

**ÖRÜMCEK AĞI HİDROLİZATINDAN  
MİKROBİYOLOJİK AMAÇLI PEPTON ÜRETİMİ  
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

**Harun DEDE**

**Yüksek Lisans Tezi  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR  
2008  
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÖRÜMCEK AĞI HİDROLİZATINDAN MİKROBİYOLOJİK  
AMAÇLI PEPTON ÜRETİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Harun DEDE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2008

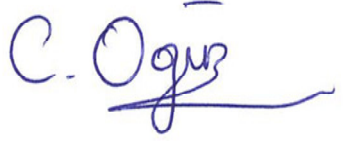
Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR danışmanlığında, Harun DEDE tarafından hazırlanan bu çalışma, ..11.../09./2006. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

İmza : 

Üye : Prof. Dr. M. Cemal OĞUZ

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Ali ASLAN

İmza : 

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

(imza)

.....  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### ÖRÜMCEK AĞI HİDROLİZATINDAN MİKROBİYOLOJİK AMAÇLI PEPTON ÜRETİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Harun DEDE  
Atatürk Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

Örümcek ağından mikrobiyolojik besiyerleri için yeni bir pepton geliştirilmiştir. Materyal olarak, Erzurum ili Pasinler ilçesi Alvar Beldesindeki ahırlardan temin edilen örümcek ağları kullanılmıştır. Örümcek ağları toz haline getirildikten sonra kimyasal olarak hidrolize edilmiş ve hidrolizat örümcek ağı hidrolizatı (ÖAH) olarak isimlendirilmiştir. ÖAH'nin kül, element, toplam şeker ve amino asit içeriği belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki (% 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) ÖAH'nin doğal ortamlardan alınan (et, su, süt ve toprak) test mikroorganizmalarının üremesi üzerindeki etkileri araştırılmış ve %4'lük ÖAH'nin en uygun konsantrasyon olduğu saptanmıştır. ÖAH kurutulmuş ve elde edilen ürüne örümcek ağı peptonu (ÖAP) adı verilmiştir. Elde edilen bu pepton, bacteriological pepton ve proteose pepton'a karşı saf kültür halindeki mikroorganizmaları ve doğal ortamlardaki mikroorganizmaları üretme potansiyeli bakımından test edilmiştir. Yüzey ekimi, dökme plak (koloni sayılarını karşılaştırmak için) ve çalkalama kültür (biyomas verimlerini karşılaştırmak için) çalışmalarından elde edilen sonuçlar ÖAP'nin mikrobiyolojik vasatlarda pepton olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

**2008, 46 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Pepton, Besiyeri, Örümcek Ağı, Hidrolizat

## **ABSTRACT**

Ph. M. Thesis

### **INVESTIGATION ON THE MICROBIOLOGICAL PEPTONE PRODUCTION FROM SPIDER NET HYDROLYSATE**

Harun DEDE

Atatürk University

Science and Art Faculty

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR

A new peptone has been developed from spider net for microbiological media. Spider net were obtained from the stables in Alvar, Pasinler, Erzurum. After powdering, it was hydrolysed chemically and obtained product was termed as spider net hydrolysate (SNH). The amounts of ash, element, total sugar and amino acid those SNH contained were determined. The effects of different concentrations (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 %) of SNH on the growth of microorganisms were investigated and it was found that the optimal concentration is 4%. SNH was dried and obtained product was termed as spider net peptone (SNP). SNP was compared with proteose pepton (PP) and bacteriological peptone (BP) and it was found that this product can be used as a pepton in microbiological media.

**2008, 46 pages**

**Keywords:** Peptone, Spider Net, Hydrolysate

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yürütülmüştür.

Çalışmalarında her türlü desteği sağlayan değerli hocam ve tez yöneticim Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR'a (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam esnasında maddi manevi ilgi ve yardımlarını esirgemeyen başta Sayın Doç. Dr. Esabi B. KURBANOĞLU (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Sayın Araş. Gör. Mesut TAŞKIN (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü) ile bütün Biyoloji Bölüm Elemanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmalarında bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Abdullah MENZEK (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü) ve istatistiksel analizlerin yapımı için Sayın Yrd. Doç. Dr Hamit ACEMOĞLU (Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi)'na teşekkür ederim.

Çalışmalarımın her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

**Harun DEDE**

**Ağustos, 2008**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
SİMGELER DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	8
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	11
3.1. Materyal .....	11
3.1.1. Kimyasal maddeler .....	11
3.1.2. Örümcek ağı .....	11
3.1.3. Test mikroorganizmaları .....	11
3.2. Yöntem .....	12
3.2.1. Örümcek ağının fiziksel olarak parçalanması .....	12
3.2.2. Örümcek ağının kimyasal olarak parçalanması .....	12
3.2.3. Örümcek ağı hidrolizatının kimyasal içeriğinin belirlenmesi .....	14
3.2.3.a. Örümcek ağı hidrolizatında bulunan ve mikroorganizmaların üremesinde rolü olan bazı minerallerin miktarının belirlenmesi .....	14
3.2.3.b. Örümcek ağı hidrolizatının toplam şeker miktarının belirlenmesi .....	14
3.2.3.c. Örümcek ağı hidrolizatının amino asit bileşiminin belirlenmesi .....	14
3.2.4. Örümcek ağı hidrolizatının mikroorganizmaları optimal üretme konsantrasyonunun belirlenmesi .....	14
3.2.5. Örümcek Ağı Peptonu'nun diğer peptonlarla karşılaştırılması .....	15
3.2.5.a. Farklı peptonlu ortamlarda test mikroorganizmalarının biyomas verimlerinin karşılaştırılması .....	15
3.2.5.b. Test mikroorganizmalarının üremelerinin farklı peptonlar kullanılarak hazırlanan besiyerlerinde yüzey ekimi yöntemi ile karşılaştırılması .....	16
3.2.6. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....	17

<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	18
4.1. Örümcek Ağı Peptonu'nun (ÖAP) Kimyasal Bileşimi.....	18
4.2. Mikroorganizmaların Üremesi için Uygun Örümcek Ağı Hidrolizatı (ÖAH) Konsantrasyonunun Belirlenmesi .....	20
4.3. Farklı Peptonları Kullanarak Hazırlanan Besiyerlerinde Saf Kültürlerden Yapılan Yüzey Ekimi Sonucu Elde Edilen Bulgular .....	25
4.4. Örümcek Ağı Peptonu'nun (ÖAP) Doğal Ortamlardaki Mikroorganizmaları Üretim Potansiyelinin Diğer Peptonlar İle Karşılaştırılması .....	26
4.5. Örümcek Ağı Peptonu (ÖAP)'nun Saf Bakteri ve Fungusları Üretim Potansiyelinin Diğer Peptonlarla Karşılaştırılması .....	30
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ</b> .....	35
5.1. Örümcek Ağının Hidrolize Edilmesinde İzlenen Yol.....	36
5.2. Örümcek Ağı Peptonu'nun (ÖAP) Kimyasal İçeriği.....	36
5.3. Örümcek Ağı Peptonu'nun (ÖAP) Doğal Ortamlardaki Mikroorganizmaları Üretim Potansiyelinin Diğer Peptonlarla Karşılaştırılması İlgili Değerlendirme.....	39
5.4. Farklı Peptonları Kullanarak Hazırlanan Besiyerlerinde Saf Kültürlerden Yapılan Yüzey Ekimi Sonucu Elde Edilen Bulgular ile İlgili Değerlendirmeler	40
5.5. Farklı Peptonların Saf Kültürlerde Biyomas Verimleri Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması Hakkında Değerlendirmeler .....	40
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	42
<b>KAYNAKLAR</b> .....	43
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	47



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°	Derece
μ	Mikro

### Kısaltmalar

ASLM	Al-Zoreky-Sandine Listeria Medium
Ca(OH) <sub>2</sub>	Kalsiyum Hidroksit
cfu	Colony Forming Unit
cm	santimetre
g	Gram
Dr.	Doktor
HCl	Hidroklorik Asit
HPLC	High-Pressure Liquid Chromatography
KOH	Potasyum Hidroksit
Mg(OH) <sub>2</sub>	Magnezyum Hidroksit
ml	mililitre
N	Normal
NA	Nutrient Agar
NaOH	Sodyum Hidroksit
NB	Nutrient Broth
NNLP	Nalidixic acid, neomycin sulfate, lithium chloride, and paromomycin sulfate
ÖAA	Örümcek Ağı Agar
ÖAH	Örümcek Ağı Hidrolizat
ÖAP	Örümcek Ağı Peptonu
ÖAT	Örümcek Ağı Tozu
PC	Ayçiçeği Peptonu
PCA	Plate Count Agar
RHH	Koç Boynuzu Hidrolizatı

RHP	Koç Boynuzu Peptonu
rpm	Revolutions Per Minute
SCP	Tek Hücre Proteini (Single Cell Protein)
SDB	Saboraud Dextrose Broth
SK	Streptokinase
S.S.	Standart Sapma
TSA	Trypticase Soy Agar
U.K.	United Kingdom
XRF	X-Ray Fluorescence

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	<i>Araneus diadematus</i> Türüne Ait İpek Salgı Bezlerinin Yapısı.....	4
Şekil 4.1.	ÖAP'deki Proteinlerin Amino Asit Dağılımı .....	20
Şekil 4.2.	Su Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri.....	23
Şekil 4.3.	Süt Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri.....	23
Şekil 4.4.	Toprak Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri.....	24
Şekil 4.5.	Et Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri.....	24
Şekil 4.6.	Farklı Peptonların Et Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması.....	28
Şekil 4.7.	Farklı Peptonların Su Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması.....	28
Şekil 4.8.	Farklı Peptonların Süt Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması.....	29
Şekil 4.9.	Farklı Peptonların Toprak Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması.....	29
Şekil 4.10.	ÖAP'nin Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin Gram (+) Bakterilerde Karşılaştırılması .....	33
Şekil 4.11.	ÖAP'nin Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin Gram (-) Bakterilerde Karşılaştırılması .....	33
Şekil 4.12.	ÖAP'nin Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin Funguslarda Karşılaştırılması .....	34

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Örümcek Ağındaki İpek Çeşitleri, Fonksiyonları ve Aminoasit İçeriği .....	5
Çizelge 3.1. Örümcek Ağı Peptonu Üretim Şeması .....	13
Çizelge 3.2. Nutrient Broth (NB) İçeriği .....	16
Çizelge 3.3. Pepton Dekstroz Broth (PDB)'un İçeriği .....	16
Çizelge 3.4. Plate Count Agar (PCA)'ın İçeriği.....	17
Çizelge 4.1. ÖAH'nin Kimyasal Yapısı .....	18
Çizelge 4.2. ÖAP'nin Element İçeriği.....	19
Çizelge 4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki Örümcek Ağı Hidrolizatının Mikroorganizmaların Üreme Hızına Etkisi.....	22
Çizelge 4.4. Test Mikroorganizmalarının Farklı Peptonlar İçeren Ortamlardaki Üreme Durumları .....	26
Çizelge 4.5. Farklı Peptonların Farklı Ortamlardan Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin İstatistiksel Karşılaştırması.....	27
Çizelge 4.6. Farklı Peptonlar İçeren Ortamlarda Mikroorganizmaların Biyomas Verimleri .....	31
Çizelge 4.7. Örümcek Ağı Peptonu'nun Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması .....	32
Çizelge 5.1. Farklı Peptonların Temel Element İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması.....	37
Çizelge 5.2. <i>Nephila clavipes</i> ve ÖAP'nin Amino Asit İçerğinin Yüzdelik Oranları...	38

## 1. GİRİŞ

Mikroorganizmaları laboratuarlarda üretmek, saf olarak ayırmak, tanımlarını yapmak ve her türlü çalışmalarını yürütebilmek için, onların ihtiyacı olan farklı sayı ve miktardaki maddeleri ihtiva eden steril edilmiş ortamlar hazırlanır. Bu ortamlara besiyeri denir. Besiyeri kelimesi yerine ,“ besi ortamı”, “vasat” veya “kültür ortamı” gibi tanımlar da kullanılır. Mikrobiyolojik besiyerleri, bakteri, küf, ve diğer mikroorganizmaların gelişme ve çoğalmalarını sağlayan ortamlardır (Pekin 1980; Temiz 1994; Güngör ve Balcı 1995; Halkman 1995; Batzing 2002; Karahan vd. 2002).

Mikrobiyoloji biliminin başlangıcından günümüze kadar besi ortamları üzerindeki çalışmalar artan bir yoğunlukla devam etmektedir. Louis Pasteur 1861 yılında, mayaların oksijenli ve oksijensiz ortamlarda gelişimini inceleyip, bunların geliştirilebilmesi için sıvı besiyeri formülünü açıklayan ilk bilim adamı olarak tarihe geçmiştir. 1872 yılında Alman botanikçi Oscar Brefeld, sıvı besiyerine jelâtin ekleyerek ilk katı besiyerini elde etmiş ve elde ettiği bu besiyerinde, tek spordan küf kolonilerini ürettiğini bildirmiştir. İlk saf kültür ise 1878 yılında “seyreltme tekniği” ile Joseph Lister tarafından elde edilmiştir. 1882 yılındaysa Koch’un çalışma arkadaşları olan Walter Hesse ile eşi Fanny Eilshemius Hesse tarafından besiyerlerinde katılaştırıcı olarak agar önerilmesiyle sıvı besiyerlerinin katılaştırılmasında yepyeni bir dönem başlamıştır (Halkman 2005).

1880 yılında 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 bakteriyoloji bilimine girmiştir. Yurdumuzda ise Ahmet Refik Güran (1870–1963) birçok mikrobiyolojik araştırmasının yanı sıra ilk Türk peptonunun üreticisidir (Çetin 1983; Arda 2000).

1909 yılında W.D. Frost tarafından dehidre tekniğinin ortaya konulmasından sonra, besiyerlerinin ticari olarak önemi artmıştır. Bugün, besiyeri üreten ve pazarlayan pek

çok ticari firma vardır. Yurdumuzda ise henüz ticari değeri yüksek hazır besiyerleri yapılamamaktadır. Yurt dışından gelen bu maddeler çok pahalıya mal olmakta ve ülkemiz için ciddi bir döviz kaybına neden olmaktadır. Bu bakımdan ülkemizde yeni besiyeri ve besiyeri elamanlarının üretimi için çalışmalar hızlandırılmalıdır (Leloğlu ve Erdoğan 1979; Unat 1980; Bridson 1995; Arda 2000).

Mikroorganizmaların üretilmeleri için ilk önceleri doğal basit ortamlar (kan, süt, sebze-meyve suları, kuru ot infüzyonu gibi) kullanılmıştır. Daha sonraları hayvansal dokulardan infüzyonlar hazırlanmış (sığır et infüzyonu, kalp-beyin infüzyonu, karaciğer infüzyonu vb.) ve böyle besiyerlerinin öncekilerden daha iyi olmaları üzerine bu konu üzerine yapılan araştırmalar daha da ileri götürülerek bileşimlerinde çeşitli organik ve inorganik maddeler bulunan ve çeşitli mikroorganizmaların üretilmelerinde kullanılabilen vasatlar (besiyerleri) hazırlanmıştır (Baybek ve Ata 2002).

1950'li yıllardan bu yana yabancı besiyeri üreticisi firmalar tarafından kullanıma hazır halde besiyerleri üretilmekte ve pazarlanmaktadır. Günümüzde Difco, Merck, BBL, Oxoid, Sigma gibi firmalar tarafından hazırlanmış dehidre besiyerlerinin tartışmasız bir üstünlüğü vardır (Leloğlu ve Erdoğan 1979; Halkman 1995).

Özellikle mikrop-sentez bağlamında önemli bir mikrobiyoloji alt bilimi olan "endüstriyel mikrobiyoloji" alanında yapılan araştırmalarda mikroorganizmalar yoluyla sentezlenecek maddenin sentez hızı, miktarı, sağlığı ve aktivitesi gibi özellikler organizmanın üretildiği ortamla doğrudan ilişkili bulunmuş ve bu nedenle sentezlenecek madde ve kullanılacak mikroorganizmaya göre yeni besiyeri hazırlama üzerindeki çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Çetin 1983; Rale 1984; Leeson *et al.* 1984; Al-Zoreky ve Sandine 1990; Rambach 1990; Lim *et al.* 1995; Dave ve Shah 1996; Kurbanoglu 1999).

Pepton çeşitli kaynaklı proteinlerin pepsin, tripsin, papain gibi enzimlerle hidrolize edilmeleri sonucu suda kolayca eriyebilen ve ısıtıldığında yeniden koagule olmayan, polipeptid, dipeptid ve aminoasit gibi maddelerin karışımını içeren ortamlardır.

Peptonlar bakterilerin üretiminde kullanıldığı zamandan beri besiyerlerinin en önemli maddesi olmuştur. Peptonlar; bitki ve hayvansal kaynaklı olan muhtelif proteinli maddelerin asit, alkali kullanmak veyahut da proteolitik enzimler ile parçalanması suretiyle üretilirler. Peptonlar bakteriler ve diğer mikroorganizmalar için azot kaynağı olarak kullanılır. Azot kaynakları bakterilerin yetiştirilmesinde kullanılan besiyerlerinin bileşimine katılan maddeler içinde genellikle en pahalı ve en önemli olanlarıdır (Omurtag 1966; Green *et al.* 1977; Unat 1980; Parrodo *et al.* 1993).

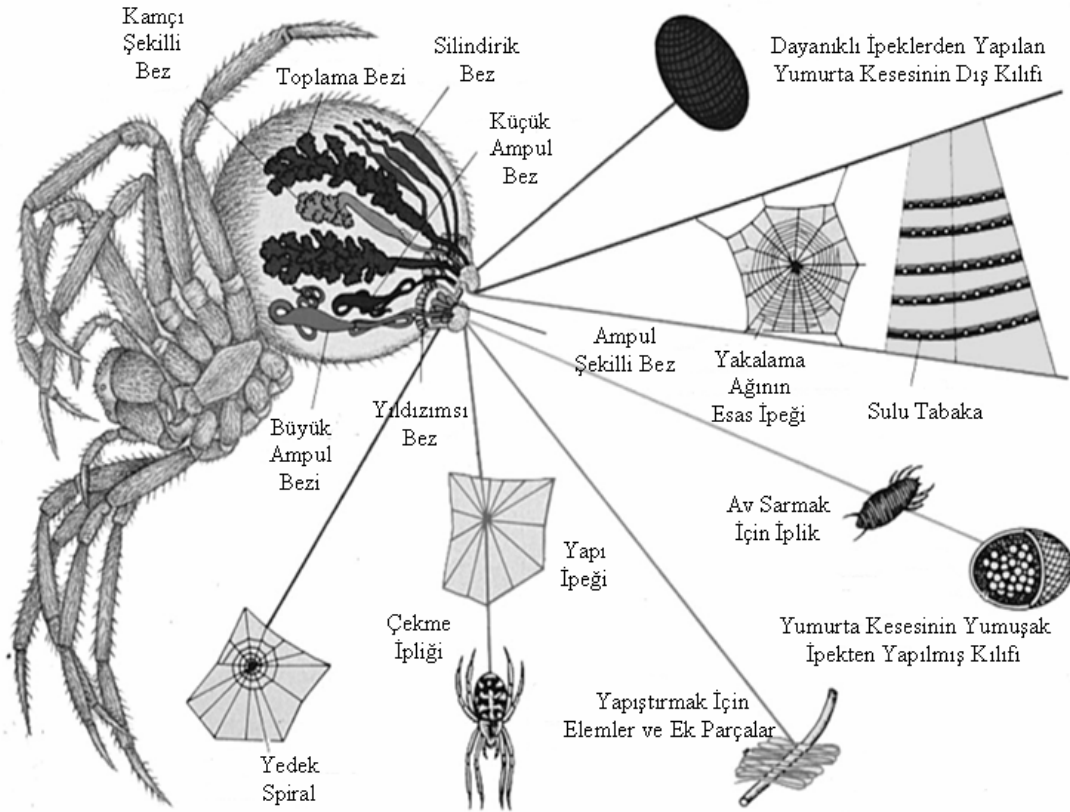
Mikroorganizmalar, yaşayan tüm hücreler gibi azot, karbon, tuzlar ve diğer besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. İstisnalar dışında, mikroorganizmaların oldukça büyük bir bölümü, proteinleri azot kaynağı olarak kullanamazlar. Bu nedenle azotlu bileşikler olan proteinleri, çok daha kolay kullanabildikleri protein hidrolizatlarına dönüştürmek gerekir. Bunun için aminoasit zincirlerinden oluşmuş olan protein makro moleküllerinin peptit bağları enzimatik veya asit hidrolizine göre parçalanır ve peptonlar elde edilir. Peptonlar içerisinde mikroorganizmaların gelişimi için lüzumlu olan temel maddeleri sağlayan proteazlar, peptidler ve amino asitlerin birçok karışımı bulunur. Ayrıca, bazı üreme faktörleri ve inorganik tuzlar vardır. Bundan dolayı peptonlar mikrobiyolojide tek başlarına besiyeri olarak kullanılabilen ender maddeler arasındadır. Pek çok bakteri, bileşimi sadece %1 pepton olan besiyerinde kolaylıkla gelişebilir (Sert 1988; Cengiz vd. 2004; Halkman 2005).

İdeal bir peptonun suda kolay çözünen, ısıtılınca kolay koagüle (pıhtılaşma) olan proteinleri içermeyen özelliklere sahip olması tavsiye edilmektedir (Akşit vd. 1996).

Peptonlar, çeşitli hayvansal (ahtapot, balık artıkları, et, karideslerin baş kısmı, kazein, koç boynuzu, süt, vb) ya da bitkisel dokulardan (Afrika çekirge fasulyesi; akaju ağacı, ay çiçeği, soya fasulyesi, vb) elde edilebilirler (Rale 1984; Usawakesmanee 1995; Akşit vd. 1996; Ellouz *et al.* 2001; Parrado *et al.* 2001; Kurbanoglu and Kurbanoglu 2002; Halkman 2005; Rozman *et al.* 2005; Uzeh *et al.* 2006; Vazquez and Murado 2008).

Birçok bilim adamı için örümcek ağının yapısını ve özelliklerini keşfetmek öncelikli hedef olmuştur (Work 1985; Ricki 1989; Vollrath 1992,1999; Viney 1997; Gosline *et al.* 1999; Vollrath and Knight 1999; Saravanan 2006; Kluge *et al.* 2008).

Örümceklerin yaptıkları ağ, bilinen doğal ve sentetik liflerden çok daha güçlüdür. Örümcekler ördükleri ağdaki iplikleri asit ile muamele ederek sertleştirirler. *Araneus diadematus* üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; örümceğin salgıladığı ağ oluştuğu kanala gelmeden önce sıvı proteinlerden oluşmakta iken kanalın içinde özel hücreler, ağ proteinlerindeki suyu kendilerine çekerek bu suyu başka bir kanala pompalamakta ve bu kanaldaki hidrojen atomları ile birleşen su bir asit havuzu oluşturmaktadır. Ağ proteinleri ile asit bir araya geldiğinde birinden diğerine kimyasal bir köprü oluşturulmakta ve bu şekilde çok kuvvetli bir iplik oluşturulmaktadır. Bir ipliğin bu şekilde ortaya çıkabilmesi için çeşitli maddelere ve farklı özellikte keselere ihtiyaç vardır. (Şekil 1.1.) (Vollrath *et al.* 1998; Saravanan 2006).



**Şekil 1.1.** *Araneus diadematus* Türüne Ait İpek Salgı Bezlerinin Yapısı (Vollrath 1999)



Örümceklerin ve böceklerin ipek salgılama sistemleri homologdur. Ayrıca böceklerle örümceklerin crursal bezleri ve kutikular salgıları birbiriyle ilişkilidir. Fakat örümceğin salgıladığı ipek diğer canlıların salgıladığı ipeklerden oldukça üstündür. Sistematik çalışmalar bize örümcek ipeğinin olağan üstü doğal bir süreç ile hassas bezlerde çok düşük sıcaklıklarda su gibi çözücüler kullanılarak yapıldığını göstermiştir (Gosline *et al.* 2000; Becker *et al.* 2003; Vepari and Kaplan 2007).

Örümceklerin ağlarını örmek için 7 farklı çeşit ipek salgıladıkları tespit edilmiştir. Bu ipek çeşitleri, fonksiyonları ve miktar olarak fazla bulunan aminoasit kompozisyonları Çizelge 1.1.'de verilmiştir (Saravanan 2006).

**Çizelge 1.1.** Örümcek Ağındaki İpek Çeşitleri, Fonksiyonları ve Aminoasit İçeriği (Saravanan 2006)

İpek Çeşidi	Fonksiyon	Aminoasit Kompozisyonu
Dragline	Örümcek ağında ana iskelet	Glisin (%37), Alanin (%18), Küçük zincirler (%62), polar (%26)
Yapışkan	Avları yakalamak	Gilisin (%44), Prolin (%21), Küçük yan zincirler (%56), polar (%17)
Minor	Örümcek ağ iskeleti	Glisin (%43), Alanin (%37), Küçük yan zincirler (%85), polar (%26)
Koza	Üreme	Serin (%28), Alanin (%24), Küçük yan zincirler (%61), polar (%50)
Örtü, Ambalaj	Yakalan avların ambalajlanması	Serin (%15), Glisin (%13), Küçük yan zincirler (%40), polar (%47)
Glue-like	Avların tutulması ve bağlanması	Gilisin (%14), Prolin (%11), Küçük yan zincirler (%27)
Bağlama	Ağları birbirine bağlama	Serine (%15), Yan zincirler (%32), polar (%58)

Örümceklerin salgıladıkları ağ aynı zamanda çok esnektir ve kendi uzunluğunun %40'ı kadar hiç kopmadan esneyebilir. Bu da örümcek ağına çok yüksek bir dayanıklılık

kazandırır. Bu çok yüksek dayanıklılıktan dolayı örümcek ağı, ticari aromatik naylon iplikler ve dolayısıyla modern polimer fiber teknolojisi için referans olmuştur (Vollrath and Knight 2001).

Örümcek ağları incelendiğinde ağın belirli aralıklarla sıvı damlacıklar içerdiği gözlemlenmiştir. Örneğin; *Nephila clavipes*'in salgı bezleri tarafından üretilen örümcek ağları oldukça yumuşaktır. Hem *Araneus* hem de *Nephila* örümceklerinin ürettikleri ağlar havadaki nemden faydalanarak oluşturulan sıvı damlacıklar içerir (Vollrath 2000). 7-29 mikron aralıklı yapışkan sıvı damlacıkları içeren örümcek ağları uçan böcekleri yakalayabilmek için aerodinamik bir yavaşlatma özelliğine sahiptirler (Gosline *et al.* 2000). Ağın asıl fonksiyonu uçan böceklerin kinetik enerjilerini absorbe ederek onların örümcek ağına yapışmasını sağlamaktır (Viney 1997).

Örümcek ağının hammaddesi, örgülü helezonik aminoasit zincirlerinden oluşan "keratin" adlı proteindir. Keratinler, derinin yapısal protein elamanlarını oluştururlar ve hayvanlarda ektodermal orijinli tüy, saç, yün, pul, tırnak, boynuz, ipek gibi oluşumlar bu tip proteinlerden meydana gelmektedir. Örümcek ağının ana hammaddesini oluşturan proteinler, çeşitli avların sindirilmesi ile elde edilen aminoasitlerin sentezlenmesinden elde edilirler. Ayrıca örümcekler kendi ağlarını yiyip sindirerek yeni ağ sentezi için gerekli olan proteinleri vücutlarında üretebilirler (Kurbanoğlu 1999).

Gerek ülkemiz ve gerekse dünyada mikrobiyolojik çalışmaların artmasına paralel olarak besiyeri ihtiyacı da artmaktadır. Besiyeri ihtiyacının artması aynı zamanda besiyeri bileşiminde bulunan maddelerden en önemlisi olan pepton ihtiyacının da artması anlamına gelmektedir. Besiyeri ihtiyacının artmasıyla beraber büyük bir döviz kaybı gerçekleşmektedir. Çünkü mikrobiyoloji ve mikroorganizmalarla çalışan her yerde mutlaka gerekli olan besiyerleri, son derece yüksek fiyatlara pazarlanmaktadır. Gerek kontrol ve gerekse eğitim faaliyetlerini rutin olarak sürdüren insan, hayvan ile bitki sağlığı ve toprak mikrobiyolojisi ile uğraşan hastane, üniversite, çeşitli sağlık ve araştırma kuruluşlarının kullandıkları besi ortamlarının miktarı düşünülürse, bunun ekonomimize yüklediği parasal yükün ağırlığı daha iyi anlaşılabilir. Ülkemizde ticari

besiyeri ve pepton üretiminin olmaması sebebiyle mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve peptonlar Difco, Oxoid Merck vb. dış kaynaklı firmalarla karşılanmaktadır. Rutin kontrollerde bile kullanılan temel besiyerleri ve dolayısıyla peptonların ithali ülkemiz ekonomisi için önemli miktarlarda döviz kaybına neden olmaktadır ve bu döviz kaybının önlenmesinin tek yolu bu alanda yerli besiyerlerinin ve peptonların üretiminin sağlanmasıdır (Unat 1980; Topal 1982; Dizdar ve Develi 1987; Kurbanoğlu 1999).

Yukarıda belirtildiği gibi besiyeri kullanımında ülkemiz dışarıya bağımlı durumdadır. Besiyeri ihtiyacının artmasına paralel olarak besiyerinin içeriğinde bulunan pepton ihtiyacı da artmaktadır. Örümcek ipeği şimdiki kadar pek çok farklı yönden incelenmiş fakat besiyerinde pepton olarak kullanımı hiç düşünülmemiştir. Bu araştırmada, örümcek ağı hidrolizatının mikrobiyolojik besiyerlerinde pepton yerine kullanılabilme potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Giriş kısmında da belirtildiği üzere, örümcek ağı hidrolizatının pepton yerine kullanımı konusunda ne ülkemizde ne de dünyada bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak, günümüzde kullanılan klasik pepton tiplerine alternatif olmak üzere, çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklardan pepton üretimi çalışmaları hala devam etmektedir.

Endüstriyel balık artıklarından üretilen pepton katı ve sıvı fermantasyon ortamlarında olağanüstü biyomas verimi sağlamıştır. Mikroorganizmaların üreme oranları bacto (beef) peptona göre balık artıklarından üretilen peptonda iki üç kat fazla gerçekleşmiştir. Ayrıca balık artıklarından elde edilen peptonun bacto peptonun (Difco) aksine sekonder metabolitlerin artmasına izin vermediği gözlemlenmiş ve biyomas üretim çalışmalarında kullanılabilceği anlaşılmıştır (Vecht-Liftshitzk *et al.* 1990)

Karideslerin baş kısmı kullanılarak en uygun pepton üretim yolu bulunmaya çalışılmıştır. Bu amaçla karideslerin (Siyah Kaplan Karidesi) baş bölgesinin otolizini ve enzim hidrolizini etkileyen (süre, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu gibi) faktörler araştırılmış ve en uygun pepton üretim yolu tespit edilmeye çalışılmıştır (Usawakesmanee 1995).

Ayçiçeğinden elde edilen peptona kısaca PC denilmiştir. PC nitrojen kaynağı olarak kullanılarak *Streptococcus equisimilis* H- 46 ile fermantatif besiyerinde streptokinaz (SK)'ın üretimi gerçekleştirilmiştir. *Streptococcus equisimilis* H-46'nın Ayçiçeği Protein Konsantresinden (SF-PC) elde edilen pepton ile üretilmesi sonucunda besiyerindeki polifenol içeriği azalmış ve bunun sonucunda, SK üretimi PC ile hazırlanan besiyerinde NZ-Amine<sup>R</sup> ile hazırlanan besiyerine nazaran oldukça yüksek oranda gerçekleşmiştir (Parrado *et al.* 2001).

*Sardinella aurita* (sardalye) iç organlarının kullanılmasıyla üretilen peptonun *Bacillus subtilis*'in proteose üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda elde

edilen balık peptonunun diğer ticari peptonlara nazaran proteose üretiminde % 100 artış sağladığı gözlenmiştir. Bu artışın nedeni olarak *Sardinella aurita*'nın içerdiği yüksek yağ oranı ve besleyici faktörlerden kaynaklanabileceği anlaşılmıştır (Ellouz *et al.* 2001).

Koç boynuzundan elde edilen hidrolizat besiyeri ve pepton olarak değerlendirilmiş, gerek rutin besiyerlerinde kullanımı bakımından, gerekse biyoteknolojik amaçlı kullanımı bakımından mikroorganizmaları üretme potansiyelinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Kurbanoglu 1999; Kurbanoglu and Algur 2002).

Vatoz (*Trygon sephen*) balığının kuyruk kısmı artıklarının propionik asit ve formik asit karışımı ile muamele edilmesiyle ham sıvı pepton hazırlanmıştır. Hazırlanan bu pepton mikroorganizmaları yetiştirme bakımından ticari 3 pepton ile karşılaştırılmıştır. Çeşitli ortamlardan (et, yumurta ve süt) izole edilen saf mikroorganizma türleri (*Aspergillus flavus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*) 0,5 g pepton/100 ml yoğunluğundaki sıvı besiyerlerine aktarılmıştır. Biyomas üretimi inkübasyon süresi sonunda ölçüldüğünde *Trygon sephen* balığının kuyruk kısmından elde edilen peptonun diğer ticari peptonlara benzer ve bazılarında daha yüksek verimle biyomas üretimini sağladığı bulunmuştur (Poernomo and Buckle 2002).

Soya fasulyesinden elde edilen Tip III ve Tip IV (Sigma) peptonları kullanılarak yapılan araştırmalar bu peptonların bir fungus olan *Claviceps fusiformis*'in üreme kapasitesini ve alkaloid verimini et peptonuna göre oldukça yüksek oranda arttırdığı belirlenmiştir (Rozman *et al.* 2005).

Pepton kaynağı olarak soya fasulyesi ve Afrika çekirge fasulyesi kullanılmış ve bunlardan pepton üretilmiştir. Üretilen bu peptonlarla bazı bakterilerin mikrobiyal kitle artışı incelenmiş ve bu peptonların bazı ticari peptonlarla karşılaştırılması yapılmıştır. Test organizması olarak kullanılan bakterilerden bazıları; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* bakterileridir. Soya fasulyesi ve Afrika çekirge fasulyesi peptonlarını ticari peptonlarla

karşılaştırdığımızda bu peptonlar bütün test bakterilerinin gelişimini olumlu şekilde etkilemiştir. Yapılan çalışmalar sırasında en iyi gelişimi laboratuarda üretimi gerçekleştiren soya fasulyesi peptonu ile yetiştirilen *Escherichia coli* ve ticari olarak üretilen bacto pepton ile yetiştirilen *Staphylococcus aureus* olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma Nijerya'daki pepton giderlerini azaltılabileceğini ortaya konmuştur (Uzeh *et al.* 2006).

Sığır derisi ve sığır kan atıklarının enzimatik hidrolizi ile yeni bir protein hidrolizatı üretilmiş, kollajen atıklar kullanılarak elde edilen bu yeni protein hidrolizatının bakterilerin geliştirilmesinde pepton olarak kullanılabilirliği incelenmiştir. Üretilen yeni pepton, yaygın olarak kullanılan ticari bir pepton olan kazein pepton (Fluka Biochemica, Switzerland) ile protein, azot, kül, amino asit içeriği ve farklı mikroorganizmaların üremesine etkisi bakımından karşılaştırılmıştır. Yapılan bu karşılaştırmalar sonucunda yeni üretilen protein hidrolizatın pepton olarak kullanılabilceği anlaşılmıştır (Vasileva-Tonkova *et al.* 2006).

Ahtapotların endüstriyel olarak işlenmesi sonucu oluşan atık suların enzimatik olarak hidrolize edilmesi sonucu elde edilen çeşitli peptonlar laktik asit bakterilerinin üremesini ve bakteriosin üretimini arttırdığı gözlemlenmiştir (Vazquez and Murado 2008).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kimyasal maddeler

Bu araştırmada kullanılan maddeler analitik saflıkta olup, MERCK, OXOID, DIFCO, PARK ve FLUKA firmalarından temin edilmiştir. Mikroorganizmaların üretilmesi için Nutrient Agar (=NA, Merck), Nutrient Broth (=NB, Merck), Plate Count Agar (=PCA, FLUKA) ve Sabouraud Dextrose Broth (=SDB, OXOID) kullanımıştır.

##### 3.1.2 Örümcek ağı

Çalışmada, Erzurum ili Pasinler ilçesi Alvar Beldesi'ndeki ahırlardan temin edilen örümcek ağları kullanılmıştır. Örümcek ağları toplanırken, ağların temiz olanları tercih edilmiş ve örümcek ağlarının içinde artık maddelerin olmamasına dikkat edilmiştir. Toplanan ağları üreten örümceklerin *Agelenidae*, *Theriididae* ve *Araneidae* familyasının üyesi olduğu Kadir Boğaç Kunt (Araknoloji Derneği Kurucu Başkanı) tarafından teşhis edilmiştir.

##### 3.1.3. Test mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan bakterilerden *Bacillus subtilis* NRS-744, *Escherichia coli* Dr. Ayten Kanadalı'dan (Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum) temin edilmiştir. *Bacillus thurugiensis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Xhanthomas compestris* topraktan izole edilmiş olup kendi izolatımızdır. Çalışmada kullanılan *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata* ve *Uloladium atrum* mikrofungusları da topraktan izole edilmiş olup Prof. Dr. İsmet Hasenekoğlu (Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı,

Erzurum) tarafından teşhis edilmiştir. Bu çalışmada maya türü olarak *Saccharomyces cerevisiae* CECT 1389, kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Örümcek ağının fiziksel olarak parçalanması**

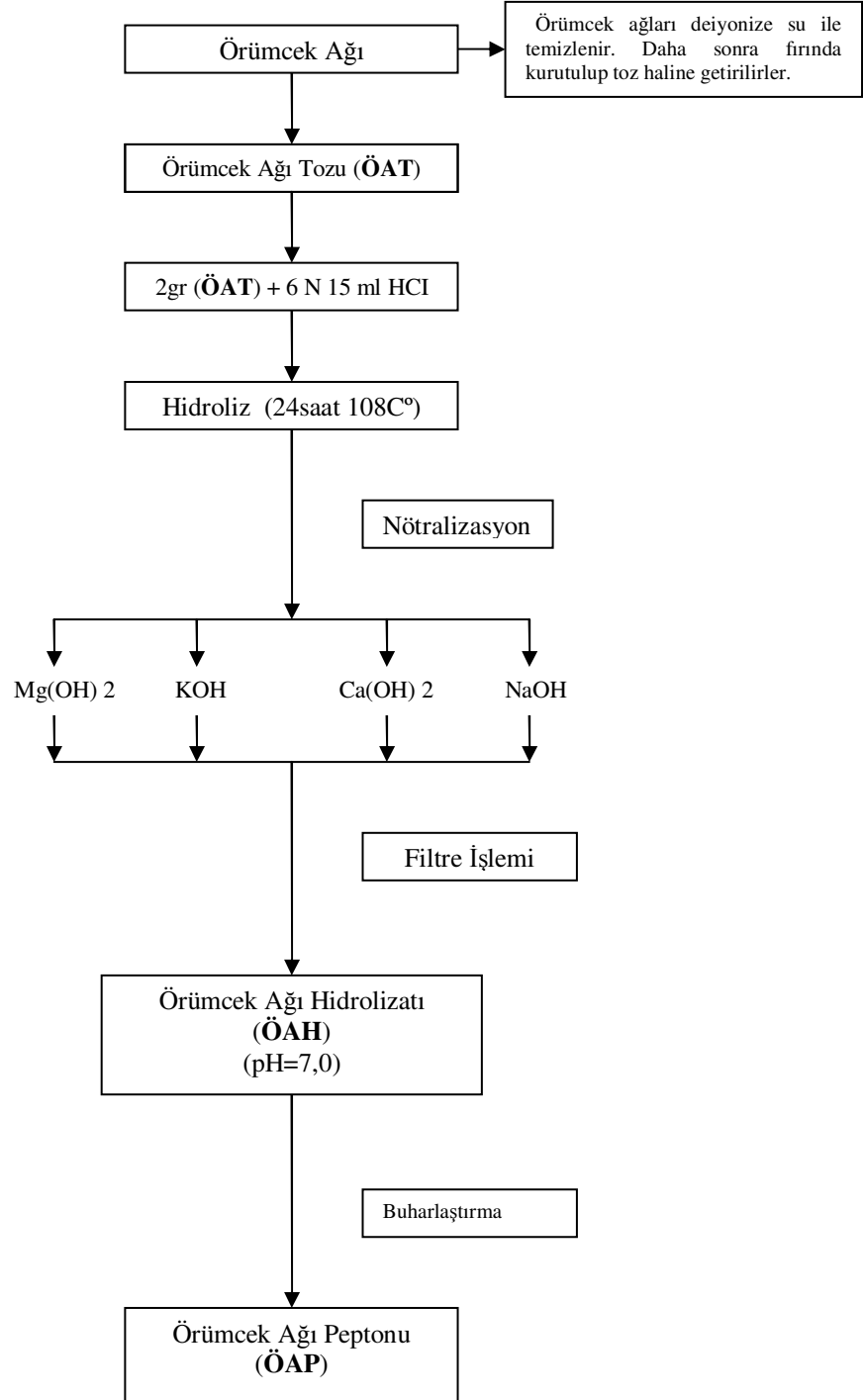
Örümcek ağları ilk önce musluk suyu ile iyice yıkanarak ağlardaki yabancı maddeler örümcek ağından uzaklaştırılmıştır. Daha sonra deiyonize su ile iki kere yıkanmış ve pastör fırınında kurutulmuştur. Elde edilen örümcek ağları toz haline getirilmiş ve cam kavanoz içersine biriktirilerek muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2. Örümcek ağının kimyasal olarak parçalanması**

Asit hidrolizasyon işlemi 6N HCl (Merck) içersinde 108°C'de 24 saat bekletmek suretiyle gerçekleştirilmiştir (Hess et al. 2002). Bunun için daha önceden toplanıp temizlenen örümcek ağları etüvde kurutulup toz haline getirildikten sonra bu ağlar 2'şer gramlık gruplar halinde termoliz tüpüne alınmıştır. Bu çalışmada termoliz tüpü kullanmamızın nedeni, termoliz tüpünün yüksek sıcaklıklardaki (140–150°C) kimyasal reaksiyonlara karşı dayanıklı olmasıdır. Termoliz tüpüne alınan 2 gramlık örümcek ağı tozunun üzerine 15 ml 6N HCl eklenerek oluşan karışım etüve konulmuş ve burada 108°C'de 24 saat süreyle bekletilmiştir. 24 saat sonunda etüvden alınan kısmen hidrolize olmuş materyal soğumaya bırakılmış daha sonra kısmen hidrolize olmuş olan materyal nötralizasyon için eşit hacimli 3 N NaOH (FLUKA), 3 N Ca(OH)<sub>2</sub> (Merck), 3 N Mg(OH)<sub>2</sub> (PARK) ve 3 N KOH (Merck) karışımı ile muamele edilerek pH'sı 7'ye ayarlanmıştır. Oluşan hidrolizat Whatman no 1 filtre kâğıdı ile süzölmüş ve elde edilen çözeltiliye Örümcek Ağı Hidrolizatı (ÖAH) adı verilmiştir. ÖAH'nin 100°C'de 48 saat süreyle kurutulması sonucu elde edilen toz "Örümcek Ağı Peptonu" (ÖAP) olarak adlandırılmıştır. Örümcek ağı peptonu (ÖAP) üretiminin akım şeması Çizelge 3.1.'de verilmiştir.



**Çizelge 3.1. Örümcek Ağı Peptonu Üretim Şeması**



### **3.2.3. Örümcek ağı hidrolizatının kimyasal içeriğinin belirlenmesi**

Örümcek ağı hidrolizatının (ÖAH) kuru madde ve kül içeriği Kurt (1984)'un belirttiği şekilde AOAC (1980) yöntemi uygulanarak saptanmıştır. Kuru madde içeriğinin belirlenmesi amacıyla 100 ml ÖAH 105 ±2°C'lik etüvde 3 saat kurutulmuş ve tartılmıştır. Kül miktarının belirlenmesi içinde belirli bir miktar ÖAH fırında tamamen yakılmış ve ağırlık farkları belirlenerek kül miktarı saptanmıştır.

#### **3.2.3.a. Örümcek ağı hidrolizatında bulunan ve mikroorganizmaların üremesinde rolü olan bazı minerallerin miktarının belirlenmesi**

ÖAH'nin mineral madde içeriği XRF (X-Ray Fluorescence, Rigaku, ZSX 1000e WDXRF) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

#### **3.2.3.b. Örümcek ağı hidrolizatının toplam şeker miktarının belirlenmesi**

Toplam şeker miktarı standart glikoz çözeltisi kullanılarak Antrone Yöntemi ile belirlenmiştir (Scott and Melvin 1953).

#### **3.2.3.c. Örümcek ağı hidrolizatının amino asit bileşiminin belirlenmesi**

ÖAH'nin amino asit analizi, Düzen Laboratuvarlar Grubu (Ankara) tarafından HPLC (High-Pressure Liquid Chromatography) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.4. Örümcek ağı hidrolizatının mikroorganizmaları optimal üretme konsantrasyonunun belirlenmesi**

ÖAH'nin optimum konsantrasyonunu belirlemek amacıyla, Difco Manual'de (1953) belirtilen Plate Count Agar'daki pepton yerine farklı konsantrasyonlarda ÖAH katılmış (% 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) ve doğal ortamlardan yapılan ekimlerdeki sonuçlar incelenerek en yüksek koloni sayısı veren konsantrasyon belirlenmiştir. Ekim işlemleri sırasında toprak, süt ve et örneklerinin 10<sup>-6</sup> lık, su örneklerinin ise 10<sup>-2</sup>'lik dilisyonları kullanılmıştır.

### 3.2.5. Örümcek ağı peptonu'nun diğer peptonlarla karşılaştırılması

Bu amaçla bakteriler için standart Plate Count Agar (PCA) , maya ve küfler için ise Peptone Dextrose Broth (PDB) içeriğindeki peptonlar değiştirilerek belirtilen pepton yerine üç ayrı pepton (Proteose Pepton, Bacteriological Pepton ve Örümcek Ağı Pepton) kullanılmıştır. Bu şekilde oluşturulan vasatlara yapılan ekim sonuçları karşılaştırılmıştır.

#### 3.2.5.a. Farklı peptonlu ortamlarda test mikroorganizmalarının biyomas verimlerinin karşılaştırılması

Mikroorganizmaların inokülasyon amaçlı kültürlerinin hazırlanması ve biyomas üretim çalışmaları 250 ml'lik erlenmeyerler içerisinde gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon amaçlı kültürler hazırlanırken bakteriler 24 saat, maya 48 saat, küfler ise 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Biyomas üretim çalışmalarında ise bakteriler için 48 saat, mayalar için 72 saat ve küfler içinse 1 hafta (168 saat) inkübasyon süreleri seçilmiştir.

Test mikroorganizmalarından bakteriler (*Bacillus subtilis*, *Bacillus thurugiensis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Xanthomas compestris*) önce Nutrient Broth (NB) içerisinde maya ve küfler (*Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata*, *Uloladium atrum*, *Saccharomyces cerevisiae*) Sabouraud Dextrose Broth (SDB) içerisinde çoğaltılmıştır. Daha sonra her bir mikroorganizmanın çoğaltıldığı ortamdan 1'er ml alınarak 100'er ml'lik sıvı besiyerlerine aktarılmıştır.

Hazırlanan sıvı besiyerlerine bakteriler için standart Nutrient Broth (NB) formülasyonunda belirtilen pepton (Proteose Pepton, Bacteriological Pepton ve ÖAP) yerine, küfler ve maya için de Peptone-Dextrose Broth (PDB) formülasyonunda belirtilen pepton yerine üç ayrı pepton (Proteose Pepton, Bacteriological Pepton ve ÖAP) kullanılmıştır. NB ve PDB içeriğindeki diğer maddelerin çeşit ve miktarında herhangi bir değişiklik yapılmamıştır. NB ve PDB içeriği sırasıyla Çizelge 3.2. ve Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Nutrient Broth (NB) İçeriği (Difco 1953)

Bacto-Beef Extract	3,00 gr
Pepton	5,00 gr
Saf Su	1000 ml
<b>pH = 7,00 ±0,2</b>	

**Çizelge 3.3.** Pepton Dekstroz Broth (PDB)'un İçeriği (Hasenekoğlu 1989)

Dekstroz(Glikoz)	10,0 gr
Pepton	5,00 gr
Potasyum Dihidrojen Fosfat ( $K_2H_4PO_4$ )	1,00 gr
Magnezyum Sülfat ( $MgSO_4, 7H_2O$ )	0,50 gr
Saf Su	1000 ml
<b>(pH = 6,00 ±0,2)</b>	

Biyomas üretimlerine yönelik çalışmaların sonunda üretilen maya ve bakterilerin biyomaslarının sıvı kısımdan ayrılması için santrifüj, küflerin biyomaslarının ölçüm işlemi içinse süzme işlemi kullanılmıştır. Santrifüj işlemleri 5000 rpm'de 10 dakika süresince gerçekleştirilmiş ve süpernatant kısım atılmıştır. Küflerin biyomasları ise 1 hafta sonunda kültürlerden filtre kâğıdı ile süzülerek ayrılmıştır. Süzme ya da santrifüj işlemleri sonunda elde edilen bakteri, maya ve küf biyomasları iki kez deiyonize su ile yıkanmıştır. En son olarak da bu biyomaslar 60°C'de sabit ağırlığa ulaşana kadar etüvde kurutulmuş, kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

### **3.2.5.b. Test mikroorganizmalarının üremelerinin farklı peptonlar kullanılarak hazırlanan besiyerlerinde yüzey ekimi yöntemi ile karşılaştırılması**

NB ve SDB ortamında çoğaltılan mikroorganizma süspansiyonlarından 1 ml alınarak 8,5 cm çaplı steril plastik petri kaplarındaki Çizelge 3.4.'te gösterilen PCA içeriğine uygun peptonları (Proteose Pepton, Bacteriological Pepton ve ÖAP) içeren besiyerlerine eküvyon yardımıyla film halinde inoküle edilmiştir. Uygun sıcaklıkta 48 saat

inkübasyon sonunda üremenin yoğunluğu + (az), ++ (iyi), +++ (çok iyi) şeklinde değerlendirilmiştir (Kurbanoğlu 1999).

**Çizelge 3.4.** Plate Count Agar (PCA)'ın İçeriği (Merck)

---

Pepton	5,00 gr
Yeast Extract	2,50 gr
Dekstoz	1,00 gr
Agar	15,0 gr
Saf Su	1000 ml
(pH = 7,00 ±0,2)	

---

**3.2.6. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi**

Tüm denemeler en az iki paralel olarak yürütülmüş elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel araştırmalarda Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney çoklu karşılaştırma testlerinden faydalanılmıştır (Esin vd. 1999). Koloni oluşmayan (Üreme Yok) besiyerlerindeki değerler sıfır kabul edilmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada örümcek ağının asit hidrolizasyonu sonucu oluşturulan ürünün mikrobiyolojik besiyerlerinde kullanılabilirliği araştırılmış ve elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

##### 4.1. Örümcek Ağı Peptonunun (ÖAP) Kimyasal Bileşimi

ÖAH'nin gerek makro biyoelementler gerekse mikro biyoelementler bakımından zengin olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca toplam şeker, kül ve kuru madde (Sırasıyla; 1,02; 3,82; 10,00 g/100g) içeriği de Çizelge 4.1.'den görüldüğü üzere oldukça zengindir.

Örümcek ağı hidrolizatının (ÖAH) kimyasal içeriğini ölçmek için 100 ml hidrolizat alınarak 48 saat süreyle etüvde kurutulmuştur. Elde edilen bu kuru numuneye Örümcek Ağı Peptonu (ÖAP) adı verilmiştir. Bu numunenin toplam ağırlığı belirlenmiş ve XRF (X-Ray Fluorescence) cihazında element tayini yapılarak sonuçlar Çizelge 4.2.'de özetlenmiştir

**Çizelge 4.1.** ÖAH'nin Kimyasal Yapısı

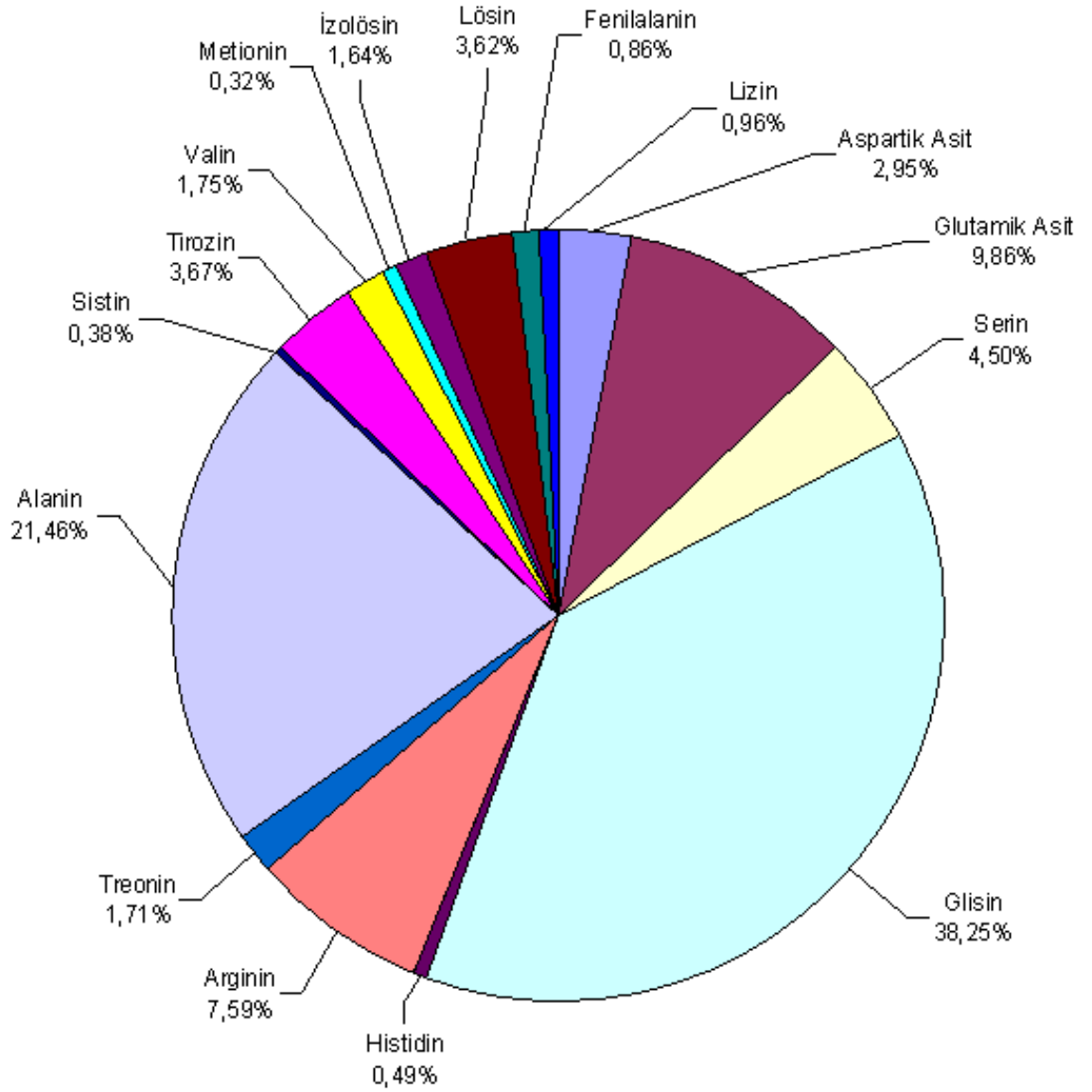
Bileşenler	g / 100 ml
Kuru Madde	10,0
Kül	3,82
Toplam Şeker Miktarı	1,02

ÖAP'nin amino asit içeriği ve bunların yüzdelik dağılımları ise Şekil 4.1.'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere ÖAP 20 çeşit amino asidin 16 tanesini çeşitli oranlarda bulundurmaktadır. En yüksek oranda bulunan amino asit glisin amino asidi olup %38,25 ile temsil edilmektedir. Bunu sırasıyla alanin (%21,46) ve glutamik asit (%9,86) takip

etmektedir. En düşük oranlarda bulunan amino asitler ise metionin (%0,32), sistin (%0,38) ve histidin (%0,49) amino asitleridir.

**Çizelge 4.2.** ÖAP'nin Element İçeriği

<b>Element</b>	<b>g / 100g</b>
C	27,320
O	10,549
F	0,011
Na	0,988
Mg	3,593
Al	0,045
Si	0,024
P	0,003
S	0,069
Cl	14,076
K	2,185
Ca	3,699
Mn	0,004
Fe	0,017
Ni	0,001
Zn	0,001
Br	0,001
Rb	0,001
Sr	0,001
Ba	0,011



**Şekil 4.1.** ÖAP'deki Proteinlerin Amino Asit Dağılımı

#### **4.2. Mikroorganizmaların Üremesi için Uygun Örümcek Ağı Hidrolizatı (ÖAH) Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

ÖAH'nin optimum konsantrasyonunu belirlemek amacıyla, Plate Count Agar'ın (PCA) içeriğine uygun olarak pepton yerine farklı konsantrasyonlarda ÖAH kullanılarak besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyeri hazırlanırken, pepton dışında besiyeri içeriğindeki maddelerin miktarları değiştirilmemiştir.



Et, su, süt ve toprak örneklerinin farklı dilisyonları, AH'nin farklı konsantrasyonları (% 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) ile hazırlanan besiyerlerine, plak ekim yöntemi uygulanarak inoküle edilmiş ve 24, 48 ve 72 saatlik sreler sonunda oluşan koloni sayıları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar izelge 4.3., şekil 4.2., 4.3., 4.4. ve 4.5.' de gösterilmiştir.

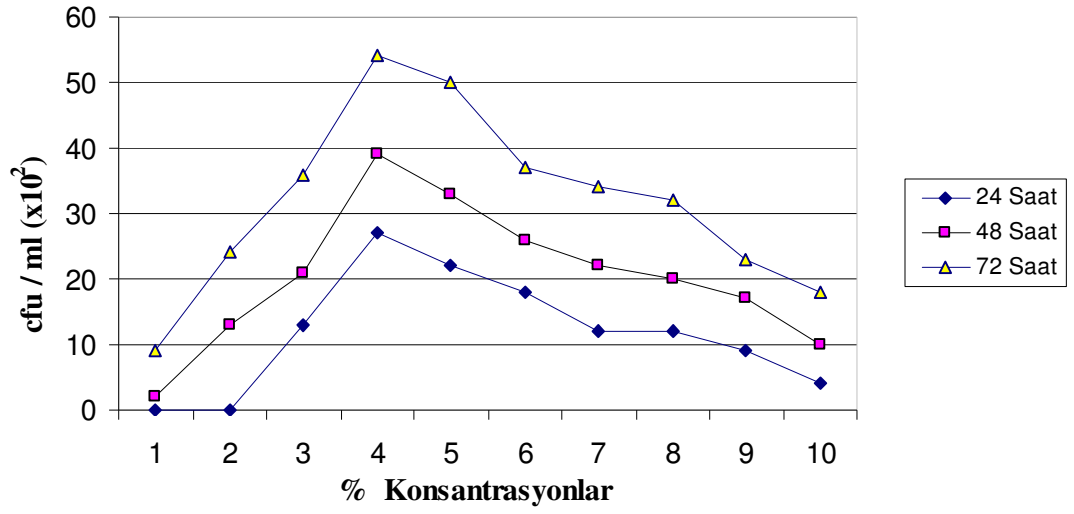
Çizelge ve şekiller incelendiğinde süt ortamı için en ideal AH konsantrasyonunun %5, diğer ortamlardaki mikroorganizmalar için ise en ideal konsantrasyonun %4 olduğu görülmektedir. Bu veriler dikkate alınarak, daha sonraki çalışmalarda %4'lk AH kullanılmıştır.

Çeşitli ortamlardan yapılan sayım sonucunda en yüksek koloni sayısı değerleri su için  $54 \times 10^2$  (%4'lk konsantrasyonda), süt için  $94 \times 10^6$  (%5'lik konsantrasyonda), toprak için  $94 \times 10^6$  (% 4'lk konsantrasyonda) ve et için  $93 \times 10^6$  (%4'lk konsantrasyonda) olarak belirlenmiştir. İnkübasyon süresi arttıa koloni sayılarında artış grlmştir. Diğer taraftan bütün örnekler için %4 (veya %5)'lk konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyon uygulamalarında ise petrillerdeki koloni sayılarında azalmalar kaydedilmiştir. En düşük koloni değerleri ise su, süt, toprak ve et için sırasıyla  $2 \times 10^2$  (%1'lik konsantrasyonda),  $24 \times 10^6$  (%10'luk konsantrasyonda),  $18 \times 10^6$  (%1'lik konsantrasyonda) ve  $24 \times 10^6$  (%10'luk konsantrasyonda) olarak belirlenmiştir.

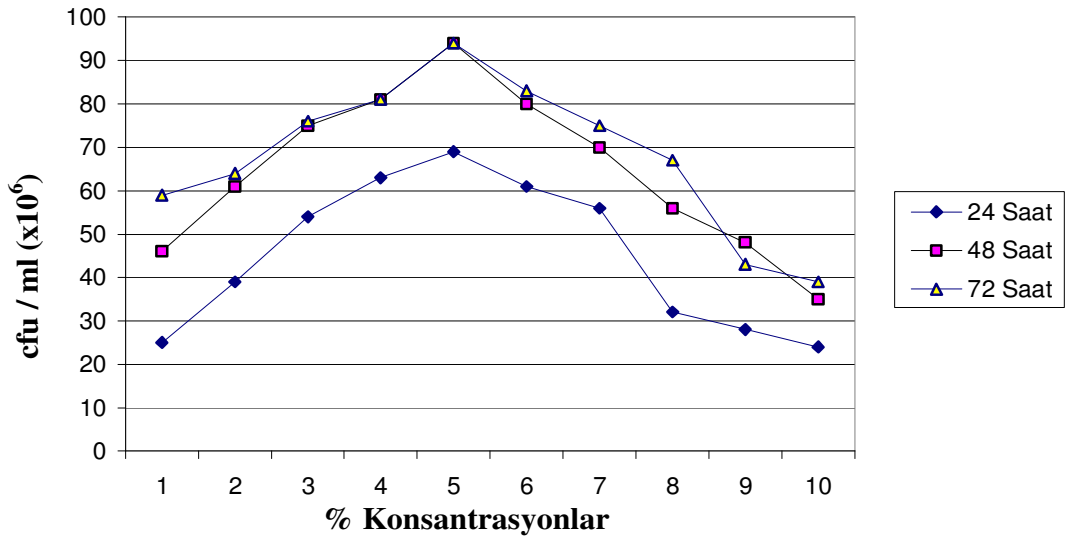
**Çizelge 4.3.** Farklı Konsantrasyonlardaki Örümcek Ağı Hidrolizatının Mikroorganizmaların Üreme Hızına Etkisi

Ortam	Dilasyon	Süre (Saat)	% ÖAH Konsantrasyonları ve Koloni Sayıları									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Su	10 <sup>-2</sup>	24	ÜY	ÜY	13	27	22	18	12	12	9	4
		48	2	13	21	39	33	26	22	20	17	10
		72	9	24	36	54	50	37	34	32	23	18
Süt	10 <sup>-6</sup>	24	25	39	54	63	69	61	56	32	28	24
		48	46	61	75	81	94	80	70	56	34	35
		72	59	64	76	81	94	83	75	67	43	39
Toprak	10 <sup>-6</sup>	24	18	32	53	56	52	47	36	32	26	24
		48	56	67	83	90	75	63	57	55	50	48
		72	61	75	90	94	83	77	65	54	53	50
Et	10 <sup>-6</sup>	24	39	45	55	63	54	46	36	32	28	24
		48	54	67	76	89	67	53	49	49	38	30
		72	75	81	87	93	72	68	54	55	43	40

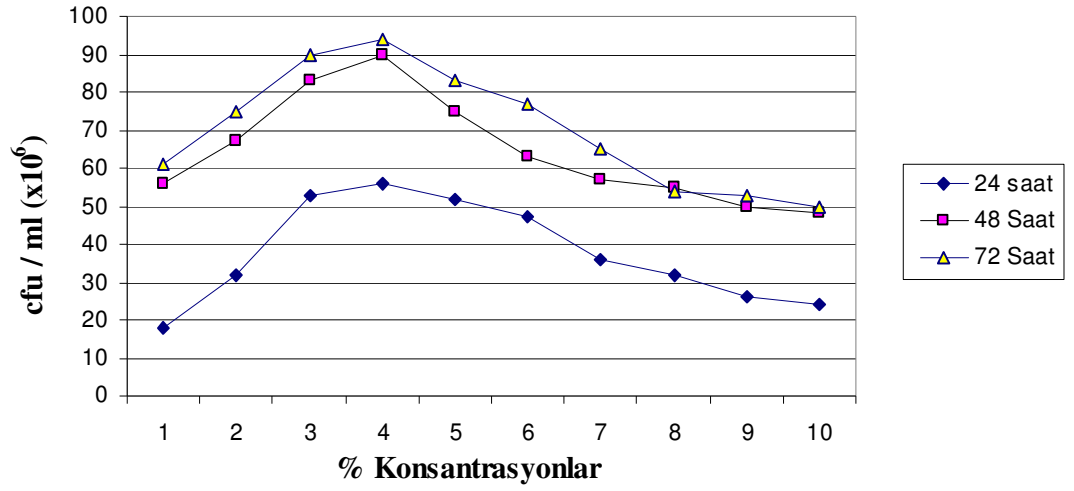
ÜY : Üreme Yok



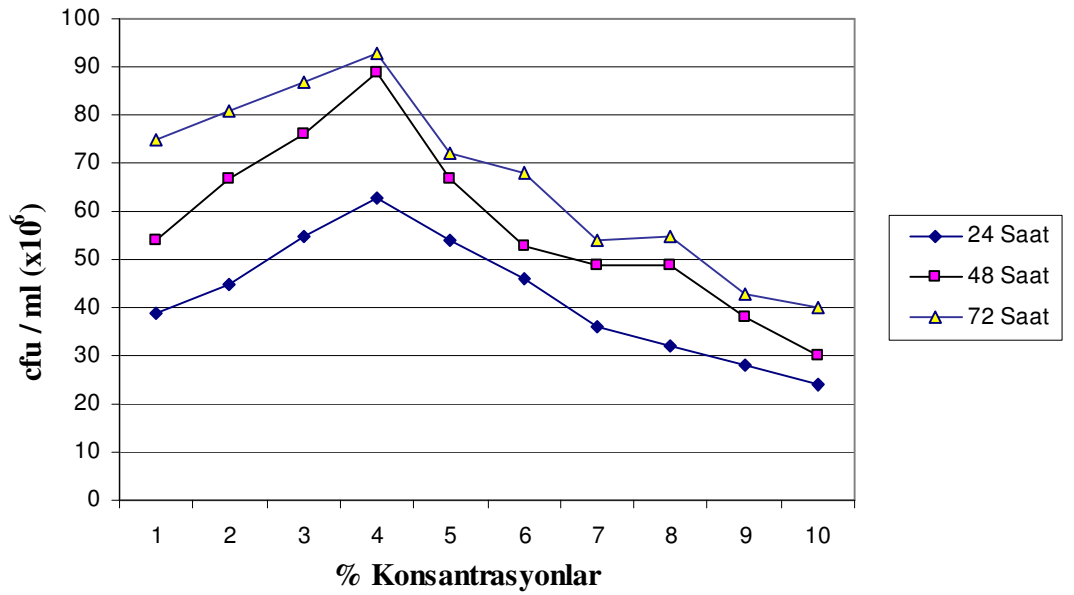
**Şekil 4.2.** Su Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri



**Şekil 4.3.** Süt Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri



**Şekil 4.4.** Toprak Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri



**Şekil 4.5.** Et Ortamından Alınan Mikroorganizmaların ÖAH'nin Farklı Konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 Saat Sonundaki Üremeleri

### 4.3. Farklı Peptonları Kullanarak Hazırlanan Besiyerlerinde Saf Kültürlerden Yapılan Yüzey Ekimi Sonucu Elde Edilen Bulgular

Elde edilen peptonun, bakteri üretiminde kullanılabilirliğini test etmek amacıyla Çizelge 3.4.'te içeriği verilen Plate Count Agar (PCA) besiyerindeki peptonun yerine farklı pepton tipleri (Bacteriological Peptone, Proteose Pepton ve ÖAP) konularak yeni besiyerleri hazırlanmış ve bu besiyerlerinde saf kültürlerin ekim sonuçları karşılaştırılmıştır.

Hazırlanan peptonun fungus üretiminde kullanılabilirliğini test etmek için ise Çizelge 3.3.'te içeriği belirtilen PDB besiyerindeki pepton yerine farklı pepton tipleri konularak yeni besiyerleri hazırlanmış ve bu besiyerlerindeki saf kültürlerin ekim sonuçları karşılaştırılmıştır. Ayrıca PDB ortamına %1,5 agar eklenerek besiyerinin katılaştırılması amaçlanmıştır.

Yüzey ekimi sonucunda üreme miktarları bakımından peptonlar arasında türlere göre farklılık gözlemlenmiştir. Test mikroorganizmalarının farklı peptonlar içeren ortamlarda üreme durumlarıyla ilgili elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4.'te özetlenmiştir. Örneğin; *Bacillus thurugiensis* için Bacteriological Peptone en iyi üreme sonucunu vermişken aynı pepton *Xhanthomas compestris* için üreme bakımından diğerlerinden zayıf bulunmuştur. *Alternaria alternata* türü diğer türlere göre bütün peptonlarda daha zayıf üreme potansiyeli göstermiştir. *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Xhanthomas compestris* ve *Aspergillus niger* türleri bütün pepton çeşitlerinde maksimum üreme göstermiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, test organizmalarından 10 tanesi Proteose Pepton, 6 tanesi Bacteriological Peptone, 8 tanesi ÖAP'li ortamda maksimum üreme göstermiştir.

**Çizelge 4.4.** Test Mikroorganizmalarının Farklı Peptonlar İçeren Ortamlardaki Üreme Durumları

Mikroorganizmalar	Kullanılan Peptonlar		
	Proteose	Bacteriological	ÖAP
<i>Bacillus subtilus</i>	++	+++	++
<i>B.cereus</i>	+++	++	+++
<i>B.thurugiensis</i>	+++	++	+++
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+++	++	+++
<i>Escherichia coli</i>	+++	+++	+++
<i>Pseudomonas putida</i>	+++	+++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	++	++	++
<i>Xanthomas compestris</i>	+++	+++	+++
<i>Aspergillus niger</i>	+++	+++	+++
<i>Penicillium expansum</i>	+++	++	+++
<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+
<i>Uloladium atrum</i>	+++	++	++
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+++	+++	++

+ : Zayıf Üreme  
 ++ : İyi Üreme  
 +++ : Çok İyi Üreme

#### 4.4. Örümcek Ağı Peptonu'nun (ÖAP) Doğal Ortamlardaki Mikroorganizmaları Üretim Potansiyelinin Diğer Peptonlar İle Karşılaştırılması

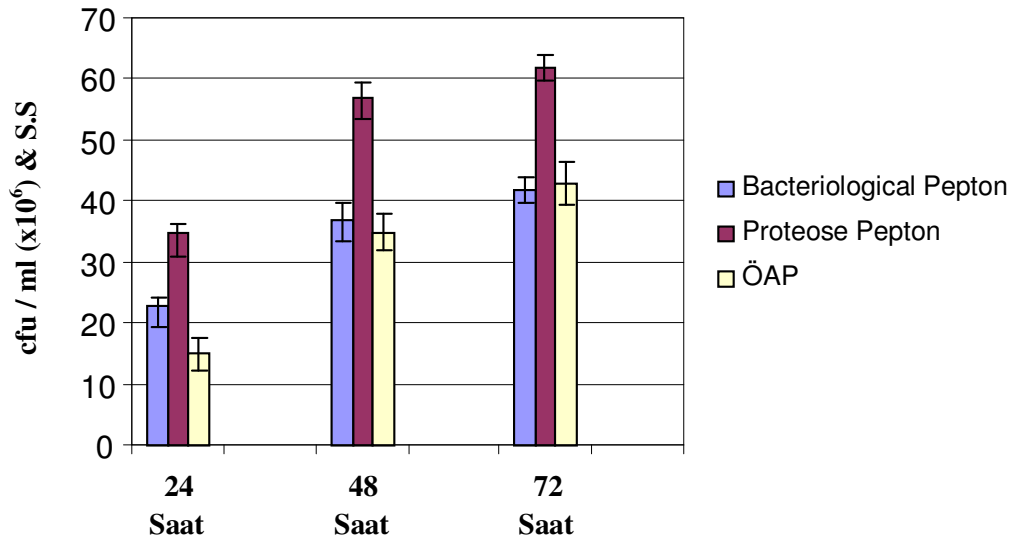
Et, süt, toprak ve su örneklerinden hazırlanan dilisyonlar, Çizelge 3.4'te içeriği verilen PCA'daki pepton yerine aynı miktarda farklı pepton örnekleri katılarak hazırlanan besiyerlerine inoküle edilmiş ve inkübasyon sonucu elde edilen koloni sayıları Çizelge 4.5. ile Şekil 4.6., 4.7., 4.8. ve 4.9.'da gösterilmiştir

**Çizelge 4.5.** Farklı Peptonların Farklı Ortamlardan Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin İstatistiksel Karşılaştırması

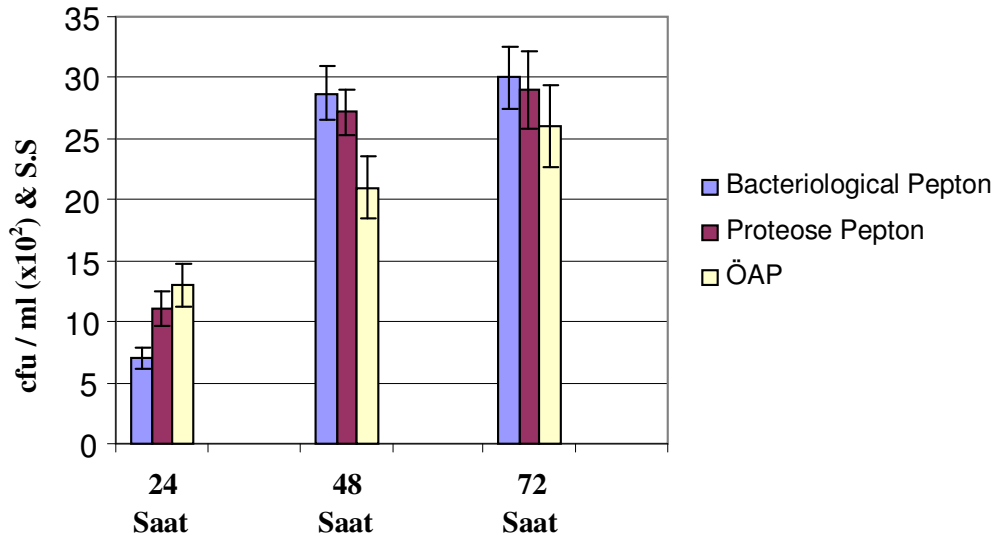
	Saat	Bacteriological Pepton		Proteose Pepton		ÖAP		Anlamlılık Düzeyi			
		Ortalama Koloni Sayısı	Standart Sapma	Ortalama Koloni Sayısı	Standart Sapma	Ortalama Koloni Sayısı	Standart Sapma	p1	p2	p3	p4
<b>Et</b>	<b>24</b>	23,0	1,4	34,7	2,6	15,0	2,1	0,000	0,002	0,002	0,002
	<b>48</b>	37,0	3,6	57,0	3,6	35,0	2,3	0,003	0,002	0,394	0,002
	<b>72</b>	42,0	2,6	62,0	3,0	43,0	3,5	0,003	0,002	0,485	0,002
<b>Su</b>	<b>24</b>	7,0	0,9	11,0	1,4	13,0	1,7	0,001	0,002	0,002	0,065
	<b>48</b>	28,7	2,2	27,2	1,8	21,0	2,5	0,002	0,310	0,002	0,002
	<b>72</b>	30,0	2,6	29,0	3,2	26,0	3,3	0,147	0,589	0,065	0,240
<b>Süt</b>	<b>24</b>	8,0	1,3	7,0	1,8	7,0	1,8	0,358	0,240	0,240	1,000
	<b>48</b>	22,2	1,5	15,0	2,1	13,2	2,0	0,002	0,002	0,002	0,180
	<b>72</b>	33,0	3,2	31,0	2,1	37,0	3,3	0,012	0,310	0,065	0,002
<b>Toprak</b>	<b>24</b>	4,0	0,6	8,0	0,9	4,0	0,9	0,003	0,002	1,000	0,002
	<b>48</b>	20,0	2,3	22,0	2,5	23,0	2,1	0,105	0,180	0,041	0,589
	<b>72</b>	25,0	1,7	54,8	2,8	30,0	3,5	0,001	0,002	0,015	0,002

- p1, Bacteriological Pepton, Proteose Pepton ve ÖAP' nın üçlü grup karşılaştırmaları (Kruskal-Wallis Test)
- p2 Bacteriological Pepton ile Proteose Pepton, ikili grup karşılaştırmaları (Mann-Whitney Test)
- p3 Bacteriological Pepton ile ÖAP, ikili grup karşılaştırmaları (Mann-Whitney Test)
- p4 Proteose Pepton ile ÖAP ikili grup karşılaştırmaları (Mann-Whitney Test)

**Not:**  $p > 0,05$  olduğu durumlarda karşılaştırılan gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmektedir.

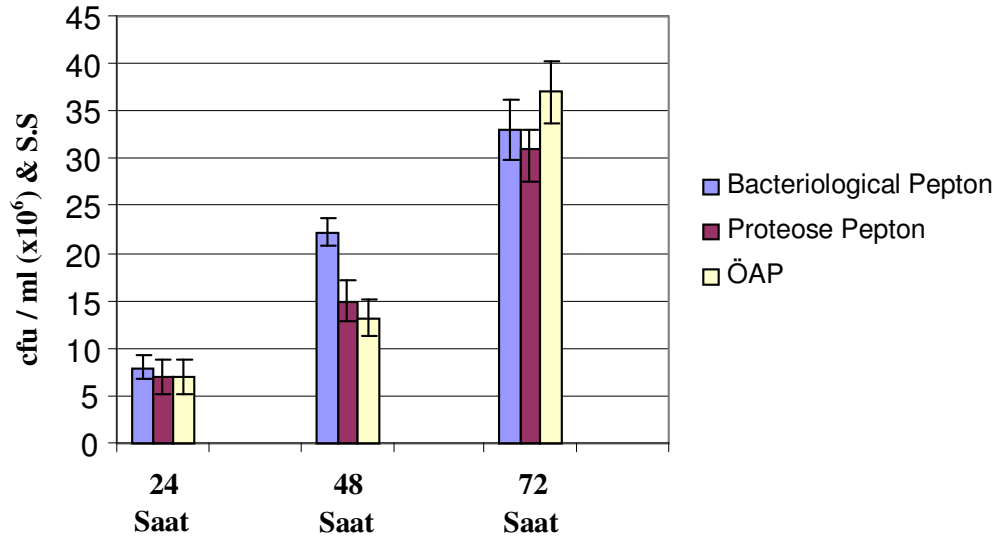


**Şekil 4.6.** Farklı Peptonların Et Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması

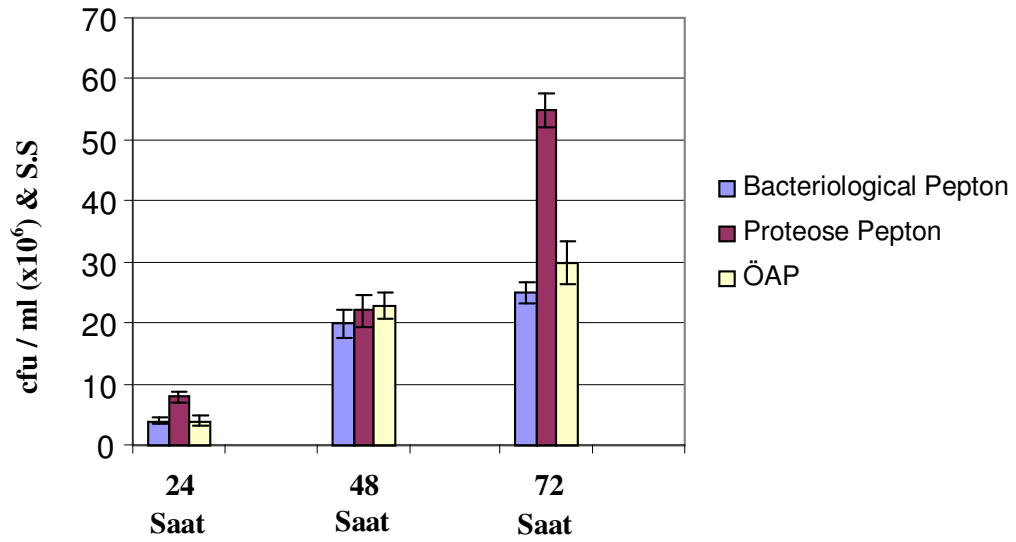


**Şekil 4.7.** Farklı Peptonların Su Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması





**Şekil 4.8.** Farklı Peptonların Süt Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması



**Şekil 4.9.** Farklı Peptonların Toprak Ortamından Alınan Mikroorganizmalar Üzerine Etkisinin Karşılaştırması

Çeşitli ortamlardan yapılan koloni sayım sonuçları 72 saat sonunda incelendiğinde en yüksek koloni sayısı et için  $62 \times 10^6$  (Proteose Pepton), su için  $30 \times 10^2$  (Bacteriological Pepton), süt için  $37 \times 10^6$  (ÖAP) ve toprak için de  $55 \times 10^6$  (Proteose Pepton) olarak belirlenmiştir. 72 saat sonunda en düşük koloni değerleri ise et, su, süt ve toprak için sırasıyla  $42 \times 10^6$ ,  $26 \times 10^2$ ,  $31 \times 10^6$  ve  $25 \times 10^6$  şeklinde tespit edilmiştir.

#### 4.5. Örümcek Ağı Peptonu (ÖAP)'nun Saf Bakteri ve Fungusları Üretme Potansiyelinin Diğer Peptonlarla Karşılaştırılması

Örümcek Ağı Peptonu'nun diğer peptonlarla biyomas potansiyelinin karşılaştırılması için sıvı besiyerleri hazırlanmıştır. Bu amaçla bakteriler için Nutrient Broth (NB) formülasyonunda (Difco, 1953) belirtilen pepton yerine, küfler ve maya için de Peptone-Dextrose Broth (PDB) formülasyonunda belirtilen pepton yerine üç ayrı pepton (Proteose Pepton, Bacteriological Pepton ve ÖAP) kullanılmıştır. NB ve PDB içeriğindeki diğer maddelerin çeşit ve miktarında herhangi bir değişiklik yapılmamıştır. Kullanılan NB içeriği Çizelge 3.2.'de ve PDB içeriği ise Çizelge 3.3.'te verilmiştir. Farklı peptonlardaki biyomas verimleri Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir.

Çalkalamalı kültürlerde, inkübasyon süresi sonunda Bacteriological Pepton içeren ortamda; *Bacillus thurugiensis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Saccharomyces cerevisiae* türleri, Proteose Pepton'lu ortamda; *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Alternaria alternata* *Uloladium atrum* ve *Aspergillus niger* türleri ÖAP'li ortamda ise; *Pseudomonas putida*, *Enterobacter aerogenes*, *Xanthomas compestris* ve *Penicillium expansum* türleri en yüksek biyomas verimi oluşturmuştur.

Biyomas üretimi sonucunda elde edilen bulgular incelendiğinde en yüksek verim küflerde (*Uloladium atrum*; 61,20 gr/lt, *Aspergillus niger*; 52,40 g/lt ve *Penicillium expansum*; 43,20 g/lt) elde edilmiştir. Bacteriological Pepton, Proteose Pepton ve ÖAP'nin biyomas verimlerinin en düşük olduğu tür ise *Xanthomas compestris* (sırasıyla; 1,20; 1,30 ve 1,80 g/lt) olarak tespit edilmiştir

**Çizelge 4.6.** Farklı Peptonlar İçeren Ortamlarda Mikroorganizmaların Biyomas Verimleri

<b>Mikroorganizmaların Farklı Peptonlarda Biyomas Miktarları (g/lt)</b>			
<b>Mikroorganizmalar</b>	<b>Pepton Çeşitleri</b>		
	<b>Bacteriological</b>	<b>Proteose</b>	<b>ÖAP</b>
<i>Bacillus subtilus</i>	2,33	3,30	3,00
<i>B.cereus</i>	2,95	2,15	2,47
<i>B.thurugiensis</i>	2,35	1,90	2,25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2,84	2,59	3,17
<i>Escherichia coli</i>	3,62	3,80	3,30
<i>Pseudomonas putida</i>	4,02	4,23	4,35
<i>Staphylococcus.aureus</i>	3,42	3,35	3,39
<i>Xanthomas compestris</i>	1,20	1,30	1,80
<i>Aspergillus niger</i>	51,50	52,40	45,20
<i>Penicillium expansum</i>	32,20	40,30	43,20
<i>Alternaria alternata</i>	5,10	5,40	3,40
<i>Uloladium atrum</i>	19,30	61,20	23,50
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7,90	6,70	2,80

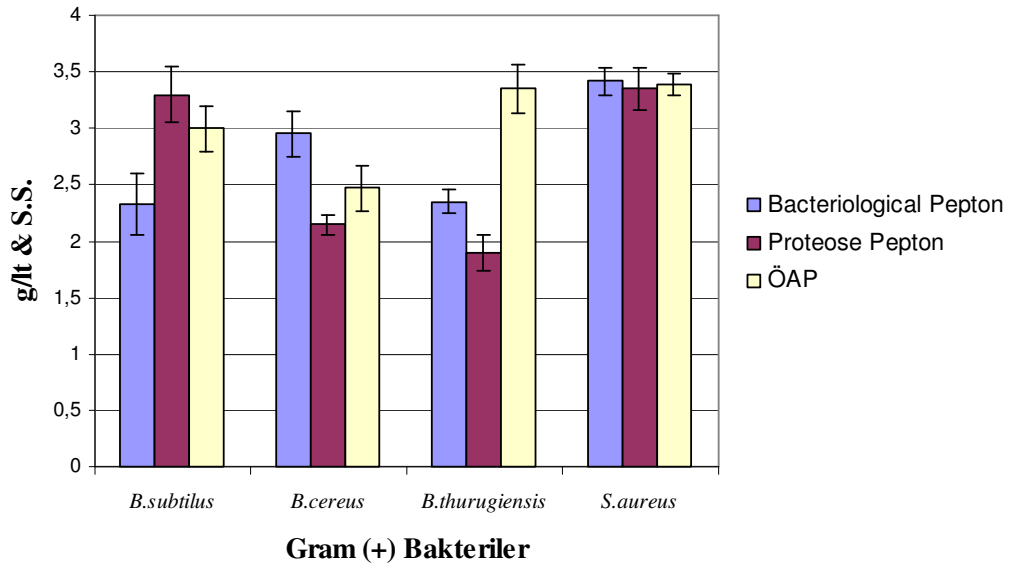
Örümcek Ağı Peptonu (ÖAP)'nun diğer peptonlarla biyomas oluşturma potansiyelinin istatistiksel olarak değerlendirilmesine ilişkin veriler Çizelge 4.7., Şekil 4.10., 4.11. ve 4.12'de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.7.** Örümcek Ağı Peptonu'nun Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

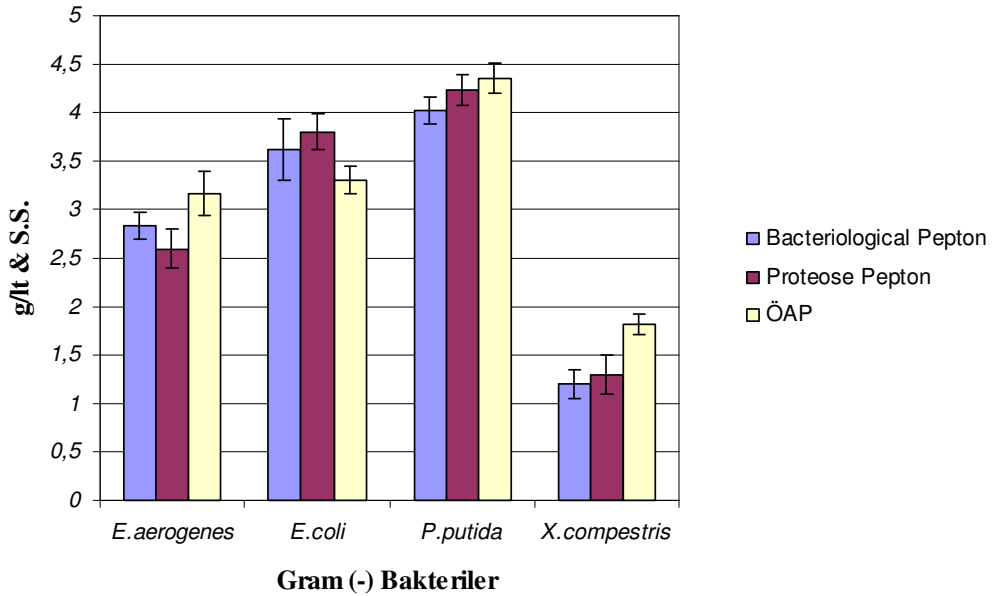
Mikroorganizmalar	Bacteriological Pepton		Proteose Pepton		ÖAP		Anlamlılık Düzeyi			
	Ortalama Koloni Sayısı	Standart Sapma	Ortalama Koloni Sayısı	Standart Sapma	Ortalama Koloni Sayısı	Standart Sapma	p1	p2	p3	p4
<i>Bacillus subtilus</i>	2,33	0,28	3,30	0,25	3,00	0,20	0,006	0,009	0,016	0,076
<i>B.cereus</i>	2,95	0,20	2,15	0,09	2,47	0,20	0,003	0,009	0,016	0,016
<i>B.thurugiensis</i>	2,35	0,10	1,90	0,16	2,25	0,21	0,014	0,009	0,347	0,028
<i>Enterobacter</i>	2,84	0,14	2,59	0,20	3,17	0,23	0,009	0,047	0,059	0,009
<i>Escherichia coli</i>	3,62	0,32	3,80	0,18	3,30	0,14	0,011	0,209	0,028	0,009
<i>Pseudomonas putida</i>	4,02	0,14	4,23	0,15	4,35	0,16	0,021	0,047	0,016	0,175
<i>Staphylococcus.aureus</i>	3,42	0,12	3,35	0,19	3,39	0,10	0,853	0,327	0,437	0,345
<i>Xhanthomas</i>	1,20	0,15	1,30	0,20	1,82	0,10	0,008	0,347	0,009	0,009
<i>Aspergillus niger</i>	51,50	0,89	52,40	1,55	45,26	0,59	0,007	0,295	0,009	0,009
<i>Penicillium expansum</i>	32,20	1,06	33,35	1,65	43,20	0,92	0,005	0,117	0,009	0,009
<i>Alternaria alternata</i>	5,10	0,40	5,40	0,35	3,40	0,13	0,007	0,343	0,009	0,009
<i>Uloladium atrum</i>	19,30	1,88	61,20	0,81	23,50	0,89	0,002	0,009	0,009	0,009
<i>Saccharomyces</i>	7,90	0,15	6,68	0,20	2,80	0,10	0,002	0,009	0,009	0,009

- p1, Bacteriological Pepton, Proteose Pepton ve ÖAP' nın üçlü grup karşılaştırmaları (Kruskal-Wallis Test)
- p2 Bacteriological Pepton ile Proteose Pepton, ikili grup karşılaştırmaları (Mann-Whitney Test)
- p3 Bacteriological Pepton ile ÖAP, ikili grup karşılaştırmaları (Mann-Whitney Test)
- p4 Proteose Pepton ile ÖAP ikili grup karşılaştırmaları (Mann-Whitney Test)

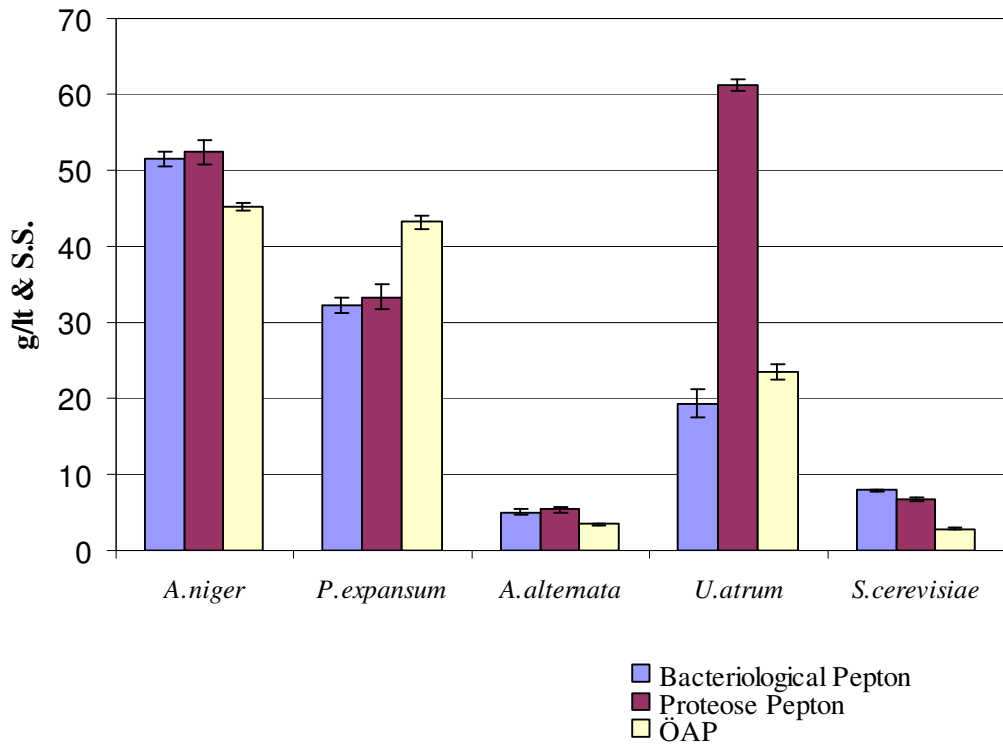
**Not:**  $p > 0,05$  olduğu durumlarda karşılaştırılan gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmektedir



**Şekil 4.10.** ÖAP'nin Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin Gram (+) Bakterilerde Karşılaştırılması



**Şekil 4.11.** ÖAP'nin Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin Gram(-) Bakterilerde Karşılaştırılması



**Şekil 4.12.** ÖAP'nin Diğer Peptonlarla Biyomas Potansiyelinin Funguslarda Karşılaştırılması

Çizelge ve şekiller incelendiğinde ÖAP'nin istatistikî bakımdan ( $p>0,05$ ); *Pseudomonas putida* türünde Proteose Peptonla arasındaki farkın önemsiz olduğu ve bu iki peptonunda Bacteriological peptondan biyomas verimi bakımından üstün olduğu anlaşılmıştır. *Xanthomas compestris* ve *Penicillium expansum* türlerinde ise istatistikî bakımdan Bacteriological ve Proteose Pepton arasındaki fark anlamsız bulunmuş ve bu iki pepton biyomas üretme potansiyeli açısından ÖAP'den zayıf bulunmuştur. *Enterobacter aerogenes* türünde ise ÖAP iki peptondan da biyomas verimi açısından üstün gelmiştir.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada örümcek ağının mikroorganizmalar için pepton olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Giriş bölümünde de belirtildiği gibi şu ana kadar pepton üretimi amacıyla farklı hayvansal ve bitkisel kaynaklardan yararlanılmıştır (Rale 1984; Usawakesmanee 1995; Akşit vd. 1996; Ellouz *et al.* 2001; Parrado *et al.* 2001; Kurbanoğlu and Kurbanoğlu 2002; Halkman 2005; Rozman *et al.* 2005; Uzeh *et al.* 2006; Vazquez and Murado 2008). Bu araştırma, örümcek ağının kullanılabilirliğinin incelenmesi bakımından bir ilki teşkil etmektedir.

1880 yılında Naegeli, mikroorganizmaların daha iyi üremeleri için parçalanmış, sindirilmiş proteine gereksinim duyduklarını gözlemlemiş ve proteinlerin hidrolizleriyle oluşan bu maddelere pepton adını vermiştir. Peptonlar Naegeli tarafından mikroorganizmaların üretiminde kullanıldığı zamandan beri besiyerlerinin en önemli maddesi olmuştur. Pepton üretimi konusunda yurdumuzda yapılan çalışmalar olmakla beraber, pepton üretimi devamlı olarak yapılamamakta ve her zaman her yerde istenilen kalitede pepton bulunamamaktadır (Unat 1980; Ustaçelebi vd. 1999; Cengiz vd. 2004).

Proteinler, fibröz (ipliksi) ve globüler (küresel) diye iki esas grupta toplanır. Örümcek ağı fibröz protein yapısındadır. Fibröz proteinler, hayvansal hücrelerde ve dokularda yapısal roller alırlar. Yani biyolojik materyalleri birlikte tutarlar. Fibröz proteinler derinin, bağ dokusunun, saç, yün ve ipek gibi hayvansal liflerin (fiber) proteinini oluştururlar. Fibröz proteinler incelendiğinde amino asitlerin özel yapıda olduğu ve üstün mekanik özelliğe sahip olduğu görülmektedir. İpliksi (veya fibröz) proteinlere skleroproteinler de denir. Adlarında belirtildiği gibi, bunlar iplik (fibre) biçimindedirler. Genellikle suda çözünmeyen özelliktedir. Başlıca doğal örnekleri arasında fibroin (ipek, örümcek ağı) gösterilebilir. Örümcek ağında bulunan fibroin maddesinin antiparalel  $\beta$ -yaprak bölgelerini bol miktarda taşıdığı anlaşılmıştır. Bu kısım tekrarlanan amino asit dizileri sergiler (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser-Ala-Gly-...) (Kurbanoğlu 1999; Montgomery *et al.* 2003; Üstdal vd. 2003).

Yaptığımız ön çalışmalar sonunda örümcek ağı hakkında gerek yurdumuzda gerekse dünyada birçok bilimsel araştırma yapılmasına karşın pepton olarak mikrobiyolojik besiyerlerinde kullanılabilirliğinin denemesi konusunda herhangi bir çalışmanın olmadığı anlaşılmıştır. Bu çalışmada örümcek ağı hidrolizatının pepton yerine kullanılabilirliği araştırılmıştır.

### **5.1. Örümcek Ağının Hidrolize Edilmesinde İzlenen Yol**

Örümcek ağı fibröz proteinler bakımından oldukça zengindir. Daha önce fibröz ptoteinlerin hidrolizasyonu işleminde sıcaklık ve asit hidrolizasyonu yönteminin daha çok kullanıldığı görülmüştür (Fountoulakis and Lahm 1998). Ayrıca daha önce yapılan denemelerde örümcek ağının hidrolizi için en uygun metodun hidroklorik asit kullanılarak gerçekleştirilen asit hidrolizasyonu olduğu tespit edilmiştir (Fountoulakis and Lahm 1998; Hess *et al.* 2002).araştırmamızda hidrolizasyon işlemlerinin asit ve sıcaklık uygulanarak gerçekleştirilmesi yukarıda belirtilen sebeplerle tercih edilmiştir. Hidrolizasyon işleminden sonra; eşit hacimli 3 N NaOH (Fluka), 3 N Ca(OH)<sub>2</sub> (Merck), 3 N Mg(OH)<sub>2</sub> (PARK) ve 3 N KOH (Merck) karışımı kullanılarak nötralizasyon gerçekleştirilmiş, böylece elde edilen ürünün mikroorganizmaların üremesi için gerekli maddeler bakımından da zenginleştirilmesi sağlanmıştır.

### **5.2. Örümcek Ağı Peptonunun (ÖAP) Kimyasal İçeriği**

ÖAP kuru madde, kül, bazı mineraller, toplam şeker ve amino asit içeriği bakımından analiz edilmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de özetlenmiştir. ÖAP incelendiğinde inorganik madde bakımından oldukça zengin olduğu gözlemlenmiştir. Mikroorganizmalar beslenmeleri için çeşitli inorganik maddelere ihtiyaç duyarlar. Makro elementler (Na, K, Cl, P, S, Ca, Mg, Fe) ile mikro elementlerin (Zn, Mn, Br, B, vb) peptonların bileşiminde yeterli miktarda bulunması mikrobiyal gelişmenin sağlanması için gereklidir ve bu maddeler miktar olarak yetersiz olduğu zaman besi yeri ortamlarına eklenmektedirler (Halkman 1995).



Piyasada bulunan ticari peptonların içeriğinde bulunan temel inorganik maddeler Ca, Fe, Mg, K ve Na'dır. ÖAP incelendiğinde bu elementlerin hepsini içermesi dikkat çekici bulunmuştur. Bacto Pepton, Proteose Pepton ve ÖAP kendi aralarında karşılaştırıldıklarında Ca, Fe, Mg, K ve Na ( $\mu\text{g/g}$ ) elementlerinin 5 tanesinden 4 tanesini en yüksek oranda içeren pepton olarak ÖAP göze çarpmaktadır (Çizelge 5.1.). (BD Bionutrients™ Technical Manual 2006).

Peptonların Ca, Fe, Mg, K ve Na içerikleri incelendiğinde Bacteriological Peptone, Proteose Pepton ve ÖAP'de bulunma oranları  $\mu\text{g/g}$  olarak sırasıyla; 30, 7,8, 17, 2 487, 18 127; 120, 13,5, 261, 9 123, 29 730 ve 36 990, 170, 35 930, 21 850, 9 880'dir.

Bu değerler bakıldığında ÖAP'nin Ca, Fe, Mg ve K iyonları bakımından aşırı yüklü olduğu söylenebilir. Bu yük Çizelge 3.1.'de açıklanan nötralizasyon işleminden kaynaklanmaktadır. ÖAP içeriğinde bulunan aşırı iyon yükünün mikroorganizmaların gelişimi ve üremesine olumsuz etki yapabileceğinden dolayı örümcek ağının hidrolizi için alternatif metotlar geliştirilerek iyon değerleri optimal değerlere çekilebilir.

**Çizelge 5.1.** Farklı Peptonların Temel Element İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması (BD Bionutrients™ Technical Manual 2006)

Peptonlar	Ca ( $\mu\text{g/g}$ )	Fe ( $\mu\text{g/g}$ )	Mg ( $\mu\text{g/g}$ )	K ( $\mu\text{g/g}$ )	Na ( $\mu\text{g/g}$ )
<b>Bacteriological Pepton</b>	30	7,8	17	2487	18127
<b>Proteose Pepton</b>	120	13,5	261	9123	29730
<b>ÖAP</b>	36990	170	35930	21850	9880

Bu güne kadar örümcek ağının amino asit içeriğiyle ilgili olarak birçok çalışma yapılmıştır (Casem *et al.* 1999; Vollarath 1999; Van Beek *et al.* 2002; Saravanan 2006).

Araştırmamızda kullandığımız ÖAP'nin amino asit miktarları incelendiğinde en yüksek değer glisin (%38,3) amino asidi olduğu bunu sırasıyla alanin (% 21,5), glutamik asit (%9,7), arginin (%7,6), serin (%4,5) ve diğer amino asitlerin izlediği belirlenmiştir. Bu değerler, daha önce fibröz proteinlerden hazırlanan peptonların aminoasit içeriğiyle karşılaştırıldığında önemli oranda benzerlik olduğu görülmektedir (Molina *et al.*, 1984). Ayrıca bir örümcek türü olan *Nephila clavipes* ağı üzerinde yapılan araştırma sonuçları ile ÖAP'nin karşılaştırıldığı Çizelge 5.2. incelendiğinde araştırma bulgularının daha önce yapılmış araştırma sonuçlarıyla paralellik arz ettiğini söyleyebiliriz.

**Çizelge 5.2.** *Nephila clavipes* ve ÖAP'nin Amino Asit İçerğinin Yüzdeler Oranları (Saravanan 2006)

Amino Asit	Örümcek İpeği ( <i>Nephila clavipes</i> )	ÖAP
Glisin	37,1	38,3
Alanin	21,1	21,5
Valin	1,8	1,8
Lösin	3,8	3,6
İzolösin	0,9	1,6
Serin	4,5	4,5
Treonin	1,7	1,7
Aspartik Asit	2,5	3,0
Glutamik Asit	9,2	9,7
Fenilalanin	0,7	0,9
Tirozin	-	3,7
Lizin	0,5	1,0
Histidin	0,5	0,5
Arginin	7,6	7,6
Prolin	4,3	-
Triptofan	2,9	-
Sistin	0,3	0,4
Metionin	0,4	0,3

ÖAP'nin 20 amino asidin 16 tanesini içerdiği, triptofan, prolin, sistein ve glutamin aminoasidini içermediği görülmektedir. Bazı amino asitlerin ÖAP içeriğinde bulunmamasının nedeni muhtemelen uygulanan hidrolizasyon şartlarının ağırlığıdır. Çünkü asit ve alkali ortamlarda yüksek ısı uygulamalarının protein ve amino asit bozulmasına yol açtığı belirtilmektedir.

Örneğin Proteinlerin asit hidralizasyonu için 6N HCl içersinde 100-120°C'de 10-100 saatlik inkübasyonunun gerekli olduğu ve bu uygulamanın triptofan amino asidini bozduğu ifade edilmektedir (Lehninger, 1975; Tekman ve Öner, 1981;Gökalp, vd., 1992; Kurbanoglu, 1999). Araştırmamızda ise 108 °C'de 24 saat süreyle hidroliz işlemi uygulanmıştır. ÖAP'de bazı amino asitlerin az miktarda olması, bazılarının ise hiç bulunmaması, muhtemelen yukarıda açıklanmaya çalışılan hidrolizasyon şartlarından kaynaklanmaktadır.

### **5.3. Örümcek Ağı Peptonu'nun (ÖAP) Doğal Ortamlardaki Mikroorganizmaları Üretme Potansiyelinin Diğer Peptonlarla Karşılaştırılması ile İlgili Değerlendirme**

Et, süt, toprak ve sudan alınan mikroorganizma örnekleri dilisyona uğratılmış ve modifiye edilip PCA içeriğine göre hazırlanan katı besiyerlerine yayma plak yöntemine göre ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu besiyerinde sadece pepton çeşitleri (ÖAP, Bacteriological Pepton ve Proteose Pepton) değiştirilmiş ve bu değişikliklerin mikroorganizmaların üremeleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Mikroorganizmaların üremelerine ilişkin istatistiksel araştırma sonuçları Çizelge 4.2.'de özetlenmiştir.

72 saat sonunda et ortamında, ÖAP ile Bacteriological Pepton arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu anlaşılmış fakat Proteose Pepton ise bu üç pepton içersinde et ortamında diğer iki peptona üstünlük sağlamıştır. Su ortamında ise üç peptonun istatistikî olarak birbirine yakın değerlere sahip olduğu ve peptonların arasındaki farkın önemsiz olduğu anlaşılmıştır. Süt ortamında peptonlar arasında Proteose Pepton ve ÖAP arasındaki farkın önemsiz olduğu ve bu iki peptonun Bacteriological Pepton'dan üstün olduğu anlaşılmıştır. Toprak ortamında ise peptonlar

arasında Proteose Pepton en yüksek üretme potansiyelinesahip bulunmuş bunu sırasıyla ÖAP ve Bacteriological Pepton takip etmiştir.

Peptonların farklı ortamlardaki koloni sayıları değerlendirildiğinde üstünlük sırasına göre Proteose Pepton > ÖAP > Bacteriological Pepton olduğu söylenebilir.

#### **5.4. Farklı Peptonları Kullanarak Hazırlanan Besiyerlerinde Saf Kültürlerden Yapılan Yüzey Ekimi Sonucu Elde Edilen Bulgular ile İlgili Değerlendirmeler**

Farklı peptonlar kullanılarak hazırlanan besiyerlerinde test mikroorganizmalarının üremelerine ilişki bilgileri Çizelge 4.4.'te gösterilmiştir.

Yüzey ekimleri sonucunda test mikroorganizmalarının üremeleri türlere göre farklılık göstermiştir. Fakat genel olarak incelendiğinde peptonlar arasında (büyükten küçüğe) Proteose Pepton, ÖAP ve Bacteriological Pepton şeklinde bir sıralama oluşmuştur.

#### **5.5. Farklı Peptonların Saf Kültürlerde Biyomas Verimleri Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması Hakkında Değerlendirmeler**

Biyomass verimleri türlere göre değişiklik göstermiştir. Elde edilen sonuçlarla ilgili istatistiksel veriler Çizelge 4.7.'de özetlenmiştir. Biyomas verimleri incelendiğinde hemen hemen kullanılan bütün standart suşların ÖAP içeren ortamlarda üreyebildikleri, üremenin karşılaştırılan diğer peptonlardan Proteose Pepton'dan daha zayıfken, Bacteriological Pepton'dan daha üstün olduğu anlaşılmaktadır. İstatistikî olarak değerlendirildiğinde ÖAP *Pseudomonas putida*, *Enterobacter aerogenes*, *Xanthomas compestris* ve *Penicillium expansum* türlerinde Proteose Pepton ve Bacteriological Pepton'dan daha üstün olduğu anlaşılmaktadır.

Bu sonuçlara göre ÖAP'nin sadece belli çeşit mikroorganizmaları değil, küf, maya

Gram (+) ve Gram (-) bakterileri de üretebilen bir potansiyele sahip olduğu söylenilebilir.

ÖAP'nin anaerobik organizmalar için kullanılabilirliği araştırılmamıştır. Dolayısıyla ÖAP'nin anaeroplari üretme potansiyeli hakkında bir karşılaştırma ve değerlendirme yapmamız mümkün olmamıştır.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar ve bu sonuçlardan yola çıkılarak yapılabilecek öneriler aşağıda özetlenmiştir.

1. ÖAP piyasada satılan peptonlardan Bacteriological Pepton'a yakın bir mikroorganizma üretme potansiyeline sahiptir. Ancak bu potansiyel Proteose Pepton'a göre daha zayıf bulunmuştur.
2. ÖAP'nin mikrobiyolojik vasatlarda kullanılması bakımından daha güçlü hale getirilmesi için hidrolizasyon ve nötrolizasyon işlemlerini de içeren yeni ve alternatif metotların geliştirilmesi hakkında yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.
3. İlk bakışta örümcek ağının oluşturulma ve toplanmasındaki problemler bu materyalden üretimin ekonomik olmayacağı şeklinde bir düşünce doğurabilir. Ancak bu çalışma ağ proteinlerinin pepton üretiminde kullanımı amaçlı ilk çalışmadır. İpek böceğinden üretilen ipek materyalinin sanayi atıklarının da aynı amaçla kullanılabilceğı dikkate alındığında bu çalışma, bu tip maddelerin değerlendirilmesini tetikleme açısından önem kazanmaktadır. Ayrıca örümcek ağı maddesini kodlayan genlerin başka organizmalara moleküler klonlama yöntemiyle aktarılması suretiyle daha büyük oranlarda üretilmesi konusundaki çalışmalar devam etmektedir (Fahnestock *et al.*, 2000; Gould, 2002). Dolayısıyla bu çeşit ürünlerin gelecekte daha fazla üretileceğini ve bu konudaki hammadde sıkıntısının ortadan kaldırılacağını söyleyebiliriz.

**KAYNAKLAR**

- Akşit, F., Akgün, Y., Kiraz, N. ve Serter, N., 1996. Mikrobiyoloji. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No: 490; Açıköğretim Fakültesi Yayınları No: 219, s.277, Eskişehir.
- AOAC., 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Agri. Chemist., Washington D.C.-USA.
- Arda, M., 2000. Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayıncılık Serisi no 46, s 548, Dışkapı-Ankara
- Al-Zoreky, N. And Sandine, W.E., 1990. Highly selective medium for isolation of *Listeria monocytogenes* from food. Environ. Microbiol., 56, 3154-3157.
- Batzing, L.B., 2002. Microbiology an Introduction. Wadworth Group, Brooks / Cole is an imprint of the Wadworth Group, adivision of Thomson Learning, Inc, s. 780, USA.
- Baybek, H. ve Ata, F., 2002. Mikrobiyoloji Pratiği Ders Notları. Muğla Üniversitesi Yayınları: 28; Muğla Sağlık Yüksek Okulu Yayınları: 02, s127, Muğla.
- BD Bionutrients™ Technical Manual, 2006. BD Bionutrients™ Technical Manual Advanced Bioprocessing, p. 72, USA.
- Becker, N., Oroudjev, E., Mutz, S., Cleveland, J.P., Hansma, P.K., Hayashi,C.Y.,Dmitrii E. Makarov, D.E. and Hansma, H.G., 2003. Molecular nanosprings in spider capture-silk threads. Nature Materials 2, 278 – 283.
- Bridson, E.Y., 1995. The Oxoid Manual. Unipath Limited, Wade Rood, BasingstokeHampshire, England.
- Cengiz A.T., Aydın M., Mısırlıgil A. ve Durmaz B., 2004. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi Ltd. Şti., s 1239, Ankara
- Çetin, E.T., 1983. Endüstriyel Mikrobiyoloji. İstanbul Üniversitesi Vakfı-Bayda YayınNo:2, s 418, Cağaloğlu- İstanbul.
- Dave, R.I. and Shah,P., 1996. Evulation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaris*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacteria*. J. Dairy Sci.,79, 1529-1536.
- Difco Manual, 1953. Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures, p 350, Detroit-Michigan, USA.
- Dizdar, G. ve Develi,N., 1987. Yerli materyalden mikrobiyolojik besiyeri hazırlanması üzerine Araştırmalar. T.C. Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü, Yayın No:5, Ankara.
- Ellouz, Y., Bayoudh, A., Kammoun, S., Gharsallah, N. and Nasri, M., 2001. Production of proteose by *Bacillus subtilis* grown on sardinella heads and viscera flours. Bioresource Technology, 80, 49–51.
- Esin, A. ve Çelebioğlu, S., 1999. Teori ve Problemlerle İstatistik. Nobel Basımevi, Yayın No:441, s. 54, Ankara.
- Fahnestock, S.R., Yao, Z. and Bedzyk, L.A., 2000. Microbial production of spider silk proteins. Reviews in Molecular Biotechnology,74, 105–119.
- Fountoulakis,M. and Lahm, H.W., Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. Journal of Chromatography A., 826, 109–134

- Gosline, J., Guerette, P., Ortlepp, C. and Savage, K., 1999. Molecular and mechanical design of spider's silks. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 124, 1, 34
- Gosline, J., Gurette, P., Ortlepp, C. and Savage, K., 2000. Mechanical and molecular design of spider silks: a guide to the design of novel protein polymers. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 126,42.
- Gould, P., 2002. Exploiting spiders' silk. *Materials Today*, p 42-47.
- Gökalp, H.Y., Nas, S. ve Certel, M., 1992 *Biyokimya-1 Temel Yapılar ve Kavramlar*. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Yayın No:722, Erzurum, s 466.
- Green, S., L. Monchick, R. Goldflam, and D.J. Kouri, 1977: Computational tests of angular momentum decoupling approximations for pressure broadening cross sections. *J.Chem. Phy.*, 66,1409-1412.
- Güngör, S., Balcı, İ., 1995. *Pratik Mikrobiyoloji (Öğrenci Kılavuzu)*. Gaziantep Üniversitesi Basımevi, s 101, Gaziantep.
- Halkman, A.K., 1995. *Mikrobiyolojide Kullanılan Besiyerleri*. Armoni Matbaacılık Ltd. Şti., s., 72, Ankara.
- Halkman, A.K., 2005. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti, s 358, Ankara.
- Hasenekoğlu, İ., 1983. *Biyologlar İçin Laboratuar Deney Tekniği*. Kazım Karabekir Eğitim Fak. Yayınları, s 262, Erzurum.
- Hasenekoğlu, İ., 1989. *Toprak Mikrofunguslarının İzolasyon ve Kültür Metotları*. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, s., 54, Erzurum.
- Hess, S., Beek, J.V., Pannell, L.K., 2002. Acid hydrolysis of silk fibroins and determination of the enrichment of isotopically labeled amino acids using precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography – electrospray ionization–mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 311(2002), 19- 26.
- Karahan, A.G., Arıdoğan, B.C., Çakmakçı, M.L., 2002. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu*. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No:24, s 171, Isparta.
- Kluge, J.A., Rabotyagova, O., Leisk, G.G: and Kaplan, D.L., 2008. Spider silks and their applications. *Trends in Biotechnology*, 26, 244-251.
- Kurbanoğlu, E.B., 1999. *Boynuz Hidrolizatının Bakteriler İçin Besiyeri Olarak Değerlendirilmesi*. Doktora, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kubanoğlu, E.B. and Algur, Ö.F., 2002. Use of Ram Horn Hydrolysate as Peptone for Bacterial Growth. *Turk J Biol*, 26, 115–123
- Kurbanoğlu, E.B. and Kurbanoğlu, N.I., 2002. A new process for the utilization as peptone of ram horn waste. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(3), 202–206.
- Leeson, S., Summers, J.D., and Lee, B.D., 1984. Nutritive value of single-cell protein produced by *Chaetomium cellulolyticum* grown on maize stover and pulp-mill sludge. *Anim. Feed Sci. And Tech.*, 11, 211-219.
- Leloğlu, N., Erdoğan N., 1979. *Mikrobiyoloji Laboratuar Yöntemleri*. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:549, s168, Erzurum.
- Lim, K.S., Huh, S. and Baek, Y.J., 1995. A Selective enumeration medium for Bifidobacteria in fermented dairy products. *J. Dairy Sci.*, 78, 2108-2112.



- Molina, O.E., Perotti de Galvez, N.I., Frigerio, C.I. and Cordaba, P.R., 1984. Single cell protein production from baggase pith pretread with sodium hydroxide at room temperature. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 335-339.
- Montgomery, R., Conway, T.W., Spector, A.A. and Chappell, D., 2003. *Biochemistry a Case-Oriented Approach*, The University of Iowa College of Medicine Iowa City, p 683, Iowa.
- Omurtag, A.C., 1966. Genel Mikrobiyoloji Laboratuar Kılavuzu, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, s 216, Ankara.
- Parrado, J., Millan, F., Pinzon, H.I., Bautista, J. And Machado, A., 1993. Sunflower peptones use as nitrogen source for the formulation of fermentation media. *Process Biochemistry*, 28 (2), 109–113.
- Pekin, B., 1980. *Biyokimya Mühendisliği, Birinci Kitap; Kısım-2 Ege Üniversitesi Matbaası*, s. 771, Bornova-İzmir.
- Poernomo A. and Buckle K.A., 2002. Crude peptones from cowtail ray (*Trygon sephen*) viscera as microbial growth media, *World Journal of Microbiology & Biotechnology.*, 18, 333–340.
- Rale, B.R., 1984. SCP from pineapple (*Ananas sativa* schut.). *Apply Microbiol Biotechnol.*, 56, 301-303.
- Rambach, A., 1990. New plate medium for facilitated differantation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp. and other enteric bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1-7.
- Rozman, D., Pertot E., Beli I. and Komel R., 2005. Soybean peptones as nutrients in the fermentative production of cline ergot alkaloids with *Claviceps fusiformis*. *Biotechnology Letters*, 7, 563–566
- Ricki, L., 1996. Unraveling the Weave of Spider Silk. *BioScience*, 46, 636–638
- Saravanan, D., 2006. Spider Silk–Structure, Properties and Spinning. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*, 5(1), 1- 20.
- Scott, J.A. and Melvin, E.H., 1953. Determination of dextran with antrone, *Anal. Chem.* 25, 1656–1661.
- Sert, S., 1988. Genel Mikrobiyoloji Ders Notları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü, s.107, Erzurum
- Tekman, Ş. ve Öner, N., 1981. Genel Biyokimya Dersleri. İstanbul Ün. Yayınları, Yayın No:2810, İstanbul, s 360.
- Temiz, A., 1994. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, s. 226, Ankara.
- Topal, S., 1982. Çeşitli tarımsal ve gıda sanayi artıklarının mikrobiyolojide besiyeri olarak kullanılabilme olanaklarının araştırılması. Tubitak MBEAE Beslenme ve Gıda teknolojisi Bölümü; Yayın No:58, Gebze.
- Unat, E.K., 1980. Türkiye bakteriolojisinde besiyeri sorunu. XIX. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi, Ankara, s 10- 24.
- Unat, E.K., 1980. Genel Tıp Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyon Hastalıkları Bilimi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, s 432, İstanbul.
- Ustaçelebi, Ş., Mutlu, G., Cengiz, E., İmir, T., Mete, Ö., 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi Ltd. Şti., s 1339, Sıhhiye-Ankara.
- Uzeh R.A., 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*, 5 (18), 1684–1686.

- Üstdal, K.M., Karaca, L., Testereci, H., Kuş, S. ve Paşaoğlu H., 2003. Biyokimya, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya, s 673.
- Vasileva-Tonkova, E., Nustorova, M. and Gushterova, A., 2006, New Protein Hydrolysates from Collagen Wastes Used as Peptone for Bacterial Growth, *Current Microbiology* ., 54 , 54–57.
- 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.
- Vecht-Liftshitzk, S., Almast, K.A. and Zomer, E., 1990. Microbial growth on peptones from fish industrial wastes, *Letters in Applied Microbiology*., 10, 183-186.
- Vepari, C. and Kaplan, D.L., 2007. Silk as a biomaterial. *Progress in Polymer Science*, 32, 991–1007.
- Viney, C., 1997. Natural silks : archetypal supramolecular assembly of polymer fibres. *Supramolecular Science*, Volume 4, Issues 1–2, March-June 1997, 75–81
- Vollrath, F., 1992. Spider webs and silk. *Sci. Am.* 266, 70–76.
- Vollrath, F., Wen Hu, X., Knight, D.P., 1998. Silk production in a spider involves acid bath treatment. *Proc. R. Soc.* 263, 817–820.
- Vollrath, F., 1999. Biology of spider silk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24, 81–88
- Vollrath, F., 2000. Strength and structure of spiders' silks *Reviews in Molecular Biotechnology*, 74, 67-83 .
- Vollrath F. and Knight D. P., 1999. Structure and function of the silk production pathway in the Spider *Nephila edulis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24, 243–249
- Vollrath, F. Knight, D.P., 2001. Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, 410 - 541.
- Usawakesmanee, W., 1995. Production of Peptone from Shrimp Heads. Master thesis. Kasetsart University. 83 p.
- Work, R.W., 1985. Viscoelastic Behaviour and Wet Supercontraction of Major Ampullate Silk Fibres of Certain Orb-Web-Building Spiders (Araneae). *J. Exp. Biol.*, 118, 379- 404.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1978 yılında Denizli ilinde doğdu. İlköğrenimini Denizli, orta ve lise öğrenimini Aydın ilinde tamamladı. 1997 yılında girdiği Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu. 2002 yılında Milli Eğitim Bakanlığı tarafından öğretmen olarak atandı. Hala bu görevini sürdürmektedir.