4.8'den görülebileceği gibi test mayalarının hepsi pepton besiyerlerinin tamamında gelişme göstermiştir. En yüksek biyomass verimine *R. glutinis* (5,54 g/l) ve *C. albicans* (4,96 g/l) için TTP, *S. cerevisiae* (5,07 g/l) ve *C. laurentii* (5,26 g/l) için FP, *C. famata* (5,03 g/l) içinse TP besiyerinde ulaşılmıştır.

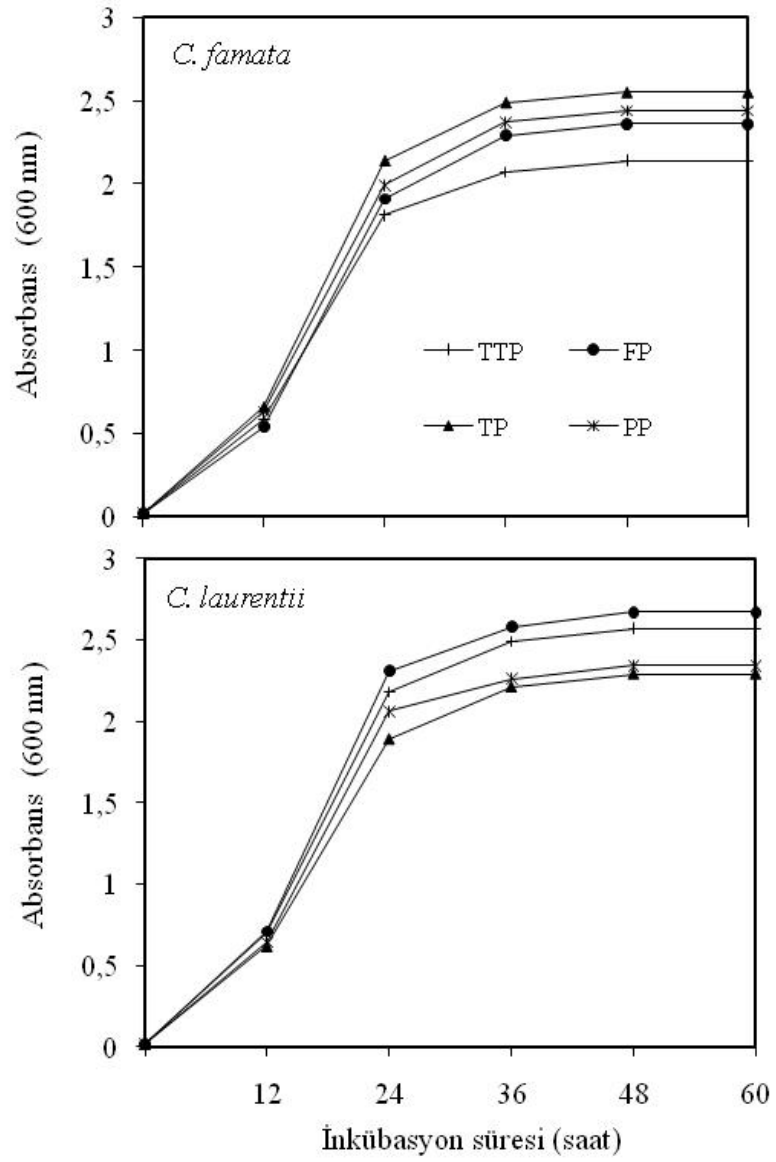
C. albicans için TP besiyerinde elde edilen biyomas verimi (4,91 g/l) ile TTP besiyerinde elde edilen biyomas verimi arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte, inkübasyon 12 ve 24. saatlerinde *C. albicans* hücrelerinin TTP besiyerindeki yoğunluğu TP besiyerindekinden daha yüksek ölçülmüştür. 24 saatin sonunda *C. albicans* TTP besiyerinde 2,24, TP besiyerinde ise 1,96 absorbans oluşturmuştur. Diğer taraftan, *S. cerevisiae* için TTP besiyerinde de

yüksek biyomas verimi (4,76 g/l) elde edilmiştir. *C. famata* için en düşük biyomas verimi TTP besiyerinde (4,22 g/l) bunu takibende FP besiyerinde (4,66 g/l) kaydedilmiştir. Tam aksine, *C. laurentii* için en yüksek biyomas verimleri sırasıyla FP ve TTP besiyerlerinde elde edilmiştir (5,26 g/l ve 5,08 g/l). Bu tür için FP ve TTP besiyerlerinde elde biyomas verimleri istatistikî olarak birbirine yakın bulunmuştur.

Test bakterilerinde olduğu gibi pepton besiyerlerinin hepsinde en hızlı maya büyümesi inkübasyon peryodunun 12 ile 24 saatleri arasında gözlenmiştir. Fakat test bakterilerinin aksine (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* hariç), test mayalarında hücre büyümesi 48 saate kadar devam etmiştir. Diğer taraftan, yukarıda da belirtildiği gibi *C. albicans*, TTP besiyerinde inkübasyonun ilk 12 saatinde de hızlı büyüme performansı göstermiştir.



Şekil 4.3. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen *R. glutinis*, *C. albicans* ve *S. cerevisiae* mayalarının büyüme eğrileri



Şekil 4.4. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen *C. famata* ve *C. laurentii* mayalarının büyüme eğrileri

Çizelge 4.8. TTP ve diğer test peptonlarının sıvı kültürde geliştirilen test mayalarının biyomas verimleri üzerine etkisi

Test mayası	Test peptonu (5 g/l)	Maksimum biyomas miktarı (g/l)	Maksimum absorbans (600 nm)	Final pH
<i>R. glutinis</i>	TTP	5,54a	2,81	4,43
	FP	4,66c	2,51	4,30
	TP	5,19b	2,68	4,09
	PP	4,28d	2,12	4,07
<i>C. albicans</i>	TTP	4,96a	2,51	4,61
	FP	4,22b	2,14	4,56
	TP	4,91a	2,49	4,12
	PP	4,02c	2,04	4,09
<i>S.cerevisiae</i>	TTP	4,76b	2,41	4,63
	FP	5,07a	2,57	4,44
	TP	4,51c	2,28	4,17
	PP	4,08d	2,07	4,05
<i>C. famata</i>	TTP	4,22c	2,14	4,18
	FP	4,66b	2,36	4,18
	TP	5,03a	2,55	4,09
	PP	4,81ab	2,44	4,04
<i>C. laurentii</i>	TTP	5,08a	2,57	4,76
	FP	5,26a	2,67	4,41
	TP	4,52b	2,29	4,38
	PP	4,61b	2,34	4,13

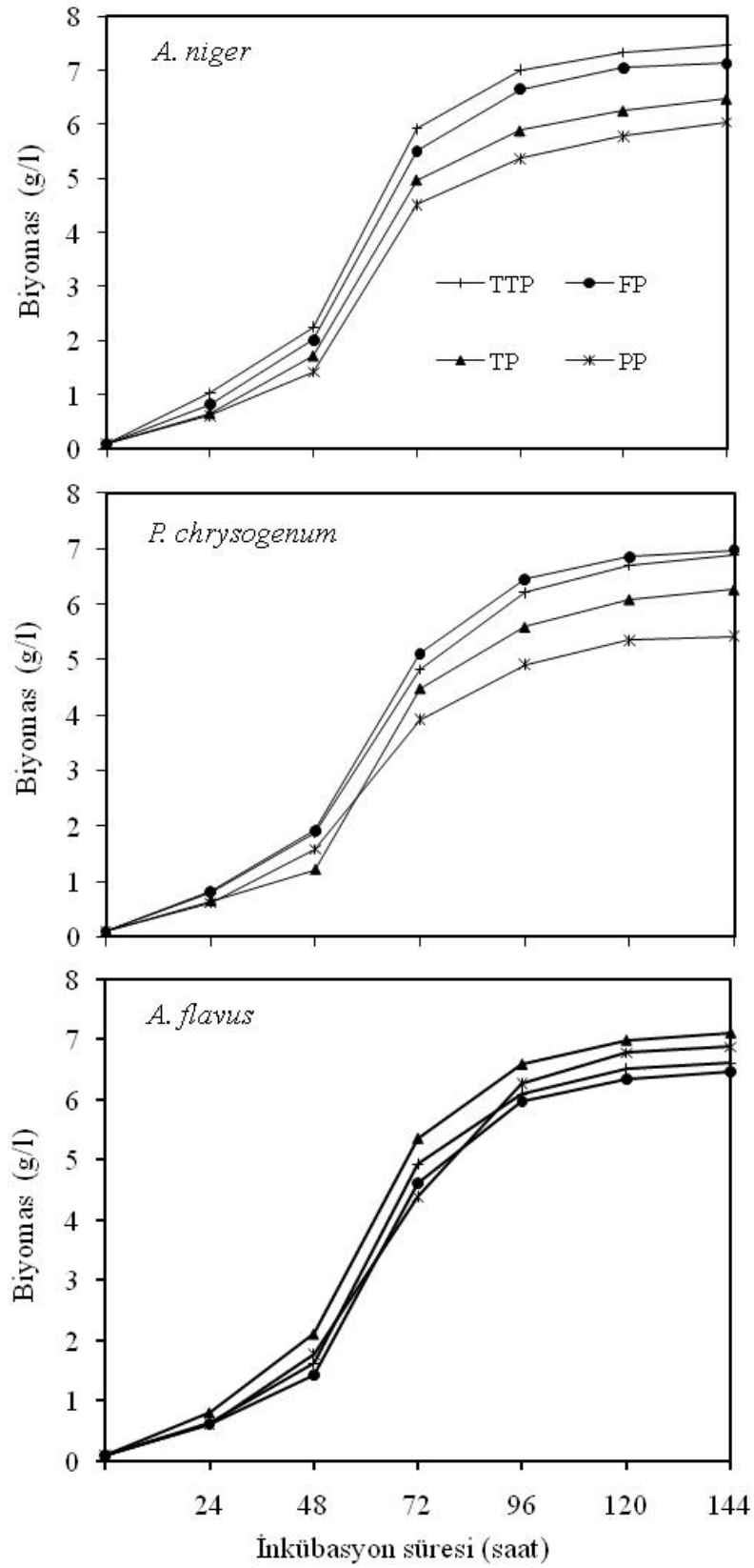
* Bir sütun içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır.

Test küfleri için farklı pepton besiyerlerinde elde edilen biyomas verimleri Şekil 4.5 ve 4.6' nin yanı sıra Çizelge 4.9'de verilmiştir. *A. niger* için en yüksek biyomas verimine TTP besiyeri (7,47 g/l), bunu takibinde FP besiyerinde (7,13 g/l) ulaşılmıştır. Test edilen pepton besiyerlerinin hepsinde en düşük biyomas verimlerini *G. roseum* vermiştir. Bu test küfü için en düşük biyomas verimi TTP besiyerinde (4,52 g/l), bunu takibinde FP besiyerinde (4,97 g/l) elde edilmiştir. En yüksek biyomas verimine *P.chrysogenum* (6,98 g/l) için FP, *A. flavus* (7,11 g/l) ve *G. roseum* (5,39 g/l) için TP, *C. echinulata* (7,06 g/l) içinse PP besiyerinde ulaşılmıştır. Diğer pepton besiyerleriyle karşılaştırıldığında *P. chrysogenum* ve *A. flavus* için TTP besiyerinde de yüksek biyomas verimleri (sırasıyla 6,98 g/l ve 6,61 g/l) elde edilmiştir. Hatta, *P. chrysogenum* için TTP ve FP besiyerinde elde edilen biyomas verimleri arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

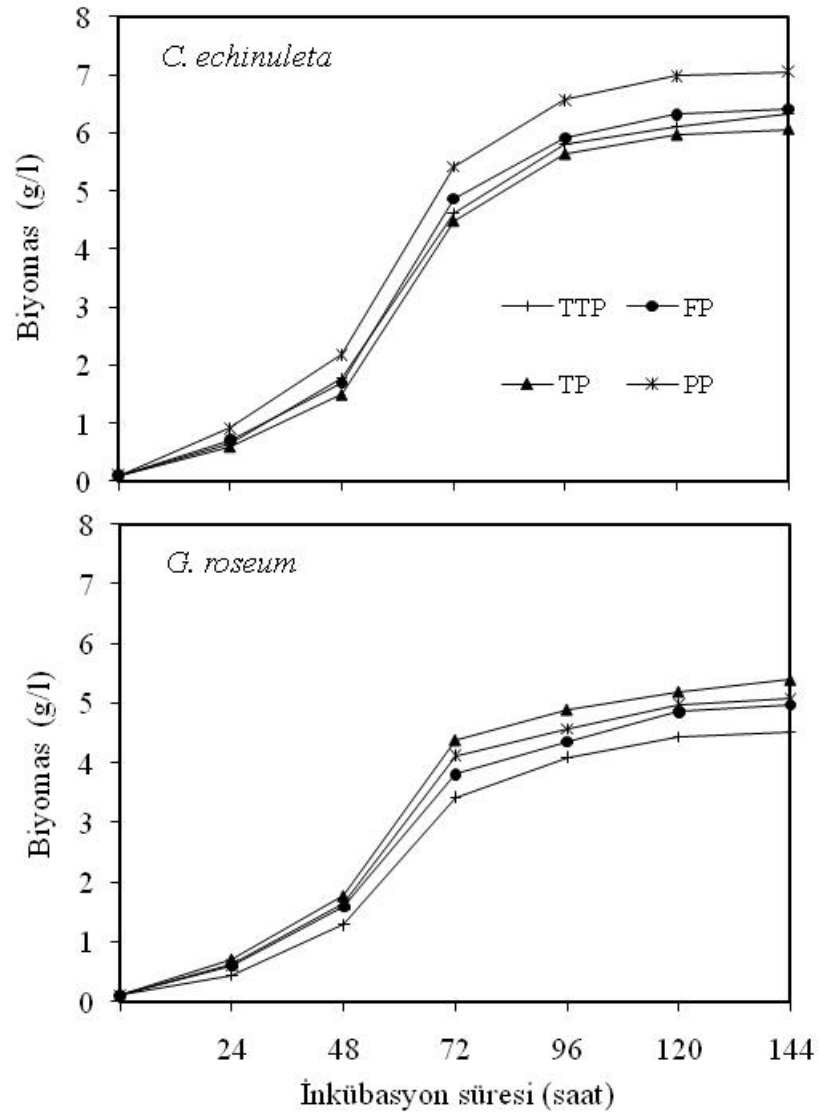
Pepton besiyerlerinin hepsinde test küfleri için en yüksek büyüme performansı inkübasyon peryodunun 48-96 saatleri arasında (özellikle 48-72 saatleri arasında) gözlenmiştir. Aynı besiyerlerinde 96. saatten sonra küf büyümesi yavaşlamış ve 144 saatlik inkübasyonun sonunda da tamamen durmuştur. Hatta, 196. saatte 144. saate oranla bütün besiyerlerinde bütün test küfleri için daha düşük biyomas verimleri elde edilmiştir.

Test peptonlarının test küflerinin misel morfolojisi üzerine etkisi araştırıldığında ise oldukça farklı sonuçlara ulaşılmıştır (Çizelge 4.8). *C. echinulata* için bütün besiyerlerinde yumak şeklinde misel morfolojisi gözlenmiştir. *A. niger* ve *A. flavus* pepton besiyerlerinin hepsinde tektipte pelet meydana getirmiştir. *G. Roseum* ve *P. chrysogenum* TTP ve FP besiyerlerinde tektipte, diğer pepton besiyerlerinde ise tektipte olmayan peletler oluşturmuştur.

Elde edilen tektip peletlerin hacmide her küf için her pepton besiyerinde genellikle farklı bulunmuştur. Tektip peletlerin hacmi *A. niger* için TTP ve FP besiyerlerinde ortalama 3 mm çapında, diğer besiyerlerinde ise 3 mm'den daha büyük bulunmuştur. *P. chrysogenum* ve *A. flavus*, TTP ve FP besiyerlerinde ortalama 2 mm çapında, diğer pepton besiyerlerinde ise 2 mm' den daha büyük tektip peletler meydana getirmiştir.



Şekil 4.5. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen *A. niger*, *P.chrysogenum* ve *A. flavus* küflerinin büyüme eğrileri



Şekil 4.6. Farklı peptonlar üzerinde geliştirilen *C. echinuleta* ve *G. roseum* küflerinin büyüme eğrileri

Diğer taraftan, Çizelge 4,7, 4,8 ve 4,9'den görülebileceği gibi test mikroorganizmalarının geliştirildiği bütün besiyerlerinde final pH' ları başlangıç pH' larından daha düşük bulunmuştur. Örneğin, başlangıç pH' ları 7,3' e ayarlanan TTP, FP, TP ve PP besiyerlerinde *B. subtilis* geliştirildiğinde bu besiyerlerinin final pH' ları sırasıyla 4,64, 4,39, 4,21 ve 4,06 olarak ölçülmüştür. Başlangıç pH' ları 5,6' ya ayarlanan TTP, FP, TP ve PP besiyerlerinin pH' larını *A. niger* sırasıyla 2,05, 2,01, 1,85 ve 1,81'e, *R.glutinis* ise yine sırasıyla 4,43, 4,30, 4,09 ve 4,07'ye düşürmüştür. Bu sonuçlar ayrıca en az pH değişimlerinin TTP ve FP besiyerlerinde meydana geldiğini göstermektedir.

Çizelge 4.9. TTP ve diğer test peptonlarının sıvı kültürde geliştirilen test küflerinin biyomas verimleri üzerine etkisi

Test küfü	Test peptonu (4 g/l)	Maksimum biyomas miktarı (g/l)	Misel morfolojisi	Final pH
<i>A.niger</i>	TTP	7,47a	Tektip pelet (3 mm)	2,05
	FP	7,13b	Tektip pelet (3 mm)	2,01
	TP	6,48c	Tektip pelet (4 mm)	1,85
	PP	6,04d	Tektip pelet (6 mm)	1,81
<i>P.chrysogenum</i>	TTP	6,89a	Tektip pelet (2 mm)	3,94
	FP	6,98a	Tektip pelet (2 mm)	3,91
	TP	6,27b	Tektip olmayan pelet	3,57
	PP	5,42c	Tektip olmayan pelet	3,67
<i>A.flavus</i>	TTP	6,61c	Tektip pelet (2 mm)	3,83
	FP	6,47c	Tektip pelet (2 mm)	3,83
	TP	7,11a	Tektip pelet (3 mm)	3,11
	PP	6,88b	Tektip pelet (4 mm)	3,21
<i>C.echinulata</i>	TTP	6,32b	Yumak	4,33
	FP	6,41b	Yumak	4,29
	TP	6,06c	Yumak	4,06
	PP	7,06a	Yumak	3,89
<i>G.roseum</i>	TTP	4,52c	Tektip pelet (8 mm)	5,11
	FP	4,97b	Tektip pelet (8 mm)	5,08
	TP	5,39a	Tektip olmayan pelet	4,75
	PP	5,07b	Tektip olmayan pelet	4,63

* Bir sütun içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır.

4.6. TTP ve Diğer Standart Peptonların Katı Kültürde Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması

Sıvı kültürde olduğu gibi agar besiyerleri hazırlanırken de besiyerine katılan her peptonun konsantrasyonu bakteriler ve mayalar için litrede 5, küfler için de litrede 4 g'a ayarlanmıştır. Pepton besiyerlerinde geliştirilen test bakterileri ve mayalarının koloni sayım işlemleri inkübasyonun 24, 48 ve 72. saatlerin sonunda gerçekleştirilmiştir.

Bakterilerin koloni sayımlarıyla ilgili olarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10'de verilmiştir. Çizelgede verilen sonuçlardan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* hariç diğer dört test bakterisinin, bütün besiyerlerinde en fazla sayıda koloniyi inkübasyonun ilk 24

saatinde oluşturduğu görülmektedir. Diğer taraftan, sonuçlar besiyerlerinin hepsinde her test bakterisi için en fazla sayıda koloniye 72 saatlik inkübasyonun sonunda ulaşıldığını göstermektedir. Bütün besiyerlerinde her üç inkübasyon periyodunda da bakteri olarak en az sayıda koloniyi *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* meydana getirmiştir.

72 saatlik inkübasyon periyodu sonunda maksimum sayıda koloniye *B. subtilis* (83×10^8 CFU/ml), *S.aureus* (70×10^8 CFU/ml) ve *X. campestris* (32×10^8 CFU/ml) için sırasıyla TTP, FP ve PP besiyerlerinde ulaşılmıştır. Aynı inkübasyon periyodu sonunda *E.coli* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterileri ise maksimum sayıda koloniyi (sırasıyla 81×10^8 ve 110×10^7 CFU/ml) TP besiyerinde oluşturmuştur. Maksimum sayıda koloni *E.coli* için TP ve *S. aureus* içinse FP besiyerinde gözlenmesine rağmen, bu iki bakteri TPP besiyerinde de oldukça yüksek sayıda koloni meydana getirmiştir. Hatta, 24 saatlik inkübasyon periyodunun sonunda *S. aureus*, FP besiyerine oranla TTP besiyerinde daha fazla sayıda koloni oluşturmuştur (sırasıyla 30×10^8 ve 34×10^8 CFU/ml). 24 saatlik inkübasyon periyodunun sonunda *E.coli*'nin TTP besiyerinde meydana getirmiş olduğu koloni sayısı (38×10^8 CFU/ml), TP besiyerine (40 x 10⁸ CFU/ml) istatistiksel olarak son derece yakın bulunmuştur. Gerek sıvı gerekse katı kültürde *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un geliştirilmesi için PP hariç diğer iki standart pepton'un TTP' den daha iyi substrat olduğu tespit edilmiştir.

Diğer taraftan 72 saatlik inkübasyonun sonunda bütün besiyerlerinde her bakteri için ortalama koloni çapı ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 4.12'de verilmiştir. *B. subtilis* için TTP, FP ve TP besiyerinde ortalama 4 mm, PP besiyerinde ise ortalama 3 mm çaplı koloniler gözlenmiştir. *E.coli* için bütün besiyerlerinde ortalama 1 mm çaplı koloniler tespit edilmiştir. *S. aureus*, TTP ve FP besiyerinde ortalama 3 mm, TP ve PP besiyerinde ise ortalama 2 mm çaplı koloniler meydana getirmiştir. TTP besiyeri dahil test edilen pepton besiyerlerinde en küçük çaplı koloniler (<1 mm) *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* için gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. TTP ve diğer standart peptonların katı kültürde test bakterilerini üretme potansiyellerinin karşılaştırılması

Test bakterisi	İnkübasyon süresi (saat)	Test peptonu / Koloni sayısı (CFU/ml)			
		TTP	FP	TP	PP
<i>B.subtilis</i>	24	44 x 10 ⁸ a	37 x 10 ⁸ b	36 x 10 ⁸ b	34 x 10 ⁸ b
	48	71 x 10 ⁸ a	69 x 10 ⁸ a	60 x 10 ⁸ b	51 x 10 ⁸ c
	72	83 x 10 ⁸ a	80 x 10 ⁸ a	66 x 10 ⁸ b	58 x 10 ⁸ c
<i>E.coli</i>	24	38 x 10 ⁸ a	34 x 10 ⁸ b	40 x 10 ⁸ a	21 x 10 ⁸ c
	48	66 x 10 ⁸ ab	62 x 10 ⁸ b	72 x 10 ⁸ a	37 x 10 ⁸ c
	72	75 x 10 ⁸ b	67 x 10 ⁸ c	81 x 10 ⁸ a	44 x 10 ⁸ d
<i>S.aureus</i>	24	34 x 10 ⁸ a	30 x 10 ⁸ b	26 x 10 ⁸ c	131 x 10 ⁷ d
	48	55 x 10 ⁸ a	59 x 10 ⁸ a	46 x 10 ⁸ b	226 x 10 ⁷ c
	72	62 x 10 ⁸ b	70 x 10 ⁸ a	51 x 10 ⁸ c	238 x 10 ⁷ d
<i>X.campestris</i>	24	88 x 10 ⁷ c	63 x 10 ⁷ d	122x10 ⁷ b	15 x 10 ⁸ a
	48	138x10 ⁷ c	117x 10 ⁷ d	196x10 ⁷ b	27 x 10 ⁸ a
	72	160x10 ⁷ c	123x 10 ⁷ d	218x10 ⁷ b	32 x 10 ⁸ a
<i>L.delbrueckii</i> subsp.	24	24 x 10 ⁷ b	25 x 10 ⁷ b	36 x 10 ⁷ a	15 x 10 ⁷ c
	48	78 x 10 ⁷ b	91 x 10 ⁷ a	94 x 10 ⁷ a	46 x 10 ⁷ c
	72	90 x 10 ⁷ c	98 x 10 ⁷ b	110x10 ⁷ a	54 x 10 ⁷ d

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır.

Test mayaların koloni sayımlarıyla ilgili sonuçlar ise Çizelge 4.11 de verilmiştir. Test mayalarının hepsi, bütün besiyerlerinde en fazla sayıda koloniyi inkübasyonun 24- 48 saatleri arasında oluşturmuş ve test bakterilerin de olduğu gibi her test mayasının koloni sayısı inkübasyonun 72 saatinde en yüksek değere ulaşmıştır. Diğer taraftan, *C. albicans* inkübasyonun ilk 24 saatinde de TTP besiyerinde oldukça yüksek sayıda koloni meydana getirmiştir. 72 saatlik büyüme periyodu sonunda en yüksek koloni sayılarına, *R. glutinis* (89 x 10⁵ CFU/ml) ve *C. albicans* (63 x 10⁵ CFU/ml) için TTP, *S.cerevisiae* (61 x 10⁶ CFU/ml) ve *C. laurentii* (78 x 10⁶ CFU/ml) için FP, *C. famata* (50 x 10⁶ CFU/ml) içinse TP besiyerinde ulaşılmıştır.

C.laurentii ve *S.cerevisiae* mayalarında TTP besiyerinde çok iyi gelişme göstermiştir. *C.laurentii* için en yüksek koloni sayılarına FP besiyerinde ulaşılmasına rağmen, bu maya için FP ve TTP besiyerlerinde elde edilen koloni sayıları arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. *C. famata* için en düşük büyüme performansı sıvı besiyerinde olduğu gibi agar besiyerinde de TTP ile kaydedilmiştir.

Çizelge 4.11. TTP ve diğer standart peptonların katı kültürde test mayalarını üretme potansiyellerinin karşılaştırılması

Test Mayası	İnkübasyon süresi (saat)	Test peptonu / Koloni sayısı (CFU/ml)			
		TTP	FP	TP	PP
<i>R.glutinis</i>	24	33 x 10 ⁵ a	20 x 10 ⁵ b	30 x 10 ⁵ a	20 x 10 ⁵ b
	48	80 x 10 ⁵ a	56 x 10 ⁵ b	76 x 10 ⁵ a	44 x 10 ⁵ b
	72	89 x 10 ⁵ a	61 x 10 ⁵ c	83 x 10 ⁵ b	51 x 10 ⁵ d
<i>C.albicans</i>	24	27 x 10 ⁵ a	17 x 10 ⁵ bc	20 x 10 ⁵ b	15 x 10 ⁵ c
	48	56 x 10 ⁵ a	47 x 10 ⁵ c	55 x 10 ⁵ b	33 x 10 ⁵ d
	72	63 x 10 ⁵ a	42 x 10 ⁵ b	60 x 10 ⁵ a	37 x 10 ⁵ c
<i>S.cerevisiae</i>	24	20 x 10 ⁵ b	24 x 10 ⁵ a	20 x 10 ⁵ b	16 x 10 ⁵ c
	48	42 x 10 ⁵ b	53 x 10 ⁵ a	45 x 10 ⁵ b	37 x 10 ⁵ c
	72	47 x 10 ⁵ c	61 x 10 ⁵ a	52 x 10 ⁵ b	39 x 10 ⁵ d
<i>C.famata</i>	24	11 x 10 ⁵ c	15 x 10 ⁵ b	19 x 10 ⁵ a	15 x 10 ⁵ b
	48	28 x 10 ⁵ c	36 x 10 ⁵ b	42 x 10 ⁵ a	37 x 10 ⁵ b
	72	32 x 10 ⁵ c	40 x 10 ⁵ b	50 x 10 ⁵ a	44 x 10 ⁵ b
<i>C.laurentii</i>	24	29 x 10 ⁵ b	33 x 10 ⁵ a	19 x 10 ⁵ c	22 x 10 ⁵ c
	48	69 x 10 ⁵ a	68 x 10 ⁵ a	42 x 10 ⁵ c	49 x 10 ⁵ b
	72	75 x 10 ⁵ a	78 x 10 ⁵ a	46 x 10 ⁵ c	57 x 10 ⁵ b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır.

72 saatlik inkübasyon periyodu sonunda test mayalarının besiyerlerinde oluşturmuş olduğu kolonilerin ortalama çapları Çizelge 4.12’de verilmiştir. *R. glutinis* TTP ve TP besiyerinde ortalama 5 mm çaplı, PP ve FP besiyerinde ise ortalama 3 mm çaplı koloniler meydana getirmiştir. *C. albicans*’ ın kolonilerinin çapları TTP ve TP besiyerlerinde ortalama 4, diğer iki pepton besiyerinde ise ortalama 3 mm olarak ölçülmüştür. *S.cerevisiae*, PP besiyerinde ortalama 3, diğerlerinde ortalama 4 mm çaplı koloniler meydana getirmiştir. *C. laurentii* için bütün besiyerlerinde ortalama 4 mm çaplı koloniler gözlenmiştir. *C. famata* TTP besiyerinde ortalama 2, diğer pepton besiyerlerinde ise ortalama 3 mm çaplı koloniler oluşturmuştur.

Çizelge 4.12. TTP ve diğer standart peptonların test mayaları ve bakterilerinin koloni çapları üzerine etkisi

Test bakterisi/mayası	Test peptonu / Koloni çapı (mm)			
	TTP	FP	TP	PP
<i>B.subtilis</i>	4a	4a	4a	3b
<i>E.coli</i>	1a	1a	1a	1a
<i>S.aureus</i>	3a	3a	2b	2b
<i>X. campestris</i>	2b	2b	3a	3a
<i>L.delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<1	<1	<1	<1
<i>R.glutinis</i>	5a	5a	5a	3b
<i>C.albicans</i>	4a	3b	4a	3b
<i>S.cerevisiae</i>	4a	4a	4a	3b
<i>C.famata</i>	2b	3a	3a	3a
<i>C.laurentii</i>	4a	4a	4a	4a

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P<0,05$ seviyesine göre anlamsızdır.

Pepton besiyerlerinde 196 saatlik inkübasyon periyodu sonunda test küflerinin koloni çaplarıyla ilgili olarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13’ de verilmiştir. 196 saatlik inkübasyon periyodu sonunda *A. niger* miselinin koloni çapı TTP ve FP besiyerlerinde 90 mm’ ye ulaşarak petri yüzeyini tamamen kaplamıştır. Aynı inkübasyon periyodu sonunda bu türün koloni çapı TP ve PP besiyerinde sırasıyla 78 ve 67 mm olarak ölçülmüştür. *P. chrysogenum* koloni çapı TTP ve FP besiyerinde 64, TP ve PP besiyerinde ise 52 mm’ ye ulaşmıştır. *A. flavus* için maksimum koloni çapı TP (76 mm), *G.roseum* içinse PP besiyerinde (48 mm) ölçülmüştür. *C.echinulata* miselinin koloni çapı PP ve FP besiyerlerinde 51, TTP ve TP besiyerlerinde ise 45 mm olarak belirlenmiştir. Bütün besiyerlerinde en düşük koloni çapları *G.roseum* için gözlenmiştir. Sıvı besiyerinde olduğu gibi agar besiyerinde de *G.roseum* küfü için en düşük büyüme performansına TTP neden olmuştur. Dolayısıyla bu tür için en küçük koloni çapı (36 mm) TTP besiyerinde ölçülmüştür.

Bütün pepton besiyerlerinde her test küfü için en hızlı radyal büyüme performansı inkübasyonun 72-144 saatleri arasında tespit edilmiştir. 144. saatten sonra test küflerinin koloni çaplarında agar besiyerlerinde çok fazla bir artış gözlenmemiştir.

Çizelge 4.13. TTP ve diğer standart peptonların agar besiyerinde geliştirilen test küflerinin büyüme performansları üzerine etkisi

Test Küfü	İnkübasyon süresi (Saat)	Test peptonu / Koloni çapı (mm)			
		TTP	FP	TP	PP
<i>A.niger</i>	72	31a	30b	26c	24d
	144	70a	71a	65b	57c
	196	90a	90a	78b	67c
<i>P.chrysogenum</i>	72	22b	23a	18c	17d
	144	55a	52b	42d	45c
	196	64a	64a	52b	52b
<i>A.flavus</i>	72	26a	23b	26a	26a
	144	65a	50d	59c	61b
	196	72c	61d	76a	74b
<i>C.echinulata</i>	72	15b	16a	16a	15b
	144	37c	44a	35d	39b
	196	45b	51a	45b	51a
<i>G.roseum</i>	72	13c	16b	16b	18a
	144	31c	35b	35b	40a
	196	36d	40c	45b	48a

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır.

4.7. Et, Süt, Su ve Toprak Örneklerindeki Toplam Aerobik Mikroorganizma Sayılarının TTP ve Diğer Standart Peptonlarla Hazırlanan Besiyerleri Üzerinde Belirlenmesi

Et, süt, toprak ve su örneklerindeki aerobik mikroorganizmaların sayımı yapılırken, besiyerine eklenen peptonun konsantrasyonu bakteriler ve mayalar için litrede 5, küfler için de litrede 4 g' a ayarlanmıştır. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki aerobik bakterilerin, farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları Çizelge 4.14' de verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi her örnek için bütün besiyerlerinde en yüksek sayıda bakteri kolonisine 72 saatlik inkübasyon sonucunda ulaşılmıştır. Diğer taraftan, su örneği hariç diğer test örneklerinin hepsi en fazla sayıda bakteri kolonisini inkübasyonun ilk 24 saatinde meydana getirmiştir. Su örneği içinse inkübasyonun ilk 24 saatinde hiçbir besiyerinde koloni oluşumu görülmezken inkübasyonun 72. saatinin sonunda dört test besiyerinde de azda olsa koloni meydana gelmiştir.

Su örneği için en yüksek koloni sayıları sırasıyla TP (420 CFU/ml) ve TTP (410 CFU/ml) besiyerlerinde kaydedilmiştir. Süt örneği ise 72 saatlik inkübasyon sonucunda en fazla sayıda bakteri kolonisi (167×10^5 CFU/ml) yine TP besiyerinde oluşturmuştur. Ayrıca, süt örneği için FP ve TTP besiyerlerinde de yüksek sayıda bakteri kolonisine ulaşılmıştır (sırasıyla 152×10^5 ve 148×10^5 CFU/ml).

72 saatlik inkübasyon süresi sonunda et örneği için en yüksek sayıda bakteri kolonisi PP besiyerinde (132×10^5 CFU/g) bunu takibende TTP besiyerinde (116×10^5 CFU/g) gözlenmiştir. Toprak örneğinin pepton besiyerlerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları karşılaştırıldığında ise en yüksek sayıda bakteri kolonisinin TP (49×10^8 CFU/g), bunu takiben de FP (45×10^8 CFU/g) besiyerinde meydana geldiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki aerobik bakterilerin farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları

Örnekler	İnkübasyon süresi (saat)	Test peptonu / koloni sayısı (CFU/ml veya g)			
		TTP	FP	TP	PP
Et	24	50×10^5 ^b	47×10^5 ^c	46×10^5 ^c	61×10^5 ^a
	48	94×10^5 ^b	87×10^5 ^c	79×10^5 ^d	111×10^5 ^a
	72	116×10^5 ^b	108×10^5 ^c	93×10^5 ^d	132×10^5 ^a
Toprak	24	18×10^8 ^{ab}	21×10^8 ^a	23×10^8 ^a	16×10^8 ^b
	48	33×10^8 ^b	39×10^8 ^a	42×10^8 ^a	28×10^8 ^c
	72	38×10^8 ^c	45×10^8 ^b	49×10^8 ^a	33×10^8 ^d
Süt	24	97×10^5 ^b	96×10^5 ^b	105×10^5 ^a	79×10^5 ^c
	48	148×10^5 ^b	152×10^5 ^b	167×10^5 ^a	128×10^5 ^c
	72	189×10^5 ^b	196×10^5 ^b	214×10^5 ^a	157×10^5 ^c
Su	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
	48	31×10 ^b	17×10 ^d	36×10 ^a	24×10 ^c
	72	41×10 ^a	28×10 ^c	42×10 ^a	37×10 ^b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok

Çizelge 4.15’den görülebileceği gibi, su örneği hariç diğer örneklerin hepsi pepton besiyerlerinde en fazla sayıda maya kolonisini inkübasyonun 24 ile 48 saatleri oluşturmuştur. Su örneği ise sadece inkübasyonun 48 ile 72 saatleri arasında pepton besiyerlerinde koloni meydana getirmiştir.

Et örneği bütün besiyerlerinde birbirine yakın sayıda maya kolonisi meydana getirmiştir. Bununla birlikte, aynı örnek için en yüksek ve birbirine eşit sayıda maya kolonisi (16×10^2 CFU/g) TTP ve FP besiyerlerinde gözlenmiştir. Süt örneği en fazla sayıda maya kolonisini (24×10^3 CFU/ml) TP besiyerinde, bunu takinbende sırasıyla FP (22×10^3 CFU/ml) ve TTP besiyerlerinde (19×10^3 CFU/ml) oluşturmuştur. Diğer taraftan, inkübasyonun ilk 24 saatinde süt örneği TP, FP ve TTP besiyerlerinde eşit sayıda koloni (9×10^3 CFU/ml) meydana getirmiştir. Toprak örneği için en yüksek sayıda maya kolonisi FP ve TP besiyerlerinde gözlenmiştir (sırasıyla 34×10^4 ve 29×10^4 CFU/g). Bununla birlikte, toprak örneği TTP besiyerinde de oldukça yüksek sayıda koloni meydana getirmiştir (28×10^4 CFU/g).

Su örneğindeki mayaların sayım işlemleri içinse suyun hiç seyreltilmemiş hali kullanılmıştır. Buna rağmen pepton besiyerlerinin hepsinde çok az sayıda maya kolonisi meydana gelmiştir. TTP ve FP besiyerlerinde 40 CFU/ml, TP ve PP besiyerlerinde ise 20 CFU/ml koloni sayısı elde edilmiştir.

Çizelge 4.15. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki mayaların farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları

Örnekler	İnkübasyon süresi (saat)	Test peptonu/ koloni sayısı (CFU/ml veya g)			
		TTP	FP	TP	PP
Et	24	7×10^3 a	5×10^3 ab	4×10^3 b	3×10^3 b
	48	15×10^3 a	14×10^3 a	12×10^3 b	12×10^3 b
	82	16×10^3 a	16×10^3 a	12×10^3 b	14×10^3 ab
Toprak	24	9×10^4 b	14×10^4 a	11×10^4 b	10×10^4 b
	48	19×10^4 c	31×10^4 a	24×10^4 b	21×10^4 c
	72	28×10^4 b	34×10^4 a	29×10^4 b	25×10^4 c
Süt	24	9×10^3 a	9×10^3 a	9×10^3 a	4×10^3 b
	48	19×10^3 a	19×10^3 a	21×10^3 a	11×10^3 b
	72	19×10^3 b	22×10^3 a	24×10^3 a	14×10^3 c
Su	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
	48	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
	72	4×10 a	4×10 a	2×10 b	2×10 b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok

Test örneklerindeki küflerin pepton besiyerlerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Et örneği en fazla sayıda küf kolonisini FP ve TTP besiyerlerinde meydana getirmiş ve bu besiyerlerinde elde edilen koloni sayılarında birbirine eşit bulunmuştur (23×10^3 CFU/g). Aynı örnek en az sayıda küf kolonisini (16×10^3 CFU/g) TP besiyerinde oluşturmuştur. Toprak örneği içinde en fazla sayıda koloni oluşumu sırasıyla FP (48×10^3 CFU/g), TP (44×10^3 CFU/g), TTP (42×10^3 CFU/g) ve PP (31×10^3 CFU/g) besiyerlerinde gözlenmiştir. Süt örneği en fazla sayıda koloniyi TP (34×10^2 CFU/ml), bunu takibinde FP (32×10^2 CFU/ml) besiyerinde oluşturmuştur. Mayalar da olduğu gibi test küflerinin sayım işlemlerinde de suyun hiç seyreltilmemiş hali kullanılmıştır. Su örneği için en fazla ve birbirine eşit sayıda küf kolonisine (6×10 CFU/ml) TTP ve FP besiyerlerinde ulaşılmıştır. Pepton besiyerlerinin hepsinde küf koloni sayısındaki artış inkübasyon periyodunun 72 ile 144 saatleri arasında en fazla olmuştur. Bütün besiyerlerinde koloni sayıları 196 saatlik inkübasyon periyodunun sonunda en yüksek değerlere ulaşmıştır.

Çizelge 4.16. Et, süt, su ve toprak örneklerindeki küflerin farklı peptonlarla hazırlanan besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları

Örnekler	İnkübasyon süresi (saat)	Test peptonu / koloni sayısı (CFU/ml veya g)			
		TTP	FP	TP	PP
Et	72	7×10^2 a	4×10^2 b	5×10^2 ab	3×10^2 b
	144	19×10^2 a	18×10^2 a	14×10^2 b	15×10^2 b
	196	23×10^2 a	23×10^2 a	16×10^2 c	19×10^2 b
Toprak	72	14×10^4 c	22×10^3 a	17×10^3 b	12×10^4 d
	144	31×10^3 c	46×10^3 a	39×10^3 b	25×10^3 d
	196	42×10^3 b	48×10^3 a	44×10^3 b	31×10^3 c
Süt	72	10×10^2 ab	11×10^2 a	12×10^2 a	8×10^2 b
	144	21×10^2 b	25×10^2 a	27×10^2 a	18×10^2 b
	196	26×10^2 b	32×10^2 a	34×10^2 a	20×10^2 c
Su	72	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
	144	5×10 a	5×10 a	2×10 b	2×10 b
	196	6×10 a	6×10 a	3×10 b	3×10 b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok

4.8. TTP ve Diğer Standart Peptonların Yaralı (İnjured) ve Yaralanmamış Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması

TTP'nin yaralanmış mikroorganizmaların iyileştirilmesinde kullanılabilirliğini ortaya çıkarmak için ilk olarak TTP' in en uygun konsantrasyonu belirlenmiştir. Bunun içinde test mikroorganizmalarının (test bakterileri ve mayaları) normal ve yaralanmış fertleri TTP' nin farklı konsantrasyonları ile zenginleştirilmiş TSA besiyerleri üzerine yüzey ekimi yöntemiyle yayılmıştır. 72 saatlik inkübasyon sonunda agar besiyerlerinde gelişen koloniler sayılmıştır. Agar besiyerlerine ekim yapılırken mikroorganizmaların gerek normal gerekse yaralama işlemine tabi tutulan fertlerinin dilisyon örnekleri hazırlanmıştır.

Yaralama işlemine tabi tutulan test bakterilerinin ve mayalarının TTP' nin farklı konsantrasyonlarında meydana getirmiş olduğu koloni sayıları sırasıyla Çizelge 4.17 ve 4.18'de verilmiştir. Gerek ısı gerekse soğuk şoku uygulamasının bütün test bakterileri ve mayalarının koloni sayılarında önemli derecede düşüslere neden olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ayrıca soğuk şokuna oranla ısı şokunun, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* hariç bütün test bakterileri ve mayalarında daha fazla hasar oluşturduğunda ortaya çıkarmıştır.

Isı şoku uygulanmasından en az etkilenen test mikroorganizması *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* olarak belirlenmiştir. Fakat, ısı şoku uygulamasının aksine soğuk şoku uygulaması bu türün fertlerinde de önemli derecede hasara neden olmuştur. Örneğin, TSA besiyerinde *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*' un normal ve ısı şoku uygulanmış fertleri sırasıyla 36×10^8 ve 31×10^8 CFU/ml sayıda koloni meydan getirirken, aynı türün soğuk şoku uygulanmış fertlerinin bu besiyerinde oluşturmuş olduğu koloni sayısı sadece 78×10^5 CFU/ml de sınırlı kalmıştır. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*'u takiben *B.subtilis*' inde ısı şoku uygulamasından çok az etkilendiği görülmüştür. Diğer taraftan, soğuk şoku uygulamasından en az etkilenen test bakteriside *B.subtilis* olarak belirlenmiştir. TSA besiyerinde *B.subtilis*'in normal fertleri 45×10^9 , ısı ve soğuk şoku ile yaralanmış fertleri ise sırasıyla 56×10^7 ve 112×10^7 CFU/ml koloni oluşturmuştur.

Hem ısı hemde soğuk şoku uygulamasından en az etkilenen test mayası *R.glutinis*, en fazla etkilenen test mayası ise *C.albicans* olmuştur. Test mayası *R.glutinis*'in normal fertleri, ısı uygulanmış fertleri ve soğuk şoku uygulanmış fertleri TSA besiyerinde sırasıyla 32×10^6 , 30×10^4 ve 76×10^4 CFU/ml koloni meydana getirmiştir.

Çizelgelerden de görülebileceği gibi test bakterilerinin ve mayalarının normal gerekse yaralama işlemine tabi tutulmuş fertleri TTP ilave edilmiş TSA besiyerlerinde daha fazla sayıda koloni meydana getirmiştir. Bununla birlikte test mikroorganizmalarının yaralanmış fertleri için en uygun TTP konsantrasyonu 3 g, yaralanmış fertleri içinse 2 g bulunmuştur. Örneğin, *E.coli*' ısı şokuyla yaralanmış fertleri 2 g TTP ilavesi yapılan TSA besiyerinde 97×10^6 , 1 ve 3 g TTP ilavesi yapılan TSA besiyerinde ise sırasıyla 48×10^6 ve 61×10^6 CFU/ml koloni meydana getirmiştir.

Çizelge 4.17. Yaralanmış test bakterileri üzerine TTP' nin farklı konsantrasyonlarının etkisi

Test Bakterisi	İşlem türü	Besiyeri / Koloni sayısı (CFU/ml)			
		TSA	TSA+1g TTP	TSA+2gTTP	TSA+3gTTP
<i>B.subtilis</i>	N	45×10^9 c	67×10^9 b	84×10^9 a	88×10^9 a
	I	56×10^7 d	21×10^8 c	74×10^8 a	58×10^8 b
	S	112×10^7 d	272×10^8 a	96×10^8 b	73×10^8 c
<i>E.coli</i>	N	69×10^9 b	114×10^9 b	186×10^9 a	192×10^9 a
	I	77×10^5 d	48×10^6 c	97×10^6 a	61×10^6 b
	S	36×10^6 d	41×10^7 c	85×10^7 a	57×10^7 b
<i>S. aureus</i>	N	78×10^9 c	127×10^9 b	211×10^9 a	222×10^9 a
	I	33×10^6 d	104×10^7 c	161×10^7 a	114×10^7 b
	S	41×10^6 d	136×10^7 b	178×10^7 a	109×10^7 c
<i>X.campestris</i>	N	33×10^9 d	46×10^9 c	58×10^9 b	69×10^9 a
	I	93×10^5 b	78×10^6 d	116×10^6 a	83×10^6 c
	S	158×10^5 b	121×10^6 c	196×10^6 a	161×10^6 b
<i>L.delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	N	36×10^8 d	71×10^8 c	91×10^8 b	98×10^8 a
	I	31×10^8 d	68×10^9 b	88×10^8 a	61×10^8 c
	S	78×10^5 b	41×10^6 d	88×10^6 a	57×10^6 c

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır. N: Yaralama işlemine tabi tutulmamış I: Isı şoku uygulanmış S: Soğuk şoku uygulanmış

Çizelge 4.18. Yaralanmış test mayaları üzerine TTP' nin farklı konsantrasyonlarının etkisi

Test mayası	İşlem türü	Besiyeri / Koloni sayısı (CFU/ml)			
		TSA	TSA+1g TTP	TSA +2g TTP	TSA +3g TTP
<i>R. glutinis</i>	N	32x10 ⁶ c	46 x10 ⁶ b	57 x10 ⁶ a	61 x10 ⁶ a
	I	30x10 ⁴ d	12x10 ⁵ c	28x10 ⁵ a	16x10 ⁵ b
	S	76x10 ⁴ c	21x10 ⁵ b	39x10 ⁵ a	20x10 ⁵ b
<i>C.albicans</i>	N	24x10 ⁶ d	37x10 ⁶ c	44x10 ⁶ b	51x10 ⁶ a
	I	17x10 ³ d	6x10 ⁴ c	15x10 ⁴ a	10x10 ⁶ b
	S	33x10 ³ d	12x10 ⁴ c	21x10 ⁴ a	16x10 ⁴ b
<i>S.cerevisiae</i>	N	24x10 ⁶ d	31x10 ⁶ c	42x10 ⁶ b	49x10 ⁶ a
	I	20x10 ³ c	4x10 ⁴ bc	18x10 ⁴ a	6x10 ⁴ b
	S	41x10 ³ c	12x10 ⁴ b	27x10 ⁴ a	12x10 ⁴ b
<i>C.famata</i>	N	20x10 ⁶ d	27x10 ⁶ c	35x10 ⁶ b	39x10 ⁶ a
	I	17x10 ³ b	4x10 ⁴ b	11x10 ⁴ a	4x10 ⁴ b
	S	33x10 ³ c	5x10 ⁴ bc	16x10 ⁴ a	7x10 ⁴ b
<i>C.laurentii</i>	N	28x10 ⁶ c	41x10 ⁴ d	51x10 ⁶ b	57x10 ⁶ a
	I	24x10 ³ d	9x10 ⁴ c	22x10 ⁴ a	15x10 ⁴ b
	S	66x10 ³ c	18x10 ⁴ b	32x10 ⁴ a	19x10 ⁴ b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır. N: Yaralama işlemine tabi tutulmamış I: Isı şoku uygulanmış S: Soğuk şoku uygulanmış

TTP ve diğer standart peptonların yaralanmış maya ve bakterilerin iyileştirilmesindeki gücünü ortaya çıkarmak için her test peptonu TSA'ya 2 g olarak eklenmiştir. Yaralanmış ve yaralanmamış test bakterilerinin ve mayalarının TTP ve diğer standart pepton besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları Çizelge 4.19' da verilmiştir.

Yaralanmış test mayaları ve bakterileri (*L. delbrueckii subsp. bulgaricus* bakterisinin ısı şokuna maruz bırakılmış fertleri hariç) inkübasyonun ilk 24 saatinde besiyerlerinin hiçbirinde koloni oluşturmamıştır. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*' un ısı şokuna maruz bırakılmış fertleri inkübasyonun ilk 24 saatinde besiyerlerinin hepsinde koloni meydana getirmiştir.

L. delbrueckii subsp. bulgaricus dahil test bakterilerinin yaralanmış fertleri besiyerlerinin hepsinde en fazla sayıda koloniyi inkübasyonun 24 ile 48 saatleri arasında oluşturmuştur. Bu bakterilerin normal fertleri ise en fazla sayıda koloniyi inkübasyonun ilk 24 saatinde meydana getirmiştir.

Test mayalarının normal fertleri en fazla sayıda koloniye inkübasyonun 24 ile 48, yaralanmış fertleri ise inkübasyonun 48 ile 72 saatleri arasında oluşturmuştur. Diğer taraftan, test mayası *C.albicans*' in yaralanmış fertleri sadece inkübasyonun ilk 24 saatinde değil aynı zamanda 24 ile 48 saatleri arasında da FP ve PP besiyerinde koloni meydana getirmemiştir.

Test bakterilerinin ve mayalarının gerek yaralanmış gerekse normal fertlerinin besiyerlerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları 72 saatlik inkübasyon sonunda en yüksek değerlere ulaşmıştır.

TSA besiyerinin peptonla zenginleştirilmesi test mikroorganizmalarının gerek normal gerekse yaralanmış fertlerinin koloni sayılarında artışa neden olmuştur. Örneğin, *S.auresus*' un normal fertleri TSA, TSA+TTP, TSA+FP, TSA+TP ve TSA+PP besiyerlerinde sırasıyla 78×10^9 , 211×10^9 , 249×10^9 , 196×10^9 ve 147×10^9 CFU/ml, ısı şoku ile yaralanmış fertleri ise yine aynı besiyerlerinde sırasıyla 33×10^6 , 161×10^7 , 186×10^7 , 149×10^7 ve 117×10^7 CFU/ml sayıda koloni meydana getirmiştir.

Test bakterisi olan *B. subtilis*'in gerek ısı gerekse soğuk şoku ile yaralanmış fertlerinin iyileştirilmesi ve koloni sayımlarının gerçekleştirilmesinde en iyi sonuç TTP ile elde edilmiştir. Bu bakterinin ısı şoku ile yaralanmış fertleri TSA+TTP, TSA+FP, TSA+TP ve TSA+PP besiyerlerinde sırasıyla 74×10^8 , 70×10^8 , 50×10^8 ve 36×10^8 CFU/ml, soğuk şoku ile yaralanmış fertleride 96×10^8 , 91×10^8 , 65×10^8 ve 47×10^8 CFU/ml koloni meydana getirmiştir.

Yaralanmış *E.coli* ve *L.delbrueckii subsp. bulgaricus* fertleri için en yüksek koloni sayılarına TP ile zenginleştirilmiş TSA besiyerinde ulaşılmıştır. Örneğin, *E.coli*' nin ısı şoku ile yaralanmış fertlerinin TSA+TTP, TSA+FP, TSA+TP ve TSA+PP besiyerlerinde oluşturmuş oldukları koloni sayıları sırasıyla 97×10^6 , 82×10^6 , 112×10^6 ve 62×10^6 CFU/ml olarak belirlenmiştir.

Gerek ısı gerekse soğuk şoku ile yaralanmış *S.aureus* ve *X. campestris* fertlerinin iyileştirilmesi için en uygun besiyerlerinin sırasıyla TSA+TP ve TSA+PP olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *E.coli* ve *S.aureus*' un normal ve yaralanmış fertleri TSA+TTP besiyerinde de oldukça iyi gelişme göstermiştir.

Yaralanmış veya yaralanmamış *R. glutinis* ve *C. albicans* fertleri en fazla sayıda koloniyi TSA+TTP besiyerinde meydana getirmiştir. Örneğin, TSA+TTP ve TSA+TP besiyerlerinde ısı şoku ile yaralanmış *R. glutinis* fertleri sırasıyla 28×10^4 ve 27×10^4 CFU/ml, *C. albicans* fertleri ise yine aynı besiyerlerinde sırasıyla 15×10^4 ve 14×10^4 CFU/ml sayıda koloni oluşturmuştur. Yaralanmış veya yaralanmamış *S.cerevisiae* ve *C.laurentii* fertleri için en iyi besiyeri olarak TSA+FP, *C.famata* fertleri içinse TSA+TP bulunmuştur.

Test mikroorganizmalarının saf kültürlerinde olduğu gibi et, süt, toprak ve su örneklerindeki mikroorganizmalarda her iki yaralama işleminden olumsuz etkilenmiştir. Yaralama işlemleri sonucunda, test örnekleri inkübasyon periyodunun ilk 24 saatinde pepton besiyerlerinin hiç birinde koloni oluşturmamıştır. Hatta, su örneğindeki yaralanmış mikroorganizmalar inkübasyonun ilk 48 saatinde de pepton besiyerlerinde koloni meydana getirmemiştir. Ayrıca, saf kültürlerde olduğu gibi, bu örnekler içindeki mikroorganizmalarda ısı şoku uygulamasından daha fazla hasar görmüştür. Örneğin, et örneği ısı ve soğuk şoku uygulamaları sonucunda TSA+TTP besiyerinde sırasıyla 50×10^4 ve 102×10^5 CFU/g sayıda bakteri kolonisi oluşturmuştur. Benzer şekilde, ısı ve soğuk şoku uygulamalarına maruz bırakılan toprak örneği TTS+TTP besiyerinde sırasıyla 43×10^2 ve 61×10^3 CFU/g sayıda maya kolonisi meydana getirmiştir.

Çizelge 4.19. Yaralanmış test bakterilerinin TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları

Test bakterisi	İşlem türü	İnkübasyon süresi (saat)	Besiyeri/ Koloni sayısı (CFU/ml)				
			TSA	TSA+TTP	TSA+FP	TSA+TP	TSA+PP
<i>B. subtilis</i>	N	24	27x10 ⁹ c	45x10 ⁹ a	43x10 ⁹ a	33x10 ⁹ b	29x10 ⁹ bc
		48	40x10 ⁹ d	70x10 ⁹ a	70x10 ⁹ a	60x10 ⁹ b	50x10 ⁹ c
		72	45x10 ⁹ d	84x10 ⁹ a	82 x10 ⁹ a	68x10 ⁹ b	57x10 ⁹ c
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	33x10 ⁷ d	40x10 ⁸ a	38x10 ⁸ a	35x10 ⁸ b	32x10 ⁸ c
		72	56x10 ⁷ d	74x10 ⁸ a	70x10 ⁸ a	50x10 ⁸ b	36x10 ⁸ c
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	84 x10 ⁷ e	78x10 ⁸ a	72x10 ⁸ b	49x10 ⁸ c	36x10 ⁸ d
		72	112x10 ⁷ e	96x10 ⁸ a	91x10 ⁸ b	65x10 ⁸ c	47x10 ⁸ d
<i>E. coli</i>	N	24	34x10 ⁹ e	102x10 ⁹ b	86x10 ⁹ c	121x10 ⁹ a	71x10 ⁹ d
		48	58x10 ⁹ e	164x10 ⁹ b	142x10 ⁹ c	176x10 ⁹ a	101x10 ⁹ d
		72	69x10 ⁹ e	186x10 ⁹ b	167x10 ⁹ c	198x10 ⁹ a	125x10 ⁹ d
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	57 x10 ⁵ e	79 x10 ⁶ b	71 x10 ⁶ c	88 x10 ⁶ a	50 x10 ⁶ d
		72	77 x10 ⁵ e	97 x10 ⁶ b	82x10 ⁶ c	112x10 ⁶ a	68x10 ⁶ d
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	21x10 ⁶ e	61x10 ⁷ b	47x10 ⁷ c	89 x10 ⁷ a	35 x10 ⁷ d
		72	36x10 ⁶ e	85x10 ⁷ b	68x10 ⁷ c	102x10 ⁷ a	53 x10 ⁷ d
<i>S. aureus</i>	N	24	42x10 ⁹ d	143x10 ⁹ a	152x10 ⁹ a	122x10 ⁹ b	96x10 ⁹ c
		48	65x10 ⁹ e	192x10 ⁹ b	212x10 ⁹ a	172x10 ⁹ c	119x10 ⁹ d
		72	78x10 ⁹ e	211x10 ⁹ b	249x10 ⁹ a	196x10 ⁹ c	147x10 ⁹ d
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	19x10 ⁶ d	96 x10 ⁷ b	122x10 ⁷ a	96x10 ⁷ b	82x10 ⁷ c
		72	33x10 ⁶ e	161 x10 ⁷ b	186x10 ⁷ a	149x10 ⁷ c	117x10 ⁷ d
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	27x10 ⁶ e	104x10 ⁷ c	156x10 ⁷ a	119x10 ⁷ b	89 x10 ⁷ d
		72	41x10 ⁶ e	178x10 ⁷ b	212x10 ⁷ a	161x10 ⁷ c	135x10 ⁷ d
<i>X. campestris</i>	N	24	18x10 ⁹ d	25x10 ⁹ c	22x10 ⁹ cd	39x10 ⁹ b	45x10 ⁹ a
		48	25x10 ⁹ d	44x10 ⁹ c	39x10 ⁹ c	67x10 ⁹ b	80x10 ⁹ a
		72	33x10 ⁹ d	58x10 ⁹ c	56x10 ⁹ c	85x10 ⁹ b	97x10 ⁹ a
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	75x10 ⁵ e	75x10 ⁶ c	62 x10 ⁶ d	98x10 ⁶ b	144x10 ⁶ a
		72	93 x10 ⁵ e	116x10 ⁶ c	106x10 ⁶ d	178x10 ⁶ b	201x10 ⁶ a
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	107x10 ⁵ e	128x10 ⁶ c	109x10 ⁶ d	176x10 ⁶ b	195x10 ⁶ a
		72	158x10 ⁵ e	196x10 ⁶ c	141x10 ⁶ d	231x10 ⁶ b	272x10 ⁶ a
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	N	24	19x10 ⁸ e	49x10 ⁸ c	61x10 ⁸ b	75x10 ⁸ a	29x10 ⁸ d
		48	27x10 ⁸ e	82x10 ⁸ c	108x10 ⁸ b	121x10 ⁸ a	52x10 ⁸ d
		72	36x10 ⁸ e	91x10 ⁸ c	122x10 ⁸ b	144x10 ⁸ a	67x10 ⁸ d
	I	24	8x10 ⁸ e	22x10 ⁸ c	39x10 ⁸ b	49x10 ⁸ a	15x10 ⁸ d
		48	21x10 ⁸ e	61x10 ⁸ c	87x10 ⁸ b	98x10 ⁸ a	49x10 ⁸ d
		72	31x10 ⁸ d	88 x 10 ⁸ b	112x10 ⁸ a	120x10 ⁸ a	54x10 ⁸ c
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	42x10 ⁵ d	61x10 ⁶ c	72x10 ⁶ b	93x10 ⁶ a	55x10 ⁶ c
		72	78x10 ⁵ d	88x10 ⁶ bc	97x10 ⁶ b	115x10 ⁶ a	81x10 ⁶ c

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok N: Yaralama işlemine tabi tutulmamış I: Isı şoku uygulanmış S: Soğuk şoku uygulanmış

Çizelge 4.20. Yaralanmış test mayaların TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları

Test mayası	İşlem türü	İnkübasyon Süresi (saat)	Besiyeri/ Koloni sayısı (CFU/ml)				
			TSA	TSA+TTP	TSA+FP	TSA+TP	TSA+PP
<i>R. glutinis</i>	N	24	9x10 ⁶ c	16x10 ⁶ a	12x10 ⁶ b	15x10 ⁶ a	11x10 ⁶ b
		48	27x10 ⁶ c	45x10 ⁶ a	39x10 ⁶ b	45x10 ⁶ a	39x10 ⁶ b
		72	32x10 ⁶ d	57x10 ⁶ a	49x10 ⁶ b	55x10 ⁶ a	40x10 ⁶ c
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	13x10 ⁴ d	16x10 ⁵ a	9x10 ⁵ b	14x10 ⁵ a	5x10 ⁵ c
		72	30x10 ⁴ d	28x10 ⁵ a	22x10 ⁵ b	27x10 ⁵ a	14x10 ⁵ c
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	30x10 ⁴ c	16x10 ⁵ a	11x10 ⁵ b	15x10 ⁵ a	9x10 ⁵ b
		72	76x10 ⁴ d	39x10 ⁵ a	30x10 ⁵ b	37x10 ⁵ a	20x10 ⁵ c
<i>C. albicans</i>	N	24	7x10 ⁶ c	17x10 ⁶ a	9 x10 ⁶ bc	11 x10 ⁶ b	11 x10 ⁶ b
		48	20x10 ⁶ c	38x10 ⁶ a	27 x10 ⁶ b	36 x10 ⁶ a	26 x10 ⁶ b
		72	24 x10 ⁶ c	44 x10 ⁶ a	33 x10 ⁶ b	41 x10 ⁶ a	27 x10 ⁶ c
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	4x10 ⁴ a	6x10 ⁴ a	ÜY	4x10 ⁴ a	ÜY
		72	17 x10 ³ c	15 x10 ⁴ a	11x10 ⁴ b	14x10 ⁴ a	10x10 ⁴ b
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	15x10 ³ c	9x10 ⁴ a	4x10 ⁴ b	8x10 ⁴ a	2x10 ⁴ bc
		72	33 x10 ³ d	21x10 ⁴ a	16x10 ⁴ b	19x10 ⁴ ab	12x10 ⁴ c
<i>S. cerevisiae</i>	N	24	8x10 ⁶ c	17x10 ⁶ b	24x10 ⁶ a	19x10 ⁶ b	17x10 ⁶ b
		48	20x10 ⁶ d	38 x10 ⁶ c	56 x10 ⁶ a	50 x10 ⁶ b	36x10 ⁶ c
		72	24 x10 ⁶ e	42 x10 ⁶ c	64 x10 ⁶ a	55 x10 ⁶ b	36 x10 ⁶ d
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	8 x10 ³ c	7x10 ⁴ b	11 x10 ⁴ a	12 x10 ⁴ a	6 x10 ⁴ b
		72	20 x10 ³ e	18 x10 ⁴ c	23x10 ⁴ b	27x10 ⁴ a	15 x10 ⁴ d
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	18 x10 ³ d	12x10 ⁴ b	14x10 ⁴ ab	16x10 ⁴ a	8x10 ⁴ c
		72	41x10 ³ e	27x10 ⁴ c	34x10 ⁴ b	38x10 ⁴ a	21x10 ⁴ d
<i>C. famata</i>	N	24	7x10 ⁶ e	16x10 ⁶ b	22x10 ⁶ a	17x10 ⁶ b	13x10 ⁶ d
		48	16x10 ⁶ d	29x10 ⁶ c	39x10 ⁶ a	36x10 ⁶ b	30x10 ⁶ c
		72	20x10 ⁶ c	35x10 ⁶ g	46x10 ⁶ a	41x10 ⁴ d	38x10 ⁴ d
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	7 x10 ³ d	5x10 ⁴ b	11x10 ³ c	8x10 ⁴ a	4x10 ⁴ b
		72	17 x10 ³ e	11x10 ⁴ d	23x10 ⁴ a	19x10 ⁴ b	14x10 ⁴ c
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	13x10 ³ d	7x10 ⁴ c	15x10 ⁴ a	12x10 ⁴ b	9x10 ⁴ c
		72	33 x10 ³ e	16x10 ⁴ d	33x10 ⁴ a	27x10 ⁴ b	20x10 ⁴ c
<i>C. laurentii</i>	N	24	10x10 ⁶ d	19x10 ⁶ b	23x10 ⁶ a	20x10 ⁶ ab	16x10 ⁶ c
		48	23x10 ⁶ c	44x10 ⁶ b	50x10 ⁶ a	45x10 ⁶ ab	48x10 ⁶ a
		72	28x10 ⁶ c	51x10 ⁶ b	59x10 ⁶ a	48x10 ⁶ b	55x10 ⁶ ab
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	7x10 ⁴ bc	9x10 ⁴ ab	12x10 ⁴ a	5x10 ⁴ c	9x10 ⁴ ab
		72	24 x10 ³ d	22x10 ⁴ b	26x10 ⁴ a	16x10 ⁴ c	20x10 ⁴ b
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	28x10 ³ d	14x10 ⁴ a	16x10 ⁴ a	7 x10 ⁴ c	11x10 ⁴ b
		72	66 x10 ³ d	32x10 ⁴ b	40x10 ⁴ a	26x10 ⁴ c	31x10 ⁴ b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok N: Yaralama işlemine tabi tutulmamış I: Isı şoku uygulanmış S: Soğuk şoku uygulanmış

Çizelge 4.21. Et, süt, toprak ve su örneklerindeki yaralanmış bakterilerin TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları

Test örneği	İşlem türü	İnkübasyon süresi (saat)	Besiyeri/ Koloni sayısı (CFU/ml veya g)				
			TSA	TSA+TTP	TSA+FP	TSA+TP	TSA+PP
Et	N	24	16x10 ⁶ d	33 x10 ⁶ b	25 x10 ⁶ c	29 x10 ⁶ bc	38 x10 ⁶ a
		48	30x10 ⁶ d	59 x10 ⁶ a	42 x10 ⁶ c	50 x10 ⁶ b	60 x10 ⁶ a
		72	35x10 ⁶ e	63x10 ⁶ b	49x10 ⁶ d	55x10 ⁶ c	70x10 ⁶ a
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	57x10 ³ c	28x10 ⁴ a	23x10 ⁴ b	24x10 ⁴ b	30x10 ⁴ a
		72	103x10 ³ d	50x10 ⁴ b	43x10 ⁴ c	47x10 ⁴ bc	54x10 ⁴ a
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	65x10 ⁴ d	59x10 ⁵ b	50x10 ⁵ c	54x10 ⁵ bc	76x10 ⁵ a
		72	121x10 ⁴ e	102x10 ⁵ b	89x10 ⁵ d	95x10 ⁵ c	128x10 ⁵ a
Toprak	N	24	17x10 ⁹ e	24x10 ⁹ c	29x10 ⁹ b	32x10 ⁹ a	21x10 ⁹ d
		48	27x10 ⁹ c	39x10 ⁹ b	45x10 ⁹ a	47x10 ⁹ a	36x10 ⁹ b
		72	31x10 ⁹ d	42x10 ⁹ c	48x10 ⁹ b	52x10 ⁹ a	40x10 ⁹ c
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	76x10 ⁵ e	20x10 ⁶ c	25 x10b	29x10 ⁶ a	16x10 ⁶ d
		72	147x10 ⁵ d	33x10 ⁶ c	37x10 ⁶ b	48x10 ⁶ a	30x10 ⁶ c
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	90x10 ⁶ e	109x10 ⁷ c	116x10 ⁷ b	140x10 ⁷ a	102x10 ⁷ d
		72	176x10 ⁶ d	152x10 ⁷ b	155 x10 ⁷ b	164x10 ⁷ a	141x10 ⁷ c
Süt	N	24	32x10 ⁶ d	43x10 ⁶ c	51x10 ⁶ b	59x10 ⁶ a	40x10 ⁶ c
		48	60x10 ⁶ d	70x10 ⁶ c	92x10 ⁶ b	109x10 ⁶ a	75x10 ⁶ c
		72	67x10 ⁶ d	83x10 ⁶ c	106x10 ⁶ b	125x10 ⁶ a	78x10 ⁶ c
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	75x10 ³ c	40x10 ⁴ b	48x10 ⁴ a	53x10 ⁴ a	37x10 ⁴ b
		72	147x10 ³ e	76x10 ⁴ c	89x10 ⁴ b	97x10 ⁴ a	65x10 ⁴ d
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	98x10 ³ e	60x10 ⁴ c	73x10 ⁴ b	82x10 ⁴ a	51x10 ⁴ d
		72	185 x10 ³ e	106x10 ⁴ c	117x10 ⁴ b	146x10 ⁴ a	91x10 ⁴ d
Su	N	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	36x10c	59x10a	57 x10a	38 x10b	36 x10b
		72	57x10c	71x10a	71x10a	63x10b	63x10b
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		72	15 x10c	26 x10a	25 x10a	20 x10b	19 x10bc
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		72	24 x10c	44 x10a	42x10a	29 x10b	29 x10b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok N: Yaralama işlemine tabi tutulmamış I: Isı şoku uygulanmış S: Soğuk şoku uygulanmış

Çizelge 4.22. Et, süt, toprak ve su örneklerindeki yaralanmış mayaların TTP ve diğer standart peptonlar üzerinde oluşturmuş olduğu koloni sayıları

Test örneği	İşlem türü	İnkübasyon Süresi (saat)	Besiyeri/ Koloni sayısı (CFU/ml veya g)				
			TSA	TSA+TTP	TSA+FP	TSA+TP	TSA+PP
Et	N	24	13x10 ³ c	20x10 ³ a	17x10 ³ b	17x10 ³ b	20x10 ³ a
		48	28x10 ³ c	44x10 ³ a	40x10 ³ ab	36x10 ³ b	43x10 ³ a
		72	32x10 ³ c	50x10 ³ a	49x10 ³ a	41x10 ³ b	44x10 ³ b
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	3x10d	30x10a	27x10ab	22x10c	25x10b
		72	12x10d	66x10a	61x10b	49x10c	53x10c
	S	24	ÜY	ÜY x10	ÜY	ÜY	ÜY
		48	19x10c	7x10 ² a	7x10 ² a	4x10 ² b	3x10 ² b
		72	45x10c	17x10 ² a	16 x10 ² a	11 x10 ² b	11 x10 ² b
Toprak	N	24	14x10 ⁴ c	21x10 ⁴ b	25x10 ⁴ a	21x10 ⁴ b	12x10 ⁴ c
		48	36x10 ⁴ d	49x10 ⁴ b	61x10 ⁴ a	53x10 ⁴ b	43x10 ⁴ c
		72	41x10 ⁴ e	53x10 ⁴ c	67x10 ⁴ a	58x10 ⁴ b	49x10 ⁴ d
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	8x10 ² d	19x10 ² c	24x10 ² b	30x10 ² a	17x10 ² c
		72	18x10 ² e	43x10 ² c	51x10 ² b	64x10 ² a	37x10 ² d
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	16x10 ³ e	27x10 ³ c	34x10 ³ b	43x10 ³ a	23x10 ³ d
		72	45x10 ³ e	61x10 ³ c	72x10 ³ b	88x10 ³ a	54x10 ³ d
Süt	N	24	20x10 ³ d	33x10 ³ b	36x10 ³ b	42x10 ³ a	28 x10 ³ c
		48	55x10 ³ d	74x10 ³ b	74x10 ³ b	89x10 ³ a	62x10 ³ c
		72	61x10 ³ d	81x10 ³ b	83x10 ³ b	96x10 ³ a	70x10 ³ c
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	18x10e	42x10c	4x10 ² b	7x10 ² a	31x10d
		72	57x10e	93x10c	13x10 ² b	16 x10 ² a	82x10d
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	36x10e	6x10 ² c	16x10 ² b	23x10 ² a	3x10 ² d
		72	94x10e	15x10 ² c	40x10 ² b	48x10 ² a	11x10 ² d
Su	N	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	6x10b	9x10a	9 x10a	8 x10ab	7 x10ab
		72	7x10b	11x10a	11x10a	8x10ab	8x10ab
	I	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		72	2 x10b	6 x10a	6 x10a	4 x10ab	3 x10b
	S	24	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		48	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY	ÜY
		72	4 x10b	8 x10a	7 x10a	6 x10ab	6 x10ab

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, P<0,05 seviyesine göre anlamsızdır. ÜY: Üreme yok N: Yaralama işlemine tabi tutulmamış I: Isı şoku uygulanmış S: Soğuk şoku uygulanmış

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Mikroorganizmaların Genel Besin İhtiyaçları

Mikrobiyal hücrelerin kuru ağırlığının çoğunluğu makroelementler olarak bilinen karbon, oksijen, hidrojen, azot, kükürt, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve demirden meydana geldiği ve bu elementlerden ilk altısında (C, O, H, N, S ve P) karbonhidratların, lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısına katıldığı bilinmektedir. Makroelementlerden olan C, hücre yapı elemanı olarak işlev görmesinin yanı sıra hücrelerde temel enerji kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Organik moleküllerde C, hidrojen ve oksijenle birlikte bulunduğundan dolayı organik moleküller C' nun yanı sıra bu iki elementide mikroorganizmalara sağlamaktadır. Azot (N) aminoasitlerin, pürinlerin, pirimidinlerin, enzim kofaktörlerinin, bazı karbonhidrat ve lipidlerin sentezinde kullanılırken, fosfor (P) nükleik asitlerin, fosfolipitlerin, ATP'nin, bir çok kofaktörün ve bazı proteinlerin yapısına katılmaktadır. Sülfür (S) sistein, metiyonin, biyotin ve tiyaminin yanı sıra bazı karbonhidratların sentezi için gereklidir. Geriye kalan dört makroelement hücrelerde katyon olarak bulunmakta ve birçok rol üstlenmektedir. Örneğin potasyum (K^+), protein sentezinde görev alan enzimler dahil bir çok enzimin aktivitesi için gereklidir. Magnesium (Mg^{+2}) bir çok enzim için kofaktör olarak işlev görmesi ve ATP ile kompleks yapmasının yanı sıra ribozomları ve hücre zarlarını stabil hale getirme gibi özelliklere de sahiptir. Demir stokramların bir kısmını oluşturur, elektron taşıma proteinleri ve enzimler için de bir kofaktör olarak işlev görür. Diğer taraftan, Na elementide bir makroelement olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu elemente mikroorganizmaların hepsi değil sadece bazıları ihtiyaç duymaktadır. Makroelementlerin yanı sıra mikroorganizmalar manganez, çinko, kobalt, molibden, nikel ve bakır gibi bazı mikroelementlere de ihtiyaç duyabilmektedirler. Mikroelementler enzimlerin ve kofaktörlerin bir parçası olup, protein yapısının muhafaza edilmesine ve reaksiyonların katalizine yardım eder. Örneğin, manganez (Mn^{+2}) fosfat gruplarının transferini katalizleyen çok sayıda enzime yardım eder, kobalt ise vitamin B₁₂'nin yapısına katılır (Brock *et al.*, 1994; Prescott *et al.*, 2002).

Bu doğrultuda, mikroorganizmalara yukarıda bahsedilen elementleri sağlamak için bu elementlerin tuzları ya da bu elementleri içeren organik maddeler besiyerlerine katılmaktadırlar. Örneğin, mikroorganizmaların karbon ihtiyacını karşılamak için besiyerlerine genellikle glikoz, sukroz ve laktoz gibi şekerler ya da bu şekerleri içeren melas, mısır maserasyon sıvısı ve peynir altı suyu gibi organik maddeler eklenmektedir. Melas, mısır maserasyon sıvısı ve peynir altı suyu mikroorganizmalara ayrıca azotlu bileşikleri, vitaminleri ve bazı makro ve mikro elementleride sağlamaktadır (Hamano and Kilikian 2006; Dhillon *et al.*, 2007; Aksu and Eren 2007; Josh *et al.*, 2008).

Maya ekstratı, malt ekstratı ve pepton gibi maddeler yine besiyerlerinde organik azot kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, amonyum klorür, amonyum sülfat ve sodyum nitrat gibi inorganik tuzlarda mikroorganizmaların azot ihtiyacını karşılamak için besiyerlerine katılmaktadır. Özellikle, pepton bazı makro ve mikroelementleride içerdiğinden dolayı besiyerlerinde mineral elementlerin kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Makroelementler olan S, P, Mg, K, Ca ve Fe ile mikroelementler olan Mn, Zn, Co ve Cu besiyerlerine ayrıca $MgSO_4$, KH_2PO_4 , $CaCl_2$, $FeSO_4$, $MnSO_4$, $CoSO_4$, $ZnSO_4$ ve $CuSO_4$ gibi mineral tuzlar şeklinde de katılmaktadır (Hwang *et al.*, 2003; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2004; Kodam *et al.*, 2005; Revankar and Lele 2007; Mahanta *et al.*, 2008).

5.2. Test Mikroorganizmalarının Seçimi

Tavuk tüyü peptonunun mikroorganizmaların yetiştirilmesinde başta azot olmak üzere diğer besinsel maddelerin bir kaynağı olarak kullanılabilirliğini kanıtlanmak için, 5 tane küf, 5 tane bakteri ve 5 tanede maya test mikroorganizması olarak seçilmiştir. Test mikroorganizmalarının tıbbi, endüstriyel veya biyoteknolojik açıdan öneme sahip olmalarına dikkat edilmiştir.

Araştırmada kullanılan test bakterilerinden 3 tanesi (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*) gram pozitif, diğer 2 tanesi ise (*Escherichia coli* ve *Xanthomonas campestris*) gram negatiftir. Bu türler içerisinde *B.*

subtilis ve *X. campestris* aerobik, *E. coli*, *S. aureus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* fakültatif anaerobiktir. Yine bu bakterilerden *B. subtilis* spor oluşturma özelliğine sahiptir. *E. coli*, *B. subtilis*, *X. campestris* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* çubuk, *S. aureus* ise kok şeklindedir (Bilgehan 1992; Kurbanoglu 1999; Kadota *et al.*, 2000).

Test bakterilerinden *B. subtilis* mannaz, pektinaz, alfa amilaz ve proteaz gibi enzimlerin yanı sıra Poly- γ -glutamic acid, hyaluronik asit, biyosurfaktant ve karotenoid (Soares *et al.*, 2005; Chien and Lee 2007; Barros *et al.*, 2008; Ahlawat *et al.*, 2009; Rajagopalan and Krishnan 2009; Yoshida *et al.*, 2009; Yan *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ise linoleik asit, laktik asit ve polisakkarit üretiminin yanı sıra ekmek ve peynir yapımında, yoğurt starter kültürlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır (Chakraborty *et al.*, 1999; Welman *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2005; Soomro and Masud 2008; Plessas *et al.*, 2008; Katechaki *et al.*, 2010). En önemli bitki potensillerinden birisi olarak kabul edilen *X. campestris*' de inüla ve ksantan glikan üretiminde kullanılmaktadır (Kadota *et al.*, 2000; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2007; Naidoo *et al.*, 2009).

E. coli rekombinant DNA teknolojisi için hem bir araç hemde üzerinde çalışılan bir nesnedir. Bakteriler için bir model mekanizma olarak kabul edildiğinden dolayı, bakterilerin transkripsiyon, translasyon, restriksiyon ve replikasyon gibi mekanizmalarının ortaya çıkarılmasında ve genetik kodun çözülmesinde kullanılmaktadır. *E. coli* ayrıca rekombinant DNA teknolojisinin yardımıyla insan insülinin, enzimlerin ve antibiyotiklerin üretiminde de kullanılmaktadır (Jones and Fayerman, 1987; Kolisnychenko *et al.*, 2002). Diğer taraftan, besinlerden, sudan, hastane ortamından ve insandan insana bulaşabilen *E. coli* insanlar üzerinde patojenite gösterebilmekte ve özellikle idrar yolu enfeksiyonlarının temel etkeni olarak bilinmektedir. *E. coli* ayrıca yeni doğan bebeklerde ve küçük çocuklarda sepsise ve menenjitte de sebep olabilmektedir (Griffin 1995; Huang *et al.*, 2002; Hagan and Mobley 2007). Bu sebeplerden dolayı *E. coli* biyoteknolojik, endüstriyel ve tıbbi açıdan önem taşımaktadır. Diğer bir test bakterisi olan *S. aureus* besin zehirlenmelerinin

yanısıra, yüzeysel ve derin deri hastalıklarına, yumuşak doku enfeksiyonlarına ve endokarditise neden olmaktadır (Wieneke *et al.*, 1993; Yoke-Kqueen *et al.*, 2006).

Şimdiye kadar yapılan birçok çalışma *Aspergillus niger* küfünün tek hücre proteini, çeşitli organik asitler (sitrik asit, oksalik asit ve glukonik asit) ve enzimler (glukoz oksidaz, lipaz, sellülaz, inülaz)' in üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir (Zayed and Mostafa 1992; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2004; Mandal and Banerjee 2005; Singh *et al.*, 2005; Kango 2008; Bankar *et al.*, 2009, Sohail *et al.*, 2009; Colin *et al.*, 2010). Test küflerinden *Penicillium chrysogenum* alfa amilaz, lipaz ve kitinaz gibi enzimlerin yanısıra penisilin antibiyotiğinin (Chopra 1980; Ariyoa *et al.*, 1998; Patidar *et al.*, 2005; Balkan and Ertan 2007), *Aspergillus flavus* kojik asit ve aflatoksinin yanı sıra invertaz, heparinaz ve alfa amilaz gibi enzimlerin (Wilson and King 1995; Rosfarizan *et al.*, 1998; Matrai *et al.*, 2000; Poorna and Neelesh 2001; Banga and Tripathi 2009) üretiminde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Diğer test küflerinden *Gliocladium roseum* biyotransformasyon, biyokontrol ve gen ekspresyon çalışmalarının yanı sıra hidrokarbon ve metabolit üretiminde (Burgess and Keane 1997; Garcia-Granados *et al.*, 2001; Dong *et al.*, 2006; Gan *et al.*, 2007; Strobel *et al.*, 2008), *Cunninghamella echinulata* ise gamma-linolenic acid üretiminde ve biyotransformasyon çalışmalarında (Fakas *et al.*, 2008; Xin *et al.*, 2009, Pekala *et al.*, 2009) kullanılmaktadır.

Test mayalarından *Saccharomyces cerevisiae* mannan, farnesol, etil alkol, etilen, mandelik asit, ergosterol ve glutatyon (Roukas 1996; Li *et al.*, 2007; Shang *et al.*, 2007; Pirkov *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009, Muramatsu *et al.*, 2009), *Rhodotorula glutinis* fenilalanin, invertase, karotenoid ve lipid (Yamada *et al.*, 1981; Maria *et al.*, 2002; Tinoi *et al.*, 2005; Xue *et al.*, 2008), *Cryptococcus laurentii* polisakkarit ve piytag (Dudikova and Kolarova 2006; Pavlova *et al.*, 2008), *Candida famata* ise D-talitol ve flavin mononükleotit (Sasahara *et al.*, 1998; Yatsyshyn *et al.*, 2010) üretiminde kullanılmaktadır. Diğer taraftan *Cryptococcus laurentii* ve *Candida famata* insanlarda fungal hastalıklara (Kremery and Kunova 2000; Cheng *et al.*, 2001) neden olduklarından dolayı, klinik mikrobiyoloji açısından da önem taşımaktadırlar. Diğer bir

test mayası olan *Candida albicans*, en yaygın fungal patojen ve insanlardaki fungal enfeksiyonların çoğunluğunun sebebi olarak bilinmektedir (Martin 1999).

5.3. Peptonlar ve Tavuk tüyü

Yaşayan tüm hücrelerde olduğu gibi mikroorganizmalarda azot, karbon, tuzlar ve diğer besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. İstisnalar dışında mikroorganizma gruplarının oldukça büyük bir bölümü, proteinleri azot kaynağı olarak kolaylıkla kullanamaz. Bu nedenle azotlu bileşikler, çok daha kolay kullanabildikleri protein hidrolizatlarından sağlarlar. Pepton terimi, proteinlerin hidroliz edilmesiyle elde edilen ürünlere verilen genel isimdir. Peptonlar mikroorganizmaların yetiştirilmesinde ve onlardan değerli ürünlerin üretilmesinde kullanılan en önemli besiyeri bileşenlerindendir. Peptonların bileşiminde organik azot başta olmak üzere şeker, vitaminler ve mineral maddelerde bulunmaktadır (Halkman 2005).

Bu araştırmada, tavukçuluk sektörünün atık ürünlerinden birisi olan tavuk tüyünden pepton üretimi ve üretilen peptonun mikroorganizmaların yetiştirilmesinde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Giriş bölümünde de ifade edildiği gibi bitkisel ya da hayvansal orijine sahip çeşitli organik maddeler pepton üretiminde kullanılabilmektedir (Parrado *et al.*, 1993; Reissbrodt *et al.*, 1995; Nedkov 1998; Martone *et al.*, 2005; Uzehi *et al.*, 2006). Bu doğrultuda araştırmacılar son zamanlarda yapısında büyük oranda fibroz protein içeren hayvansal orijinli atıkları pepton üretiminde kullanma yoluna gitmişlerdir (Kurbanoglu and Kurbanoglu 2002; Vasileva-Tonkova *et al.*, 2007).

Bu araştırma fibröz protein (keratin halinde) bakımından oldukça zengin olan tavuk tüyünün bir besiyeri bileşeni olan peptonun üretiminde kullanılabilirliğini incelemesi açısından bir ilki oluşturmaktadır.

Yapılan çalışmalar tavuk tüyünün yaklaşık olarak %90'nının bir fibroz protein olan keratin den meydana geldiği göstermiştir (Gessesse *et al.*, 2003; Grazziotin *et al.*, 2006).

Gerek tavuk tüyünün gerekse onun hidroliz edilmesinden elde edilen ürünlerin besinsel içerik bakımından oldukça zengin olduğu düşünüldüğünde tavuk tüyünden hazırlanacak olan bir peptonun mikroorganizmaların besiyerlerinde substrat olarak kullanılabilme olasılığı daha da güçlenmektedir.

Ülkemizde tavukçuluk sektörüne ait tesisler tarafından her gün büyük miktarlarda tavuk tüyü üretilmekte ve üretilen tavuk tüyleride yastık, uyku tulumu ve elyaf yapımında kullanılmaktadır. Bu tüylerden ayrıca hayvan yemi üretiminde de faydalanılmaktadır. Bunların dışında ülkemizde tavuk tüyünden herhangi bir amaç için faydalanılmamakta ve tüyler çoğunlukla atık olarak çevreye bırakılmaktadır. Tavuk tüyünün peptone dönüştürülmesiyle hem çevre kirliliği azaltılacak hemde besiyeri bakımından yurt dışına bağımlı olan ülkemize ekonomik kazanç sağlanacaktır.

5.4. Tavuk Tüyünün Hidroliz Edilmesinde İzlenen Yol

Fibröz proteinler normal çevre şartlarında çürümedikleri gibi, su, seyreltik asit ve bazlarda da çözünmezler. Dolayısıyla, onların hidroliz edilmelerinde, diğer proteinlere ve bitkisel kaynaklı materyallere göre daha ağır şartlar uygulanmaktadır. Örneğin bitkisel materyallerin kimyasal olarak hidroliz edilmesinde seyreltik asit ve baz bazlar kullanılırken, fibroz proteinlerce zengin boynuz, yün ve tırnak gibi maddelerin hidrolizi için derişik asit ve baz uygulamaları tercih edilmektedir. Kullanılan asit ya da bazın konsantrasyonu artırmak, yüksek sıcaklık ve basınç uygulamak fibröz proteinlerin parçalanmasını kolaylaştırmaktadır (Shorland and Gray 1970; El-Boushy *et al.*, 1990; Wang and Parsons 1997; Kurbanoglu 1999; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2002; Sun and Cheng 2002).

Kurbanoglu ve Kurbanoglu (2002) boynuzdan pepton üretiminde boynuzun hidrolizi için 6 N HCl kullanmıştır. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada (Kurbanoglu ve Kurbanoglu 2004) ise boynuzun hidrolizi için 6 N HCl ve H₂SO₄ kullanmıştır.

Bir fibroz protein olan keratini yüksek miktarlarda içeren tavuk tüyünden hayvan yemi (Feather Meal) üretilirken hidroliz işlemi yüksek buhar basıncı altında gerçekleştirilmekte ve hidroliz işlemi süresince buhar basıncı şiddeti, ortamın sıcaklığı, nem oranı ve hidroliz süresi gibi faktörler göz önünde bulundurulmaktadır (El-Boushy *et al.*, 1990). Diğer taraftan, Steiner *et al.* (1983) ve Papadopoulos *et al.* (1985) düşük konsantrasyonlarda NaOH muamelesinin tavuk tüyünün çözünürlüğünü artırdığını ortaya çıkarmıştır.

Kimyasal ve fiziksel yöntemlerin yanı sıra, enzimlerde fibröz proteinlerin hidrolizinde kullanılmaktadır (Lee *et al.*, 1991). Diğer taraftan, kimyasal maddeleri ve enzimleri birlikte uygulamak fibröz proteinlerin daha iyi hidroliz olmalarını sağlamaktadır. Örnek bir çalışmada, Kim *et al.* (2002) tavuk tüyünü hidroliz etmek için üç farklı yol izlemiştir. Birincisinde tavuk tüyünü 37⁰C’de 24 saat süreyle sadece enzimatik muameleye, ikincisinde sadece 1 N NaOH ile alkali muameleye, üçüncüsünde ise kombineli olarak önce 1 N NaOH ile alkali daha sonrada enzimatik muameleye tabi tutarak hidroliz etmeye çalışmıştır.

Gerek fiziksel ve kimyasal yöntemler gerekse enzimatik yöntemler tavuk tüyünün sindirilebilme özelliğini kısmen artırmakta ve bu işlemler sonucu elde edilen ürün ise hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada ise mikrobiyoloji laboratuvarlarında besiyeri bileşeni olarak kullanılan peptonun üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu yüzden tavuk tüyünün kısmen değil tamamen hidrolizi diğer bir ifadeyle suda çözünebilir forma dönüştürülmesi sağlanmıştır. Bunun içinde tıpkı boynuzdan pepton üretiminde olduğu gibi derişik asitler kullanılmıştır. Hidroliz ve nötralizasyon işlemlerinde de kullanılan asitler ve bazlar seçilirken, bu kimyasalların mikroorganizmalar için gerekli olan mineral maddeleri içermesine dikkat edilmiştir. Örneğin, hidroliz işlemi için H₂SO₄ ve H₃PO₄ kullanılmasıyla peptonun kükürt ve fosfor bakımından zengin olması amaçlanmıştır. Benzer şekilde hidrolizatın nötralizasyonu için Ca(OH)₂, KOH, Mg(OH)₂ ve NaOH kullanılmasıyla peptonun kalsiyum, potasyum, sodyum ve magnezyum bakımından zenginleşmesi sağlanmıştır.

5.5. TTP ve Diğer Standart Peptonların Kimyasal İçeriklerinin Karşılaştırılması

TTP ve diğer standart peptonların (PP, TP ve FP) kuru madde, azot, protein, aminoasit, kül, yağ ve şeker analizleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge.5.1 ve 5.2’ de verilmiştir. Bu analizler mikroorganizmaların üretilmeleri için gerekli olan karbon, azot ve mineral kaynaklarının TTP içerisinde var olup olmadığını varsada hangi miktarlarda olduğunu tespit etmek için yapılmıştır. Nitekim çeşitli maddelerden pepton veya protein hidrolizatı hazırlamak için yapılan araştırmalarda da, kullanılacak olan maddeler aynı analizlere tabi tutulmuştur (Parrado *et al.*, 1993; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2002; Paernomo and Buckle 2002; Vasileva-Tonkova *et al.*, 2007).

Çizelgede verilen analiz sonuçları TTP’ nin mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu organik ve inorganik maddeleri içerdiğini göstermektedir. Çizelgeden de görülebileceği gibi bütün peptonların kuru madde içerikleri birbirine yakın bulunmasına rağmen, en yüksek kuru madde içeriği (97,3 g/100 g) TTP için tespit edilmiştir.

En yüksek protein içeriğine (83,8 g/100 g) PP, en düşük protein içeriğine (55,8 g/100 g) ise TTP’ nin sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek miktarda kül içeriği TTP için belirlenmiş ve bu değer diğer peptonlarınkinden istatistiki olarak çok farklı bulunmuştur. Bu durumun, peptonların üretiminde kullanılan hidroliz yönteminden kaynaklandığını söylemek mümkündür. PP hayvansal dokulardan, TP caseinden, FP ise balıkteninden enzimatik olarak üretilmektedir. Mevcut çalışmada ise TTP’ nin hazırlanması için asit hidroliz yöntemi kullanılmıştır. Önceki çalışmalarda da rapor edildiği gibi asit hidroliz yöntemi ile elde edilen protein hidrolizatlarında veya peptonlarda yüksek miktarda kül meydana gelmektedir. Bunun sebebi de asit hidrolizini takiben nötürleştirme işleminin kaçınılmaz olmasıdır (Kurbanoglu and Kurbanoglu 2004; Klompong *et al.*, 2009).

Kül örnekler içerisindeki mineral elementlerin miktarını ifade etmektedir (Essien *et al.*, 2005). Kül özellikle Ca, K, S, Na, P ve Mg bakımından zengin bulunmuştur. Bu

elementlerin TTP içerisinde normalden daha fazla miktarda bulunması hidroliz ve nötürleştirme işlemleri için kullanılan asit ve bazlardan kaynaklanmaktadır.

Diğer peptonlara oranla en düşük ya  içeriği TTP ve FP için belirlenmiştir. Bu sonuç aslında TTP’ yi daha da iyi bir besiyeri bileşeni yapmaktadır.      mikroorganizmaların üretiminde kullanılan protein kaynaklarının düşük ya  içeriğine sahip olması önerilmektedir (Bridson 1995). TP’ yi takiben en yüksek şeker içeriği TTP için belirlenmiştir. Bu durum aslında TTP’ nin iyi bir besiyeri bileşeni olabileceğini göstermektedir.      peptonların içeriğinde karbon kaynaklarında olması istenilmektedir.

Çizelge 5.1. TTP ve diğer standart test peptonlarının kimyasal içeriği

Bileşenler (g)	Peptonlar (100 g)			
	TTP	FP	TP	PP
Kuru madde	97,3a	96,5a	96,7a	96,2a
Azot	8,93c	11,64b	12,88a	13,4a
Toplam protein	55,8c	72,8b	80,5a	83,8a
Toplam şeker	1,56b	1,33c	2,85a	1,13c
Ya�	0,47c	0,46c	0,57b	0,72a
K�l	42,1a	6,3c	6,7c	8,2b

* Bir satır içerisindeki aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar, $P < 0,05$ seviyesine göre anlamsızdır.

Mevcut  alışmada, TTP’ nin aminoasit içeriği bakımından ( zellikle glutamik asit, glisin, alanin, serin ve valin) zengin olduğu bununla birlikte, metiyonin ve triptofan aminoasitlerini içermediği tespit edilmiştir. Bu bulgu önceki çalışmalarda rapor edilenlere benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, uygulanan hidroliz işlemleri sonunda tavuk tüylerinden elde edilen hayvan yemlerinde metiyonin’nin ya hiç olmadığı varsada düşük miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir. Tam aksine, aynı yemlerin glutamik asit, glisin, alanin, serin, sistein ve valin aminoasitleri bakımından zengin olduğu belirtilmiştir (Davis *et al.*, 1961; Papadopoulos 1984; El-Boushy *et al.*, 1990; Kim *et al.*, 2001; Gessesse *et al.*, 2003; Grazziotin *et al.*, 2006).

Mikroorganizmaların bazıları hücre büyümesi için besiyerlerinde aminoasitlere ihtiyaç duymamaktadır. Bazı mikroorganizmalar içinse aminoasitler üreme faktörü olarak işlev

görmektedir. Örneğin, bir laktik asit bakterisi olan *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus*' un aminoasit ihtiyacı üzerine yapılan çalışmalar bu bakteride hücre büyümesinin aspartik asit, glutamik asit ve glisin aminoasitlerinden herhangi birinin yokluğunda çok az, glutamin, asparagin ve threonin'den herhangi birinin yokluğunda ise çok fazla zayıfladığını göstermiştir. Çalışmalar ayrıca löysin, liysin, valin, prolin, serin, alanin, arginin aminoasitlerinden herhangi birinin yokluğunda büyümenin tamamen durduğunu dolayısıyla bu aminoasitlerin *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* için esansiyel olduğunu ortaya çıkarmıştır (Grobben *et al.*, 1998). Çizelge 5.2' de verilen aminoasit analizinde diğer standart peptonlarda olduğu gibi TTP' ninde bu bakteri için büyüme faktörü olarak işlev gören aminoasitleri içerdiğini göstermektedir.

Çizelge 5.2. TTP ve diğer standart peptonların aminoasit içeriği

Aminoasitler (mg/100g)	Peptonlar			
	TTP	FP	TP	PP
Prolin	3226	2203	3244	1746
Glutamik asit	5413	7474	19888	11708
Valin	5939	6726	7566	4748
Aspartik asit	2821	5063	5624	6933
Glisin	4806	7535	1580	7000
Löysin	4623	7635	9171	6084
Alanin	3471	4653	2745	5717
Serin	3303	5388	4997	3740
İsolöysin	2600	2390	5147	3322
Fenilalanin	2370	2024	4408	2666
Liysin	1944	8049	8335	7177
Treonin	2072	2626	3549	3223
Histidin	0,220	1465	2728	2041
Tyrosin	1069	1799	2096	2360
Hidoksil-L-prolin	1709	ND	ND	ND
Sistin	0,891	1210	0,260	0,967
Metionin	ND	2042	3238	2085
Triptofan	ND	0,866	ND	ND

ND: Tespit edilemedi

5.6. Sıvı ve Katı Kültürde Test Mikroorganizmalarının Gelişimi İçin En Uygun TTP Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Araştırma Sonuçları

Besiyerleri hazırlanırken mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu karbon, azot, mineral ve vitamin kaynakları besiyerlerine katılmaktadır. Bununla birlikte, her mikroorganizmanın bu maddelere olan ihtiyacı farklılık göstermektedir. Bir mikroorganizma için pepton daha iyi azot kaynağı iken, bir başka mikroorganizma için maya ekstratı daha iyi azot kaynağı olabilmektedir. Diğer taraftan karbon ya da azot kaynağının da en uygun konsantrasyonu her mikroorganizma için farklılık gösterebilmektedir. Dolayısıyla mikrobiyoloji çalışmalarında en iyi sonuçları elde etmek için besiyerlerinde farklı azot, karbon ve mineral kaynaklarının yanı sıra onların farklı konsantrasyonlarında test edilmektedir (Kim *et al.*, 2002a; Hwang *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Kodam *et al.*, 2005).

Mevcut çalışmamızda test mikroorganizmalarının sıvı ve katı kültürde gelişimi için ilk olarak en uygun TTP konsantrasyonu belirlenmiştir. Bunun içinde TTP' nin değişik konsantrasyonların da besiyerleri hazırlanmıştır. Besiyerlerinin içeriği sadece glikoz (litrede 20 g) ve peptondan oluşacak şekilde düzenlenmiştir. TTP' nin tek başına besiyerinde azot, mineral ve vitamin kaynağı olarak işlev görebileceği düşünülmüştür. TTP içerisinde her ne kadar 1,56 g/100g oranında şeker varsada, bu şekerin mikroorganizmalar tarafından kullanılabilir formda şeker olduğunu kesin olarak söylemek güçtür. Oysa, glikoz çoğu mikroorganizma tarafından öncelikli olarak tercih edilen bir karbon kaynağıdır (Mckane ve Kandel 1986; Schlegel, 1986). Ayrıca, glikozun ucuz ve kolay kullanılabildiği de iyi bilinmektedir. Bu sebeplerden dolayı, TTP besiyeri hazırlanırken glikozla zenginleştirilmiştir. Şimdiye kadar bir çok araştırmacı gerek atık maddelerden üretilen peptonlarla gerekse standart peptonlarla besiyeri hazırlarken glikoz başta olmak üzere değişik karbon kaynaklarıyla besiyerini zenginleştirme yoluna gitmiştir (Dufosse *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2002b; Poernomo and Buckle 2002; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2004; Vasileva-Tonkova *et al.*, 2007).

Çizelge 3.4' den de görüldüğü gibi hem katı hemde sıvı kültürde TTP'nin en uygun konsantrasyonu test bakterileri ve mayaları için litrede 5, test küfleri içinse litrede 4 g olarak belirlenmiştir. Belirlenen optimal konsantrasyonlarda hem sıvı hemde katı kültürde en iyi gelişmeyi bakteri olarak *B. subtilis*, maya olarak *R. glutinis* ve küf olarakda *A. niger* göstermiştir. Optimal konsantrasyonların üzerindeki uygulamalar bütün test mikroorganizmaları üzerinde önemli ölçüde inhibisyon etkisi yapmıştır. Özellikle litrede 7 g TTP içeren sıvı ve katı kültürlerde, bütün mikroorganizmalar için istatistiki olarak çok düşük biyomass verimleri ve koloni sayıları (küfler için koloni çapı) elde edilmiştir. Hatta TTP' nin bu konsantrasyonunda sıvı kültürde test bakterisi *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* gelişme göstermemiştir. Yüksek TTP konsantrasyonlarda inhibisyonun sebebi farklı şekillerde açıklanabilir. Birincisi, TTP organik ve inorganik maddelerce (özellikle protein ve mineral maddelerce) son derece zengindir. Bu durum ozmotik basınca neden olarak zar permeabilitesini bozabilir (Kurbanoglu, 1999). İkincisi de TTP' nin içeriğinde bulunan ağır metallerin veya tuzların etkisidir. Üçüncüsü ise besiyerindeki C/N oranıdır. Çünkü, bir çok araştırmacı besiyerlerindeki C/N oranının mikroorganizmaların gelişimini ve onlardan üretilen maddelerin verimini önemli ölçüde etkilediğini rapor etmiştir (Park *et al.*, 2005; Somashekar and Joseph 2000; Kim *et al.*, 2002a; Lin and Lay 2004).

5.7. TTP ve Diğer Standart Peptonların Katı Ve Sıvı Kültürde Test Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması

Mevcut çalışmada, *B. subtilis*, *R. glutinis*, *C. albicans* ve *A. niger* için en iyi büyüme performansları TTP ile hazırlanan besiyerlerinde gözlenmiştir. Test mayası olan *C. famata* içinse en düşük büyüme performansı TTP besiyerinde gözlenmiştir. Bu bulgu *C. famata* için TTP' nin iyi bir besiyeri bileşeni olmadığını göstermektedir. Test bakterileri olan *E. coli* ve *S. aureus* ise en iyi büyüme performanslarını sırasıyla TP ve FP besiyerinde göstermiştir. Bununla birlikte bu iki bakteri TTP ile hazırlanan sıvı ve agar besiyerlerinde de oldukça iyi gelişme göstermiştir. İnsanlarda pek çok hastalığa sebep olan *E. coli*, *S. aureus* ve *C. albicans*' ın klinik mikrobiyoloji açısından önem taşıdığı bilinmektedir. Bu üç mikroorganizmanın TTP ile hazırlanan besiyerlerinde

özellikle inkübasyonun ilk 24 saatinde çok hızlı çoğaldığı görülmüştür. İnkübasyonun ilk 24 saatinin sonunda *E. coli*, TTP ve TP besiyerlerinde spektrofotometrik olarak aynı absorbansı vermiştir. *S. aureus* içinde TTP ve FP besiyerlerinde birbirine oldukça yakın absorbanslar elde edilmiştir. Diğer pepton besiyerleriyle karşılaştırıldığında, *E. coli* ve *S. aureus*' un TTP besiyerinde meydana getirmiş oldukları koloni çapları da daha yüksek bulunmuştur. Test mayası olan *C. albicans*' da gerek 72 saatlik gerekse 24 saatlik inkübasyon peryodunda en fazla sayıda koloniyi ve en büyük çaplı kolonileri TTP besiyerinde meydana getirmiştir. Bu üç mikroorganizma için elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında etkili bir teşhis için hızlı büyümenin gerekli olduğu kliniksel mikrobiyoloji besiyerlerinde TTP' nin substrat olarak kullanileceğini söylemek mümkündür. Vecht-Lifshitz *et al.* (1990)' da fish peptonun bazı patojen bakterilerde hızlı büyümenin yanı sıra çok sayıda ve büyük hacimli koloni oluşumunu teşvik ettiğini ortaya çıkarmış ve bu yüzden de fish peptonu klinik mikrobiyolojide substrat olarak kullanmayı önermiştir.

Pepton besiyerlerin hepsinde en düşük büyüme performansını *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* göstermiştir. Besiyerlerinin içeriğinin sadece pepton ve glikozdan meydana düşünüldüğünde bu durum şaşırtıcı olmamalıdır. Çünkü, laktik asit bakterileri müşkülpesent canlılar olarak kabul edilmekte ve onların geliştirmek içinde aminoasitleri, peptitleri, yağlı asitleri, vitaminleri ve nükleik asitleri içeren zengin besiyerlerinin kullanımını önerilmektedir. Bu bileşiklerin çoğunda besiyerlerine kompleks azot kaynakları formunda eklenmektedir. Örneğin, laktik asit bakterileri için standart besiyerli olarak kabul edilen MRS' nin içeriğine pepton' nun yanı sıra et ve maya ekstratları katılarak bu bileşiklerin bakterilere sağlanması amaçlanmaktadır (Aspmo *et al.*, 2005a).

Gerek sıvı gerekse katı kültürde elde edilen sonuçlar her test mikroorganizmasının büyüme performansının bir peptondan bir başka peptona değişebileceğini göstermiştir. Mikroorganizmaların bu özelliklerine yönelik yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Aspmo *et al* (2005b) *E. coli*' nin maritex pepton ve fish pepton

besiyerlerinde çok iyi, trypton pepton besiyerinde orta derecede, malt extract besiyerinde ise çok zayıf büyüme performansı gösterdiğini rapor etmiştir. Aynı çalışmada *B. subtilis*, *S. cerevisiae* ve *A. niger* için fish peptonun tryptone peptondan daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Vecht-Lifshitz *et al.* (1990) *E. coli*'nin bacto pepton besiyerine oranla fish pepton besiyerinde 4 kat daha hızlı ürediğini belirtmiştir. Dufosse *et al.*, (2001)'da *E. coli* için tryptone peptonun'nun kazein peptondan, *A. niger* içinde fish peptonun yine kazein peptondan iyi olduğunu ileri sürmüştür. Kurbanoglu and Kurbanoglu (2002)'da *A. niger* ve *P. chrysogenum*'un fish pepton besiyerinde trypton pepton besiyerinden daha iyi gelişme gösterdiğini belirtmiştir.

Test mikroorganizmalarının geliştirildiği besiyerlerinin final pH' sı başlangıç pH' sından düşük bulunmuştur. Bu durum mikroorganizma büyümesine ve şeker tüketimine bağlı olarak üretilen organik asitlerin kültür pH' sını düşürmesiyle açıklanabilir (Fang and Zhong, 2002). Diğer taraftan, TTP ve diğer peptonlarla hazırlanan sıvı besiyerlerinin final pH' ları ölçüldüğünde çok farklı sonuçlar elde edilmiştir. TTP içeren besiyerlerinde yüksek biyomas verimleri elde edildiğinde bile aynı besiyerlerinde daha az pH değişimleri gözlenmiştir. Örneğin, *A. niger* için en yüksek biyomas verimi TTP besiyerinde elde edilmiştir. Bununla birlikte, en az pH değişimide yine TTP besiyerinde gözlenmiştir. Bu sonuç TTP' yi daha da önemli bir besiyeri bileşeni yapmaktadır. Çünkü, özellikle endüstriyel mikrobiyoloji çalışmalarında kültürlerde pH değişimlerinin az olması istenilmektedir. TTP' nin bu özelliğe sahip olması içeriğindeki tamponlama özelliğine sahip olan maddelerin fazla olmasıyla açıklanabilir.

Küfler sıvı kültürlerde pelet veya yumak (clump) formunda gelişim göstermektedirler. Pelet formunda küf büyümeside kendi arasında tektip (uniform) veya tektip olmayan (non-uniform) diye ikiye ayrılmaktadır. Pelet formunda büyümenin olduğu fermentasyonlarda mikroorganizma biyomasına daha fazla besin ve oksijen transferi sağlanmaktadır. Bu yüzden de fungal fermentasyonlarda pelet formunda özellikle tektip pelet formunda büyüme daha avantajlı olmaktadır. Ayrıca fungal fermentasyonlarda peletlerin hacmide çok önem taşımaktadır. Genellikle küçük ve tektipte peletler daha fazla tercih edilmektedir. Büyük peletler içsel madde transferini

sınırlayarak reaksiyon hızını ve üretimini düşürmektedir. Bununla birlikte fungal fermentasyonlar da istenilen hacimlerde ve tektipte pelet elde etmek zor olmaktadır. Çünkü inokülüm hacmi, genetik faktörler, besiyerinin kompozisyonu ve kıvamı, basınç, üretilen maddeler, çalkalama hızı, sıcaklık ve oksijen konsantrasyonu pelet oluşumunu ve pelet hacmini etkilemektedir (Van Suijdam *et al.*, 1980; Byrne and Ward 1989; Ryoo 1999; Liao *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007; Borrás *et al.*, 2008).

Mevcut çalışmada da besiyeri kompozisyonunun test küflerinde misel morfolojisini etkilediği tespit edilmiştir. Diğer peptonların aksine, TTP ve FP test küflerinde (*C.echinulata* hariç) tektipte pelet oluşumunu sağlamıştır. *C.echinulata* ise bütün besiyerlerinde yumak şeklinde misel morfolojisi oluşturmuştur. Diğer taraftan bütün test küfleri için en küçük hacimli tektip peletler TTP ve FP ile elde edilmiştir.

Bu sonuçlar bize FP' nin yanısıra TTP' ninde fungal fermentasyonlarda etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Çünkü, fungal fermentasyonlarda küçük hacimli tektip peletler genellikle daha fazla tercih edilmektedir. Yapılan bir çok çalışmada da besiyerindeki karbon, azot ve mineral kaynaklarının küflerde misel morfolojisini ve pelet hacmini etkilediği belirtilmiştir (Ryoo 1999; Yang *et al.*, 2003; Liao *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008).

5.8. Et, Süt, Su ve Toprak Örneklerindeki Aerobik Mikroorganizma Sayılarının Belirlenmesinde TTP ve Diğer Standart Peptonların Performanslarının Karşılaştırılması

Toprak, su, hava ve gıda gibi ortamlarda yaşayan mikroorganizmaların izolasyonuna ve popülasyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Bu ortamlarda yaşayan mikroorganizmaların sayılarının belirlenmesi veya izolasyonlarının gerçekleştirilmesinde ise farklı özelliklere sahip besiyerleri kullanılmaktadır. Seçici besiyerlerinin hazırlanması için besiyerlerine bazen antibiyotikler eklenmekte bazende besiyerinin pH' sı değiştirilmektedir. Oxytetrasiklin, klortetrasiklin, gentamisin ve

kloramfenikol gibi bakteri gelişimini engelleyen antibiyotikler maya ve küf sayımları için besiyerlerine eklenmektedir. Tartarik asit, asetik asit veya laktik asit eklenerek pH' sı düşürülmüş besiyerleri bakterilerin gelişmesini sınırlandırarak küflerin ve mayaların koloni sayımlarının daha kolay yapılmasına imkan vermektedir. Örneğin, pH' sı 3,5' e düşürülmüş potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA), plate count agar (PCA) besiyerleri mayaların ve küflerin sayım işlemlerinde kullanılmaktadır (Baggerman 1981; Dillon and Board 1991; Welthagen and Viljoen 1997; Beuchat 1998).

Küf ve mayalarda olduğu gibi bakteriler içinde genel amaçlı veya seçici besiyerleri kullanılmaktadır. Bakteriler için kullanılacak olan bir besiyerinin en yüksek sayıda koloni oluşturması, açık renkli olması ve küçük kolonilerin sayımında imkan verebilecek derecede çökelti içermemesi ve mantar gelişimini engellemesi istenmektedir. Bu yüzden, trypticase soy agar (TSA) besiyeri bakterilerle ilgili çalışmalarda çok fazla tercih edilmektedir. Nutrient agar (NA) ve plate count agar (PCA) gibi besiyerleride bakterilerin izolasyon veya sayım işlemlerinde kullanılmaktadır (Larkin 1972; Knochel 1989; Kurbanoglu and Algur 2004).

Gerek seçici gerekse genel amaçlı olsun bütün besiyerlerinde mikroorganizmaların gelişimini sağlayan besinsel öğelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu doğrultuda da birçok agar besiyerinde peptonlar besiyerlerinin bir bileşeni olarak ortama katılmaktadır. Örneğin, Laktobasillusların izolasyon ve sayım işlemlerinde kullanılan MRS agar (MERCK) besiyerinin içeriğinde 10 g kazein pepton, mayaların ve küflerin sayım ve izolasyonlarında kullanılan MEA (Merck) besiyerinin içeriğinde ise 3 g soya pepton olduğu belirtilmektedir. Yine, bakterilerin yanı sıra mayalarında sayım işlemlerinde kullanılan PCA (Merck) besiyerinin bileşiminde de 5 g kazein pepton bulunmaktadır. Dolayısıyla, her ne amaçla olursa olsun peptonların agar besiyerlerinde substrat olarak kullanımı daha da önem kazanmaktadır.

Bu yüzden, mevcut çalışmada et, süt, toprak ve su örneklerindeki mikroorganizmaların sayım işlemlerinde TTP ve diğer standart peptonların agar besiyerlerinde substrat olarak

kullanılabilirliğide araştırılmıştır. Besiyerlerinin bileşimi 20 g glikoz ve peptondan oluşacak şekilde düzenlenmiştir. Bakteri ve mayaların sayım işlemleri için besiyerlerinin içeriğine litrede 5, küfler içinse litrede 4 g pepton katılmıştır. Ayrıca, küfler ve mayaların sayımları için hazırlanan besiyerlerinin pH' sıda laktik asitle 3,5' e ayarlanmıştır.

Etin yapısında %75 su, aminoasitler, peptitler, nükleotitler ve şekerler bulunmaktadır. Zengin besinsel içeriği sahip olan et üzerinde mikroorganizmalar çok hızlı çoğalma göstermektedir. Etin erobik bakteri florasının çoğunu *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ve *Moraxella* türleri oluşturmaktadır (Gill and Newton 1977; Labadie 1999). Çizelge 4.14 den görülebileceği gibi et örneğindeki bakterilerin sayımında en iyi sonuçları TTP ve PP vermiştir. Diğer örneklerin bakteri analizlerinde ise TTP' nin ne çok olumlu nede çok olumsuz sonuçlar verdiği görülmüştür. Bakteri sayımıyla ilgili olarak, et hariç diğer bütün örnekler için en iyi sonuçlar TP ile elde edilmiştir. Bakteri büyümesi için ideal bir ortam olan et' in florasında *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Candida* türleri başta olmak üzere birçok maya türünde bulunmaktadır (Dillon and Board 1991). Bakterilerin sayımında olduğu gibi, TTP et örneğindeki mayaların sayımında da çok iyi sonuçlar vermiştir. Et örneği için en fazla sayıda koloniye TTP ve FP besiyerlerinde ulaşılmıştır. Mevcut çalışmada, TTP' nin test mayaları olan *Rhodotorula glutinis*, *Cryptococcus laurentii* ve *Candida albicans* için iyi bir substrat olduğu belirlenmiştir. Et' in maya florasının çoğunluğunda *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Candida* türlerinin oluşturduğuda düşünüldüğünde, TTP' nin etteki mayaların sayım işlemlerinde çok iyi sonuçlar vermesi şaşırtıcı olmamalıdır.

Mayalar, işlenmemiş sütün yanı sıra pastörize sütte de bulunmaktadır. İşlenmemiş sütlerde maya populasyonları çoğunlukla 10^3 CFU/ml' nin altında kalmaktadır. Bununla birlikte, sütteki maya populasyonunun zaman zaman 10^4 CFU/ml' e çıktığında rapor edilmiştir. Bir başka çalışmada ise sütteki maya populasyonu 10^4 – 10^5 CFU/ml olarak rapor edilmiştir (Fleet and Mian 1987; Fleet 1990; Welthagen and Viljoen 1997). Bu çalışmada da süt örneği için bütün pepton besiyerlerinde 10^3 – 10^4 CFU/ml arasında koloni sayıları elde edilmiştir. Diğer taraftan, süt örneği için en fazla sayıda maya

kolonisine TP besiyerinde ulaşılmıştır. TP' nin diğer peptonlara kıyasla sütteki bakteri ve mayaları daha iyi geliştirmesinde bu peptonun süt kazeininden üretilmesiyle açıklanabilir.

Et'te *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri başta olmak üzere bir çok küfün bulunduğu rapor edilmiştir (Wu *et al.*, 1974). Et örneği en fazla sayıda koloniyi TTP besiyerinde meydana getirmiştir. Bu sonuçlar, bize et florasındaki bakterilerin ve mayaların yanısıra floradaki küflerinde gelişimi için TTP' nin çok iyi bir besiyeri bileşeni olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, et ve etli ürünlerin bakteri, maya ve küf sayımlarının yapılmasında veya bu ürünlerden bahsedilen mikroorganizmaların izole edilmesinde TTP' yi bir besiyeri bileşeni olarak kullanmanın mikrobiyoloji çalışmalarına büyük katkı yapacağını söylemek mümkündür.

İçme sularında patojen özellik taşıyan koliform bakterilerin yanı sıra patojen özellik taşıyan maya ve küflerde bulunabilmektedir. Bu yüzden içme sularının mikrobijolojik analizlerinin yapılmasında büyük önem taşımaktadır (Lechevallier *et al.*, 1983; Hinzelin and Block 1985; Hageskal *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2009). Su örneğinin bakteri, maya ve küf analizi için suyun hiç seyreltilmemiş hali kullanılmıştır. En fazla sayıda bakteri kolonisi sırasıyla TP ve TTP besiyerlerinde gözlenmiştir. Mevcut çalışmada, küf ve maya sayım işlemlerinde 10–100 CFU/ml koloni kapsayan petriler değerlendirmeye alınmıştır. Bununla birlikte, seyreltilmemiş su örneği bile bütün besiyerlerinde çok az sayıda küf ve maya kolonisi meydana getirmiştir. Bu yüzden 10' un altındaki koloni sayıları da değerlendirmeye alınmıştır. Su örneğinin maya analizinde en yüksek sayıda koloni oluşumunu TTP ve FP sağlamıştır. Küf analizinde de yine en iyi sonucu TTP, bunu takibende FP vermiştir. Bu sonuçlarda yine, et örneğinde olduğu gibi su örneğinin bakteri, maya ve küf analizlerinde de besiyeri bileşeni olarak TTP' nin çok etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Toprak örneğindeki maya ve küf sayımı içinse TTP' nin orta derecede bir substrat olduğu belirlenmiştir.

5.9. TTP ve Diğer Standart Peptonların Yaralı (İnjured) Mikroorganizmalarını Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması

Isıtma, soğutma, kurutma, röntgen ışınlarına tutma, kimyasal ve antimikrobiyal madde ekleme gibi yöntemler bakteri kontaminasyonlarını ve patojenleri kontrol altında tutmak için uygulanmaktadır. Uygulamalar sonucunda da bazı mikroorganizmalar ölmekte, bazıları etkilenmemekte (non-injured), bazıları ise zarar görmekte (injured) yani yaralanmaktadır (Wu *et al.*, 2001; Wu 2008). Yaralama işlemleri sonucunda mikroorganizmalarda hücre duvarı, sitoplazma zarı ve iç zar, ribozomlar, DNA, RNA ve enzim gibi yapısal ve fonksiyonel unsurlar olumsuz olarak etkilenmektedir (Ray 1979, 1993).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar daha çok gıda ve içme suyu ile alakalı olan bakterilerin yaralanmaları üzerine gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda da bazen bakterilerin saf kültürleri bazende bu bakterileri içeren gıdalar ve içme suları yaralama işlemine maruz bırakılmıştır. Saf kültürlerle gerçekleştirilen yaralama işlemlerinde genellikle *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Listeria monocytogenes* gibi bakteriler kullanılmaktadır. Et, süt ve sebze gibi gıdalarda doğrudan yaralama işlemine tabi tutulmaktadır (Mcfeters *et al.*, 1982; Rodrigues and Kroll 1989; Kang and Siragusa 1999; Wu 2008).

Bazı çalışmalarda da gıdalalarda bozulmalara neden olan veya endüstriyel önem taşıyan mayaların (*Candida lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Zygosaccharomyces rouxii*) yaralama işlemlerine maruz bırakıldıktan sonra iyileştirilmesi araştırılmıştır (Conner and Beuchat 1985; Golden and Beuchat 1990).

Yaralanmış mikroorganizmalar bazı çevresel koşullarda yaşayamamakta ve uygun çevre koşulları altında iyileşerek normal faaliyetlerine devam edebilmektedirler. Yaralanmış

mikroorganizmalar ayrıca sayım işlemlerinin gerçekleştirildiği besiyerlerinde seçici özelliğe sahip olan bazı maddelere (antibiyoiktler, sülfanamidler, tuzlar, asitler ve boyalar) karşı daha duyarlı hale gelerek daha fazla zarar görebilmektedir (Kurbanoglu and Algur 2006; Wu 2008). Örneğin, yaralanmış *E. coli* O157: H7' nin içeriğinde seçici madde içeren ve bu nedenle seçici besiyeri olarak kabul edilen Sorbitol MacConkey agar (SMAC) da gelişme göstermediği rapor edilmiştir. Benzer bir çalışmada yaralanmış *S. typhimurium*' nun seçici besiyeri olan xylose lysine decarboxylase agar (XLD) da gelişme göstermediği belirtilmiştir (Ray and Adams 1984; McCleer and Rowe 1995).

Kısaca besi ortamlarının bazıları mikroorganizmalarının sağlıklı olanları üretirken, yaralanmış olanlarını geliştirememektedir. Bunun sonucunda ise bu besiyerlerinde bakteri sayımlarıyla ilgili olarak yanlış sonuçlar elde edilmektedir. Bu durum ise halk sağlığı bakımından tehlike arz etmektedir. Çünkü işleme tabi tutulmuş (Pastörize edilmiş, soğuk depolarda muhafaza edilmiş, tuzlanmış vb.) çeşitli gıda maddelerindeki yaralı mikroorganizmalar gıda ile birlikte vücuda alındıklarında yeniden aktivite kazanmaktadırlar (Ray 1979; Rodrigues and Kroll 1989; Kurbanoglu 1999; Kang and Siragusa 1999).

Bu sebeplerden dolayı son yıllarda, besiyeri geliştirme çalışmaları içerisinde yaralanmış mikroorganizmaların yeniden canlandırılmasını sağlayan besi ortamlarının geliştirilmesi ve formüle edilmesi giderek önem kazanmaktadır. Bu bağlamda da yaralanmış mikroorganizmaların iyileştirilmesinde içerik bakımından çok zengin olan fakat seçici özellik taşımayan TSA besiyeri çok fazla tercih edilmektedir (Moss and Speck 1966; Mackey *et al.*, 1980; Rodrigues and Kroll 1989; Kang and Siragusa 1990; Kurbanoglu, 1999; Kurbanoglu and Algur 2006). Diğer taraftan, besiyerlerinin içeriğindeki bazı değişikliklerin yaralanmış mikroorganizmaların iyileştirilmesini kolaylaştırdığı da rapor edilmiştir. Örneğin, Golden ve Beuchat (1990) standart besiyerlerine glikoz ve gliserol ilavesinin yaralanmış *Z. rouxii* mayasında hücre tamirini artırdığını göstermiştir. Bazı araştırmacılarda besiyerlerine magnezyum klorid, Tween 80, sodium pyruvate, katalaz gibi maddeler eklendiğinde yaralanmış bakterilerin daha fazla iyileşme gösterdiğini

ortaya çıkarmıştır (Rayman *et al.* 1978; Murthy and Gaur, 1987; Gast and Holt 1994). Kurbanoglu ve Algur (2006) ise besiyerine boynuz hidrolizatı ekleyerek yaralanmış bakterilerin iyileşme oranını artırmıştır. Bir başka çalışmada ise ısı şokuyla yaralanmış *S. typhimurium* bakterisi üzerine farklı peptonların etkisi araştırılmıştır (Gray *et al.*, 2008).

Mevcut çalışmada da tavuk tüyünden elde edilen pepton (TTP)' un yaralanmış mikroorganizmaların iyileştirilmesinde olumlu bir etkiye sahip olup olmadığını araştırılmıştır. Bunun içinde TTP, TSA besiyerine katkı maddesi olarak eklenmiştir. TTP' nin etki gücünü ortaya çıkarmak içinde TSA besiyeri diğer standart peptonlarla da zenginleştirilmiştir. Farklı peptonlarla zenginleştirilen TSA besiyerleri üzerinde sayım işlemleri gerçekleştirilerek test peptonlarının yaralanmış mikroorganizmaları iyileştirilmedeki performansları ortaya çıkarılmıştır.

Besiyerlerinin pH' sı maya sayımı için 5,6' ya bakteri sayımı içinse üretici firma (MERCK) tarafından belirtildiği gibi 7,3' e ayarlanmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, yaralanmış mayaların asidik ortamlardan daha fazla zarar gördüğünü ortaya çıkarmıştır (Koburger 1971; Nelson 1972; Menegazzi and Ingledew 1980). Dolayısıyla, gerek saf kültürlerdeki gerekse test örneklerindeki (et, süt, toprak ve su) yaralanmış mayaların sayım işlemi için besiyerinin pH' sı fazla asidik yapılmamıştır. Ancak, laktik asit bakterilerinin çok düşük pH' larda da geliştiği ve mayaların sayımını peptrilerde zorlaştırdığıda iyi bilinmektedir. Bu yüzden de sayımlarının yapıldığı peptrilerde gelişen koloniler, mikroskop altında incelenerek maya ve bakteri kolonileri birbirinden ayırt edilmiştir.

Mevcut çalışmada, yaralama işlemine tabi tutulan test mikroorganizmaların iyileştirilmesi ve sayım işlemlerinin gerçekleştirilmesi için ilk olarak TTP' nin en uygun konsantrasyonu belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar test mikroorganizmalarının normal ve yaralanmış fertleri için TTP' nin en uygun konsantrasyonunun farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Normal fertler için en uygun TTP konsantrasyonu 3 g, gerek ısı gerekse soğuk şokuyla yaralanmış fertler için 2

g olarak belirlenmiştir. Bu farklılık TTP içerisindeki bazı toksik maddelerin ve ağır metallerin varlığıyla açıklanabilir. Çünkü, artan TTP konsantrasyonu yaralanmış mikroorganizmalar üzerinde toksik maddelerin ve ağır metallerin inhibisyon etkisini daha fazla hissettirecektir. Özellikle, mikroorganizmaların yaralanmış fertlerinin normal fertlerine oranla kimyasal maddelere karşı daha dayanıksız olduğu bilgisi göz önüne alındığında bu varsayım daha da güçlenmektedir.

L. delbrueckii subsp. bulgaricus hariç diğer bakterileri soğuk şokuna oranla ısı şokundan daha fazla etkilenmiştir. Bu durum beklenen bir sonuçtur. Çünkü, bakterilerin genel olarak ısıya karşı toleranslarının soğuğa karşı toleranslarından az olduğu bilinmektedir (Kurbanoglu 1999). Ayrıca, gram pozitif bakterilerin (*B. subtilis*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *S. aureus*) gram negatif bakterilere (*E. coli* ve *X. campestris*) oranla ısı ve soğuk şokuna karşı daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Şimdiye kadar yapılan benzer çalışmalarda da bulguyu destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiştir (Sharpe *et al.*, 1972; Rodrigues and Kroll 1989).

L. delbrueckii subsp. bulgaricus süt endüstrisinde kullanılan termofilik özelliğe sahip bir bakteridir (Grobben *et al.*, 1998). Mevcut çalışmada ısı şokundan en az etkilenen bakterinin *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, diğer test bakterilerinde olduğu gibi bu bakteride soğuk şokundan fazla etkilenmiştir. Dolayısıyla *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*' un ısı şokundan az, soğuk şokundan ise fazla etkilenmesi termofilik özelliğe sahip olmasıyla açıklanabilir.

L. delbrueckii subsp. bulgaricus' u takiben ısı şokundan en az etkilenen bakterinin *B. subtilis* olduğu tespit edilmiştir. *B. subtilis*' in ayrıca soğuk şokundan da en az etkilenen test bakterisi olduğuda belirlenmiştir. *B. subtilis* endospor oluşturma özelliğine sahip olan gram pozitif bakteridir (Losick *et al.*, 1986). *Bacillus* sporları, toksik kimyasal maddelere, kurumaya, yüksek ve düşük basınca, yüksek sıcaklıklara ve UV ışınlarına karşı son derece dayanıklıdır (Nicholson *et al.*, 2000). Dolayısıyla, *B. subtilis*' in ısı ve soğuk şokuna karşı göstermiş olduğu direnç endospor oluşturma yeteneğiyle açıklanabilir.

Besiyerlerinin hepsinde (pepton ilave edilmiş veya edilmemiş) en fazla sayıda koloniyi bakterilerinin normal fertleri inkübasyonun ilk 24 saatinde, mayalarının normal fertleri ise inkübasyonun 24 ile 48 saatleri arasında meydana getirmiştir. Aynı pepton besiyerlerinde en fazla sayıda koloniyi yaralanmış bakteriler inkübasyonun 24 ile 48, yaralanmış mayalar ise inkübasyonun 48 ile 72 saatleri arasında oluşturmuştur. Yaralama işlemine maruz bırakılan mikroorganizmalarından hiçbirisi inkübasyonun ilk 24 saatinde besiyerlerinde koloni meydana getirmemiştir. Bu durum yaralama işlemine bağlı olarak mikroorganizmaların ikilenme (generation time) süresindeki uzamaya bağlanabilir. Yapılan benzer çalışmalarda da yaralama işlemlerinin mikroorganizmaların ikilenme sürelerini uzattığı rapor edilmiştir (Mackey *et al.*, 1980; Golden ve Beuchat 1990; Kurbanoglu ve Algur 2006).

Test bakterisi *B.subtilis*' in yaralanmış fertlerinin iyileştirilmesi ve koloni sayımların yapılmasında en iyi sonuçlar TTP ile elde edilmiştir. Aynı pepton, *E.coli* ve *S.aureus*' un yaralanmış fertlerinin iyileştirilmesinde ikinci, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*' un yaralanmış fertlerinin iyileştirilmesinde ise üçüncü sırada yer almıştır. Yaralama işlemine tabi tutulan *R. glutinis* ve *C. albicans* mayaları en fazla sayıda koloniyi TTP ile zenginleştirilmiş TSA besiyerinde oluşturmuştur. Diğer taraftan, yaralama işlemine tabi tutulan et ve su örnekleride en fazla sayıda bakteri ve maya kolonisini TTP ile zenginleştirilmiş TSA besiyerinde meydana getirmiştir. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında, yaralanmış mikroorganizmaların iyileştirilmesi ve koloni sayımlarının yapılmasında da TTP' nin çok önemli bir besiyeri bileşeni olarak kullanılabileceğini söylemek mümkündür.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, yaralanmış mikroorganizmaların hücreden Mg^{+2} , K^{+} , amino asit, nükleik asit ve proteinleri dışarı saldıgını ortaya çıkarmıştır (Busta 1976; Hurst 1977). Mevcut çalışmada da test peptonların yaralanmış mikroorganizmaların iyileşmesini artırdığı tespit edilmiştir. Bu durum ise yaralanmış mikroorganizmaların hücreden dışarı salmış olduğu bu bileşenlerini test peptonlarından tekrar elde etmesiyle açıklanabilir. Dolayısıyla, yaralanmış mikroorganizmaların iyileştirilmesinde TTP' nin zengin K ve Mg içeriğinin çok önemli bir rol üstlendiğini söylemek olasıdır.

Diğer taraftan, test örnekleri (et, süt, toprak ve su)'nin bakteri ve maya florası üzerinde soğuk şokuna oranla ısı şokunun daha fazla yaralama etkisine neden olduğu görülmüştür. Bu durum özellikle et ve süt örnekleri için şaşırtıcı olmamalıdır. Çünkü, yapılan çalışmalarda et ve süt örneklerinin mikroflorasında çok sayıda psikrofil mikroorganizmanın bulunduğu bildirilmiştir (Mahari and Gashe 1990; Fleet 1990; Dillon and Board 1991; Labadie 1999).

5.10. TTP' nin Fizyolojik ve Kimyasal Özellikleri

TTP' nin üretiminde kullanılan tavuk tüylerinin beyaz renkli olmasına dikkat edilmiştir. Beyaz renkli tüylerin seçilmesiyle elde edilen peptonun melanin pigmentini içermemesi ve dolayısıyla da açık renkli olmasına gayret edilmiştir. TTP, gerek kuru halde gerekse saf suda çözündüğünde sarımsı renktedir. TTP' nin pH' sı 6,8-7,1 civarında olup, süspanse madde içermemektedir. İçerdiği tampon maddeler nedeniyle pH değişimlerinden fazla etkilenmemektedir. Steril edildikten sonra uzun süre muhafaza edilebilmektedir. Yatık agar kültürlerine eklendiklerinde uzun süre mikroorganizmaların saklanması için kullanılabilir. Bu özellikler bir besiyeri bileşeninde aranan özelliklerdir. Zira besiyerlerinin, küçük kolonilerin sayımına imkan verecek şekilde süspanse maddeler içermemesi, şeffaf olması ve tampon maddeler içermesi önerilmektedir (Larkin 1972; Bridson 1995; Kurbanoglu 1999).

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular göstermektedir ki;

1. Uygun hidrolizi ve nötürleştirme yöntemlerini kullanarak tavuk tüylerinden sudaki çözünürlüğü yüksek, açık renkli ve süspanse madde içermeyen pepton (TTP) hazırlanabilir.
2. Hidroliz ve nötürleştirme işlemleri için uygun asit ve bazlar seçilerek TTP' nin mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu mineral maddeler bakımından daha da zenginleşmesi sağlanabilir.
3. TTP tıbbi, endüstriyel ve biyoteknolojik öneme sahip mikroorganizmaların geliştirilmesinde bir besiyeri bileşeni olarak kullanılabilir.
4. TTP, sıvı besiyerlerinde pH değişimlerini en aza indirdiği ve küfler içinde küçük hacimli tektip peletlerin oluşmasını sağladığı için özellikle endüstriyel mikrobiyoloji çalışmalarına büyük katkılar yapabilir.
5. Erken teşhisin diğer bir ifadeylede hızlı büyümenin ihtiyaç duyulduğu klinik mikrobiyoloji çalışmalarında da TTP, besiyerlerinin önemli bir bileşeni olarak kullanılabilir.
6. TTP, ısı veya soğuk şoku gibi çevresel streslere maruz kalarak yaralanan mikroorganizmaların iyileştirilmesini artırabilir.
7. Atık tavuk tüylerinin peptona dönüştürülmesiyle hem besiyerlerinin maliyetinin düşürülmesine hemde çevre kirliliğinin azaltılmasına katkı yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Ahlawat, S., Dhiman, S.S., Battan, B., Mandhan, R.P. and Sharma, J., 2009. Pectinase production by *Bacillus subtilis* and its potential application in biopreparation of cotton and micropoly fabric. *Process Biochemistry*, 44, 521–526.
- Aksu, Z. and Eren, A.T., 2007. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. *Biochemical Engineering Journal*, 35, 107–113.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. (15th ed.) Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.
- Ariyoo, B., Tamerlera, C., Buckea, C. and Keshavarza, T., 1998. Enhanced penicillin production by oligosaccharides from batch cultures of *Penicillium chrysogenum* in stirred-tank reactors. *FEMS Microbiology Letters*, 166, 165–170.
- Aspmo, S.I., Horn, S.J. and Eijsink, V.G.H., 2005a. Use of hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 248, 65–68.
- Aspmo, S.I., Horn, S.J., and Eijsink, V.G.H., 2005b. Hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera as components of microbial growth media. *Process Biochemistry*, 40, 3714–3722.
- Baggerman, W.I., 1981. A modified rose bengal medium for the enumeration of yeasts and moulds from foods. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 12, 242–247.
- Bhaskar, N. and Mahendrakar, N.S., 2008. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource Technology*, 99, 4105–4111.
- Balkan, B. and Ertan, F., 2007. Production of alpha-amylase from *Penicillium chrysogenum* under solid-state fermentation by using some agricultural by-products. *Food Technology and Biotechnology*, 45, 439–442.
- Banga, J. and Tripathi, C.K.M., 2009. Response surface methodology for optimization of medium components in submerged culture of *Aspergillus flavus* for enhanced heparinase production. *Letters in Applied Microbiology*, 49, 204–209.
- Bankar, S.B., Bule, M.V., Singhal, R.S. and Ananthanarayan, L., 2009. Optimization of *Aspergillus niger* fermentation for the Production of glucose oxidase. *Food Bioprocess Technology*, 2, 344–352.
- Barros, F.F.C., Ponezi, A.N. and Pastore, G.M., 2008. Production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* LB5a on a pilot scale using cassava wastewater as substrate. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35, 1071–1078.
- Beuchat, L.R., 1998. Progress in conventional methods for detection and enumeration of foodborne yeasts. *Food Technology and Biotechnology*, 36, 267–272.
- Beuchat, L.R., Scouten, A.J. and Jablonska, J., 2002. Influence of composition of diluent on populations of yeasts and moulds recovered from raw fruits. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 399–402.
- Bilgehan, H., 1992. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, (1. Baskı), Bornova-İzmir.

- Borras, E., Blaquez, P., Sarra, M., Caminal, G. and Vicent, T., 2008. *Trametes versicolor* pellets production: Low-cost medium and scale-up. *Biochemical Engineering Journal*, 42, 61–66.
- Bridson, E.Y., 1995. The oxoid manual. Unipath Limited, Wade Road, Basingstoke Hampshire, England.
- Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 1994. *Biology of Microorganisms*. 7th edition, p. 122. Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Burgess, D.R. and Keane, P.J., 1997. Biological control of *Botrytis cinerea* on chickpea seed with *Trichoderma* spp and *Gliocladium roseum*: indigenous versus non-indigenous isolates. *Plant Pathology*, 46, 910–918.
- Busta, F.F., 1976. Practical implications of injured microorganisms in food. *Journal of Milk and Food Technology*, 39, 138–145.
- Buyer, J.S., 1995. A soil and rhizosphere microorganism isolation and enumeration medium that inhibits *Bacillus mycoides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1839–1842.
- Byrne, G.S. and Ward, O.P., 1989. Effect of nutrition on pellet formation by *Rhizopus arrhizus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 33, 912–914.
- Chakraborty, P. and Dutta, S.K., 1999. Kinetics of lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* and *L-bulgaricus* in glucose and whey media. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 36, 210–216.
- Chen, J., Shi, F., Zhang, B., Zhu, F., Cao, W., Xu, Z., Xu, G. and Cen, P., 2010. Effects of cultivation conditions on the production of γ -PGA with *Bacillus subtilis* ZJU-7. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160, 370–377.
- Cheng, M.F., Chiou, C.C., Liu, Y.C., Wang, H.Z. and Hsieh, K.S., 2001. *Cryptococcus laurentii* Fungemia in a Premature Neonate. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 1608–1611.
- Cherry, J.P., Young, C.T. and Shewfelt, A.L., 1975. Characterization of protein isolates from keratinous material of poultry feathers. *Journal of Food Science*, 40, 331–335.
- Chien, L.J. and Lee, C.K., 2007. Enhanced hyaluronic acid production in *Bacillus subtilis* by coexpressing bacterial hemoglobin. *Biotechnology Progress*, 23, 1017–1022.
- Cho, E.J., Oha, J.Y., Chang, H.Y. and Yun, J.W., 2006. Production of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of a mushroom *Tremella fuciformis*. *Journal of Biotechnology*, 127, 129–140.
- Chopra, A.K., Chander, H., Batish, V.K. and Ranganathan, B., 1980. Factors affecting lipase production from *penicillium chrysogenum*. *Journal of Dairy Science*, 60, 184–191.
- Clausen, E., Gildberg, A. and Raa, J., 1985. Preparation and testing of an autolysate of fish viscera as growth substrate for bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 50, 1556–1557.
- Cohlberg, J.A., 1993. The structure of α -keratin. *Trends in Biochemical Sciences*, 18, 360–362.
- Colin, V.L., Baigori, M.D. and Pera, L.M., 2010. Effect of environmental conditions on extracellular lipases production and fungal morphology from *Aspergillus niger* MYA 135. *Journal of Basic Microbiology*, 50, 52–58.

- Conner, D.E. and Beuchat, L.R., 1985. Recovery of heat-stressed yeasts in media containing plant Oleoresins. *Journal of Applied Bacteriology*, 59, 49-55.
- Çakı, S., 2007. Tavukçuluk Sektörünün Türk Ekonomisindeki Yeri ve Durumu. *Ege Akademik Bakış*, 7, 153-189.
- Davis, J.G., Mecchi, E.P. and Lineweaver, H., 1961. Processing of poultry byproducts and their utilization in feeds. Part I. Processing of poultry byproducts. Utilization Res. Rep. No. 3, US Department of Agriculture, Washington, DC.
- Demirbaş, N., 2005. Türkiye Ekonomisinde Tarıma Dayalı Sanayinin Yeri ve Önemi. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10, 71-81.
- Demirulus, H. ve Aydın, A., 1996. Tavukçuluk artık ve atık maddelerinin işlenerek çevre kirliliğinin azaltılması. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 19, 22-26.
- Dhillon, G.S., Bansal, S. and Oberoi, H.S., 2007. Cauliflower waste incorporation into cane molasses improves ethanol production using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 178. *Indian Journal of Microbiology*, 47, 353-357.
- Dong, J.Y., Zhou, W., Li, L., Li, G.H., Liu, Y.J. and Zhang, K.Q., 2006. A new Epidithiodioxopiperazine metabolite isolated from *Gliocladium roseum* YMF1.00133. *Chinese Chemical Letters*, 17, 922-924.
- Dudikova, J. and Kolarova, N., 2006. Extracellular polysaccharides produced by acapsular mutant of *Cryptococcus laurentii*. *Chemical Papers-Chemicke Zvesti*, 60, 69-70.
- Dufosse, L., De La Broisse, D. and Guerard, F., 1997. Fish protein hydrolysates as nitrogen sources for microbial growth and metabolite production. *Recent Research Developments in Microbiology*, 1, 365-381.
- El-Boushy, A.R., Van der Poel, A.F.B. and Walraven, O.E.D., 1990. Feather meal-A biological waste: Its processing and utilization as a feedstuff for poultry. *Biological Wastes*, 32, 39-74.
- Erdal, S. and Taskin, M., 2010. Production of α -amylase by *Penicillium expansum* MT-1 in solid-state fermentation using waste Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindley) kernels as substrate. *Romanian Biotechnological Letters*, 15, 5342-5350.
- Essien, J.P., Akpan, E.J. and Essien, E.P., 2005. Studies on mould growth and biomass production using waste banana peel. *Bioresour Technology*, 96, 1451-1456.
- Fakas, S., Certik, M., Papanikolaou, S., Aggelis, G., Komaitis, M. and Galiotou-Panayotou, M., 2008. Gamma-Linolenic acid production by *Cunninghamella echinulata* growing on complex organic nitrogen sources. *Bioresour Technology*, 99, 5986-5990.
- Fang, Q.H. and Zhong, J.J., 2002. Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*, 37, 769-774.
- Fleet, G.H. and Mian, M.A., 1987. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 4, 145-155.
- Fleet, G.H., 1990. Yeasts in dairy products. *Journal of Applied Bacteriology*, 68, 199-211.
- Foght, J. and Aislabie, J., 2005. Enumeration of Soil Microorganisms. Margesin, R., Schinner, F., (Eds.) *Manual for soil analysis: monitoring and assessing soil bioremediation*. pp. 261-280, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.

- Gan, Z., Yang, J., Tao, N., Yu, Z. and Zhang, K.Q., 2007. Cloning and expression analysis of a chitinase gene Crch1 from the mycoparasitic fungus *Clonostachys rosea* (syn. *Gliocladium roseum*). *Journal of Microbiology*, 45, 422-430.
- Garcia-Granados, A., Gutierrez, M.C., Rivas, F. and Arias, J.M., 2001. Biotransformation of 4 beta-hydroxyeudesmane-1,6-dione by *Gliocladium roseum* and *Exserohilum halodes*. *Phytochemistry*, 58, 891-895.
- Gast, R.K. and Holt, P.S., 1994. Iron supplementation to enhance the recovery of *Salmonella enteritidis* from pools of egg contents. *Journal of Food Protection*, 58, 268-272.
- Gessesse, A., Kaul, R.H., Gashe, B.A. and Mattiasson, B., 2003. Novel alkaline proteases from alkalophilic bacteria grown on chicken feather. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 519-524.
- Ghorbel, S., Souissi, N., Triki-Ellouz, Y., Dufosse, L., Guerard, F. and Nasri, M., 2005. Preparation and testing of Sardinella protein hydrolysates as nitrogen source for extracellular lipase production by *Rhizopus oryzae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 33-38.
- Gill, C.O. and Newton K.G., 1977. The development of the aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 43, 189-195.
- Golden, D.A. and Beuchat, L.R., 1990. Colony Formation by Sublethally Heat-Injured *Zygosaccharomyces rouxii* as Affected by Solutes in the Recovery Medium and Procedure for Sterilizing Medium. *Applied And Environmental Microbiology*, 56, 2319-2326.
- Gray, V.L., Muller, C.T., Watkins, I.D. and Lloyd, D., 2008. Peptones from diverse sources: pivotal determinants of bacterial growth Dynamics. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 554-565.
- Grazziotin, A., Pimentel, F.A., de Jong, E.V. and Brandelli, A., 2006. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 135-144.
- Green, J.H., Paskell, S.L. and Goldmintz, D., 1997. Fish peptones for microbial media developed from red hake and from a fishery by-product. *Journal of Food Protection*, 40, 181-186.
- Griffin, P.M., 1995. *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Infections of the gastrointestinal tract. In: Blaser, M.J., Smith, P.D., Ravdin, J.I., Greenberg, H.B., Guerrant, R.L., eds., page 739-761, Raven Press, New York.
- Grobbe, G.J., Chin-Joe, I., Kitzen, V.A., Boels, I.C., Boer, F., Sikkema, J., Smith, M.R. and De Bont, J., 1998. Enhancement of Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 with a Simplified Defined Medium. *Applied and environmental microbiology*, 64, 1333-1337.
- Hagan, E.C. and Mobley, H.L.T., 2007. Uropathogenic *Escherichia coli* Outer Membrane Antigens Expressed during Urinary Tract Infection. *Infection And Immunity*, 75, 3941-3949.
- Hageskal, G., Gaustad, P., Heier, B.T. and Skaar, I., 2007. Occurrence of moulds in drinking water. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 774-780.
- Halkman, A.K., 2005. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. 1. Baskı, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., Ankara.

- Hamano, P.S. and Kilikian, B.V., 2006. Production of red pigments by *Monascus ruber* in culture media containing corn steep liquor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23, 443 – 449.
- Harrap, B.S. and Woods, E.F., 1964. Soluble derivatives of feather keratin. Isolation, fractionation and amino acid composition. *Biochem. J.*, 92, 8–18.
- Harrigan, W.F. and McCance, M.E., 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press Inc. Ltd., London.
- Hasenekoğlu, İ., 2002. Mikrobiyoloji, Erzurum.
- Hinzlin, F. and Block, J.C., 1985. Yeasts and filamentous fungi in drinking water. *Environmental Technology Letters*, 6, 101–106.
- Hodge, J.E. and Hofreiter, B.T., 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates. Vol. 1, pp 380–394. In: *Methods in carbohydrate chemistry*. Whistler RL, Wolfrom ML (ed). Academic press, New York, USA.
- Huang, Y.S., Wang, S.M., Liu, C.C. and Yang, Y.J., 2002. Invasive *Escherichia coli* infection in infancy: clinical manifestation, outcome, and antimicrobial susceptibility. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 35, 103–108.
- Hurst, A., 1977. Bacterial injury: a review. *Canadian Journal of Microbiology*, 23, 935–944.
- Hwang, H.J., Kim, S.W., Choi, J.W. and Yun, J.W. 2003. Production and characterization of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus linteus* KCTC 6190. *Enzyme and Microbial Technology*, 33, 309–319.
- Jamdar, S.N. and Harikumar, P., 2008. A rapid autolytic method for the preparation of protein hydrolysate from poultry viscera. *Bioresource Technology*, 99, 6934–6940.
- Jarvis, B., 1973. Comparison of an improved rose bengal-chlortetracycline agar with other media for the selective isolation and enumeration of moulds and yeasts in foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 36, 723–727.
- Jones, M.D. and Fayerman, J.T., 1987. Industrial applications of recombinant DNA technology. *Journal of Chemical Education*, 64, 337–339.
- Josh, S., Bharucha, C., Jha, S., Yadav, S., Nerurkar, A. and Desai, A.J., 2008. Biosurfactant production using molasses and whey under thermophilic conditions. *Bioresource Technology*, 99, 195–199.
- Kadota, I., Uehara, K., Shinohara, H. and Nishiyama, K., 2000. Bacterial Blight of Welsh Onion: A new disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *allii* pv. nov. *Journal of General Plant Pathology*, 66, 310–315.
- Kang, D.H. and Siragusa, G.R., 1999. Agar Underlay Method for Recovery of Sublethally Heat-Injured Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 5334–5337.
- Kango, N., 2008. Production of inulinase using tap roots of dandelion (*Taraxacum officinale*) by *Aspergillus niger*. *Journal of Food Engineering*, 85, 473–478.
- Katechaki, E., Solomonidis, T., Bekatorou, A. and Koutinas, A.A., 2010. Thermal drying of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and its efficient use as starter for whey fermentation and unsalted cheese making. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162, 1270–1285.
- Kim, J.M., Lim, W.J. and Suh, H.J., 2001. Feather-degrading *Bacillus* species from poultry waste. *Process Biochemistry*, 37, 287–291.

- Kim, S.W., Hwang, H.J., Park, J.P., Cho, Y.J., Song, C.H. and Yun, J.W., 2002a. Mycelial growth and exo-biopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. *Letters in Applied Microbiology*, 34, 56-61.
- Kim, S.W., Hwang, H.J., Xu, C.P., Na, Y.S., Song, S.K. and Yun, J.W., 2002b. Influence of nutritional conditions on the mycelial growth and exopolysaccharide production in *Paecilomyces sinclairii*. *Letters in Applied Microbiology*, 34, 389-393.
- Kim, W.K. and Patterson, P.H., 2000. Nutritional Value of Enzyme or Sodium Hydroxide treated feathers from Dead Hens. *Poultry Science*, 79, 528-534.
- Kim, W.K., Lorenz, E.S. and Patterson, P.H., 2002. Effect of Enzymatic and Chemical Treatments on Feather Solubility and Digestibility. *Poultry Science*, 81, 95-98.
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D. and Shahidi, F., 2009. Characteristics and use of yellow stripe trevally hydrolysate as culture media. *Journal of Food Science*, 74, 219-225.
- Knochel, S., 1989. The suitability of four media for enumerating *Aeromonas* spp. From environmental samples. *Letters in Applied Microbiology*, 99, 67-69.
- Kodam, K.M., Soojhawon, I., Lokhande, P.D. and Gawai, K.R., 2005. Microbial decolorization of reactive azo dyes under aerobic conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 367-370.
- Kolisnychenko, V., Plunkett III, G., Herring, C.D., Feher, T., Posfai, J., Blattner, F.R. and Posfai, G., 2002. Engineering a reduced *Escherichia coli* genome. *Genome Research*, 12, 640-647.
- Kornilowicz-Kowalska, T., 1997. Studies on the decomposition of keratin wastes by saprophytic microfungi: I. Criteria for evaluating keratinolytic activity. *Acta Mycologica*, 32, 51-79.
- Krcmery, V. and Kunova, A., 2000. *Candida famata* fungemia in a cancer patient: Case report. *Journal of Chemotherapy*, 12, 189-190.
- Kunamneni, A., Permaul, K. and Singh, S., 2005. Amylase Production in Solid State Fermentation by the Thermophilic Fungus *Thermomyces lanuginosus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100, 168-171.
- Kurbanoglu, E.B., 1999. Boynuz hidrolizatının bakteriler için besiyeri olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kurbanoglu, E.B. and Kurbanoglu, N.I., 2002. A new process for the utilization as peptone of ram horn waste. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94, 202-206.
- Kurbanoglu, E.B. and Kurbanoglu, N.I., 2004. Ram horn peptone as a source of citric acid production by *Aspergillus niger*, with a process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 131, 289-294.
- Kurbanoglu, E.B. and Algur, O.F., 2004. A new medium from ram horn hydrolysate for enumeration of aerobic bacteria. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28, 343-350.
- Kurbanoglu, E.B. and Algur, O.F., 2006. Utilization of ram horn hydrolysate as a supplement for recovery of heat- and freeze-injured bacteria. *Food Control*, 17, 238-242.

- Kurbanoglu, E.B. and Kurbanoglu, N.I., 2007. Ram horn hydrolysate as enhancer of xanthan production in batch culture of *Xanthomonas campestris* EBK-4 isolate. *Process Biochemistry*, 42, 1146-1149.
- Labadie, J., 1999. Consequences of packaging on bacterial growth. *Meat Science*, 52, 299-305.
- Larkin, J.M., 1972. Peptonized milk as an enumeration medium for soil bacteria. *Applied Microbiology*, 23, 1031-1032.
- Latshaw, J.D., Musharaf, N. and Retrum, R., 1994. Processing of feather meal to maximize its nutritional value for poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 47, 179-188.
- Lechevallier, M.W., Cameron, S.C. and Mcfeters, G.A., 1983. New medium for improved recovery of coliform bacteria from drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 45, 484-492.
- Lee, G.G., Ferket, P.R. and Shih, J.C.H., 1991. Improvement of feather digestibility by bacterial keratinase as a feed additive. *FASEB Journal*, 59, 1312.
- Li, G.Y., Huang, K.L., Jiang, Y.R. and Ding, P., 2007. Production of (R)-mandelic acid by immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* on chitosan carrier. *Process Biochemistry*, 42, 1465-1469.
- Liao, W., Liu, Y., Frear, C. and Chen, S., 2007. A new approach of pellet formation of a filamentous fungus – *Rhizopus oryzae*. *Bioresource Technology*, 98, 3415-3423.
- Lin, C.Y. and Lay, C.H., 2004. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora. *Interantional Journal.of Hydrogen Energy*, 29, 41-45.
- Lin, T.Y., Hung, T.H. and Cheng, T.S.J., 2005. Conjugated linoleic acid production by immobilized cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. *Food Chemistry*, 92, 23-28.
- Liu, H.Z., Wang, Q., Liu, Y.Y. and Fang, F., 2009. Statistical optimization of culture media and conditions for production of mannan by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 14, 577-583.
- Liu, Y., Liao, W. and Chen, S., 2008. Study of pellet formation of filamentous fungi *Rhizopus oryzae* using a multiple logistic regression model. *Biotechnology and Bioengineering*, 99, 117-128.
- Losick, R., Youngman, P. and Piggot, P.J., 1986. Genetics of endospore formation in *Bacillus subtilis*. *Annual Review of Genetics*, 20, 625-669.
- Luong, V.B. and Payne, C.G., 1977. Hydrolysed feather protein as a source of amino acids for laying hens. *British Poultry Science*, 18, 523-526.
- Mahanta, N., Gupta, A. and Khare, S.K., 2008. Production of protease and lipase by solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA in solid-state fermentation using *Jatropha curcas* seed cake as substrate. *Bioresource Technology*, 99, 1729-1735.
- Mahari, T. and Gashe, B.A., 1990. A survey of the microflora of raw and pasteurized milk and the sources of contamination in a milk processing plant in Addis Ababa, Ethiopia. *Journal of Dairy Research*, 57, 233-238.
- Mandal, S.K. and Banerjee, P.C., 2005. Submerged production of oxalic acid from glucose by immobilized *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry*, 40, 1605-1610.
- Maria, C.R., Rosa, R. and Antonio, R.N., 2002. Invertase from a strain of *Rhodotorula glutinis*. *Phytochemistry*, 61, 605-609.

- Martin, M.V., 1999. The use of fluconazole and itraconazole in the treatment of *Candida albicans* infections: a review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44, 429-437.
- Martone, C.B., Borla, O.P. and Sanchez, J.J., 2005. Fishery by-product as a nutrient source for bacteria and archaea growth media. *Bioresource Technology*, 96, 383-387.
- Matrai, T., Mayer, S., Kokai, S. and Salamon, I., 2000. Invertase production of common storage moulds in food and feed grains as a possibility for rapid detection of *Aspergillus flavus* group and *Aspergillus fumigatus*. *International Journal of Food Microbiology*, 61, 187-191.
- Menegazzi, G.S. and Ingledew, W.M., 1980. Heat processing oils after being of spent brewer's yeast. *Journal of Food Science*, 45, 182-186.
- Mertens, D., 2005a. AOAC Official Method 922.02. Plants Preparation of Laboratory Sample. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp1-2, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Mertens, D., 2005b. AOAC Official Method 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp 3-4, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Mc Feters, G.A., Cameron, S.C. and Lechevallier, M.W., 1982. Influence of Diluents, Media, and Membrane Filters on Detection of Injured Waterborne Coliform Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 43, 97-103.
- Mian, M.A., Fleet, G.H. and Hocking, A.D., 1997. Effect of diluent type on viability of yeasts enumerated from foods or pure culture . *Contributions to Methods in Food Mycology*, 35, 103-107.
- McCleer, D.R. and Rowe, M.T., 1995. Development of a selective plating technique for the recovery of *Escherichia coli* O157:H7 after heat stress. *Letters Applied Microbiology*, 21, 252-256.
- Mckane, L. and Kandel, J., 1986. *Microbiology Essentials and Applications*. McGraw-Hill Book Company, p.777, New York.
- Mislivec, P.B., Beuchat, L.R. and Cousin, M.A., 1992. Yeasts and Moulds. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, APHA, pp. 237-249, Washington, D.C.
- Moss, C.W. and Speck, M.L., 1966. Identification of Nutritional Components in Trypticase Responsible for Recovery of *Escherichia coli* Injured by Freezing. *Journal of Bacteriology*, 91, 1098-1104.
- Muramatsu, M., Ohto, C., Obata, S., Sakuradani, E. and Shimizu, S., 2009. Alkaline pH enhances farnesol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108, 52-55.
- Murthy, T.R.K. and Gaur, R., 1987. Effect of incorporation of tween 80 and magnesium chloride on the recovery of coliforms in VRB medium from fresh, refrigerated and frozen minced buffalo meat. *International Journal of Food Microbiology*, 4, 341-346.
- Naidoo, K., Ayyachamy, M., Permaul, K. and Suren, S., 2009. Enhanced fructooligosaccharides and inulinase production by a *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* KM 24 mutant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32, 689-695.

- Nedkov, P., 1998. Characterization and some microbial applications of an enzyme hydrolysate obtained from pig pancreases. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 51, 75–78.
- Nelson, F.E., 1972. Plating medium pH as a factor in apparent survival of sublethally stressed yeasts. *Applied Microbiology*, 24, 236–239.
- Nicholson, W.L., Munakata, H., Horneck, G., Melosh, H.J. and Setlow, P., 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 548–572.
- Papadopoulos, M.C., 1984. Feather meal: Evaluation of the effect of processing conditions by chemical and chick assay. PhD. Thesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- Papadopoulos, M.C., El Boushy, A.R. and Roodbeen, A.E., 1985. The effect of varying autoclaving conditions and added sodium hydroxide on amino acid content and nitrogen characteristics of feather meal. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 36, 1219–1226.
- Park, P.K., Cho, D.H., Kim, E.Y. and Chu, K.H., 2005. Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using statistical experimental design. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 429–434.
- Parrado, J., Millan, F., Hernandez-Pinzon, I., Bautista, J. and Machado, A., 1993. Sunflower peptones: Use as nitrogen source for the formulation of fermentation media. *Process Biochemistry*, 28, 109–113.
- Patidar, P., Agrawal, D., Banerjee, T. and Patil, S., 2005. Optimisation of process parameters for chitinase production by soil isolates of *Penicillium chrysogenum* under solid substrate fermentation. *Process Biochemistry*, 40, 2962–2967.
- Pavlova, K., Gargova, S., Hristozova, T. and Tankova, Z., 2008. Phytase from antarctic yeast strain *Cryptococcus laurentii* AI27. *Folia Microbiology*, 53, 29–34.
- Pekala, E., Kochan, M. and Carnell, A.J., 2009. Microbial transformation of hydroxy metabolites of 1-oxohexyl derivatives of theobromine by *Cunninghamella echinulata* NRRL 1384. *Letters In Applied Microbiology*, 48, 19–24.
- Pereira, V.J., Basílio, M.C., Fernandes, D., Domingues, M., Paiva, J.M., Benoliel, M.J., Crespo, M.T. and San Romao, M.V., 2009. Occurrence of filamentous fungi and yeasts in three different drinking water sources. *Water Research*, 43, 3813–3819.
- Pirkov, I., Albers, E., Norbeck, J. and Larsson, C., 2008. Ethylene production by metabolic engineering of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering*, 10, 276–280.
- Plessas, S., Fisher, A., Koureta, K., Psarianos, C., Nigam, P. and Koutinas, A.A., 2008. Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* and *L. helveticus* for sourdough bread making. *Food Chemistry*, 106, 985–990.
- Poernomo, A. and Buckle, K.A., 2002. Crude peptones from cowtail ray (*Trygon sephen*) viscera as microbial growth media. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 333–340.
- Poorna, V. and Neelesh, R.S., 2001. Production of amylase with *Aspergillus flavus* on *Amaranthus grains* by solid-state fermentation. *Journal of Basic Microbiology*, (41), 57–64.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. and Klein, D.A., 2002. Microbiology, fifth edition. The McGraw-Hill Companies, page 96–98, New York, USA.

- Rajagopalan, G. and Krishnan, C., 2009. Optimization of agro-residual medium for alpha-amylase production from a hyper-producing *Bacillus subtilis* KCC103 in submerged fermentation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, 618-625.
- Rao, S.V.R., Dwarakanath, C.T. and Saraswathi, C.R., 1980. Preparation and microbiological evaluation of bactopectone from shrimp waste. *Journal of Food Science and Technology*, 17, 133-136.
- Ray, B., 1979. Methods to detect stressed microorganisms. *Journal of Food Protection*, 42, 346-355.
- Ray, B., 1993. Sublethal injury, bacteriocins, and food microbiology. *ASM News*, 59, 285-291.
- Ray, B. and Adams, D.M., 1984. Repair and detection of injured microorganisms, p. 112-113. *In* M. L. Speck (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, Washington.
- Mackey, B.M., Derrick, C.M. and Thomas, J.A., 1980. The recovery of sublethally injured *Escherichia coli* from Frozen Meat. *Journal of Applied Bacteriology*, 48, 315-324.
- Rayman, M.K., Aris, B., El Derea and H.B., 1978. The effect of compounds which degrade hydrogen peroxide on the enumeration of heat stressed cells of *Salmonella senftenberg*. *Canadian Journal of Microbiology*, 24, 883-885.
- Reissbrodt, R., Beer, W., Muller, R. and Claus, H., 1995. Characterization of casein peptones by HPLC profiles and microbiological growth parameters. *Acta Biotechnologica*, 15, 223-232.
- Revankar, M.S. and Lele, S.S., 2007. Synthetic dye decolorization by white rot fungus, *Ganoderma* sp. WR-1. *Bioresource Technology*, 98, 775-780.
- Rincon, J.F.J., Moya, A., Monteagudo, J.M. and Rodriguez, L., 1993. Optimization of the fermentation of whey by *Lactobacillus casei*. *Acta Biotechnologica*, 13, 323-331.
- Rodrigues, U.M. and Kroll, R.G., 1989. Microcolony epifluorescence microscopy for selective enumeration of injured bacteria in frozen and heat-treated foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 778-787.
- Romero, E., Bautista, J., Garcia-Martinez, A.M., Cremades, O. and Parrado, J., 2007. Bioconversion of corn distiller's dried grains with solubles (CDDGS) to extracellular proteases and peptones. *Process Biochemistry*, 42, 1492-1497.
- Rosfarizan, M., Ariff, A.B., Hassan, M.A. and Karim, M.I.A., 1998. Kojic acid production by *Aspergillus flavus* using gelatinized and hydrolyzed sago starch as carbon sources. *Folia Microbiology*, 43, 459-464.
- Roukas, T., 1996. Ethanol production from non-sterilized beet molasses by free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells using fed-batch culture. *Journal of Food Engineering*, 27, 87-96.
- Ryoo, D., 1999. Fungal fractal morphology of pellet formation in *Aspergillus niger*. *Biotechnol Techniques*, 13, 33-36.
- Sasahara, H., Mine, M. and Izumori, K., 1998. Production of D-Talitol from D-Psicose by *Candida famata* R28. *Journal of Fermentation And Bioengineering*, 85, 84-88.
- Sharpe, A.N. and Jackson A.K., 1972. Stomaching: a new concept in bacteriological sample preparation. *Applied Microbiology*, 24, 175-178.

- Schlegel, H.G., 1986. General Microbiology. Cambridge University Press, New York p 587.
- Shang, F., Wang, Z. and Tan, T., 2007. High-cell-density cultivation for co-production of ergosterol and reduced glutathione by *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Microbiology and Biotechnology, 77, 1233-1240.
- Shorland, F.B. and Gray, J.M., 1970. The preparation of nutritious protein from wool. British Journal of Nutrition, 24, 717.
- Singh, O.V., Kapur, N. and Singh, R.P., 2005. Evaluation of agro-food byproducts for gluconic acid production by *Aspergillus niger*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21, 519-524.
- Soares, V.F., Castilho, L.R., Bon, E.P.S. and Freire, D.M.G., 2005. High-yield *Bacillus subtilis* protease production by solid-state fermentation. Applied Biochemistry and Biotechnology, 121, 311-319.
- Sohail, M., Siddiqi, R., Ahmad, A. and Khan, S.A., 2009. Cellulase production from *Aspergillus niger* MS82: effect of temperature and pH. New Biotechnology, 25, 437-441.
- Somashekar, D. and Joseph, R., 2000. Inverse relationship between carotenoid and lipid formation in *Rhodotorula gracilis* according to the C/N ratio of the growth medium. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16, 491-493.
- Soomro, A.H. and Masud, T., 2008. Selection of yoghurt starter culture from indigenous isolates of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* on the basis of technological properties. Annals of Microbiology, 58, 67-71.
- Sorqvist, S., 1993. Heat resistance of *Listeria monocytogenes* by two recovery media used with and without cold preincubation. Journal of Applied Bacteriology, 74, 428-432.
- Steiner, R.J., Kellems, R.O. and Church, D.C., 1983. Feather and hair meals for ruminants. IV. Effects of chemical treatments of feathers and processing time on digestibility. Journal of Animal Science, 57, 495-502.
- Steinert, P.M., 1993. Structure, function, and dynamics of keratin intermediate filaments. Journal of Investigative. Dermatology, 100, 729-734.
- Strobel, G.A., Knighton, B., Kluck, K., Ren, Y., Livinghouse, T., Griffin, M., Spakowicz, D. and Sears, J., 2008. The production of myco-diesel hydrocarbons and their derivatives by the endophytic fungus *Gliocladium roseum* (NRRL 50072). Microbiology, 154, 3319-3328.
- Sun, Y. and Cheng, J., 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology, 83, 1-11.
- Suntornsuk, W. and Suntornsuk L., 2003. Feather degradation by *Bacillus* sp. FK 46 in submerged cultivation. Bioresource Technology, 86, 239-243.
- Taskin, M., Erdal, S. and Canli, O., 2010. Utilization of waste loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindley) kernels as substrate for scleroglucan production by locally isolated *Sclerotium rolfsii*. Food Science and Biotechnology, 19, 1069-1075.
- Tinoi, J., Rakariyatham, N. and Deming, R.L., 2005. Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate. Process Biochemistry, 40, 2551-2557.

- Uzeh, R.E., Akinola, S.O. and Olatope, S.O.A., 2006. Production of peptone from soya beans (*Glycine max* L merr) and African locust beans (*Parkia biglobosa*). African Journal of Biotechnology, 18, 1684-1686.
- Van Suijdam, J.C., Kossen, N.W.F. and Paul, P.G., 1980. An inoculum technique for the production of fungal pellets. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 10, 211-221.
- Vasileva-Tonkova, E., Nustorova, M. and Gushterova, A., 2007. New protein hydrolysates from collagen wastes used as peptone for bacterial growth. Current Microbiology, 54, 54-57.
- Vazquez, J.A., Gonzalez, M.P. and Murado, M.A., 2004. Peptones from autohydrolysed fish viscera for nisin and pediocin production. Journal of Biotechnology, 112, 299-311.
- Vazquez, J.A. and Murado, M.A., 2008. Enzymatic hydrolysates from food wastewater as a source of peptones for lactic acid bacteria productions. Enzyme and Microbial Technology, 43, 66-72.
- Vazquez, J.A., Montemayor, M.I., Fraguas, J. and Murado, M.A., 2009. High production of hyaluronic and lactic acids by *Streptococcus zooepidemicus* in fed-batch culture using commercial and marine peptones from fishing by-products. Biochemical Engineering Journal, 44, 125-130.
- Vecht-Lifshitz, S.E., Almas, K.A. and Zomer, E., 1990. Microbial growth on peptones from fish industrial wastes. Letters Applied Microbiology, 10, 183-186.
- Wang, X. and Parsons, C.M., 1997. Effect of processing systems on protein quality of feather meals and hog hair meals. Poultry Science, 76, 491-496.
- Webster, A.B., Fletcher, D.L. and Savage, S.I., 1996. Feather removal from spent hens up to 24 hr post-mortem. Journal of Applied Poultry Research, 5, 337-346.
- Welman, A.D., Maddox, I.S. and Archer, R.H., 2003. Screening and selection of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Journal of Applied Microbiology, 95, 1200-1206.
- Welthagen, J.J. and Viljoen, B.C., 1997. Comparison of ten media for the enumeration of yeasts in dairy products. Food Research International, 30, 207-211.
- Wieneke, A.A., Roberts, D. and Gilbert, R.J., 1993. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-1990. Epidemiology and Infection, 110, 519-531.
- Williams, C.M., Lee, C.M., Garlich, J.D. and Shih, J.C.H., 1991. Evaluation of a bacterial feather fermentation product, feather lysate, as a feed protein. Poultry Science, 70, 85-90.
- Wilson, D.M. and King, J.K., 1995. Production of aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in pure and mixed cultures of *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. Food Additives and Contaminants, 12, 521-525.
- Wu, M.T., Ayres J.C. and Koehler P.E., 1974. Toxigenic aspergilli and penicillia isolated from aged, cured meats. Applied Microbiology, 28, 1094-1096.
- Wu, V.C.H., Fung, D.Y.C. and Kang, D.H., 2001. Evaluation of thin agar layer method for recovery of cold-injured foodborne pathogens. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 9, 11-25.
- Wu, V.C.H., 2008. A review of microbial injury and recovery methods in food. Food Microbiology, 25, 735- 744.

- Xin, X.L., Su, D.H., Wang, X.J. and Yuan, Q.P., 2009. Microbial transformation of dehydroandrographolide by *Cunninghamella echinulata*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59, 201–205.
- Xue, F., Miao, J., Zhang, X., Luo, H. and Tan, T., 2008. Studies on lipid production by *Rhodotorula glutinis* fermentation using monosodium glutamate waste water as culture medium. *Bioresource Technology*, 99, 5923–5927.
- Yamada, S., Nabe, K., Izuo, N., Nakamichi, K. and Chibata, I., 1981. Production of L-Phenylalanine from Trans-Cinnamic Acid With *Rhodotorula-Glutinis* Containing L-Phenylalanine Ammonia-Lyase Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 42, 773–778.
- Yan, Q., Wu, A., Jiang, Z., Tang, L. and Bo, S., 2009. Enhanced production of a thermostable mannanase by immobilized cells of *Bacillus subtilis* on various membranes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 1057–1063.
- Yang, F.C., Huang, H.C. and Yang, M.J. 2003. The influence of environmental conditions on the mycelial growth of *Antrodia cinnamomea* in submerged cultures. *Enzyme and Microbial Technology*, 33, 395–402.
- Yatsyshyn, V.Y., Fedorovych, D.V. and Sibirny, A.A., 2010. Medium optimization for production of flavin mononucleotide by the recombinant strain of the yeast *Candida famata* using statistical designs. *Biochemical Engineering Journal*, 49, 52–60.
- Yoke-Kqueen, C., Laurence, J. and Radu, S., 2006. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from the skin surface of athletes and training environment by random amplified polymorphic DNA and antibiotic resistance profiling. *Biotechnology*, 5, 489–494.
- Yoshida, K., Ueda, S. and Maeda, I., 2009. Carotenoid production in *Bacillus subtilis* achieved by metabolic engineering. *Biotechnology Letters*, 31, 1789–1793.
- Zayed, G., Mostafa, N., 1992. Studies on the production and kinetic aspects of single cell protein from sugarcane bagasse saccharified with *Aspergillus niger*. *Biomass and Bioenergy*, (3), 363–367.
- Zhang, Z.Y., Jin, B. and Kelly, J.M., 2007. Production of lactic acid from renewable materials by *Rhizopus* fungi. *Biochemical Engineering Journal*, 35, 251–263.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Trabzon’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon’da tamamladı. 2000 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliğinden 2005 yılında mezun oldu. 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında başlamış olduğu doktora öğrenimine devam etmektedir. 2007 yılından itibaren de Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.