



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ISLATMA SIVILARINDAN ENZİM ÜRETEN
HALOVERSATİL BAKTERİLERİN İZOLE
EDİLEREK TANIMLANMASI**

ÖZLEM ÖZBAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Pınar ÇAĞLAYAN

İSTANBUL, 2022



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ISLATMA SIVILARINDAN ENZİM ÜRETEN
HALOVERSATİL BAKTERİLERİN İZOLE
EDİLEREK TANIMLANMASI**

ÖZLEM ÖZBAY
(520120007)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Biyoloji Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar ÇAĞLAYAN

İSTANBUL, 2022

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, gerçekleşmesi ve sonuçlanmasında benden yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, birlikte çalışmaktan her zaman onur duyduğum, güler yüzü ve destek veren sözleriyle çalışma azmimi perçinleyen, hoşgörüsünü ve yardımseverliğini her zaman örnek alacağım çok Değerli Hocam Doç. Dr. Pınar Çağlayan'a,

Çalışmamı gerçekleştirmem için laboratuvarının bütün olanaklarını bana sunan, yüksek lisans eğitim dönemimde engin bilgileri ve tecrübeleriyle beni aydınlatan ve bana yol gösteren, desteğini her zaman hissettiğim Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Meral Birbir'e,

Bu aşamaya gelmemde büyük katkısı olan Değerli Hocalarıma,

Tezimin gerçekleşmesi için gerekli imkânları ve maddi desteği sağlayan M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tez çalışmam için numunelerimi temin ettiğim Tuzla-İstanbul Deri Organize Bölgesi'ndeki firmalara ve göstermiş oldukları özveri ve ilgi için çalışanlarına,

Tüm yaşamım boyunca olduğu gibi bu çalışma boyunca da her daim yanımda olan, umut kaynağım sevgili Annem Nurten Özbay'a, sevgili Babam Yaşar Özbay'a, sevgili Kardeşim Özgür Özbay'a,

Bu süreçte beni destekleyen sevgili Halam Nuriye Çakıcı'ya ve Değerli Ailesine,

Bana her zaman inanan, yanımda olan, varlıklarından güç bulduğum, hayatımdaki en büyük şanslarım olan canım Dostlarım Merve Gelişen'e ve Mert Çalışal'a,

Sonsuz teşekkür ederim.

Ekim, 2022

Özlem ÖZBAY

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
SEMBOLLER.....	xii
KISALTMALAR.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
TABLO LİSTESİ.....	xvi
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
1.1. Deri Endüstrisinin Önemi ve Araştırmanın Amacı.....	1
1.2. Deri Endüstrisinin Ekonomideki Yeri.....	2
1.3. Deri.....	4
1.3.1. Derinin önemi ve işlevi.....	4
1.3.2. Derinin histolojik yapısı.....	4
1.3.2.1. Epidermis tabakası.....	4
1.3.2.2. Dermis tabakası.....	6
1.3.2.3. Hipodermis tabakası.....	7
1.3.3. Derideki organik moleküller.....	8
1.3.3.1. Derideki yağ türleri.....	8
1.3.3.2. Derideki protein türleri.....	8
1.4. Deri Çeşitleri.....	10
1.5. Dericiliğin Tarihi.....	10
1.6. Deriyi Koruma İşlemleri.....	12
1.6.1. Tuz ile koruma yöntemi.....	12

1.6.2. Kurutma ile koruma yöntemi	12
1.6.3. Soğutma ile koruma yöntemi	13
1.7. Derilerin İşlenti Aşamaları.....	13
1.7.1. Islatma	13
1.7.1.1. Islatma işlemini etkileyen faktörler	14
1.7.2. Kıl giderme.....	20
1.7.3. Kireçlik.....	20
1.7.4. Etleme	20
1.7.5. Kireç giderilmesi ve sama	21
1.7.6. Yağ giderilmesi	21
1.7.7. Salamura.....	21
1.7.8. Sepileme (Tabaklama)	21
1.7.9. Nötralizasyon	22
1.7.10. Retenaj.....	22
1.7.11. Boyama	22
1.7.12. Yağlama	22
1.7.13. Finisaj.....	22
1.8. Ham Derilerin Kalitesini Düşüren Etkenler.....	23
1.9. Islatma İşleminde Yapılan Hatalar	24
1.10. Deri Sektöründe Islatma Sıvıları ile Yapılan Mikrobiyolojik Çalışmalar	25
1.11. Haloversatil Bakteriler ile Yapılan Mikrobiyolojik Çalışmalar	27
1.12. Çalışmamızda Islatma Sıvılarından İzole Edilerek Tanımlanan Haloversatil Bakteriler Hakkında Genel Bilgi	29
1.12.1. <i>Firmicutes</i> Şubesi.....	29
1.12.1.1. <i>Terribacillus</i> Cinsi.....	29
1.12.1.2. <i>Bacillus</i> Cinsi.....	30

1.12.2. <i>Actinobacteria</i> Şubesi	31
1.12.2.1. <i>Brevibacterium</i> Cinsi.....	31
BÖLÜM 2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
2.1. Materyaller.....	33
2.1.1. Çalışmamızda hazırlanan ve kullanılan besiyerleri.....	33
2.1.1.1. NaCl içermeyen halofil besiyeri (pH 7.0)	33
2.1.1.2. %1.17 NaCl içeren halofil besiyeri (0.2 M, pH 7.0)	34
2.1.1.3. %2 NaCl içeren halofil besiyeri (0.34 M, pH 7.0)	34
2.1.1.4. %3 NaCl içeren halofil besiyeri (0.51 M, pH 7.0)	34
2.1.1.5. %5 NaCl içeren halofil besiyeri (0.85 M, pH 7.0)	35
2.1.1.6. %8 NaCl içeren halofil besiyeri (1.36 M, pH 7.0)	35
2.1.1.7. %10 NaCl içeren halofil besiyeri (1.7 M, pH 7.0)	36
2.1.1.8. %12 NaCl içeren halofil besiyeri (2 M, pH 7.0)	36
2.1.1.9. %15 NaCl içeren halofil besiyeri (2.5 M, pH 7.0)	37
2.1.1.10. %18 NaCl içeren halofil besiyeri (3 M, pH 7.0)	37
2.1.1.11. %20 NaCl içeren halofil besiyeri (3.4 M, pH 7.0)	38
2.1.1.12. %25 NaCl içeren halofil besiyeri (4.2 M, pH 7.0)	38
2.1.1.13. %30 NaCl içeren halofil besiyeri (5.1 M, pH 7.0)	39
2.1.1.14. Nişasta besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	39
2.1.1.15. Selüloz besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	39
2.1.1.16. Pullulan besiyeri (% 1.17 NaCl, pH 7.0).....	40
2.1.1.17. Ksilan besiyeri (% 1.17 NaCl, pH 7.0).....	40
2.1.1.18. Zeytinyağlı agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0).....	40
2.1.1.19. Tween 80 agar besiyeri (% 1.17 NaCl, pH 7.0)	40
2.1.1.20. Üre agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)	41
2.1.1.21. Jelatin agar besiyeri (% 1.17 NaCl, pH 7.0).....	41

2.1.1.22. Kazein agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0).....	42
2.1.1.23. DNaz besiyeri (%2 NaCl, pH 7.0).....	42
2.1.2. Çalışmamızda kullanılan çözeltiler ve kimyasallar.....	42
2.1.2.1. 1 N NaOH çözelti	42
2.1.2.2. 1 N HCl çözelti.....	42
2.1.2.3. Gram'ın iyot çözelti.....	43
2.1.2.4. Kristal viyole çözeltisi	43
2.1.2.5. %95'lik Etil alkol çözeltisi	43
2.1.2.6. Safranin çözeltisi	43
2.1.2.7. Kongo kırmızısı	43
2.1.2.8. Frazier ayırıcı.....	43
2.1.2.9. Oksidaz test ajanı.....	43
2.1.2.10. Katalaz test ajanı.....	43
2.1.2.11. McDowell-Trump fiksatif	43
2.1.2.12. %4'lük Gluteraldehit çözeltisi	43
2.1.2.13. 0.2 M Fosfat tamponu.....	44
2.1.2.14. 0.1 M Fosfat tamponu.....	44
2.1.2.15. %2'lik Osmiyum tetroksit	44
2.1.2.16. %35 Etanol	44
2.1.2.17. %50 Etanol	44
2.1.2.18. %75 Etanol	44
2.1.2.19. %95 Etanol	44
2.1.2.20. 1 nolu McFarland bulanıklık standardı.....	44
2.1.2.21. 2 nolu McFarland bulanıklık standardı.....	44
2.1.2.22. 1X Tris-asetat ve EDTA (TAE) çalışma tamponu	44
2.1.3. Kullanılan araç ve gereçler.....	45

2.2. Yöntem.....	45
2.2.1. Islatma sıvısı numunelerinin toplanması.....	46
2.2.2. Islatma sıvısı numunelerinin sıcaklık, pH ve tuzluluk değerlerinin belirlenmesi	46
2.2.3. Islatma sıvısı numunelerinde toplam haloversatil bakteri sayısının belirlenmesi	47
2.2.4. Islatma sıvısı numunelerinde proteolitik ve lipolitik haloversatil bakterilerin toplam sayılarının belirlenmesi	47
2.2.5. Islatma sıvısı numunelerinden haloversatil bakterilerin izolasyonu	48
2.2.6. Haloversatil bakterilerin enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi	48
2.2.7. Haloversatil bakteriler tarafından farklı amino amino asitlerin ve farklı şeker kaynaklarının kullanılması	49
2.2.8. Haloversatil izolatlar a ait DNA'nın 16S rRNA dizilerinin belirlenmesi.....	50
2.2.8.1. Islatma sıvılarından izole edilen haloversatil bakterilerin genomik DNA'larının izolasyonu	50
2.2.8.2. Agaroz jelde yürütülmesi.....	51
2.2.8.3. Haloversatil özellikteki izolatların 16S rRNA gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması.....	52
2.2.8.4. Haloversatil özellik gösteren izolatların tanımlanması	52
2.2.9. İzolatların GenBank Erişim Numaralarının Alınması.....	53
2.2.10. Tuz, pH ve sıcaklık faktörlerinin haloversatil bakterilerin gelişmesi üzerine etkilerinin incelenmesi	53
2.2.11. Haloversatil bakterilerin hücre morfolojisinin ve pigmentasyonunun araştırılması	53
2.2.12. Koyun derisinin kürlenmesi ve saklanması işlemi.....	54
2.2.13. Koyun derisi örneklerinin taramalı elektron mikroskopunda incelenmesi için hazırlanması	55
BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA	56

3.1. Islatma Sıvısı Numunelerinin Toplanması Ait Bulgu ve Tartışma.....	56
3.2. Islatma Sıvısı Numunelerinin Sıcaklık, pH ve Tuzluluk Değerlerine Ait Bulgu ve Tartışma	56
3.3. Islatma Sıvısı Numunelerinde Toplam Haloversatil Bakteri, Lipolitik ve Proteolitik Haloversatil Bakteri Sayılarına Ait Bulgu ve Tartışma	57
3.4. Islatma Sıvısı Örneklerinden Haloversatil Bakterilerin İzolasyonuna Ait Bulgu ve Tartışma	58
3.5. Haloversatil Bakterilerin Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesine Ait Bulgu ve Tartışma	58
3.6. Haloversatil Bakteriler Tarafından Farklı Amino Amino Asitlerin ve Farklı Şeker Kaynaklarının Kullanılmasına Ait Bulgu ve Tartışma	59
3.7. Haloversatil İzolatları Ait DNA'nın 16S rRNA Dizilerinin Belirlenmesine Ait Bulgu ve Tartışma.....	62
3.8. Erişim Numaralarının Belirlenmesine Ait Bulgu ve Tartışma	62
3.9. Tuz, pH ve Sıcaklık Faktörlerinin Haloversatil Bakterilerin Gelişmesi Üzerine Etkilerine Ait Bulgu ve Tartışma.....	62
3.10. Haloversatil Bakterilerin Hücre Morfolojisinin ve Pigmentasyonuna Ait Bulgu ve Tartışma	63
3.11. Koyun Derisinin Kürlenmesi, Saklanması ve Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi İşlemlerine Ait Bulgu ve Tartışma	63
BÖLÜM 4. SONUÇLAR.....	65
KAYNAKLAR	66
EKLER	77
ÖZGEÇMİŞ.....

ÖZET

ISLATMA SIVILARINDAN ENZİM ÜRETEN HALOVERSATİL BAKTERİLERİN İZOLE EDİLEREK TANIMLANMASI

Deri endüstrisinde tuzlama işlemi mikroorganizma faaliyetlerini önlemek amacıyla ham derilere uygulanmaktadır. Tuzlanmış derilerin kaybettiği suyu ve eski yumuşaklığını geri kazanması amacıyla bu deriler için ıslatma işlemi gerçekleştirilmektedir. ıslatma sıvısında fazlaca bulunan organik yük, tuz ve dışkı nedeniyle ıslatma sıvısı bakterilerin gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır. Deri üzerinde gelişen bakteriler bu derilerde önemli zarara neden olmaktadır. Bu çalışmamızda, ıslatma sıvısı numunelerinin pH ve tuz değerleri tespit edilmiştir. ıslatma sıvısı numunelerindeki toplam haloversatil bakterilerin sayısı, proteolitik haloversatil bakterilerin ve lipolitik haloversatil bakterilerin toplam sayıları belirlenmiştir. Bu ıslatma sıvısı numunelerinden enzim (amilaz, kazeinaz, lipaz, ksilanaz, selülaz, proteaz, DNaz, pullulanaz, üreaz, oksidaz ve katalaz) üreten haloversatil bakteriler izole edilmiş ve 16S rRNA gen dizi analizi ile tanımlanmıştır. Farklı amino asit ve şeker kaynaklarının kullanımı gibi metabolik aktiviteleri test edilmiştir. Ayrıca enzim üreten haloversatil bakterilerin deri yapısına verdiği hasar taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelenmiştir. Örneklerin pH değerleri 8.80-9.30, tuzluluk oranları ise %3.5-5.5 olarak belirlenmiştir. Toplam haloversatil bakteri sayısı 3.8×10^4 - 1.6×10^6 kob/ml, toplam proteolitik ve lipolitik haloversatil bakteri sayıları ise sırasıyla 1.2×10^4 - 5.8×10^5 kob/ml ve 6.3×10^4 - 4.6×10^5 kob/ml olarak saptanmıştır. Örneklerden beş farklı türe ait (*Terribacillus halophilus*, *Brevibacterium luteolum*, *Bacillus australimaris*, *Bacillus siamensis* ve *Bacillus mojavensis*) altı adet haloversatil bakteri izole edilmiştir. İzolatlar tarafından proteaz (%83), lipaz (%83), kazeinaz (%67), amilaz (%50), selülaz (%17) gibi çeşitli enzimler üretildiği belirlenirken; hiçbir izolatin ksilanaz, DNaz, pullulanaz ve üreaz enzimlerini üretmediği tespit edilmiştir. İzolatlar tarafından farklı şeker kaynakları [laktoz (%100), D-(+)-dekstroz (%100), miyo-inositol (%100), D-(+)-selobiyoz (%100), adonitol (%100), D-(-)-salisin (%100), dulcitol (%100), D-mannoz (%100), ksilitol (%83), L-(+)-arabinoz (%83), D-(-)-fruktoz (%67), D-mannitol (%67), D-(+)-trehaloz (%67), D-(-)-riboz (%50), D-(+)-melezitoz (%33) ve sükroz (%17)] ve farklı amino asit kaynakları [L-serin(%100), L-glutamik asit (%67), DL-fenilalanin (%67), trans-4-hidroksi-L-prolin (%67), L -prolin

(%67), glisin (%50), L-ornitin (%50), L-aspartik asit (%33), L-fenilalanin (%33), L-arjinin (%17), L-histidin (%17), L-lizin (%17), L-treonin (%17)] kullanılmıştır. D-sorbitol, D-(+)-galaktoz, maltoz, D-(+)-ksiloz ve L-tirozin, D-(+)-melibiyoz, L-sistin, lösin, L-izolösin, L-metiyonin, L-valin, L-alanin kaynaklarının ise hiçbir izolat tarafından kullanılmadığı tespit edilmiştir.

Ekim, 2022

Özlem ÖZBAY

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF ENZYME PRODUCING HALOVERSATILE BACTERIA FROM SOAK LIQUORS

In the leather industry, the salting process is applied to raw hides in order to prevent microbial activity. Salted hides and skins are then soaked to re-absorb the water lost during salting and also to clean the salted hides and skins. Due to the organic load, salt and faeces present in the soak liquor, the soak liquor provides a suitable environment for the growth of bacteria. Bacteria that develop on the hide/skin may cause significant damage to these hides and skins. Therefore, the aims of the present study were to examine the pH values and salt saturation of the soak liquor samples, to detect the total counts of haloversatile bacteria, total counts of proteolytic haloversatile bacteria and total counts of lipolytic haloversatile bacteria in the soak liquor samples. Enzyme (amylase, caseinase, lipase, xylanase, cellulase, protease, DNase, pullulanase, urease, oxidase, or catalase) producing haloversatile bacteria were also isolated from these samples and they were identified with 16S rRNA gene sequence analysis. Their metabolic activities such as utilisation of different amino acid and carbon sources were tested. In addition, the damage caused to the skin structure by enzyme-producing haloversatile bacteria were examined using scanning electron microscope. The pH values and salt saturation of the samples were found as 8.80-9.30 and 3.5%-5.5%, respectively. The total counts of haloversatile bacteria, proteolytic, and lipolytic haloversatile bacteria were respectively detected as 3.8×10^4 - 1.6×10^6 CFU/ml, 1.2×10^4 - 5.8×10^5 CFU/ml, and 6.3×10^4 - 4.6×10^5 CFU/ml. Six haloversatile bacteria were isolated from the samples belonging to five different species such as *Terribacillus halophilus*, *Brevibacterium luteolum*, *Bacillus australimaris*, *Bacillus siamensis*, and *Bacillus mojavensis*. Various enzymes such as protease (83%), lipase (83%), caseinase (67%), amylase (50%), cellulase (17%) were produced by the isolates, on the other hand, none were xylanase, DNase, pullulanase and urease positive. Different sugar sources [lactose (100%), D-(+)-dextrose (100%), myo-inositol (100%), D-(+)-cellobiose (100%), adonitol (100%), D-(-)-salicin (100%), dulcitol (100%), D-mannose (100%), xylitol (83%), L-(+)-arabinose (83%), D-mannitol (67%), D-(-)-fructose (67%), D-(+)-trehalose (67%), D-(-)-ribose (50%), D-(+)-melezitose (33%) and sucrose (17%)] and different amino acid sources

[L-serine(100%), L-glutamic acid (67%), DL-phenylalanine (67%), trans-4-hydroxy-L-proline (67%), L-proline(67%), glycine (50%), L-ornithine (50%), L-aspartic acid (33%), L- phenylalanine (33%), L-arginine (17%), L-histidine (17%), L-lysine (17%), L-threonine (17%)] were utilised by the isolates. D-sorbitol, D-(+)-galactose, maltose, D-(+)-xylose and D-(+)-melibiose, L-isoleucine, L-cystine, L-alanine, leucine, L-methionine, L-tyrosine and L-valine were not used.

October, 2022

Özlem ÖZBAY

SEMBOLLER

% : Yüzde

°C : Santigrat derece

g : Gram

kb : Kilobaz

kg : Kilogram

L : Litre

M : Molar

mA : Miliamper

mg : Miligram

ml : Mililitre

mm : Milimetre

mM : Milimolar

µl : Mikrolitre

µm : Mikrometre

pH : Bir maddenin asit veya alkali değerini anlamak için kullanılan ölçü

V : Volt

KISALTMALAR

A	: Adenin
a/h	: Kütle/hacimce yüzde
BaCl₂	: Baryum klorür
C	: Sitozin
CaCl₂	: Kalsiyum klorür
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
dNTP	: Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
G	: Guanin
H₂SO₄	: Sülfirik asit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
HgCl₂	: Gümüş klorür
KCl	: Potasyum klorür
kob	: Koloni oluşturma birimi
M.Ö.	: Milattan önce
M.S.	: Milattan sonra
MgSO₄	: Magnezyum sülfat
Na₂HPO₄	: Disodyum fosfat
NaBr	: Sodyum bromür
NaCl	: Sodyum klorür

NaHCO₃ : Sodyum bikarbonat

NaH₂PO₄ : Monosodyum fosfat

NaOH : Sodyum hidroksit

rpm : Dakikadaki dönüm hızı

rRNA : Ribozomal ribonükleik asit

T : Timin

TAE : Tris Asetat

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Derinin yapısı	4
Şekil 1.2. Epidermisin tabakaları	5
Şekil 1.3. Dermisin yapısı	6
Şekil 1.4. Deri dolabı.....	20
Şekil 2.1. El refraktometresi (Reef Octopus, China).....	46
Şekil 3.1. Fizyolojik tuzlu su ile muamele edilmiş koyun derisi örneğinin SEM mikrografı (Kontrol)	63
Şekil 3.2. Haloversatil bakteri türlerinin karışık kültürü ile muamele edilmiş koyun derisi örneğinin SEM mikrografı.....	64

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. İslatma sıvısı örnekleri ile ilgili bilgiler	56
Tablo 3.2. İslatma sıvılarının pH değerleri ve tuzluluk oranları.....	57
Tablo 3.3. İslatma sıvısı numunelerinde toplam haloversatil bakteri sayısı.....	57
Tablo 3.4. Haloversatil bakteri izolatlarının enzimatik özellikleri	59
Tablo 3.5. İslatma sıvısı numunelerinden izole edilen haloversatil bakteri izolatlarının farklı amino asit ve şeker kaynaklarını kullanımı	61

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1. Deri Endüstrisinin Önemi ve Araştırmanın Amacı

Deri sektörü, 1970'li yıllardan itibaren Türkiye ekonomisinde giderek daha önemli hale gelmiştir. Türkiye'de hızla gelişmeye devam eden deri sektörü, önemli ithal hammadde kaynaklarını ve yerli ham deri kaynaklarını büyük miktarlarda deri ürünleri ihraç etmek için kullanarak, uluslararası pazarlar ile rekabetini önemli ölçüde güçlendirmiştir (T.C. Ticaret Bakanlığı, Deri ve Deri Mamulleri Sektör Raporu, 2020). Ülkemizde Tuzla/İstanbul, Gönen/Balıkesir, Gerede/Bolu, Menemen/İzmir, Çorlu/Tekirdağ, Manisa, Hatay, Uşak, Isparta ve Bursa'da deri sanayi bulunmaktadır (Uşak Ticaret ve Sanayi Odası, Dericilik Sektör Raporu, 2020).

Ham deri, kimyasal bir işlemden geçmemiş doğal bir malzemedir. Mamul deri ise bir dizi kimyasal işlemden geçirilerek üretime alınmaktadır. Türkiye'de işlenmiş derinin %70-80'i küçükbaş ham derilerinin kullanılmasıyla temin edilmektedir (İstanbul Sanayi Odası, Deri ve Deri Ürünleri, 2004). Hayvan kesildiği zaman derideki kan, dışkı ve pislik deride yer alan bakterilerin gelişmesi için ideal bir ortam yaratmaktadır. Deri endüstrisinde tuzlama işlemi mikroorganizma faaliyetlerini önlemek amacıyla ham derilere uygulanmaktadır. Ham derilere uygulanan ilk işlem olan ıslatma işlemiyle deriye tuzlama aşamasında kaybettiği su ve yumuşaklık geri kazandırılır.

Bu çalışmamızda ıslatma sıvısındaki deriye zarar verebilecek enzim üreten, farklı şeker ve enerji kaynaklarını kullanabilme yeteneğinde olan bakterileri incelemek amacıyla Tuzla Organize Deri Sanayi'nde bulunan deri fabrikalarından ıslatma sıvısı örnekleri toplanmıştır. Bu örneklerde hem tuzsuz hem de tuzlu ortamda optimum gelişebilen haloversatil bakterilerin toplam sayısı araştırılmıştır. Bakterilerin derideki proteinleri parçalamak için proteaz enzimlerini ve lipidleri parçalamak için lipaz enzimlerini kullandıkları bilinmektedir (Rangarajan ve ark., 2003; Bailey, 2003). Bu çalışmada, ıslatma sıvısı numunelerinde bulunan proteaz üreten haloversatil bakterilerin ve lipaz üreten haloversatil bakterilerin toplam sayılarının tespit edilmesi sayesinde bu bakterilerin gelişimlerinin engellenmesi için deri sektöründe gerekli önlemler alınabilir ve üretilen derinin kalitesi arttırılabilir. Ayrıca çalışmamızda izole edilen bakteriler geleneksel ve moleküler yöntemlerle tanımlanmış ve bu bakterilerin deriye verebileceği zarar elektron mikroskobu ile gösterilmiştir.

1.2. Deri Endüstrisinin Ekonomideki Yeri

Deri işleme, küçükbaş ve büyükbaş hayvanlardan elde edilen ham derilere birtakım kimyasallar uygulanarak, insanların ve makinelerin gücü yardımıyla derinin çeşitli aşamalardan geçmesidir. Hayvandan yüzüldükten sonra tabakhane de işlenebilir durumda olan baş, bacaklar ve kuyruk ile beraber bir bütün meydana getiren deriye “ham deri” denmekteyken, bir amaç için işlenmesi sonucu kullanılabilir vaziyete getirilen ham deriye ise “mamul deri” adı verilmektedir (Uşak Ticaret ve Sanayi Odası, Dericilik Sektör Raporu, 2020).

Türkiye’deki deri sektörünün teknolojisi, piyasadaki temeli ve ihracata ait üretim kapasitesi incelendiği zaman rekabet ortamında önemli bir güce sahip olduğu anlaşılmaktadır. Fakat ham derilerin yurt içinde üretimi yetersiz ve farklı standartlarda olduğundan, ham ve yarı işlenmiş deri talebinin karşılanması ağırlıklı olarak ithalatta sağlanmaktadır. Gerekli hammaddelerin birçoğunu ithal ederek kuzey ülkelerine ihracat için yüksek katma değerli ürünlere dönüştüren deri sektörü, bu ticaret zamanla azaldıkça kayıtlı ihracata verdiği önemi arttırmaya başlamıştır (Uşak Ticaret ve Sanayi Odası, Dericilik Sektör Raporu, 2020).

Deri ürünleri endüstrisi 2019’da ihracatı %2.6 arttırarak 1.63 milyar dolar seviyesine taşımıştır. %56.9 pay ile sektördeki en önemli ihracat kalemi ayakkabılardır. Kürklerin, ham ve işlenmiş deri mamullerin ve deri eşyaların Türkiye’deki ihracatındaki payları sırasıyla %9.8, %12.5 ve %20.7’dir (T.C. Ticaret Bakanlığı, Deri ve Deri Mamulleri Sektör Raporu, 2020). 2019 senesi Türkiye’nin deri mamulleri ihracatında Rusya’nın %9.3 ile en büyük paya sahip olduğu bilinmektedir. Rusya’yı sıralı olarak takip eden ülkeler: %7.5 ile Almanya, %7.3 ile İtalya, %5.0 ile Irak ve %4.4 ile İspanya’dır.

932.4 milyon dolar ve %56.9 pay ile Türkiye’nin deri ve deri mamulleri ihracatında ayakkabı sektörü en büyük alt sektördür. Ayakkabı sektörü ülkemizde dış satım ve istihdam imkanları fazla olan sektörlerdendir. Deri ayakkabılar bu sektördeki ihracatın en mühim kalemidir. 2019 yılında deri ayakkabı ihracat değeri bir önceki yıla kıyasla %2.5 artış ile 415 milyon ABD dolarına ulaşmıştır. Rusya, %20.6’lık pay ile deri ayakkabı sektöründe en büyük ihracat pazarıdır. Diğer önemli pazarlar ise İngiltere, İtalya, Romanya, İspanya ve Almanya’dır (Deri ve Deri Mamulleri Sektör Raporu, 2020).

Diğer bir önemli alt sektör de deri giyim eşyasıdır. Bu sektörde 2019 yılında ihracat yıllık %1.3 düşüşle 139.9 milyon dolar olmuştur. Almanya, Türkiye'nin deri konfeksiyon ihracatında %14.6 ile en büyük paya sahiptir. Almanya'yı Fransa, ABD, Hollanda, Rusya ve İtalya takip etmektedir. Alt sektörlerden bir diğeri olan deri seyahat eşyalarının ihracat oranı, 2019 yılında %7.8 artış ile 184 milyon dolar seviyesine ulaşmıştır. Almanya, İtalya, İngiltere, Fransa, İsviçre ve Irak sektördeki en önemli ihraç pazarlarıdır (T.C. Ticaret Bakanlığı, 2020).

Deri ürünleri sektöründe ithalat ise 2019'da yıllık %19.2 oranında bir düşüşle 951.6 milyon dolar seviyesinde gerçekleştirilmiştir. Ayakkabı sektörü ürünleri toplam ithalatın %51.8'ini kapsamış olup ithalatın en büyük kısmını bu ürün çeşidi oluşturmaktadır. 2019 yılında küresel ham ve işlenmiş deri ihracatı 19.6 milyar dolar olmuştur. İtalya, Amerika Birleşik Devletleri ve Brezilya dünyanın önde gelen ham ve işlenmiş deri ihracatçılarıdır. Dünya ham deri ve işlenmiş deri ihracatındaki payları sıralı olarak %19.4, %8.7 ve %5.9 oranlarındadır. 2019 yılında küresel ham ve işlenmiş deri ithalatı 20,1 milyar dolar olmuştur. Çin, İtalya ve Vietnam, küresel ham ve işlenmiş deri ithalatçıları listesinin başında yer almaktadır. Bu ülkelerin dünya ham deri ve işlenmiş deri ihracatındaki payları sırasıyla %18.1, %12 ve %7.6'dır. Türkiye, 2019 yılında 213 milyon dolara ulaşan ithalatı ile dünyanın en büyük 22'nci ham deri ve işlenmiş deri ithalatçısıdır (T.C. Ticaret Bakanlığı, Deri ve Deri Mamulleri Sektör Raporu, 2020).

Ocak 2020'de Türkiye'den en fazla deri ve deri mamulleri ihracatı yapan ilk 10 ülke arasından İspanya'ya %50.8, İngiltere'ye %43.6, Amerika Birleşik Devletleri'ne %43.5, Romanya'ya %13.9 Fransa'ya %5.2, Irak'a %3.2, ve Suudi Arabistan'a %3.4 oranında ihracat artışı gerçekleşmiştir (Uşak Ticaret ve Sanayi Odası, Dericilik Sektör Raporu, 2020).

Deri işleme, deri giyim ve kürk eşyaya ilaveten ayakkabı sektörü dahil olmak üzere kapsamlı alanlarda üretim yapan deri sektöründe kaliteli hammadde için büyük çoğunlukla keçi, sığır ve koyun derileri kullanılmaktadır (Türkiye Tekstil, Hazır Giyim ve Deri Ürünleri Sektörleri Strateji Belgesi ve Eylem Planı, 2015-2018).

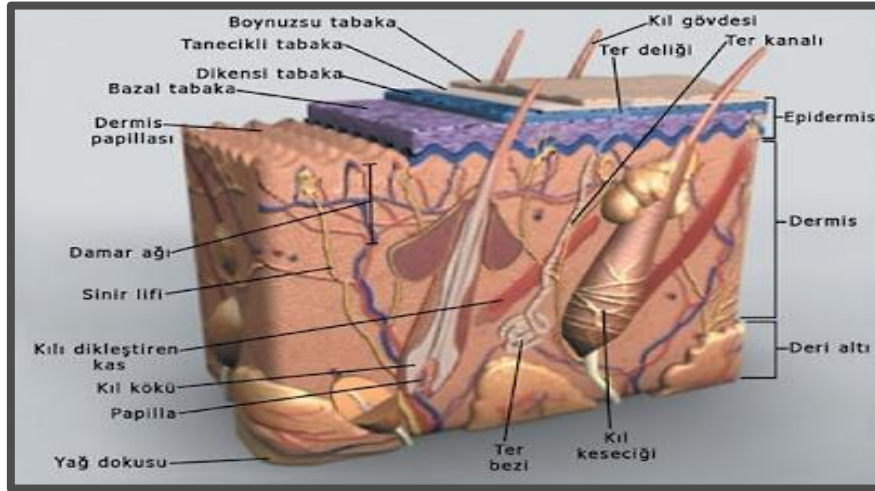
1.3. Deri

1.3.1. Derinin önemi ve işlevi

Canlı hayvanlarda tüm vücudu kaplayan deri, çeşitli işlevleri yerine getirmektedir. Altında bulunan yağ tabakası ile canlının vücudunu sıcak tutarken, darbelere karşı korumaktadır. Aynı zamanda yapısında bulunan ter bezleri ile canlının boşaltımına yardım etmektedir. Deri canlıyı ultraviyole ışınlarından korumak, patojen mikroorganizmaların içeri geçişine ve konaklamasına engel olmak ve canlının vücut sıcaklığını düzenlemek gibi önemli fonksiyonlara sahiptir.

1.3.2. Derinin histolojik yapısı

Hayvan derisi, farklı dokusal özelliklere sahip farklı katmanlardan oluşur. Kesit alınarak inceleme yapıldığında, Memeli hayvan derisi yapısının fizyolojik işlevleri ve kimyasal bileşenleri açısından çeşitlilik içeren 3 tabakadan meydana geldiği görülmektedir. Bu tabakalar; epidermis tabakası, dermis tabakası ve hipodermis tabakasıdır.



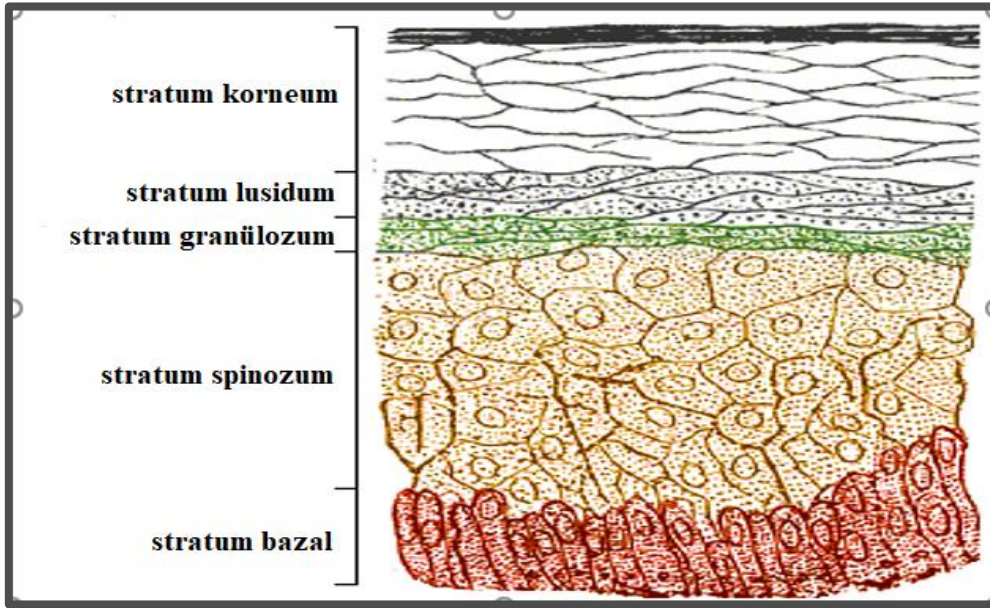
Şekil 1.1. Derinin yapısı

(<https://veterinerakademisi.blogspot.com/2017/02/ozel-patoloji-deri-hastalklar.html>)

1.3.2.1. Epidermis tabakası

Derinin üst kısmını kaplayan bu tabaka dışarıdan gelen çarpmalara ve bakterilere karşı canlıyı korumaktadır. Bu tabaka toplam deri kalınlığının %1-2'sini kapsamaktadır (Şenses, 1987). Sadece kıl folikülleri değil, ter ve yağ bezleri de bu tabakadaki epitel

hücrelerinden oluşmaktadır (Kılıçoğlu, 1991). Deri, post veya kürk şeklinde değerlendirilmeyecekse, deri işlenirken kıl giderme ve kireçlik işlemi sırasında bu kısımlar deriden çıkarılmaktadır (Koç, 2006). Epidermis beş tabakadan meydana gelmektedir. Bunlar (içten dışa): *stratum basale*, *stratum spinozum*, *stratum granülozum*, *stratum lusidum*, *stratum korneum*'dur.



Şekil 1.3. Epidermisin tabakaları

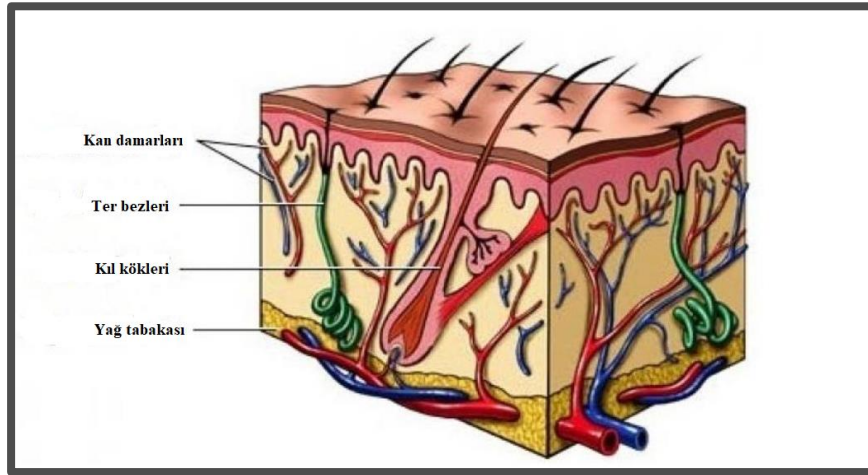
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Gray941.png>)

Stratum basale (bazal tabaka) en altta bulunur ve dermise en yakın tabakadır. Mitotik olarak aktif olmalarının yanı sıra kök hücreler, melanositler ve keratinositler içermektedir. Cilde rengini veren bir madde olan melanin, melanositler tarafından üretilmektedir. Bu katmandaki keratinositler, kalan katmanları oluşturmak için dışarı/yukarı hareket ederken gelişir ve olgunlaşır (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002; Agarwal ve Krishnamurthy, 2019). *Stratum spinozum* (dikenli tabaka), lipidce zengindir. Bu tabakada dezmozomlarla birbirine bağlı hücre tabakaları içermektedir. Bu dezmozomlar, hücrelerin birbirine sıkıca bağlı kalmasına ve yapısal olarak dikenlere benzemesine neden olmaktadır (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002; Agarwal ve Krishnamurthy, 2019). *Stratum granülozum* (granüllü tabaka), bölgesel kalınlık farklılıklarına sahiptir ve deriye rengini vermektedir. (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002). *Stratum lusidum*, epidermisteki canlı olmayan hücrelerin bulunduğu tabakadır. Kıl kökleri içermemektedir (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002). *Stratum korneum* (boynuzsu tabaka), koruyucu bir palto görevi gören bu

keratinize tabaka epidermisin en dış tabakasıdır. Çok ince bir tabakadır ve ölü hücrelerden (korneosit) meydana gelmektedir. Bu hücrelerde çekirdek veya organel bulunmamaktadır. Keratinizasyon ve lipid içeriği nedeniyle bu tabaka, içerideki sıvının buharlaşmasını önleyerek su kaybının düzenlenmesini sağlar. *Stratum korneum*'un önemi, dokuları kuruluktan, enfeksiyondan, kimyasal ve fiziksel uyaranlardan koruyan bir bariyer olmasıdır (Agarwal ve Krishnamurthy, 2019).

1.3.2.2. Dermis tabakası

Dermis 3-5 mm kalınlığındadır ve epidermisi destekleyen tabakadır. Bağ dokudan bir matriks içeren dermis tabakası elastin, retikülün ve kollajen gibi fibröz proteinlerden oluşmaktadır. Mukopolisakkaritler şekilsiz biçimde bu yapının içine gömülü haldedir. Kıl folikülü, kan damarları, sinir hücreleri ve lenfatik kanallar bu yapıyı delerek geçmektedir. Deri, artık maddelerin uzaklaştırması, besin maddelerinin iletilmesi, ısının ve kan basıncının ayarlanması gibi fonksiyonların gerçekleşmesi amacıyla yeterli kan akımına gereksinim duyar. Deri için gerekli olan damar ağları dermis tabakasında bulunmaktadır (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002).



Şekil 1.4. Dermisin yapısı

(<https://www.nuketeroglu.com/estetik-uygulamalar/cildin-anatomik-yapisi/>)

Dermis tabakasından dikey kesit alındığında üç tabakadan oluştuğu görülmektedir. Bunlar; *sırça*, *papiller* ve *retiküler*'dir. Bu katmanlar belirli sınırlar ile ayrılmamıştır ve aralarında geçiş yerleri vardır (Şenses, 1987).

Sırça tabakası, papiller tabakanın üzerinde yer almaktadır. Derinin görünür yüzeyini oluşturur ve kalınlığı 1-2 µm'dir. Sırça tabaka deriye bir görünüm verir ve derinin kalitesi için çok önemlidir. Bu tabaka kollajenden oluşmaktadır. Yapısı oldukça sağlamdır. Sırça tabakada elastik lifler yer almamaktadır. Bu tabakada lif bulunmaz ve lifçiklerin oluşturduğu kollajen doku çok yoğundur. Sırça tabakası sıkı bir yapıya sahip olduğu için düşük esnekliğe sahiptir (Tancous, 1964).

Papiller tabaka, sırça ve retiküler tabakaların ortasında bulunmaktadır. Kireçlik aşamasında kollajen yapıda olmayan dokular (yağ bezleri, ter bezleri, kıl vb.) çıkarılmaktadır. Bu işlem sonrasında papiller tabaka gevşer ve gözenekler oluşur. Bu nedenle, retiküler tabakasına göre dayanıksızdır (Berber, 2009; Çağlayan, 2015).

Retiküler tabaka, bu katmanın doku yapısı neredeyse tamamen bağ dokusu liflerinden oluşmaktadır. Deri üretimi için en önemli kısım olan retiküler tabakanın liflerin çapraz geçişleri ve dikey bağları sayesinde yapısı üç boyutlu şeklindedir. Bu yapı derinin yırtılmaya karşı direncini arttırarak hava ve su buharının geçmesine izin vermektedir. Kollajen lif doku karmaşık bir yapıya sahiptir. Lifçikler dallanmış bir yapıdadır. Yaşlı hayvanlar, genç hayvanlardan daha kalın liflere sahiptir. Lifçikler birlikte bir demet oluşturur ve bu demetler birlikte lifleri meydana getirir. Papiller tabakada lifler daha incedir. Bu boşluklar dolgu dokusu içermektedir ve bu doku asit veya alkali ile şişmemektedir. Bu yapı sebebiyle kollajen lif dokusunun şişmesi sadece liflerin kırılması ile fark edilebilir. Bu nedenle ham derinin yüzümünden itibaren korunması ve dikkatli bir şekilde işlenmesini gerekmektedir (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

1.3.2.3. Hipodermis tabakası

Subkutis olarak da isimlendirilir. Subkutan yağlar vurma ve çarpmalara karşı deriyi korumanın yanı sıra termal bir bariyer görevi görmektedir. (Bediz-Ölçer ve Gönül, 2002). Kas tabakası ile dermis tabakası arasında bulunan subkutis tabakası kollajen liflerinin bir yapısıdır. İçerisinde kas, yağ, sinir dokusu ve kan damarları bulunmaktadır. Bu nedenle gevşek bir yapıda olan hipodermis kireçlik işlemi esnasında deri tabakasından uzaklaştırılır (Şenses, 1987).

1.3.3. Derideki organik moleküller

Ham derinin genel bileşenleri su, protein, yağ, madensel tuzlar, mineraller ve diğer maddelerdir. Derideki proteinler ile deriye dayanıklılık ve esneklik sağlanmaktadır. Irk, cins, yaş, iklim ve beslenmeye bağlı olarak oranlarında farklılıklar mevcut olabilmektedir (Çınar ve Tozun, 2020).

1.3.3.1. Derideki yağ türleri

Ham derideki yağ türleri trigliserid, fosfolipid veya kolesterol olarak bilinmektedir. Koyun derilerinde bulunan yağ miktarı %30'u bulabilirken, sığır derisindeki yağ miktarı oldukça düşüktür. Hayvanın yaşına, ırkına ve cinsine bağlı olarak bu oran değişkenlik gösterir (Şenses, 1987).

1.3.3.2. Derideki protein türleri

Ham derideki temel yapı taşı proteinlerdir ve kuru maddenin %80'i proteinden oluşur. Proteinler genellikle iki gruba ayrılır: fibröz (fibrilli) ve globüler proteinler (Şenses, 1987).

- Fibröz proteinler

Bu protein grubunda kollajen, keratin, elastin ve retikülin bulunmaktadır. Bunlar derinin yapısal proteinleridir ve derinin ana yapısını oluşturmaktadırlar (Şenses, 1987).

Kollajen

Hayvanların tamamında en fazla bulunan protein olan kollajen, hücre dışı matriksin lif meydana getiren yapısıdır. Kollajen karmaşık bir protein olup çok çeşitli aminoasitler içermektedir. Düşük ısıdaki suda veya organik çözücülerde, seyreltik asitlerde veya alkalilerde çözünmezler. pH 7 iken 60°C'ye kadar saf su içerisinde yapılarını muhafaza etmektedirler. Fakat düşük ya da yüksek pH'lara sahip tuzun ilavesinde veya suda 80°C'ye kadar ısıtıldığında zamanla jelatinleşmeye başlar ve çözünebilir duruma gelirler. Bu sebeple tabaklama öncesinde gerçekleşen aşamalar nadiren 30-35°C'nin üzerinde yapılmaktadır. Kurutulmuş kollajen karbon (%50.2), azot (%17.8), hidrojen (%6.4), oksijen ve kükürt (%25.4)'ten meydana gelmektedir. Kollajenin bol miktarda alanin, glutamik asit, glisin, hidroksiprolin ve prolin içermesi ayırt edici özelliğidir. (Şenses, 1987).

Keratin

Derinin ağırlığının yaklaşık olarak %2'sini oluşturan keratin, ham derinin dış tabakasında bulunmaktadır (Şenses, 1987). Keratin alkolde, eterde ve suda erimezken alkaliler ve konsantre asitte erir. Sodyum sülfür (zırnık) ve kalsiyum sülfür gibi indirgeyici maddelere karşı fazla hassasiyet gösterirler (Şenses, 1987). Sodyum sülfür kolayca ayrıştırarak dağıtılmalarına neden olur. Alkaliler ve asitlerde hafifçe şişerler. Metiyonin, keratin ve sistin gibi sülfürlü aminoasitleri içermesiyle ayırt edilirler (Şenses, 1987). Keratin, alfa heliks ve beta katmanlarının yoğun paketlenmesi ve bunların yüksek disülfid, hidrojen ve hidrofobik etkileşimler yoluyla sistin köprüleriyle bağlanması nedeniyle mekanik hasara ve mikrobiyolojik bozulmaya karşı oldukça dirençlidir (Cortezi ve ark., 2008).

Elastin

Derideki elastikiyet, elastin lifler sayesinde sağlanır. Kuru elastin lifler esnek olmayan yapıdadır. Organik çözücülerde ve suda çözünmezler. Kollajenden farklı olarak, kaynar suyun, alkalilerin, asitlerin ve proteolitik enzimlerin tesirine karşı dayanıklıdır (Şenses, 1987).

Retikülin

Fibröz bir protein olan retikülin, kollajen lif demetlerini sarar ve onları bir arada tutar. Kaynar suya, alkalilere ve asitlere kollajenlere göre daha fazla dayanırken, daha az şişme olur. Pepsin enzimi ile sindirilebilir. Retikülin proteini bakteri faaliyetlerinden fazlaca etkilenmektedir. Daha az şişme gösteren retiküler dokunun, kollajen lif demetlerinin etrafını sarmasından dolayı kollajen lif demetlerinin şişmesi sınırlanmaktadır (Şenses, 1987).

- Globüler proteinler

Bu gruptaki proteinler; mukoid, musin, globülin ve albüminlerdir. Globülin proteinleri su içerisinde çözünmezler. Mukoidler, alkali çözeltilerde eridiklerinden dolayı kireçleme aşaması esnasında kullanılan kireçli solüsyon ile birlikte yapıdan uzaklaştırılmaktadır (Berber, 2009).

1.4. Deri Çeşitleri

Deri türleri benzer yapılara sahip olsa da her hayvan türünün kendine özgü özellikleri vardır. Bu nedenle, çeşitli kalite ve özelliklere sahip çok çeşitli deriler mevcuttur. Farklılıklar, derinin elde edildiği hayvanın türüne, ham deriyi bitmiş deriye dönüştürmek için kullanılan işleme ve bitirme tekniklerine ilaveten bunu yapmak için kullanılan materyallere göre şekillenir. Bu faktörlerden dolayı deri yapısal ve estetik olarak farklılık gösterir (Çınar, 2021).

Deri türleri genellikle aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır.

- **Büyükbaş derileri:** Manda, öküz, boğa, dana, sığır, deve, inek, at hayvan türlerinden elde edilmektedir. Bu deriler; taban astarı, kayışlık, güderi kösele ve rugan üretiminde kullanılmaktadır.
- **Küçükbaş derileri:** Keçi, koyun, kuzu, oğlak hayvan türlerinden elde edilmektedir. Bu deriler; vidala, meşin, maroken, astarlık, süet vb. üretiminde kullanılmaktadır.
- **Kürklük derileri:** Tilki, tavşan, sansar, sincap, samur, porsuk, çinçilla, vizon vb. hayvan postları kürk yapımında kullanılabilirlerdir.
- **Sürüngen derileri:** Timsah, kertenkele, yılan vb.
- **Diğer deriler:** Ayı, fok balığı, kurt, su aygırı vb.

Derinin elde edildiği hayvan türüne bağlı olarak; görünüm, doku, kalınlık ve dayanıklılık özellikleri farklılıklar göstermektedir. Kıl köklerinin boyutu, yoğunluğu ve dağılımındaki farklılıklar nedeniyle karakteristik yüzey görünümü oluşmaktadır (Çınar, 2021).

1.5. Dericiliğin Tarihi

Dünyanın en eski mesleklerinden biri olan deri işçiliği uzun bir geçmişe sahiptir. İnsanların göçebe olarak yaşadıkları ve avcılık yaparak geçimlerini sağladıkları bilinmektedir. İnsanlar, yaşamı sürdürebilmek için önce besin maddelerine ihtiyaç duymuştur, sonrasında ise vücutlarını sıcaktan, soğuktan ve dış etkilerden korumak zorunda kalmışlardır. Bu gereksinimlerini avladıkları veya etini tükettikleri hayvanların post ve derilerini kullanarak karşılamışlardır (Koizhaiganova ve ark., 2016). İnsanlar deriyi kullanmaya başladığı andan itibaren, derinin çok çabuk bozulmasını önlemenin yolları ile alakalı araştırmalar yapmışlardır. Bu araştırmalar neticesinde ham deriye yağlar ve bitkiler ile işlem uygulayarak, istedikleri nitelikte deriye ulaşmışlardır (Gökçesu,

2002). Oldukça eski bir sanat dalı olan dericilik, insanlık tarihi ile beraber gelişmeye başlamıştır. İlk başlarda estetik anlayış amacı doğrultusunda hareket edilmese de ilerleyen zamanlarda dericilik ve deri işlemeciliği bir zanaat olarak kabul edilmiştir (Uşak Ticaret ve Sanayi Odası, Dericilik Sektör Raporu, 2020). Dericiliğin M.Ö. 3000 yılından önce başladığı ve mamul deriye aynı yıllarda Mezopotamya ve Mısır'da rastlandığı belgeler ile gösterilmektedir (Kanbay, 1993). M.Ö. 3000 yılından itibaren Mısır, Hitit, Mezopotamya, Asur ve daha sonra da Roma gibi çeşitli ülkelerde derinin işlenmesi, tabaklanması, boyanması ve kullanımı ile ilgili bilgilere yazılı kaynaklar ile ulaşılmıştır (Yıldız, 1988).

Türklerde ise Orta Asya'da yaşadıkları dönemde ham deriyi işleme ve deriden eşya yapma zanaatı oluşmuştur. Ayrıca benimsedikleri hayvancılığa bağlı yaşam tarzının olağan sonucu olarak deriyi çeşitli amaçlarla kullanmışlardır. Türklerin dericilikte oldukça ileri olduklarını gösteren M.Ö. 400 ve M.Ö. 300 yıllarına ait buluntular, Altay Dağları ve Sibirya'da yapılan kazılarda ortaya çıkmıştır (Kaşmer, 2000). Dericilik sanatı ile ön plana çıkan Orta Asya Uygarlığı M.S. batı kesimlere ulaşmıştır. Hunlarla birlikte Avrupa ülkelerine seyahat etmesi sayesinde deri uygarlığı Türklerle birlikte Roma'ya yayılmıştır (Yelmen, 2005). Orta Asya'dan Yakın Doğu'ya göç eden ve deri ile çeşitli deneyimlerini de Anadolu'ya taşıyan Türkler, edindikleri bilgilerin sentezini yaparak önemli ölçüde gelişme sağlamışlardır. Bu nedenle deri sanatı, Anadolu'daki Türk sanatları içerisinde başlıca yerini almaktadır (Koizhaiganova, 2016).

Dericiliğin Selçuklular ve daha sonra da Osmanlı Devleti için önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. 2400 yıllık serüvene sahip Türk dericiliği, Orta Asya Hunları ile ortaya çıkmış ve şaplı, bitkisel, yağlı debagat ile 19. yüzyıla kadar sürmüştür. Böylece Türk dericiliği el gücü ve büyük oranda ustalığa dayalı ilkel teknikler kullanılarak kesintisiz devam ettirilmiştir (Yelmen, 2005). Ülkemizde 1970 yılından sonra deri ve dericiliğin gelişimi ve önemi artmaya başlamıştır. Bu tarihten sonra dericilik ilerlemeye devam etmiş, 2000'li yıllarda ekonomide yaşanan krizlere rağmen, bu sektör ülkemiz ekonomisinde her dönem için önemli bir yere sahip olmuştur (Yelmen, 2005). Deri ve dericilik geçmişten günümüze kadar varlığını çeşitli durumlarda sürdürebilmiş, tarihin her döneminde bir meslek ya da bir eser olarak devam etmiş ve insanların gereksinimlerini karşılamasında önemli rol oynamıştır. Tüm bu özellikleri sayesinde günümüzde de önemini korumaktadır.

1.6. Deriyi Koruma İşlemleri

Ölü hayvan vücudundan çıkarılan post ve deriler, mikrobiyal büyüme için uygun ortam sağlar (Tancous, 1964). Derinin yapısında bozulma gerçekleşmeden uzun süre boyunca bekletilebilmesi amacıyla korunması gerekmektedir. Derinin korunması işlemine konservasyon denir. Konservasyon, ham derilerin yüzüldükten sonra yapısını bozmadan korumak için gerçekleştirilen işlemlerdir. Deri için hangi koruma yönteminin tercih edileceği fark etmeksizin ilk yapılması gereken işlem derinin içerdiği su oranını bakterilerin çoğalmasını önleyecek düzeye düşürmektir. Fakat bu yöntem tercihinde kesinlikle iklim şartları, imalatın şekli ve yöntemin ekonomik boyutu gibi etmenler göz önünde bulundurulmalıdır. Bunun için kullanılan koruma metotları üçe ayrılır. Bunlar; tuz ile koruma, kurutma ile koruma ve soğutma ile koruma yöntemleridir.

1.6.1. Tuz ile koruma yöntemi

En yaygın olarak kullanılan tuzlama tekniği kuru tuzlama yöntemidir. Bu teknikte tulumları açık olan koyun veya keçi derileri hafif eğimli bir yüzeye yerleştirilir ve yıkanıp temizlendikten sonra süzülür. Et yüzü yukarı bakacak şekilde yerleştirilir ve kuru tuz serpilerek işlem gerçekleştirilir. Küçükbaş hayvan derisinin yaklaşık %40-50'si kadar tuz uygulanmaktadır. Fazlaca tuz kullanımının nedeni derilerin çok yağlı olmasıdır. Küçükbaş hayvan derileri en az 5-10 gün koruma altında kaldıktan 10 gün sonra deriler çırpılmakta ve tekrar yeni tuzla tuzlanarak işlem devam ettirilmektedir (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

1.6.2. Kurutma ile koruma yöntemi

Kurutma yöntemi ile konservasyonda deriler doğrudan hava akımıyla kurutulur. Bu işlem ne geç ne de çabuk olmalı ve istenilen düzeyde gerçekleştirilmelidir. Derinin kısa sürede kuruması çürümelere ve derilerde güneş yanıklarının meydana gelmesine neden olurken, kurutmanın uzaması ise bakteri oluşumuna sebebiyet verir. Kurutma işlemi yapılırken derinin nem oranı %10'un altında olmamalıdır. Nem miktarı çok düşük olursa deride elyaf yapıda kırılmalara ve ıslatma aşamasında güçlüklerle sebep olmaktadır. Kurutma yöntemleri arasında hava kurusu yöntemi en çok tercih edilen yöntemdir. Bu yöntemde kaynak olarak yalnızca havadan yararlanılır. Kurutma yöntemiyle korumada derilerin

depolanması epey zordur. Depolarda deriye güve, kurt ve böcek saldırılarının oluşması sık rastlanan durumlardandır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

1.6.3. Soğutma ile koruma yöntemi

Bu yöntem ile deriler, dönen bir dolapta yer alan çubuk üzerine atılır, 3-7 günlük süreyle soğuk hava akımı uygulanarak derilerin sıcaklığı 10-12°C'ye düşürülür. Yüzümden sonra budama ve etleme işlemleri tamamlanmış deriler 7-10 günlük bir süreyle 2-4°C'de depolanır. Ayrıca yüzümden sonra veya tuz ile korunan deriler doğruca 10-15 günlük süreyle 0°C'deki soğuk depolarda korunabilmektedir (Kılıçoğlu, 1991).

1.7. Derilerin İşlenti Aşamaları

Ham derilerin kimyasal ve mekanik işlemlere tabi tutulması ile işlenmiş deri ortaya çıkmaktadır. Hammaddeden derinin elde edilmesine kadar olan süreç aşağıda özetlenen işlem basamaklarından oluşmaktadır.

1.7.1. Islatma

Ham derinin mamul deriye dönüştürülmesi bir takım mekanik ve kimyasal aşamalar gerektirir. Tabakhanelerde tabaklama aşamasından önce deri su kullanılarak yıkanır ve böylece tuz ve diğer partiküller uzaklaştırılır. Yıkama işleminden sonra bol miktarda atık su olarak bilinen su dışarı çıkar. Bu atık su %2-4 sodyum klorür, eser miktarda kalsiyum klorür ile birlikte kan, deri, et ve diğer asılı partiküller içermektedir ve "ıslatma sıvısı" olarak isimlendirilmektedir (Kumar ve Mani, 2007).

Deri üretiminin ilk ve en önemli basamağı olan ıslatma işleminin amacı dehidrasyona bağlı muhafaza edilen deriye kaybettiği suyu ve sonraki işlemler için gerekli olan esnekliği geri kazandırmaktır. Bu işlemde deriler kir, kalıntı, tuz, kan ve fazla hayvansal yağ gibi kalıntılardan arındırılmaktadır (Berber, 2009; Berber ve Birbir, 2010; Ma ve ark., 2014; Maina ve ark., 2019).

Islatma işlemi iki aşamadan oluşur. İlk aşamada deri, deriye tutunmuş olan çok miktarda kir ve istenmeyen maddelerden arındırılır. Bu aşamada derinin su miktarı yükseltilerek ikinci aşamada daha etkili temizlenmesi sağlanmaktadır (Berber, 2009; Berber ve Birbir, 2010; Maina ve ark., 2019). İkinci ıslatma aşamasında ise su ve az miktarda uygun ajanlar deri proteinlerini suyla muamele etmek ve susuz kalmış derilerin büzülen liflerini açmak

için kullanılmaktadır. Ek olarak, denatüre proteinlerin çözündürülmesi ve tuzun uzaklaştırılması ile deriye yapışan kan ve dışkı kalıntıları ikinci ıslatma işleminde temizlenmektedir (Berber, 2009; Berber ve Birbir, 2010; Lofrano ve ark., 2013). Bir araştırmada, kıl giderme ve kireçlemenin önceki aşaması ıslatma işleminin iyi bir şekilde gerçekleştirilmesinin önemli olduğunu bildirilmiştir (Leafe, 1999).

ABD'deki ana ıslatma işleminin süresi 90-360 dakika aralığında değişkenlik göstermektedir. Birtakım Avrupa ve Güney Amerika ham deri işleme tesislerinde, ıslatma işlemi 18-24 saat sürmektedir (Rangarajan ve ark., 2003). Sepi işlemini yapanların çoğunluğu, tuz korumalı ham maddeye verilen zararı en aza indirmek amacıyla kısa süreli ıslatma işlemi seçmektedir. Fakat bu her zaman uygulanmaz. Bu süre derinin türüne, ıslatılmadan önce kullanılan koruma metoduna ve ön tabaklama işlemine bağlıdır (Anderson, 1992). Islatma süreleri havayla kurutulmuş ham derilerde 36-72 saat iken, tuzla kurutulmuş ham derilerde 24-36 saat arasında değişiklik göstermektedir (Toptaş, 2004). Türkiye'deki tabakhanelerde, derideki lifleri açmak ve tuzu uzaklaştırmak için 20-30 dakikalık bir ön ıslatma yeterlidir. Enzimlerin kullanımı ile tuzlu deriler 4 saat, kuru deriler ise 12-48 saat suda bekletilebilir (Kılıçoğlu, 1984; Toptaş, 1993).

Lifler arası proteinlerin proteolitik enzimler kullanılarak parçalanabileceği kabul edilmiştir (Sharphouse, 1971). Protein parçalanmasından dolayı deriye zarar vermemek için, ıslatma sırasında bozulmaya neden olan bakterilerin büyümesini önlemek gerekir (Anderson, 1992).

1.7.1.1. Islatma işlemi etkileyen faktörler

Islatma aşamasına etki eden etmenler aşağıda belirtilmiştir:

Derinin durumu: Hayvanın büyükbaş veya küçükbaş olması ıslatmayı etkiler. Kalın olan büyükbaş derisinin ıslanması, ince olan küçükbaş derilerine kıyasla daha zordur. Taze yüzülmüş sığır derileri için kısa süreli bir yumuşatma yeterlidir, ancak tuzlu deriler uzun sürede yumuşar. Havada kurutulmuş deri genellikle ıslatma işlemi sorunlarına neden olur. Bu tür deriler için genellikle yardımcı maddeler kullanılır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Deride yüzey işlemleri: Gübrenin deriden uzaklaştırılması, ön etleme ve açkı (germe) işlemlerini kapsar. Açkı, keskin olmayan bıçaklara sahip bir etleme makinesinde

meydana getirilir. Islatma süresinin ilk üçte birinde deriye zarar vermeyecek derecede kuru deri ıslatıldıktan sonra açık işlemi uygulanır. Açık süreci deriyi gerer, gevşetir ve ıslak tutar. Yünün verimini ve yüzey alanını arttırmak için koyun derilerine açık işlemi uygulanır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Koruma, nakliye ve depolama faktörü: Koruma işleminden önce deri üzerinde çeşitli bakteriler bulunmaktadır. Islatma işlemi süresince, bu bakteriler tekrardan aktif hale gelir. Bakteriyele aktivite, yetersiz hava ile kurutulmuş veya tuz ile korunmuş deriye karşı daha etkilidir. Bunun sonucunda derinin kollajen yapısı bozulur. Bunu önlemek amacıyla derinin kurutulması ve korunması işlemleri çok iyi gerçekleştirilmelidir. Deri bir yerden başka bir yere taşınırken hava akımının ya da güneşin etkisiyle kenarlarında veya üstünde kurumalar olabilir. Derinin her bölümü aynı özellikte olmadığı için aşırı kuru alanları ıslatılırken hatalara neden olacaktır. Bu sorunu önlemek için taşınma sırasında deriler uygun şekilde örtülmelidir. Ayrıca depoda ham deri istiflenirken depo kuru akımlı ya da çok havadar ise derilerin eteklerinin kuruması nedeniyle kıvrımlar oluşabilir. Bu kısımların ıslanması diğer kısımlara göre daha zordur ve derinin ıslanmasında farklılıklar oluşacaktır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Suyun etkisi: Islatma işleminde kullanılan su miktarı önemlidir. Kullanılan su miktarı derinin ağırlığına göre hesaplanmaktadır. Çoğunlukla 1 kg deriye 5-8 kg su kullanılmaktadır. Deri sektöründe derinin suya oranına flote denmektedir. Islatma işlemi tamamlandığında genç deriler için su oranı %65 iken olgun deriler için %60 olması gerekmektedir (Toptaş, 2004).

Flote oranı düşük olduğunda; suda çözünen maddeler hızlıca artar ve deriden suya geçişini engeller. Deri liflerinin açılması sınırlanır. Islatmaya yardımcı maddeler ve bakterisitler homojen olmayan bir dağılım gösterirler. Mekaniksel hareket için ağır bir yük meydana gelir.

Flote oranı yüksek olduğunda; üretim kısıtlanır ve tuz seyreltik olduğu için çözünebilir şekilsiz proteinler (globüler) deriden çıkartılamaz. Islatmaya yardımcı maddeler ve bakterisitler seyreltik olduklarından dolayı etkileri azalır. Deri ağırlığı daha fazla enerji ve güç gerektirir.

Isı faktörü: Flotenin sıcaklığı ıslatma işlemine etki eder. Islatma suyunun sıcaklığı artırılırsa işlem kısa sürede tamamlanır. Bunun nedeni, artan sıcaklık ile deri yüzeyindeki

kir ve suda çözünen proteinlerin deriden daha kolay uzaklaştırılabilmesidir. Ancak sıcaklık artışının olumsuz etkileri de dikkate alınmalıdır. Bu etkiler arasında bakteri aktivitesinin artması ve deri özünün kaybı (hidroliz) vardır. Biraz daha yüksek bir sıcaklık derinin şişmesini ve lifli yapının korunmasını önlemektedir. Yapılan araştırmalara göre 25°C'den sonra artan bakteri sayısı ile birlikte deride hidroliz olduğu gözlemlenmiştir. Olası hataların önlenmesi açısından 20°C'lik bir ıslatma suyu sıcaklığı uygundur (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

pH faktörü: Yüksek pH, bakteri üremesini ve aktivitesini artırır. Bakteriyel aktivite, nötral ve biraz bazik bir ortamda maksimuma çıkar. Örneğin, 20°C'de 36 saat süren ıslatma işleminin sonunda pH 5 iken 40×10^6 kob/ml olan bakteri sayısı pH 6 olduğunda 49×10^9 kob/ml'e ulaşmaktadır. Bu durumun önlenmesi için ıslatma suyuna bakterisit ve fungusit eklemek gereklidir. pH'ı arttırmak ya da azaltmak derinin şişme oranını etkiler. Derinin hafif şişmesi ıslatma süresini azaltmakla kalmaz, aynı zamanda fibrilleri önceki durumuna geri getirebilir. Hafif alkali şişme, ıslatma sonrası kireçleme sürecini olumlu etkiler. Asit şişmesi ise sonraki aşamalarda olumsuzluklara neden olmaktadır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Asit, baz ve tuzların etkisi: Asit deriyi ıslatma etkisine sahiptir. Güçlü asitler sırçada asit şişmesine neden olur. Sodyum bisülfid kuru deri üzerinde iyi bir ıslatma etkisine de sahip olup bakterisidal etkisi vardır, Bununla birlikte, kireç ile birleştirildiğinde zayıf çözüner kalsiyum sülfür oluşturur. En yaygın olarak kullanılan asit formik asittir. ıslatma işleminde kullanılan asitler deride sırça boşluğu oluşturmaktadır. Bu nedenle uygulamada asidik ıslatma artık yapılmamaktadır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Bazik maddeler ise deri yağı ile birlikte sabunu oluşturur ve bu da derinin ıslanmasını kolaylaştırır. ıslatma için tercih edilen en yaygın ıslatıcı madde sabundur. Sabun, derilerin ıslatılmasını kolaylaştırır ve kiri çıkararak yağı emülsiyon haline getirir (Şenses, 1987). Anyonik ve noniyonik ıslatıcı maddeler ile birleştğinde iyi bir kir çözme etkisine sahiptir. Sodyum hidroksit tuzlu derilerin ağırlıkça %0.2'sinden ve kuru derilerin ise ağırlıkça %5'inden daha az kullanılmalıdır. Bu miktarlarla ıslatma suyunun pH değeri 10.5'i geçmemiş olur. Keratin, sodyum sülfürden güçlü bir şekilde etkilenir. Sodyum sülfür (Na_2S , zırnık) 3 g $\text{Na}_2\text{S}/\text{l}$ üzerindeki konsantrasyonlarda kılı eritme etkisine sahiptir. Bu nedenle ıslatmada deri ağırlığının %0.2'si miktarında zırnık kullanılır. Zırnık, sodyum

hidroksitten daha az kollajen şişmesi oluşturmaktadır. Soda, tuzlu salamura ağırlığının maksimum %0.5'i kadar kullanılabilir. Bu miktardan daha fazlası kireçle bir araya gelerek kireç lekeleri oluşmasına neden olur. Soda tampon görevi görür ve sırçada şişme oluşturmaz. Sodyum hidroksitten daha güvenlidir.

Tuz, taze ve kuru deriyi ıslatmak için kullanılır. Kuru deri, ilk ıslatma sırasında tipik olarak %5-10 tuzlu su ile işlenir. Bu işlem kuru deri için ıslanmayı hızlandırır. Diğer bir uygulamada ise tuzlu salamura ve kuru deri ağırlıklarının %5 tuz ve %50-60 su ile birlikte 3-4 saat çevrildikten sonra ıslatılmasına başlanmasıdır. Taze deri, tuzlu salamura derilerinden daha serttir. Bu nedenle, taze deriyi ıslatmak için tuz kullanılır ve bu işleme "tuz olgunlaşması" adı verilir.

Yüzey aktif maddelerin etkisi: Islatma aşamasında yüzey aktif madde kullanarak daha iyi ıslatma sağlanırken, kir çözülür ve yağ emülsifiye edilir. Böylece ıslatma süresi kısalır. Bu amaç için kullanılan yardımcı maddelerin seçiminde nemlendirme ve yağ emülsifiye etme işlevlerine bakılır. Bu yardımcı maddeler deri kalitesine göre kullanılmaktadır. Deriye zayıf bir şekilde bağlanmalıdır, aksi takdirde sırçada boşluk meydana getirir. Yüzey aktif maddeler ıslatıcı ajanları, yağ emülgatörlerini ve deterjanları içerir. Sudaki reaksiyona göre anyonik, katyonik ve noniyonik olarak sınıflandırılır.

Anyonik yüzey aktif madde: Yüzey aktif madde suda çözündüğünde negatif bir yükü vardır.

Katyonik yüzey aktif madde: Suda çözündüğünde pozitif yükü vardır.

Noniyonik yüzey aktif madde: Çözeltide iyonik olmayan maddelerdir.

Islatma işleminde anyonik, noniyonik ya da bu yardımcı maddelerin karışımından yararlanılır. İyonik olmayanlar deriye yapışmadığından tercih edilir (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Enzimatik ıslatma yardımcı maddeleri: Derinin aşırı kuru bölgelerinin ıslatmaya yardımcı maddeler ile ıslatılması, derinin geri kalanını yumuşatmakta olup deriyi daha açık hale getirmektedir (Tancous, 1993). Enzimler biyokimyasal tepkimeleri hızlandırırken, hücre içinde ve dışında büyük değişikliklere neden olmaz. Enzimler, ıslatma yardımcı maddesi olarak kullanılır ve deri proteinlerinin biyokimyasal ayrışması üzerinde katalitik bir etkiye sahiptir. Bilinen 10000'den fazla enzim, fermantasyondan biyolojik su arıtmaya kadar değişen alanlarda etkilidir. Her enzim, birçok olası

reaksiyondan birini seçerek, tepkimeyi katalize etmektedir (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Özel mikroorganizmalar tarafından üretilen mikrobiyal enzimler endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar sadece enzim üretme yetenekleriyle değil, aynı zamanda toksin üretmemeleri ve patojenik olmamaları ile tanımlanmıştır (Özşahin, 2006). Mikrobiyal proteazlar az maliyetlidir ve süreci hızlandırır. Proteazlar, proteindeki peptid bağlarını hidrolize ederler. Mikrobiyal proteazlar, dünya çapında toplam enzim satışlarının yaklaşık %60'ını oluşturan en büyük üç endüstriyel enzim grubundan biridir (Doddapaneni ve ark., 2009). Proteaz üreten birçok mikroorganizma vardır ancak özellikle deride kullanılan güvenli ve patojen olmayan alkalın proteaz üreten bakteriler *Bacillus* ve *Aspergillus* cinsine aittir. Proteazlar bu mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir ve deri endüstrisinde deriyi yumuşatmak için değerlendirilmektedir (Berber, 2009).

Enzimler, genellikle nötr ve hafif asidik bir ortamda, belirli bir pH aralığında çalışır. Bazı inorganik tuzlar (aktivatörler) enzim aktivitesini artırırken, bazı maddeler enzim aktivitesini azaltır veya ortadan kaldırır. Bu maddelere inhibitörler adı verilir. Bu maddelere sepi maddeleri, ağır metal tuzları vb. örnek verilebilir. Enzim aktivitesi sıcaklığa duyarlıdır. Sıcaklığın 10°C kadar artırılması enzim aktivitesini 2-3 kat arttırmaktadır.

Deri endüstrisinde yararlanılan enzimler; yağ parçalayıcı (lipaz), protein ayrıştırıcı (proteaz, amidaz) gruplarıdır. Enzimler, çözünebilir proteinlerin deriden uzaklaştırılmasını hızlandırır. Aynı zamanda deri liflerinde yeni hidrofil gruplar meydana getirirken, epidermis tabakasının ve kıl köklerinin gevşetilmesinde rol oynarlar. İslatma enzimleri kuru deriden çözünebilir şekilsiz proteinleri ayrıştırır ve deriden ayırır. Bu şekilde yapışmış deri lifleri arasına suyun girmesini kolaylaştırır. Enzimlerin oluşturduğu yeni hidrofil gruplar ıslanmayı hızlandırır. Zayıf bazik ortamda çalışan enzim preparatları ile ıslatma ve kireçlik işlemlerinde pH geçişleri kolaylaştırılmaktadır. Bu enzimler pH 9-11'de aktiftir. Enzimler kullanılarak tuzlanmış deriler 4 saatte, kuru deriler ise 12-48 saatte ıslatılır. Özel dikkat gerektiren derilerde enzimatik ıslatma 25-30°C'de, hızlı ıslatma işlemi gerektiren derilerde ise 20-25°C'de gerçekleştirilir. Uzun süre saklanmış salamura derilerde ve bakteri ya da diğer faktörlerden hasar görmüş derilerde

enzim ıslatması yapılmamalı ya da çok dikkatli şekilde gerçekleştirilmelidir (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Antibakteriyel maddeler: Uygun olmayan koşullarda salamura yapılmış, kötü şekilde depolanmış ve kuru derilerin ıslatılması sırasında bakteri aktivitesini azaltmak veya durdurmak için antibakteriyel maddelerden faydalanılır. Bu amaçla kullanılan maddeler deriye yapışmamalıdır. Kuru deri için %0.3'e kadar ve tuzlu salamura deri için %0.1'e kadar antibakteriyel ajanlar kullanılır. Daha fazla miktarlarda kullanılması yararlı olmadığı gibi, aynı zamanda biyolojik su arıtımı için de sakıncalıdır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Mekanik işlemlerin etkisi: Deri kimyasallarının deriye nüfuz etmesi çok önemlidir. Her bir deri işlemleri basamağının fiziksel durumuna bağlı olarak kimyasal reaksiyonun belirli bir mekanik etki ile gerçekleşmesine dikkat edilmelidir. Döndürme hareketi gerçekleştiren dolap ve pervaneler kullanılarak deri işleme alınır. Bu şekilde maddelerin deriye nüfuz etmesini teşvik eder ve süreci hızlandırır. Maddelerin deriye penetrasyonu (difüzyonu), işlem süresinin %90'ını oluştururken, reaksiyonlar %10'unu meydana getirir. Ham derinin sırça yüzeyi epidermis tabakası ve kıllarla kaplıdır, bu nedenle tuz ve çözünür proteinler derinin etinden çıkarılır. Bu yüzden derinin tek tarafından difüzyon meydana gelmesi nedeniyle duran bir sistem ile maddelerin deriden uzaklaştırılması, hareketli sisteme kıyasla 10 kat daha yavaştır. Dolapta ıslatmak için kullanılan su miktarı %70 ile %300 arasında değişmektedir. Su miktarı azaldığında çalkalama etkisi yüksek olduğundan ve sudaki madde konsantrasyonu keskin bir şekilde yükseldiğinden suyu sık sık değiştirmek gereklidir. %100'ün üzerindeki su miktarı ıslatma için uygundur (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Islatma işlemini hızlandırmak için dolabın çevrilmesi ve pervane kanatlarının döndürülmesi ile derilerin dolapta hareket ettirilmesi gereklidir. Ancak, deri kuru olduğu için bu işlemin ıslatma başlangıcında yapılmaması gerekir. Bu durum göz önüne alınmadığında, kolajen lifinin kırılmasına ve parçalanmasına neden olabilir. Bu nedenle deriyi 3-4 saat inaktif ön ıslatma işleminden sonra "ana ıslatma" işlemine sokmak daha iyi bir yöntemdir (Şenses, 1987). Dolapların devir sayıları ıslatma için çok etkili değildir. Dönme hızının çok yüksek olması durumunda mekanik hasara neden olacağından kuru

deri veya tuzlu kuru deri için tercih edilmez. Islatma işleminde dolap devir hızı genel olarak 5 devir/dakikayı geçmemelidir.



Şekil 1.6. Deri dolabı

(<http://www.geredederi.com/gerede-deri-organize-sanayi-bolgesinde-uretim-basladi/>)

1.7.2. Kıl giderme

Kıl giderme aşaması, ıslatma aşaması tamamlandıktan sonra aynı dolap içerisinde uygulanır. Bu işlemin amacı derideki mevcut albümin ve yağ gibi maddeleri deriden uzaklaştırmaktır (www.geredederi.com). Derinin kılsız ya da yünsüz olarak kullanıldığı deri üretiminde uygulanan bu aşama, süet ya da kürk gibi yün örtüsünün korunması gereken deri çeşitlerinin üretiminde uygulanmamaktadır. Kıl giderilmesi amacıyla deri için %8-10 oranında kireç ve %3 oranında sodyum sülfür (zırnık) kullanılmaktadır.

1.7.3. Kireçlik

Kireçleme işleminde ise derinin lifli yapısının açılması amacıyla kostik soda, soda küllü, kireç vb. uygulanmaktadır. İşlenme aşamasındaki derinin pH'ı 12-12.5'e yükseltilmektedir (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2013).

1.7.4. Etleme

Etleme (kavaletto) aşamasında deriye mekanik işlem uygulanır. Bu aşamada derideki yağ içeren hipodermis tabakası deriden uzaklaştırılır ya da üreticinin seçimi değerlendirilerek deri biraz inceltilir (www.geredederi.com).

1.7.5. Kireç giderilmesi ve sama

Kireç giderilmesi aşamasında derinin sonraki aşamalarda kullanılan kimyasallara karşı direnç oluşturmamasını önlemek amacıyla pH değeri 12-12.5'ten 8-8.5'e düşürülmektedir. Bu yöntemde amonyum klorür ve amonyum sülfat gibi zayıf asit tuzları kullanılmaktadır. Elde edilmek istenen son ürüne bağlı olarak kireç gidermenin derecesi belirlenir. Sıkı deri üretimi için kısmi işlem uygulanırken, daha yumuşak bir deri elde etmek için yoğun kireç giderme işlemi tercih edilmektedir. Sama işleminde, spesifik enzimler kullanılır. Deri üretiminde istenmeyen proteinler ve kısa kıllar tümüyle uzaklaştırılır (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2017).

1.7.6. Yağ giderilmesi

Bu işlem koyun derilerinin kuru ağırlığının %10-20'sini oluşturan doğal yağın uzaklaştırılması için gerçekleştirilmektedir. Ham deride bulunan yağlar, sepi ve boya materyallerinin deri yüzeyinde ve kesitinde düzgün bir şekilde dağılmasını engelleyerek, lekeler oluşmasına neden olabilmektedir. Yağın giderilmesi için genellikle üç metot kullanılmaktadır. Bunlar; fiziksel (basınçla) yağ giderme, solventler ile yağ giderme ve emülgatörler ile yağ gidermedir (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Deri Sektörü Sektörel Atık Kılavuzları, 2016).

1.7.7. Salamura

Salamura (piklaj) işlemi deriyi tabaklamaya hazırlamak ya da korumak için yapılmaktadır. Tabaklama işleminden önce derinin şişmesini önlemek ve uygun pH değerine getirilmesini sağlamak amacıyla küçükbaş veya büyükbaş deriler sülfürik asit, formik asit ve tuz ile muamele edilmektedir. Solüsyon içerisindeki deri yaklaşık 2.5-3 saat çevrilen dolapta işleme tabi tutulur. Derinin tabaklama çeşidine göre pH seviyesi ayarlanır. Piklaj işlemi sonunda krom tabaklamada pH değeri 2.5-7.3, bitkisel tabaklamada ise pH değeri 4-4.5 aralığında olmalıdır. Derinin suyunu bırakıp şişmesinin önlenmesi amacıyla %8-10 konsantrasyonda tuz uygulanmaktadır (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2017).

1.7.8. Sepileme (Tabaklama)

Tabaklama maddelerinin kullanımı deriye kararlı ve dayanıklı bir form kazandırır. Tabaklama maddeleri bitkisel, mineral (krom) ve alternatifler (aldehit, sintan, yağlar vb.)

şeklinde sayılabilir. Bu işlemde, kollajen lifler karşılıklı birbirine bağlanır ve bu şekilde deri bozulma ve çürümeye karşı dayanıklılık kazanmaktadır. Tabaklama maddesi olarak krom sülfat en çok tercih edilendir. Bugünkü tabaklama işlemlerinin %80-90'ında krom (III) tuzlarından yararlanılmaktadır. Bitkisel malzemelerle tabaklanan derilerin esneklik ve sıcaklık direnci gibi özellikleri kromlu derilere kıyasla daha düşüktür (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2017).

1.7.9. Nötralizasyon

Nötralizasyon aşamasında, zayıf alkali maddeler (format veya asetat, sodyum veya amonyum bikarbonat) kullanılarak sepilenmiş derinin pH'ı retenaj, yağlama ve boyama işlemleri için uygun duruma getirilir.

1.7.10. Retenaj

Retenaj işleminde, bitkisel tabaklama maddeleri, aldehidler, sinterler, mineral tabaklama maddeleri veya reçineler gibi çeşitli kimyasalların kullanımıyla derinin kalitesi artırılmaktadır.

1.7.11. Boyama

Genellikle su bazlı asit boyalar kullanılarak, derinin bütün yüzeyinde tutarlı bir renk sağlamak amacıyla boyama işlemi uygulanmaktadır. Bazik ve reaktif boyaların tercihi daha az olmaktadır (Çınar, 2021).

1.7.12. Yağlama

Derinin yağlanması işlemi, ürüne has özelliklerin ve önceki işlemlerde kaybedilen yağın tekrar kazandırılması amacıyla gerçekleştirilmektedir. Bitkisel ya da hayvansal kökenli yağlar kullanılabilir ya da mineral kökenli sentetik yağ ürünleri de tercih edilebilir (www.geredederi.com).

1.7.13. Finisaj

Finisaj işlemleri iki grupta değerlendirilebilir. Bunlar; mekanik finisaj ve yüzey kaplama uygulamaları olarak bilinmektedir. Şartlandırma, germe, kuru taşlama, cilalama, kaplama ve deri yüzeyinde desen kabartma gibi işlemler bulunmaktadır. Kaplamada, bitmiş

derinin yüzeyi müşterinin talebine bağı olarak işlem görmektedir (T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2017).

1.8. Ham Derilerin Kalitesini Düşüren Etkenler

Deri uzun süre işlentiye alınmayacaksa kurallarına uygun olarak saklanmalıdır. Aksi halde hatalar kaçınılmazdır. Derilerin korunması aşaması sonrasında oluşacak hatalar kokuşma, tuz yeniği, tuz lekesi ve küf lekesi, güve hasarları, kimyasal madde zararları ve sıcak veya soğuk sebebiyle oluşan zararlardır (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

Kokuşma: Yüzülme sonrası deri çok geç, yetersiz veya uygunsuz bir şekilde muhafaza edilirse mikroorganizmalar harekete geçer. Bu durumun sonucunda oluşan enzimler ile birlikte deride oluşan bozunmaya kokuşma denmektedir. Bu hata ilerledikçe donuk ve pürüzlü bir sırça yapısı, daha koyu deri tonları ve bozunmadan kaynaklı hoş olmayan kokular gibi olumsuz etkiler görülebilir. Bu hatayı önlemek için deri yüzüm sonrasında iyice temizlenmeli ve ön etleme yapılmalıdır. Deriler yüzüldükten sonra hemen soğutulmalı ve saklanmalıdır.

Tuz yeniği: Kıl giderme işleminden sonra sırça tarafında bulunan toplu iğne başı ebatındaki yıldız benzer şekilde çıkıntılar ya da lekelerdir.

Tuz lekeleri: Tuzlu su çok miktarda kalsiyum ve magnezyum bileşikleri içerdiğinde, bu bileşikler derideki fosfatlar ile tepkime gerçekleştirerek deride farklı renklerde lekeler oluşturmaktadırlar.

Küf lekeleri: Özellikle pikle derilerde küf mantarları tarafından beyaz, yeşil, gri sarı veya kahverengi lekeler oluşturulur. Bunlar silinerek ortadan kaldırılabılır. Bunlardan kaçınmak için piklajda ortam yeteri kadar asidik yapılarak işlem sonlandırılmalı veya işlente mantar önleyici (fungisit) kullanılmalıdır.

Güve hasarları: Güveler ve sinekler özellikle tuzlu ve hava ile kurutulmuş deriler için zararlıdır. Güveler yumurta, larva ve pupa gelişim aşamalarından sonra olgunlaşırlar ve zamanında saptanmazlarsa deriyi yiyerek deriye zarar verirler. Bunu önlemek için deri uzun süre beklemeden işlentiye konulmalıdır.

Sıcak veya soğuk sebebiyle oluşan zararlar: Ham derilerin yüksek sıcaklık ile kurutulmaları ıslatılmalarını zorlaştırır ve daha sonraki aşamalarda da sorun yaratır. Bu tür derilerde deri liflerinde kırılma, sırça zedelenmesi, mukavemetin azalması ve kendiliğinden yarılma gibi olumsuz sonuçlar oluşmaktadır. Dondurulmuş deriler

depolama ve nakliye sırasında bükülürse çatlamlar meydana gelir. Bu durumun oluşmaması için derilerin ortam sıcaklığına gelene kadar bükülmemesi gereklidir (T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011).

1.9. Islatma İşleminde Yapılan Hatalar

Deri işlemede hata ıslatma işlemine yakınsa bu hatayı düzeltmek zor olur. Finisaja yaklaştıkça hataların etkisi yüksek oranda azaltılabilir (Toptaş, 2004). Islatma işlemi esnasında kısa süreli ıslatma uygulanması, ıslatmada suyun sıcaklığının düşük olması ve dolap hareketinin mekanik etkilerinin yeterli olmaması gibi hatalar olabilmektedir. Bu nedenle yetersiz ıslatma meydana gelmektedir. Yeteri kadar ıslatılmayan derinin tamamı ya da bazı bölgeleri kırılğan ve sert olup iyi boyanmamaktadırlar. Düşük derecede flote veya banyo sıcaklıkları, ıslanma sürecini yavaşlatır ve derinin su emilimini azaltır. Daha iyi ıslatma etkinliğinin sağlanması amacıyla uzun süreli ıslatma için bile 15°C'nin altındaki sıcaklıklarda çalışılmaması gerekmektedir. Islatma suyunun sıcaklığı yükseldikçe ıslatma işlemi hızlanmaktadır.

28-30°C'ye kadar ıslatma işlemleri mümkündür. Deri daha yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında ise derideki proteinler kaybolmaktadır. Başka bir faktör olan alkali ıslatma, ıslatma işlemi hızlandırmaktadır (Toptaş, 2004). Islatmada pH 10.5'i aşarsa, deride alkali şişmesi meydana gelir ve bu da ıslatma sürecini yavaşlatır ya da durdurur. Ayrıca ıslatma işleminde ıslatma yardımcıları da kullanılmaktadır. Islatma yardımcısı olarak noniyonik ve anyonik ıslatıcı maddelerin bir karışım haline getirildikten sonra uygulanması daha uygundur. Anyonik yüzey aktif maddeler ham derinin dış tarafına bağlanır. Sonraki aşamalarda kullanılacak olan yardımcı maddelerin bu alanlara yeterince bağlanmamasından dolayı sırça boşlukları oluşur.

Yağlı deriler için yağ giderici malzemeler uygulanmalıdır. Bu şekilde ıslatma ve kireçlik işlemleri homojen olarak gerçekleştirilebilir. Ham deri tuzlanma işleminden sonra yeterince uzun süre saklanmaz ise bu deri son hallerinde diğerlerine kıyasla sert olmaktadır. Salamura aşamasında uygulanan tuz, ham derideki suyu uzaklaştırarak liflerin birbirine daha yakın olmasını ve ek aktif gruplar meydana gelmesini sağlamaktadır. Bu durum deriye yumuşaklık verir. Uzun süre saklanan tuzlu salamura deriyi, kuru ve tuzlu kuru deriyi ıslatırken, deri yeterince yumuşak olmadan dolabı

hareket ettirmemek gereklidir. Bu sayede sırça kırılmaları önlenmektedir (Toptaş, 2004).

Birçok deri hatası bakteriler sebebiyle olur veya bakterilerin deriye verdiği hasarın sonucudur. Bakterilerin kıl dökülmesine, deri kaybına ve delik oluşumuna neden olduğuna dair kanıtlar vardır. Bakteriyel aktivite, kesim sırasında hayvan derisinin bakteriler tarafından kontaminasyonundan kaynaklanır. Bakteriler deri proteinlerini kullanarak çoğalır ve ham deride hasar oluştururlar (Haines, 1984; Bailey ve Birbir, 1993; Money, 1994; Bailey ve Birbir, 1996; Vreeland ve Bailey, 1999; Berber ve Birbir, 2010; Aslan ve Birbir, 2011a). Bakterisit kullanımı bu çeşit zararları önlemektedir. Bu nedenle ıslatma işlemi sırasında bakterisit ya da antimikrobiyal kullanımı önemlidir (Toptaş, 2004; Baird ve ark., 2006).

1.10. Deri Sektöründe Islatma Sıvıları ile Yapılan Mikrobiyolojik Çalışmalar

Islatma ham derinin geçirdiği ilk ve en önemli süreçtir. Bu işlemin amacı; su veya tuzlu su içerisinde çözünen proteinleri eritip ortadan kaldırmak ve kuru halde bulunan kollajen liflerine tekrardan su kazandırmaktır (Berber, 2009). Islatmaya yardımcı maddeler ile yapılan ıslatma işleminde kuru olmayan ve tuzlama işlemi yapılmış ham deriler 4 saat bekletilirken, kuru olan ham deriler için 8-10 saat bekleme süresi yeterlidir. Islatmaya yardımcı maddelerin ıslatma sıvısında olmadığı durumda kuru olmayan ve tuzlama işlemi yapılmış ham deriler 1 gün boyunca bekletilirken, kuru olan ham deriler için yaklaşık 2 gün bekleme süresi uygulanmaktadır (Orlita, 2004).

Islatma aşaması derinin üretiminde en çok ihmalkarlık olan süreçtir. Nihai ürünlerde oluşan sorunların çoğunun uygun olmayan ıslatma aşamalarının sonucu olduğuna inanılmaktadır. Ek olarak, ıslatma sıvılarında azotlu yıkım ürünleri, pıhtılaşma proteinleri ve kan, mikroorganizmaların kontaminasyonu için ideal bir ortam oluşturur (Dahl, 1956). Yıkama ve ıslatma aşamalarında koyun derilerinde mikroorganizmadan kaynaklı zararlar meydana gelebilmektedir (Richardson, 1958).

Yapılan bir araştırmada, 0.8 g/l antimikrobiyal madde kullanılmış olan ıslatma sıvısı örneklerinden *Bacillus lentus*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Bacillus mycoides*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas luteola*, *Enterococcus avium*, *Enterobacter amnigenus biogroup I*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas*

putida, *Bacillus amyloliquefaciens* *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus*, *Kocuria varians*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus warneri* türleri izole edildiği bildirilmiştir (Berber ve Birbir, 2010).

Aynı çalışmada araştırılan 40 adet tuz numunesinde aşırı halofil (10^2 - 10^5 kob/g), lipolitik olan aşırı halofil bakteriler (10^2 - 10^4 kob/g) ve proteolitik olan aşırı halofil bakteriler (10^2 - 10^4 kob/g) saptanmıştır (Berber ve Birbir, 2010). 34 adet ıslatma işlemi uygulanmış deri örneklerinde ise toplam mezofil bakteri sayısı 5 örnek için 10^5 - 10^6 kob/g, 29 örnek için 10^7 - 10^8 kob/g olarak belirlenmiştir. Proteolitik özellikte mezofil bakteri sayısı toplamı ise 6 örnekte 10^4 - 10^5 kob/g, 28 örnekte 10^6 - 10^8 kob/g olarak açıklanmıştır (Berber ve Birbir, 2010).

Islatılmış derilerden *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Citrobacter koseri*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Serratia rubidaea*, *Cronobacter sakazakii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica* türleri izole edilmiştir. Bu izolatların tobramisin (%8), meropenem (%8), imipenem (%8), sulfametoksazol-trimetoprim (%15), sefoksitin (%15), ampisilin/sulbaktam (%15), kanamisin (%15), tetrasiklin (%31), sefuroksim sodyum (%46), kloramfenikol (%46), piperasilin/tazobaktam (%46), nalidiksik asit (%54), siprofloksasin (%54), seftazidim (%61), streptomisin (%62), sefalotin (%62), amoksisilin/klavulanat (%62), ampisilin (%69), seftriakson (%69), aztreonam (%92) antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu açıklanmıştır (Yazıcı, 2016; Birbir ve ark., 2019).

Bir çalışmada, 25 adet ıslatma uygulanmış deri örneklerinden *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus liquefaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus rubens*, *Kurthia virabilis*, *Bacillus laterosporus* ve *Bacillus megaterium* izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Birbir ve Ilgaz, 1996). Diğer çalışmalarda ise ıslatma sıvılarından *Serratia*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Lactobacillus* ve *Micrococcus* cinsine ait bakterilerin izole edildiği belirtilmiştir. Islatma

sıvılarında *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait bakterileri türlerinin tespiti başka araştırmalarda da gerçekleştirilmiştir (Berber, 2009).

Başka bir çalışmada, ıslatma sıvısından *Proteus*, *Chromobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Serratia* ve *Lactobacillus* izole edilmiştir. Bu çalışmada, tuz ile salamura uygulanmış 4 gün bekletilmiş deri örneklerinden *Bacillus* türleri, *E. coli* ve *Proteus mirabilis*; taze deri örneklerinden 3 saat sonrasında *Staphylococcus*, *Bacillus*, *E. coli*, *Acinetobacter lmoşii* ve *Enterococcus durans*; tuzlu su ile muamele edilmiş derilerden *Bacillus* türleri, *Pseudomonas*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus vulgaris*, *E. coli*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter lmoşii*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Citrobacter freundii* mikroorganizmalarının izolasyonun yapıldığı bildirilmiştir (Boyd ve ark., 2003).

Yapılan bir araştırmada ıslatma sıvısından *Serratia*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Chromobacterium* ve *Pseudomonas* gibi birçok bakteri türlerinin izole edildiği açıklanmıştır (Rangarajan ve ark., 2003). Aynı zamanda, ıslatmanın ilk basamağında bakteri popülasyonlarının hızla azaldığını ve popülasyonların zamanla artma eğiliminde olduğu belirtilmiştir (Rangarajan ve ark., 2003).

1.11. Haloversatil Bakteriler ile Yapılan Mikrobiyolojik alışmalar

Tuza ihtiyaç duyan mikroorganizmalar için aynı zamanda tuzu seven anlamına da gelen halofil terimi kullanılır. Hem yüksek tuz varlığında (0- >3.0) hem de tuzun bulunmadığı ortamda (0 M) gelişebilen mikroorganizmalara ise haloversatil bakteriler denir (Kushner, 1985; Grant ve ark., 1998). 0.2-0.5 M tuz konsantrasyonunda optimum olarak gelişirler. Halofil mikroorganizmaların tuzla, Tuz Gölü, tuzlanmış gıda, tuzlanmış deri, ıslatma sıvısı gibi tuzlu bölgelerde bulunduğu gözlemlenmiştir. Grant ve ark. (1998) tarafından yapılan halofil organizmalar için sınıflandırmaya bakarsak; halofil olmayan organizmaların gelişebildikleri tuz konsantrasyonu 0-1.0 M (optimum <0.2 M) olup, halofil organizma çeşitlerinin gelişebildikleri tuz konsantrasyonu ise sırasıyla; zayıf halofiller için 0.2-2.0 M (optimum 0.2-0.5 M), ılımlı halofiller için 0.4-3.5 M (optimum 0.5-2.0 M), aşırı halofiller için 2.0-5.2 M (optimum >3.0 M), halotolerant organizmalar için 0- >1.0 M (optimum <0.2 M) ve haloversatil organizmalar için 0- >3.0 M (optimum 0.2-0.5 M)'dır.

Araştırmacılar Tuzky Tuz Madeni'nden *Halorubrum*, *Haloarcula*, *Halobacterium* ve *Natrinema* cinslerine ait aşırı halofil arkelerin izole edildiğini belirtmişlerdir (Birbir ve ark., 2004). *Haloarcula*, *Halorubrum* ve *Halobacterium* cinslerinin Tuz Gölünde baskın olduğu açıklanmıştır (Birbir ve ark., 2004). Buralardan sağlanan tuzlar keçi, koyun, inek ve balık gibi hayvanların tuzlanması işleminde kullanılmaktadır. Halofil mikroorganizmaların tuzlanmış hayvanlardan izole edildiği açıklanmış ve deri endüstrisiyle alakalı yapılan çalışmalarda araştırmacılar tuzda bulunan halofil mikroorganizmaların deriye bulaştığını bildirmişlerdir (Llyod, 2015).

Haloversatil bakteriler ile yapılan araştırmalar ele alındığında, bu özellikteki bakteriler ile ilgili çok fazla araştırma olmamasına karşın, bu bakterilerin tuzlu ortamlardan izole edildiği ve tanımlandığı açıklanmıştır. Antarktika'da soğuğu seven özellikte ve fazla rastlanmayan mikroorganizmaların izole edildiği bildirilmiştir (Ellis-Evans, 1985). Ellis-Evans (1985) izole ettiği bu bakterilerin büyük bölümünün 20°C'nin altında yaşamını sürdürebildiği ve bu izolatların (*Methanococoides burtonii*, *Halobacterium lacusprofundi*, *Flectobacillus glomeratus*, *Halomonas subglaciescola*, *Flavobacterium gondwanense*, *Carnobacterium funditum*, *Flavobacterium salegens*, *Halomonas meridiana*, *Vesiculatum antarcticum*, *Carnobacterium alterfunditum*) haloversatil özellik gösterdiğini bildirmiştir.

Haloversatil bakterilerin bildirildiği başka bir alışma Vreeland ve Huval tarafından 1991 yılında gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar tuzların depolandığı odalarda yerde birikmiş olan tuzlu sulardan %0-%17 tuz konsantrasyonunda gelişebilen haloversatil bakterileri izole ettiklerini bildirmişlerdir (Vreeland ve Huval, 1991). Başka bir araştırmada, bir tane haloversatil bakterinin Sagafa kıyısından (Mısır, Kızıldeniz) izole edildiği açıklanmıştır (Ashour, 2011). Bu izolatın 30-50°C sıcaklık aralığında (ideal sıcaklık değeri 40°C), pH 5.0-8.5 aralığında (ideal pH değeri 6.0), %0-15 NaCl aralığında (ideal tuzluluk oranı %3) gelişebildiği sonucu araştırmacılar tarafından açıklanmıştır (Ashour, 2011).

Bir araştırmada ise Çamaltı Tuzlasından (İzmir) toplanan tuz numunelerinden farklı enzimleri üreten ve haloversatil özellik gösteren bakterilerin izole edildiği açıklanmıştır (Caglayan, 2019). Türkiye'nin en geniş deniz kaynaklı tuzlası olan bu tuzladan alınmış tuz örneklerinden 69 adet haloversatil özelliğe sahip olan izolat *Acinetobacter* (1 tür), *Sanguibacter* (1 tür), *Brevibacterium* (1 tür), *Agrococcus* (1 tür), *Pseudomonas* (1 tür),

Virgibacillus (1 tür), *Gordonia* (1 tür), *Paracoccus* (2 tür), *Micrococcus* (2 tür), *Kocuria* (3 tür) *Exiguobacterium* (3 tür), *Microbacterium* (3 tür), *Staphylococcus* (9 tür), *Bacillus* (11 tür) izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu izolatların kazeinaz (%4), üreaz (%4), amilaz (%7), pullulanaz (%10), deoksiribonükleaz (%17) lipaz (%23), selülaz (%33), lesitinaz (%51), proteaz (%52), oksidaz (%80) ve katalaz (%100) gibi çeşitli enzimleri ürettikleri açıklanmıştır (Caglayan, 2019). Çamaltı Tuzlasında üretilen tuzların deri endüstrisinde deri tuzlama işlemi aşamasında kullanıldığı bilinmektedir. Haloversatil özellik gösteren bu bakterilerin deriye zarar verme potansiyeli bulunmaktadır.

1.12. Çalışmamızda İslatma Sıvılarından İzole Edilerek Tanımlanan Haloversatil Bakteriler Hakkında Genel Bilgi

Araştırmamızda ıslatma sıvılarından *Terribacillus*, *Brevibacterium* ve *Bacillus* cinslerine ait bakteriler izole edilerek tanımlanmıştır.

1.12.1. Firmicutes Şubesi

6 sınıftan (*Thermolithobacteria*, *Negativicutes*, *Mollicutes*, *Erysipelotrichia*, *Clostridia* ve *Bacilli*) oluşan *Firmicutes* (*Bacillota*), çoğu gram pozitif hücre duvarı yapısına sahip bakterilerden oluşan bir şubedir (Gosling, 2003). Birkaçı, *Mollicutes* veya *mikoplazmalar*, hücre duvarlarından tamamen yoksun olması nedeniyle Gram boyamaya yanıt vermezler, ancak yine de diğer Gram-negatif bakterilerde bulunan zar yapısından yoksundurlar. *Megasphaera*, *Pectinatus*, *Selenomonas* ve *Zymophilus* gibi birkaç *Firmicutes*, gram negatif boyanmalarına neden olan gözenekli bir yalancı dış zara sahiptir. *Firmicutes* şubesinin üyeleri, düşük GC oranları nedeniyle düşük GC Gram pozitif bakteriler olarak da bilinmektedir. Birçok *Firmicutes* endospor üretmektedir (<https://bio.libretexts.org/>).

1.12.1.1. Terribacillus Cinsi

Bacilli sınıfı, *Bacillales* takımı, *Bacillaceae* familyasına ait olan *Terribacillus* cinsi, Gram-pozitif ve aerobik bir bakteri cinsidir. Bu mikroorganizmalar katalaz pozitif çubuklardır. Hareketsizdirler ve spor oluştururlar. Kolonileri ise dairesel ve dışbükey şeklindedir. Ayrıca %44-46 GC oranına sahiptir. (An ve ark., 2007) 4 türden

oluşmaktadır: *Terribacillus saccharophilus*, *Terribacillus halophilus*, *Terribacillus goriensis*, *Terribacillus aindingensis* (<https://lpsn.dsmz.de/>).

Terribacillus halophilus

Terribacillus halophilus, Japonya'da Tama'dan tarla toprağından izole edilmiş *Terribacillus* cinsinden Gram pozitif olan zorunlu aerobik ve hareketsiz bir bakteridir. Bu bakteriler 0.6-0.8×2.8-4.8 µm boyutundadır. Gelişmeleri için sıcaklık aralıkları 5-45°C, pH aralıkları 5-10 olarak bilinmektedir. Mikroorganizma gelişimi NaCl olmayan ortamda ve %19 (a/h) NaCl varlığında gerçekleşirken gelişim için optimum NaCl konsantrasyonu %1-5 (a/h)'dir (An ve ark., 2007).

1.12.1.2. *Bacillus* Cinsi

Bacilli sınıfı, *Bacillales* takımı, *Bacillaceae* familyasına ait *Bacillus* cinsi ilk kez 1872'de Ferdinand Cohn tarafından tanımlanmıştır. *Bacillus subtilis* tip suşu olarak tanımlanmıştır (Soule, 1932). *Bacillus* cinsinin üyeleri çubuk şeklinde spor oluşturan Gram-pozitif bakterilerdir ve şimdiye kadar adlandırılmış 268 türü vardır (Euzeby, 1997). *Bacillus* türleri, zorunlu aeroblar veya fakültatif anaeroblar olabilir. Oksijen kullanılmış veya mevcutsa, *Bacillus* türleri katalaz pozitifdir (Turnbull, 1996). Birçok *Bacillus* türü, nişasta hidrolizinde kullanılan alfa amilaz ve deterjanlarda kullanılan proteaz subtilisin üretimi gibi çeşitli endüstrilerde kullanılan enzimleri bol miktarda üretebilir. Bazı *Bacillus* türleri, özellikle surfaktinler ve subtilinler olmak üzere lipopeptitleri sentezleyebilir (Nigris ve ark., 2018).

Bacillus australimaris

Bu tür Gram-pozitif ve zorunlu aerobik olup çubuk şeklindedir. 0.7-0.8 µm çapında ve 2-2,2 µm uzunluğundadır. Flagella sayesinde hareketlidir. Kolonileri açık sarı, dairesel ve yarı saydamdır. Katalaz ve oksidaz pozitifdir. Gelişme 8-45°C'de (ideal sıcaklık değeri 30-37°C), pH 5-11'de (ideal pH değeri 6-8) ve %0-12 (a/h) NaCl (ideal tuzluluk oranı %1-3) ile gerçekleşmektedir (Liu ve ark., 2016).

Bacillus siamensis

Tayland'da tuzlanmış yengeçten izole edilen *Bacillus siamensis* türünün Gram pozitif, fakültatif anaerobik ve 0.3-0.6×1.5-3.5 µm boyutlarında çubuk şeklinde olduğu

bilinmektedir. Peritrik flagella ile hareketlidirler. Endospor oluşturan bu bakteri katalaz üretir ama oksidaz üretmez. Gelişme 4°C ile 55°C aralığında gerçekleşir; optimum gelişme sıcaklığı ise 37°C'dir. pH 4.5-9 aralığındadır ve optimal pH 6-7'dir. Gelişme, %0-14 (a/h) NaCl varlığında ve optimal olarak NaCl olmadan gerçekleşmektedir (Sumpavapol ve ark., 2010).

Bacillus mojavensis

Bacillus mojavensis, 0.5 ile 1.0 µm çapında ve 2.0 ile 4.0 µm uzunluğundadır. Hareketli olan bu aerobik bakteriler katalaz ve oksidaz üretmektedir. Optimum gelişme sıcaklığı 28 ile 30°C, gelişme için gerekli olan maksimum sıcaklık 50°C ile 55°C ve minimum sıcaklık ise 5 ile 10°C arasındadır. Tip suşu için termal denatürasyon sıcaklığı 86.9°C'dir ve bu değerle belirlenen GC içeriği %43 mol'dür (Roberts ve ark., 1994).

1.12.2. Actinobacteria Şubesi

Aktinobakteriler yüksek GC içerikli Gram pozitif mikroorganizmalardır ve her iki organizmadan da özelliklere sahip oldukları için bakteri ve mantarların geçiş formları olarak kabul edilmektedirler. Çeşitli ekosistemlerde geniş bir şekilde dağılırlar ve esas olarak toprakta ve suda bulunurlar. Arktik, kaplıcalar ve tuzlu denizler dahil olmak üzere ekstrem ortamlarda bulunurlar. Güncel taksonomiye göre, *Actinobacteria* şubesi 16S rRNA dizilemesine dayanmaktadır ve 6 sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar: *Acidimicrobia*, *Actinobacteria*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptoria*, *Rubrobacteria*, *Thermoleophilia*'dır (Anandan ve ark., 2016). *Actinobacteria* genellikle mezofiliktir ve optimal gelişme göstermeleri için sıcaklık 25°C ile 30°C arasında olmalıdır. Ayrıca termofilik özellikteki Aktinobakteriler, 50°C ile 60°C sıcaklık aralığında gelişebilirler. Çoğu *Actinobacteria*, nötr pH'lı topraklarda gelişir. Nötrallik çevresinde maksimum büyüme ile 6 ile 9 arasındaki bir pH'da en iyi şekilde gelişirler. Bununla birlikte, pH değeri 3.5 olan asidik topraktan birkaç *Streptomyces* suşunun izolasyonu yapılmıştır (Barka ve ark., 2016).

1.12.2.1. Brevibacterium Cinsi

Actinobacteria şubesi, *Actinomycetales* takımı, *Micrococcineae* alt takımı, *Brevibacteriaceae* familyasına ait *Brevibacterium* cinsi, Gram pozitif ve aerobiktir. Spor oluşturmeyen ve kok veya çubuk şeklinde mikroorganizmalardır. Toprak organizmaları

olarak bilinen *Brevibacterium* cinsinin *Brevibacteriaceae* familyasına ait tek cins olduğu bilinmektedir (<https://lpsn.dsmz.de/>).

Brevibacterium luteolum

Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmayan, 2-3 µm uzunluğunda çubuklardır. Koloniler pürüzsüz, sarımsı ve 37°C'de 48 saat inkübasyondan sonra yaklaşık 1-2 mm çapındadır. Optimal gelişme 30°C ile 37°C arasında gerçekleşir, ayrıca suşlar 20°C'de 3 gün içinde gelişmektedir. Gelişme %10 NaCl'de gerçekleşir. Türün DNA GC içeriğı oranı %68.8'dir (<https://bacdive.dsmz.de/strain/1856>).

BÖLÜM 2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyaller

2.1.1. Çalışmamızda hazırlanan ve kullanılan besiyerleri

NaCl içermeyen halofil besiyeri (pH 7.0); %1.17 NaCl içeren halofil besiyeri (0.2 M, pH 7.0); %2 NaCl içeren halofil besiyeri (0.34 M, pH 7.0); %3 NaCl içeren halofil besiyeri (0.51 M, pH 7.0); %5 NaCl içeren halofil besiyeri (0.85 M, pH 7.0); %8 NaCl içeren halofil besiyeri (1.36 M, pH 7.0); %10 NaCl içeren halofil besiyeri (1.7 M, pH 7.0); %12 NaCl içeren halofil besiyeri (2 M, pH 7.0); %15 NaCl içeren halofil besiyeri (2.5 M, pH 7.0); %18 NaCl içeren halofil besiyeri (3 M, pH 7.0); %20 NaCl içeren halofil besiyeri (3.4 M, pH 7.0); %25 NaCl içeren halofil besiyeri (4.2 M, pH 7.0); %30 NaCl içeren halofil besiyeri (5.1 M, pH 7.0); Nişasta besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Selüloz besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Pullulan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Ksilan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Zeytinyağlı agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Tween80 besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Üre agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Jelatin agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); Kazein agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0); DNaz besiyeri (%2 NaCl, pH 7.0).

2.1.1.1. NaCl içermeyen halofil besiyeri (pH 7.0)

KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
NaBr.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya özütü.....: 10 g
Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.2. %1.17 NaCl içeren halofil besiyeri (0.2 M, pH 7.0)

NaCl.....	: 11.7 g
KCl.....	: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat	: 0.36 g
FeCl.....	: iz element
NaBr.....	: 0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	: 1 g
NaHCO ₃	: 0.06 g
Proteaz Pepton.....	: 5 g
C ₆ H ₁₂ O ₆	: 1 g
Agar.....	: 20 g
Maya ekstraktı.....	: 10 g
Steril su.....	: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.3. %2 NaCl içeren halofil besiyeri (0.34 M, pH 7.0)

NaCl.....	: 20 g
KCl.....	: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat	: 0.36 g
FeCl.....	: iz element
Sodyum Bromür.....	: 0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	: 1 g
NaHCO ₃	: 0.06 g
Proteaz Pepton.....	: 5 g
C ₆ H ₁₂ O ₆	: 1 g
Agar.....	: 20 g
Maya ekstraktı.....	: 10 g
Steril su.....	: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.4. %3 NaCl içeren halofil besiyeri (0.51 M, pH 7.0)

NaCl.....	: 30 g
-----------	--------

KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı: 10 g
Steril su.....: 1 L
Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.5. %5 NaCl içeren halofil besiyeri (0.85 M, pH 7.0)

NaCl.....: 50 g
KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı: 10 g
Steril su.....: 1000 ml
Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.6. %8 NaCl içeren halofil besiyeri (1.36 M, pH 7.0)

NaCl.....: 80 g
KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element

Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı: 10 g
Steril su.....: 1 L

2.1.1.7. %10 NaCl içeren halofil besiyeri (1.7 M, pH 7.0)

NaCl.....: 100 g
KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı.....: 10 g
Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.8. %12 NaCl içeren halofil besiyeri (2 M, pH 7.0)

NaCl.....: 120 g
KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g

C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı.....: 10 g
Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.9. %15 NaCl içeren halofil besiyeri (2.5 M, pH 7.0)

NaCl.....: 150 g
KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı.....: 10 g
Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.10. %18 NaCl içeren halofil besiyeri (3 M, pH 7.0)

NaCl.....: 180 g
KCl.....: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g
FeCl.....: iz element
Sodyum Bromür.....: 0.23 g
MgSO₄.7H₂O.....: 1 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Proteaz Pepton.....: 5 g
C₆H₁₂O₆.....: 1 g
Agar.....: 20 g
Maya ekstraktı.....: 10 g

Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.11. %20 NaCl içeren halofil besiyeri (3.4 M, pH 7.0)

NaCl.....: 200 g

KCl.....: 2 g

Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g

FeCl.....: iz element

Sodyum Bromür.....: 0.23 g

MgSO₄.7H₂O.....: 1 g

NaHCO₃.....: 0.06 g

Proteaz Pepton.....: 5 g

C₆H₁₂O₆.....: 1 g

Agar.....: 20 g

Maya ekstraktı.....: 10 g

Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.12. %25 NaCl içeren halofil besiyeri (4.2 M, pH 7.0)

NaCl.....: 250 g

KCl.....: 2 g

Kalsiyum Klorür Dihidrat: 0.36 g

FeCl.....: iz element

Sodyum Bromür.....: 0.23 g

MgSO₄.7H₂O.....: 1 g

NaHCO₃.....: 0.06 g

Proteaz Pepton.....: 5 g

C₆H₁₂O₆.....: 1 g

Agar.....: 20 g

Maya ekstraktı.....: 10 g

Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.13. %30 NaCl içeren halofil besiyeri (5.1 M, pH 7.0)

NaCl.....	: 300 g
KCl.....	: 2 g
Kalsiyum Klorür Dihidrat	: 0.36 g
FeCl.....	: iz element
Sodyum Bromür.....	: 0.23 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	: 1 g
NaHCO ₃	: 0.06 g
Proteaz Pepton.....	: 5 g
C ₆ H ₁₂ O ₆	: 1 g
Agar.....	: 20 g
Maya ekstraktı	: 10 g
Steril su.....	: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.14. Nişasta besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

Nişasta.....	: 25 g
NaCl.....	: 11.7 g
Agar.....	: 20 g
Steril su.....	: 1 L

Otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.15. Selüloz besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

Karboksimetil selüloz.....	: 2 g
CaCl ₂ .6H ₂ O.....	: 0.2 g
KCl.....	: 2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	: 20 g
Kazaminoasit.....	: 1 g
Maya ekstraktı.....	: 1 g
Sodyum klorür.....	: 11.7 g
Steril su.....	: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.16. Pullulan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

AZCL-pullano.....: 10 g

NaCl.....: 11.7 g

Agar.....: 20 g

Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.17. Ksilan besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

AZCL-Xilano.....: 10 g

NaCl.....: 11.7 g

Agar.....: 20 g

Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.18. Zeytinyağlı agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

Triptikaz Pepton.....: 8 g

Maya ekstraktı.....: 4 g

Zeytin yağı.....: 30 ml

Rodamin B.....: 2 mg

NaCl.....: 11.7 g

Agar.....: 20 g

Steril su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.19. Tween 80 agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

TS10.....: 1 L

Maya ekstraktı.....: 5 g

Agar.....: 20 g

pH.....: 7.0

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapıldıktan sonra besiyerine 10 g Tween 80 ilave edilmiştir.

2.1.1.20. Üre agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

A eriyiği

Pepton.....	1 g
D-Glukoz.....	1 g
Mono potasyum fosfat (KH ₂ PO ₄).....	2 g
Agar.....	20 g
Fenol kırmızısı (%0.2).....	6 ml
%1.17 NaCl içeren tuzlu su.....	866 ml

B eriyiği

Üre.....	20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su.....	134 ml

A eriyiği 121°C sıcaklıkta 15 dk süresince otoklavda sterilizasyon işlemi yapılmıştır. B eriyiği ise por çapı 0.45 mm olan nitroselüloz membran filtre kullanılarak süzölmüştür. Sonrasında steril A ve steril eriyiklerinin karıştırılması yapılarak steril tüplere 5 ml dağıtımını gerçekleştirilmiştir. Besiyerleri katı duruma geçene kadar tüpler yatık şekilde bekletilmiştir (Christensen, 1946).

2.1.1.21. Jelatin agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

Tripton.....	5 g
Maya ekstraktı.....	5 g
CaCl ₂ .6H ₂ O.....	0.2 g
Jelatin.....	20 g
KCl.....	2 g
Magnezyum klorür.....	20 g
Sodyum klorür.....	11.7 g
Agar.....	20 g
Steril su.....	1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.1.22. Kazein agar besiyeri (%1.17 NaCl, pH 7.0)

A eriyiği

Agar.....: 20 g
Tripton.....: 20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su.....: 500 ml

B eriyiği

Skim milk.....: 20 g
%1.17 NaCl içeren tuzlu su.....: 500 ml

İki erlenin de 10 dk boyunca 121°C sıcaklıkta sterilizasyonu yapılmıştır. Otoklav aşamasından sonra ikisi karıştırmış ve petrilere aktarılmıştır.

2.1.1.23. DNaz besiyeri (%2 NaCl, pH 7.0)

DNaz agar.....: 42 g
NaCl.....: 20 g
Distile su.....: 1 L

Otoklavda 121°C sıcaklıkta 20 dk sterilizasyonu yapılmıştır (Ventosa ve ark., 1982).

2.1.2. Çalışmamızda kullanılan çözeltiler ve kimyasallar

1 N NaOH çözelti; 1 N HCl çözelti; Gram'ın iyot çözelti; Kristal viyole çözelti; %95'lik Etil alkol çözeltisi; Safranin çözeltisi; Kongo kırmızısı; Frazier ayırıcı; Oksidaz test ajanı; Katalaz test ajanı; McDowell-Trump fiksatif; %4'lük Gluteraldehit çözeltisi; 0.2 M Fosfat tamponu; 0.1 M Fosfat tamponu; %2'lik Osmiyum tetroksit; %35 Etanol; %50 Etanol; %75 Etanol; %95 Etanol; 1 nolu McFarland bulanıklık standardı; 2 nolu McFarland bulanıklık standardı; 1X Tris-asetat ve EDTA çalışma tamponu.

2.1.2.1. 1 N NaOH çözelti

39.99 g NaOH, 1 L steril suda karıştırılmıştır.

2.1.2.2. 1 N HCl çözelti

39.99 g HCl, 1 L steril suda karıştırılmıştır.

2.1.2.3. Gram'ın iyot çözelti

Bir havanın içinde 1 gram iyot ve 2 gram potasyum iyodür iyice ezilmiş, yavaş yavaş steril su eklenerek erimesi sağlanmıştır. Hepsi çözüldükten sonra 300 ml'ye kadar steril distile su eklenmiştir. Çözelti kahverengi şişede korunmuştur.

2.1.2.4. Kristal viyole çözeltisi

2 g Kristal viyole (%85) ve 20 ml Etil alkol (%95) kullanılarak çözelti oluşturulmuştur. 0.8 g Amonyum okzalat ve 80 ml steril distile su ile diğer çözelti hazırlanmıştır ve iki çözelti karıştırılmıştır.

2.1.2.5. %95'lik Etil alkol çözeltisi

95 ml Etil alkol ve 100 ml steril su kullanılarak hazırlanmıştır.

2.1.2.6. Safranin çözeltisi

2.5 g Safranin, 100 ml Etil alkol (%95) ve 100 ml steril su kullanılmıştır.

2.1.2.7. Kongo kırmızısı

0.1 g Kongo kırmızısı ile 1 L steril su kullanılmıştır.

2.1.2.8. Frazier ayırıcı

12.4 g Cıva (II) Klorür, 16 ml Hidroklorik asit ve 80 ml steril su kullanılmıştır.

2.1.2.9. Oksidaz test ajanı

1 g Dimetil-p-fenilendiamin hidroklorid ve 100 ml steril su ile hazırlanmıştır.

2.1.2.10. Katalaz test ajanı

3 ml H₂O₂ ve 100 ml steril su ile hazırlanmıştır.

2.1.2.11. McDowell-Trump fiksatif

50 ml Fosfat tamponu (0.2 M), 11 ml formaldehit (%37) ve 4 ml gluteraldehit (%25) içermektedir.

2.1.2.12. %4'lük Gluteraldehit çözeltisi

50 ml Fosfat tamponu (0.2 M) ve 16 ml gluteraldehit (%25) içermektedir.

2.1.2.13. 0.2 M Fosfat tamponu

3.56 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 3.12 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 100 ml distile su içermektedir.

2.1.2.14. 0.1 M Fosfat tamponu

500 ml Fosfat tamponu (0.2 M) ve 500 ml distile sudan oluşmaktadır.

2.1.2.15. %2'lik Osmiyum tetroksit

1 g Osmiyum tetroksit ampülü ve 50 ml distile sudan oluşmaktadır.

2.1.2.16. %35 Etanol

35 ml Etanole 100 ml'ye kadar steril su eklenmiştir.

2.1.2.17. %50 Etanol

50 ml Etanole 100 ml'ye kadar steril su eklenmiştir.

2.1.2.18. %75 Etanol

75 ml Etanole 100 ml'ye kadar steril su eklenmiştir.

2.1.2.19. %95 Etanol

95 ml Etanole 100 ml'ye kadar steril su eklenmiştir.

2.1.2.20. 1 nolu McFarland bulanıklık standardı

9.9 ml sülfirik asit (0.18 M) ve 0.1 ml baryum klorür (0.048 M) içermektedir.

2.1.2.21. 2 nolu McFarland bulanıklık standardı

9.8 ml sülfirik asit (0.18 M) ve 0.2 ml baryum klorür (0.048 M) içermektedir.

2.1.2.22. 1X Tris-asetat ve EDTA (TAE) çalışma tamponu

10X TAE stok tamponundan 100 ml alınarak steril su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve 1X TAE çalışma tamponu elde edilmiştir.

Jel-yükleme boyası

GelPilot 1 kb ladder jel yükleme boyası, ekstraksiyonu yapılmış DNA veya PCR ürünü ile karıştırılmıştır.

Ladder DNA

10 µl DNA ladder (1 kb) ile 90 µl Jel-yükleme boyası eppendorf tüpünde +4°C'ye konulmuştur.

Agaroz jel

0.4 g Agaroz SeaKem LE ve 40 ml 1X TAE çalışma tamponundan oluşmaktadır.

Nükleotid karışımı

125 µl dNTP karışımı ile 875 µl steril ddH₂O eppendorf tüpünde -20°C'ye konulmuştur.

Primerler (1492R, 27F)

12 µl Primer ile 88 µl steril ddH₂O eppendorf tüpünde -20°C'ye konulmuştur.

2.1.3. Kullanılan araç ve gereçler

pH Metre (WTW), Terazi (Sartorius Analytic), Su Saflaştırma Cihazı (GFL), Otoklav (Web MLW), Etüv (Nüve EN500), Pasteur Fırını (Kermanlar), Mikroskop (Olympus), Çalkalamalı Etüv (Edmund Bühler), Vortex (Nüve), Santrifüj (Sigma), Buzdolabı, Santrifüj aleti, Elektroforez tankı, Görüntüleme sistemi, Güç kaynağı, PCR aleti, Biyogüvenlik Kabini ve Çeker Ocak'tan yararlanılmıştır.

2.2. Yöntem

Bu araştırma aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. Islatma Sıvısı Numunelerinin Toplanması
2. Islatma Sıvısı Numunelerinin Sıcaklık, pH ve Tuzluluk Değerlerinin Belirlenmesi
3. Islatma Sıvısı Numunelerinde Toplam Haloversatil Bakteri Sayısının Belirlenmesi
4. Islatma Sıvısı Numunelerinde Proteolitik ve Lipolitik Haloversatil Bakterilerin Toplam Sayılarının Belirlenmesi
5. Islatma Sıvısı Örneklerinden Haloversatil Bakterilerin İzolasyonu
6. Haloversatil Bakterilerin Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesi
7. Haloversatil Bakteriler Tarafından Farklı Amino Amino Asitlerin ve Farklı Şeker Kaynaklarının Kullanılması
8. Haloversatil İzolatlara Ait DNA'nın 16S rRNA Dizilerinin Belirlenmesi
9. İzolatların GenBank Erişim Numaralarının Alınması

10. Tuz, pH ve Sıcaklık Faktörlerinin Haloversatil Bakterilerin Gelişmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

11. Haloversatil Bakterilerin Hücre Morfolojisinin ve Pigmentasyonunun Araştırılması

12. Koyun Derisinin Kürlenmesi ve Saklanması İşlemi

13. Koyun Derisi Örneklerinin Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi için Hazırlanması.

2.2.1. Islatma sıvısı numunelerinin toplanması

Bu çalışmada, Kasım 2021’de Tuzla Deri Organize Sanayi Bölgesi’nde farklı deri fabrikalarından ıslatma sıvısı örnekleri (n=10) toplanmıştır. Bu numuneler steril şişelere alınmış ve steril numune torbalarına konulmuştur. Numunelerin soğuk tutularak laboratuvara taşınması amacıyla şişelerin buz aküleri ile minimum sürede laboratuvara getirilmesi sağlanmıştır.

2.2.2. Islatma sıvısı numunelerinin sıcaklık, pH ve tuzluluk değerlerinin belirlenmesi

Tuzlu su numunelerinin sıcaklığı ve pH’ı taşınabilir bir pH metre (PT 10, Sartorius Professional Meter PP-50 AG, Göttingen, Almanya) ile ölçülmüştür (Birbir ve Ilgaz, 1996). Tuzlu su numunelerinin tuzluluğu bir el refraktometresi (Reef Octopus, China) ile ölçülmüştür.



Şekil 2.1. El refraktometresi (Reef Octopus, China)

2.2.3. Islatma sıvısı numunelerinde toplam haloversatil bakteri sayısının belirlenmesi

Islatma sıvısı numunelerinde bulunan toplam haloversatil bakteri sayıları, ıslatma sıvılarının Halofilik Agar Besiyeri (HAB) ve Oligotrofik Agar Besiyeri (OAB) yüzeylerine plak yayma tekniği kullanılarak ekilmesiyle belirlenmiştir. Her numuneden ayrı ayrı 20 ml alınarak, 180 ml steril %1.17 NaCl solüsyonu içeren bir erlenmayere konulmuştur. Bu erlenmayerler 25°C ve 200 rpm'de 2 saat çalkalamalı bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Bakteri süspansiyonlarının direkt ve seri dilüsyonları (10^{-1} - 10^{-6}) HAB ve OAB'ın yüzeyine yayılmıştır. Petriler 24 saat süresince 35°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon periyodundan sonra petrilerde gelişen haloversatil bakteri kolonileri sayılmıştır (Norton ve Grant, 1988; Çağlayan, 2019).

2.2.4. Islatma sıvısı numunelerinde proteolitik ve lipolitik haloversatil bakterilerin toplam sayılarının belirlenmesi

Islatma sıvısı numunelerindeki toplam proteolitik haloversatil bakteri sayısını tespit etmek amacıyla Jelatin Agar Besiyeri (JAB) kullanılmıştır. Bakteri süspansiyonunun direkt ve seri dilüsyonları (10^{-1} - 10^{-6}) hazırlanarak, %1.17 NaCl ve %2 jelatin içeren besiyerlerinin yüzeyine yayılmıştır. Petriler 35°C'de 48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edildikten sonra jelatin besiyerlerinde gelişen mikroorganizma kolonilerinin üstüne Frazier Ayırıcı dökülmüştür. Çevresinde şeffaf zon meydana gelen kolonilerin proteaz pozitif olduğu belirlenmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Çağlayan ve ark., 2018; Çağlayan, 2019). Proteaz pozitif koloniler sayılmıştır. Islatma sıvısı numunelerindeki toplam lipolitik haloversatil bakteri sayısı, iki farklı besiyeri kullanılarak test edilmiştir: Tween 80 Agar Besiyeri (T80AB) ve Rodamin B-Zeytinyağı Agar Besiyeri (RZAB) (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Gutiérrez-Arnillas ve ark., 2016; Çağlayan ve ark., 2018; Çağlayan, 2019). Bakteri süspansiyonlarının direkt ve seri dilüsyonları T80AB ve RZAB'ın yüzeyine plağa yayma yöntemiyle ekilmiştir. Petrilerin 35°C'de 48 saat süresince inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu sürenin sonunda, Tween 80 besiyerinde kolonilerin çevresindeki opak bölgelerin varlığı, lipaz aktivitesinin pozitif olduğunun kanıtı olmuştur (Sánchez-Porro ve ark., 2003). İnkübasyon periyodu sonunda RZAB petrileri ultraviyole ışık altında kontrol edildiğinde, kolonilerin etrafındaki floresan turuncu zonların gözlemlenmesi ile lipaz aktivitesinin pozitif olduğu kabul

edilmiştir (Gutiérrez-Arnillas ve ark., 2016). Lipaz pozitif koloniler sayılmıştır (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Çağlayan ve ark., 2018; Çağlayan, 2019). Örneklerdeki canlı bakteri sayıları koloni oluşturan birim (kob) olarak hesaplanmıştır. Örneklerin besiyerlerine ekimi üç kez tekrarlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan tüm besiyeri ortamlarının pH'ı 7.5'e ayarlanmıştır.

2.2.5. Islatma sıvısı numunelerinden haloversatil bakterilerin izolasyonu

Her bir ıslatma sıvısı numunesinden 10 ml ayrı ayrı alınmış ve erlenmayerlerde bulunan %1.17 NaCl içeren 90 ml steril fizyolojik tuzlu su çözeltilerine eklenmiştir. Bu karışımlar, 25°C'lik bir çalkalayıcı etüvde 2 saat boyunca 200 rpm'de sürekli olarak karıştırılmıştır. Bu süspansiyonların direkt ve seri dilüsyonlarını (10^{-1} - 10^{-6}) içeren steril fizyolojik tuzlu su çözeltisi (%1.17 NaCl) kullanılarak hazırlanmıştır. Haloversatil bakterileri izole etmek için 100 µl bakteri dilüsyonu alınarak Halofilik Agar Besiyeri ve Oligotrofik Agar Besiyeri petrilere plağa yayım yöntemiyle inoküle edilmiştir. Ekim yapılmış petri kapları 35°C'lik bir inkübatörde 24 saatlik inkübasyon için bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda üreyen bakteri kolonilerinden tek düşenler steril özelerle alınmıştır. Daha sonra Halofilik Agar Besiyeri üzerine plağa çizgi tekniği kullanarak ekim yapılmıştır. Bu aşama, saf haloversatil bakteri kültürleri elde edilene kadar tekrar yapılmıştır (Gonzalez ve ark., 1978; Montalvo-Rodriguez ve ark., 1998).

2.2.6. Haloversatil bakterilerin enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi

Nişasta, kazein, Tween 80, ksilan, selüloz, jelatin, DNaz, pullulan ve üre agar besiyeri hazırlanmış ve hazırlandıktan sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Bu besiyerleri, haloversatil izolatlar tarafından amilaz, kazeinaz, lipaz, ksilanaz, selülaz, proteaz, DNaz, pullulanaz veya üreaz enzimlerinin üretimini araştırmak için kullanılmıştır. Haloversatil izolatlar steril özelerle alınarak plağa çizgi tekniği ile bu enzimatik besiyerlerine ekilmiştir. Daha sonra ekimi tamamlanan petripler 35°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edildikten sonra nişasta besiyeri üzerinde gelişen kolonilerin üzerine besiyerinin tamamını kaplayacak şekilde Gram'ın iyot çözeltisi eklenmiştir. Kolonilerin çevresinde şeffaf bölgelerin gözlemlenmesi ile nişasta hidrolizinin pozitif olduğu kabul edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002). Kazein besiyerinde üreyen kolonilerin çevresinde şeffaf bir zon meydana gelmesi, kazeinaz aktivitesinin pozitif olduğunu göstermiştir (Harley ve Prescott, 2002). Tween 80 Agar

Besiyeri üzerinde gelişen kolonilerin çevresinde opak bölgelerin varlığı, pozitif lipaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2003). Ksilan ve pullulan besiyerinde kolonilerin çevresinde gözlenen şeffaf zonlar, pozitif ksilanaz ve pullulanaz aktiviteleri olarak saptanmıştır (Sánchez-Porro Álvarez, 2005). Selüloz ortamında gelişen bakteri kolonilerinin üzerine Kongo Kırmızısı (%0,1) dökülmüş ve 30 dakika sonunda 1 M NaCl çözeltisi kullanılarak yıkanmıştır. Çevresinde şeffaf bir bölge bulunan kolonilerin pozitif selülaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Limauro ve ark., 2001). Jelatin Agar Besiyeri üzerinde gelişen kolonilerin üzerine Frazier reaktifi dökülmüştür. Kolonilerin çevresinde gözlemlenen şeffaf zonlar, proteolitik aktivitenin pozitif olduğunu göstermiştir (Harley ve Prescott, 2002; Sánchez-Porro Álvarez, 2005). DNaz besiyerinde gelişen kolonilerin üzerine 1 N HCl dökülmüş ve şeffaf zon oluşumu pozitif DNaz sonucu olarak kabul edilmiştir (Bilgehan, 1992; Harley ve Prescott, 2002). Üre agar için test tüpünde ekim yapılmıştır. Üre agar test tüplerinde pembe rengin oluşumu, üreaz enziminin üretildiğini göstermiştir (Christensen, 1946; Bilgehan 1992). Oksidaz enzimi için oksidaz test maddesi (tetra-dimetil-para-fenilendiamin dihidroklorür) filtre kağıdına emdirilmiştir. Sonrasında besiyerinde gelişen bakteri kolonileri steril öze ile alınmış ve filtre kağıdına sürülmüştür. 20 saniye süresince mavimor renk oluşumu pozitif oksidaz sonucu olarak kabul edilmiştir. Katalaz aktivitesi için besiyerindeki kolonilerin üzerine bir veya iki damla H₂O₂ (%3) damlatılmıştır. Kolonilerin gaz kabarcıkları oluşturması katalaz pozitif olarak kabul edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.2.7. Haloversatil bakteriler tarafından farklı amino amino asitlerin ve farklı şeker kaynaklarının kullanılması

Mikroorganizmaların metabolik özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak endüstriyel işlemlerde onlarla mücadele etmek için çok önemlidir. Bu çalışmada, haloversatil bakteri izolatlarının metabolik aktivitelerini değerlendirmek için 20 amino asit ve 21 şeker kullanılmıştır. Amino asit kaynaklarının kullanımı %1 (a/h) glisin, L-histidin, L-izolösin, L-sistin, L-glutamik asit, DL-fenilalanin, L-aspartik asit, L- alanin, trans-4-hidroksi-L-prolin, lösin, L-lisin, L-ornitin, L-metiyonin, L-prolin, L-arjinin, L-fenilalanin, L-tirozin, L-treonin, L-valin, L-serin kullanılarak incelenmiştir. Amino asitler için ortam %1.17 NaCl çözeltisi içinde %0.05 dekstroz, %0.5 sığır özü, %0.0005 piridoksal, %0.001

bromokresol moru, %0.5 pepton, %0.0005 kresol kırmızısı içermektedir. Bakteri inokulasyonundan sonra test tüpleri 35°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Test tüplerinde mor renk oluşması pozitif test sonucu olarak kabul edilmiştir (Çağlayan ve ark., 2018). Haloversatil izolatların farklı şeker kaynaklarının kullanımı %1 (a/h) D-sorbitol, D-mannitol, laktoz, D-(+)-dekstroz, D-(-)-fruktoz, ksilitol, miyo-inositol, D-(+)-galaktoz, D-(+)-melezitoz, D-(+)-selobiyoz, D-(-)-riboz, adonitol, D-(-)-salisin, maltoz, sukroz, D- (+)-trehaloz, D-(+)-ksiloz, D-(+)-melibiyoz, dulsitol, L-(+)-arabinoz, D-mannoz kullanılarak ayrı ayrı incelenmiştir. Şeker ortamı ise %0.001 (a/h) fenol kırmızısı ve %0.5 (a/h) maya özütü içermektedir. Kırmızı renkten sarı renge dönmesi pozitif test sonucu olarak kabul edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Çağlayan ve ark., 2018).

2.2.8. Haloversatil izolatlara ait DNA'nın 16S rRNA dizilerinin belirlenmesi

İzolatların saf kültürlerine genotipik ve fenotipik analizler uygulanmıştır (Çağlayan ve ark., 2015; Sánchez-Porro ve ark., 2011). Kromozomal DNA'yı izole etmek ve saflaştırmak amacıyla QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) ve QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) talimatlarına göre prosedürler takip edilmiştir.

2.2.8.1. İslatma sıvılarından izole edilen haloversatil bakterilerin genomik DNA'larının izolasyonu

İslatma sıvılarından izole edilmiş olan haloversatil bakterilerin DNA izolasyonu aşaması, DNA izolasyonu için kit olarak QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) kullanılmıştır.

QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)'e ait prosedür şu aşamalardan oluşmaktadır:

- Çalkalayıcı etüvde (100 rpm) 24 saat süresince 5 ml halofil besiyerinde üreyen haloversatil izolatlardan 1.5 ml eppendorf tüpüne alınmış ve 7500 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir.
- Bu işlem tamamlandığında üst kısımdaki süpernatant atılmış ve üstüne haloversatil bakterilerden 1.5 ml ilave edilerek üç defa santrifüjlenmiştir.
- Mikrosantrifüj tüplerinin dibinde bulunan pellete 180 µl enzim solüsyonu ilave edildikten sonra mikropipet ile pipetaj yapılmıştır.
- Homojen olan bakteri süspansiyonu 37°C'de 30 dk süresince bekletilmiştir.
- 200 µl ilave tampon ve 20 µl proteinaz K eklenip vortekslenmiştir.

- Bu bakteri süspansiyonu 56°C’de 30 dk bekletilmesinin ardından sıcak su banyosunda 95°C’de 15 dk bekletilmiştir.
- Sonrasında 2 dk 7500 rpm’de santrifüjlenmiştir.
- Süspansiyona 200 µl %96’lık etanol eklenmiş ve 10 saniye vortekslenmiştir. Daha sonrasında 3 dk 7500 rpm’de santrifüj işlemi uygulanmıştır.
- Bu aşama bittiğinde, süspansiyondan 750 µl alınıp spin kolon tüpünün içerisine konulmuş ve 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. İşlem sonlandığında santrifüj tüpünün üst kısmındaki filtre içeren bölüm alınmış ve steril toplama tüpüne konulmuştur.
- Filtreli mini spin kolon tüpüne 500 µl Yıkama Tamponu (1) ilave edilmiş ve 8000 rpm ile 1 dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir.
- Filtreli spin kolon tüpü başka bir steril toplama tüpüne yerleştirilerek 500 µl Yıkama Tamponu (2) ilave edilmiş ve 14000 rpm ile 3 dk süresince santrifüj yapılmıştır.
- Filtreli spin kolon tüpü mikrosantrifüj tüpünün üst kısmına yerleştirilip DNA’nın kolondan elde edilmesi için 200 µl Elüsyon Tamponu ilave edilerek 8000 rpm ile 1 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır.
- İzole edilen DNA’ların jelde yürütülmesi tamamlandıktan sonra, -20°C’de korunmuştur.

2.2.8.2. Agaroz jelde yürütülmesi

Erlenmayere 0.4 g agaroz ve 40 ml 1X TAE çalışma tamponu eklenerek karıştırılmıştır. Erlenmayer 56°C mikrodalgada 1 dk ısıtılıp agaroz eritilmiştir. Sonrasında erlenmayere 2 dk sonra 2.5 µl jel boyasından eklenmiştir. Elektroforez tankının içerisine jel tepsi ve tarak konulmuştur. DNA ve RNA “-” den “+” yüke doğru yöneldiği bilindiğinden dolayı tarak konulurken kuyucukların “-” yük tarafına yakın olarak yerleştirilmesine özen gösterilmiştir. Erimiş agaroz tepsiye döküldükten 10 dk sonrasında tamamen donduktan sonra tarak çıkarılmıştır. Üzerinde kuyucuklar bulunan ve katı hale geçmiş olan agaroz jelin yüzeyini kaplayacak şekilde 1X TAE çalışma tamponundan eklenmiştir. Birinci kuyucuğa 10 µl ladder DNA eklenmiştir. Parafilm üzerine 6 adet örnek için 5 µl jel-yükleme boyası ve ayrı ayrı her örnekten 5 µl PCR ürünü mikropipet ile karıştırılmıştır. Bu karışımlar ikinci kuyucuktan başlanarak sırasıyla boş kuyucuklara yerleştirilmiştir. Bu işlemin sonunda tankın kapağı kapatılmıştır. Tankın kabloları

takılmış ve yürütülmesi için 30 dk, 80 V, 100 mA olarak ayarlamalar yapılmıştır (Sambrook ve Russell, 2001). Jel görüntüleme makinesi altında görüntülenmiştir.

2.2.8.3. Haloversatil özellikteki izolatların 16S rRNA gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılması

Tüplere 5 µl 10X PCR Tamponu (500 mM steril KCl; 100 mM Tris-HCl, pH 8.3), 0.5 µl Taq DNA polimeraz, 2.5 µl MgCl₂ (25 mM), 1 µl genomik DNA, 8 µl dNTPs, 28 µl ddH₂O, 2.5µl geri primeri ve 2.5 µl ileri primeri ilave edilmiştir (Mullis ve Faloona, 1987). İleri primer 16F27'den (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') ve geri primer 16R1492'den (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') yararlanılmıştır. İlk denatürasyon 95°C'de 5 dk, 25 döngü 94°C sıcaklıkta 1 dk (denatürasyon), 50°C sıcaklıkta 1 dk (hibridizasyon) ve 72°C sıcaklıkta 2 dk (polimerizasyon) uygulanmıştır (Sambrook ve Russell, 2001).

2.2.8.4. Haloversatil özellik gösteren izolatların tanımlanması

16S rRNA ürünleri QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) ile saflaştırılıp dizilemeye gönderilmiştir.

QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) prosedürü aşağıdaki şekildedir:

- 45 µl PCR ürüne 225 µl 1/5 oranında Bağlayıcı Tampon ilave edilmiştir. Bu karışım kolon tüplerine mikropipet aracılığıyla konulmuştur. Kolon tüpü 13000 rpm'de 1 dk santrifüj uygulanmıştır.
- Toplama tüpünde bulunan atık sıvı uzaklaştırılarak tüpler tekrardan iç içe konulmuştur.
- PCR ürünüde bulunan kalıntıların uzaklaştırılması amacıyla kolon tüpünün içerisine 750 µl Yıkama Tamponu ilave edilerek 13000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
- Kolon tüpünün filtreli kısmı mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir.
- DNA'yı altta bulunan mikrosantrifüj tüpüne almak için 50 µl Elüsyon Tamponu ilave edilmiş ve 13000 rpm'de 1 dk santrifüjlenmiştir.
- Saflaştırılan PCR ürünleri 16S rRNA geninin baz dizisi analizlerinin yapılması amacıyla diziye gönderilmiştir.

- Her bir izolatın ileri primer ve geri primer dizilemesi sonuçlarına ChromasPro Programı aracılığıyla bakılmıştır.
- Elde edilen 16S rRNA dizileri ChromasPro, BLAST ve EZTAXON arama programlarıyla benzerlik oranları tespit edilmiştir.

2.2.9. İzolatların GenBank Erişim Numaralarının Alınması

İzolatların 16S rRNA dizi verileri, ilgili erişim numaraları altında NCBI ve GenBank nükleotid dizi bilgisinde depolanmıştır.

2.2.10. Tuz, pH ve sıcaklık faktörlerinin haloversatil bakterilerin gelişmesi üzerine etkilerinin incelenmesi

Deneyin bu kısmı, her bir izolatın optimal büyüme koşullarını belirlemek için gerçekleştirilmiştir. Haloversatil bakteri izolatlarının tuz gereksinimini ve tuz toleransını incelemek için farklı tuz konsantrasyonları (5.1 M, 4.2 M, 3 M, 2.5 M, 2 M, 1.7 M, 1.36 M, 0.85 M, 0.51 M, 0.34 M, 3.4 M, 0.2 M ve 0.17 M) içeren Halofilik Agar Besiyeri ve tuz içermeyen Halofilik Agar Besiyeri petripleri kullanılmıştır. İzolatların pH gereksinimi ve pH toleransını saptamak için farklı pH değerlerinde (13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4) ve 0.2 M NaCl içeren Halofilik Agar Besiyeri petripleri kullanılmıştır. Ayrıca izolatların farklı sıcaklıklarda (60°C, 55°C, 50°C, 45°C, 40°C, 37°C, 32°C, 28°C, 25°C, 20°C, 10°C, 4°C) gelişme yetenekleri test edilmiştir (Çağlayan, 2019).

2.2.11. Haloversatil bakterilerin hücre morfolojisinin ve pigmentasyonunun araştırılması

Saf bakteri kolonilerinin 24 saatlik kültürlerinin hücre morfolojisi ve pigmentasyonu, izolatların optimum olarak geliştikleri koşullar altında incelenmiştir. Işık mikroskobu kullanılarak her izolatın hücre morfolojisi araştırılmıştır. Gram negatif ve Gram pozitif izolatları ayırt etmek için standart işlem prosedürleri dikkate alınarak Gram boyama uygulanmıştır (Sánchez-Porro ve ark., 2011).

Uygulanan Gram boyama işleminin aşamaları şu şekildedir (Harley ve Prescott, 2002):

- Pipet aracılığıyla bir damla distile su alınıp temiz bir lamın üzerine damlatılmıştır. 24 saatlik saf bakteri kolonisinden alınmış ve lamın yüzeyinde ince bir tabaka olacak şekilde sürülerek havada kuruması için bırakılmıştır.
- Kuruma aşaması tamamlanan lam ateşten birkaç kez geçirilmiş ve böylece bakteriler lama fikse edilmiştir.
- Lamın üzerine kristal viyole döküldükten sonra 1 dakika bekletilmiş ve distile su ile lamın bütün yüzeyi yıkanarak kristal viyole uzaklaştırılmıştır.
- Lamın üzerine Gram'ın iyot çözeltisi dökülüp 1 dakika bekletilerek distile su ile tekrar yıkanmıştır.
- Sonrasında preparat üzerine %96'lık etil alkol damlatılmış ve 15-30 saniye bekletmenin ardından distile su ile yıkanmıştır.
- Preparatın üzerine safranin (karşıt boya) dökülerek 1 dakika bekletilmiş ve tekrar distile su ile yıkanıp havada kuruması için bırakılmıştır.
- Boyama işlemi tamamlandıktan sonra preparat mikroskop ile incelenmiştir. İnceleme sonrası kırmızı-pembe renkli bakteriler Gram-negatif olarak tanımlanırken, mor renkli bakteriler ise Gram-pozitif olarak tanımlanmıştır.

2.2.12. Koyun derisinin kürlenmesi ve saklanması işlemi

Proteaz ve lipaz üreten haloversatil bakteri türlerinin (*Terribacillus halophilus*, *Brevibacterium luteolum*, *Bacillus australimaris*, *Bacillus siamensis* ve *Bacillus mojavensis*) karışık kültürünün koyun derisi örneğine verdiği zarar, organoleptik yöntem ve Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak araştırılmıştır. İlk olarak taze kesilmiş koyun derisi numunesi kesilerek iki parça elde edilmiştir. 30 ml tuzlu su çözeltisi (%20 NaCl) ve her biri 10 g ağırlığında koyun derisi parçaları hazırlanmış ve iki erlenmayere ayrı ayrı ilave edilmiştir. Kontrol numunesi olarak sadece steril tuzlu su solüsyonu ile muamele edilmiş koyun derisi kullanılmıştır. Steril fizyolojik tuzlu su çözeltisi (%20 NaCl) içinde, proteaz ve lipaz enzimleri üreten her izolat süspanse edilmiş ve bu bakteri süspansiyonu 0.5 McFarland bulanıklık standardına (10^8 kob/ml) eşdeğer olacak şekilde ayarlanmıştır. Her bir test izolatından 10 ml bakteri süspansiyonu, tuzlu su çözeltileri ve koyun derisi parçası içeren ikinci şişeye eklendikten sonra, şişeler 20 saat boyunca 24°C'de 60 rpm'de çalkalanmıştır. Daha sonra kürlenmiş koyun derisi örnekleri şişelerden alınmış ve 30 gün oda sıcaklığında saklanmıştır. Bekleme süresinden sonra numuneler

taramalı elektron mikroskobu altında incelenmiştir (Bailey ve Birbir, 1996). Ayrıca, 30 gün boyunca koyun derisi örneklerinde kötü koku, yapışkan görünüm ve kıl kayması gibi organoleptik özellikler gözlenmiştir.

2.2.13. Koyun derisi örneklerinin taramalı elektron mikroskobunda incelenmesi için hazırlanması

Fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.2) ile hazırlanan glutaraldehit solüsyonu (%4) koyun derisi numunelerini sabitlemek için 30 dakika kullanılmıştır. Fosfat tamponu (0.1 M) kullanılarak koyun derisi numuneleri 10 dakika boyunca üç kez yıkanmıştır. Koyun derileri, bir saat boyunca 24°C'de fosfat tamponu (0.1 M) içinde hazırlanan osmiyum tetroksit (%1) ile muamele edilmiştir. Daha sonra numuneler distile suda ve %95, %75, %50, %35 saf etanol olmak üzere 15 dakika iki kez yıkanmıştır. Havayla kurutma işleminde, etanol-HMDS [1:2 (h/h)] (1×30 dk), etanol-heksametildisilazan (HMDS) [1:1 (h/h)] (1×30 dk) ve HMDS karışımı (2×30 dk) kullanılmıştır. Daha sonra HMDS uzaklaştırılarak koyun postu örnekleri desikatöre konularak 14 saat bekletilmiştir. Çift taraflı yapışkan bant ile kaplanan kısımlar deri numunelerinin tabakaların üzerlerine yerleştirilmesinde kullanılmıştır. Ardından Taramalı Elektron Mikroskobu (Fei Quanta 450 FEG ESEM SEM, Model FEG 450) ile örnekler gözlemlenmiştir (Murtey ve Ramasamy, 2016).

BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. İslatma Sıvısı Numunelerinin Toplanmasına Ait Bulgu ve Tartışma

Çalışmamızda araştırdığımız ıslatma sıvısı numuneleri Tuzla-İstanbul Deri Organize Sanayi Bölgesindeki çeşitli tabakhanelerden toplanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız ıslatma sıvısı örneklerine ait tarih ve hava sıcaklığı bilgileri Tablo 3.1’de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. İslatma sıvısı örnekleri ile ilgili bilgiler

Örnek Numaraları	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Örneklerin Alındığı Tarih	04.11.2021	04.11.2021	04.11.2021	04.11.2021	04.11.2021	08.11.2021	08.11.2021	08.11.2021	08.11.2021	08.11.2021
Örneklerin Alındığı Tarihteki Hava Sıcaklığı	23°C	23°C	23°C	23°C	23°C	18°C	18°C	18°C	18°C	18°C

3.2. İslatma Sıvısı Numunelerinin Sıcaklık, pH ve Tuzluluk Değerlerine Ait Bulgu ve Tartışma

Bu çalışmada, ıslatma sıvısı numunelerinin pH değerleri 8.80 ile 9.30 ve tuzluluk oranları %3.5 ile %5.5 arasında değişmektedir (Tablo 3.2). İslatma sıvısı numunelerinin pH ve tuz konsantrasyonu, haloversatil bakterilerin gelişmesi için uygundur.

Tablo 3.2. Islatma sıvılarının pH değerleri ve tuzluluk oranları

Islatma Sıvısı Numuneleri	pH	Tuzluluk Oranı (%)
ISN*1	9.18	%4
ISN2	9.15	%4
ISN3	9.17	%4
ISN4	9.17	%3.5
ISN5	9.15	%4
ISN6	8.80	%5
ISN7	8.82	%5.5
ISN8	9.27	%4.5
ISN9	9.30	%4.7
ISN10	9.29	%5

ISN: Islatma Sıvısı Numunesi

3.3. Islatma Sıvısı Numunelerinde Toplam Haloversatil Bakteri, Lipolitik ve Proteolitik Haloversatil Bakteri Sayılarına Ait Bulgu ve Tartışma

Islatma sıvısı numunelerindeki toplam haloversatil bakteri sayısı, Oligotrofik Agar Besiyeri üzerinde 10^4 - 10^6 kob/ml ve Halofilik Agar Besiyeri üzerinde 10^4 - 10^6 kob/ml olarak saptanmıştır. Örneklerdeki toplam proteolitik haloversatil bakteri sayısı, Jelatin Agar Besiyerinde 10^4 - 10^5 kob/ml olarak bulunmuştur. Ayrıca toplam lipolitik haloversatil bakteri sayısı Tween 80 Agar Besiyerinde 10^4 - 10^5 kob/ml ve Rodamin B-Zeytinyağı Agar Besiyerinde 10^3 - 10^5 kob/ml olarak saptanmıştır (Tablo 3.3).

Koyun ve keçi derisi numuneleriyle yapılmış bir çalışmada ılımlı halofil bakteri sayıları (7.9×10^6 - 1.9×10^7 kob/g), proteolitik ılımlı halofil bakteri sayıları (1.3×10^6 - 1.5×10^6 kob/g) ve lipolitik ılımlı halofilik bakteri sayıları (9.6×10^5 - 1.9×10^6 kob/g) saptanmıştır (Çağlayan ve ark., 2018). Tuzlanmış deri örneklerinde ılımlı halofil bakterilerin (10^5 - 10^8 kob/g) varlığı daha önce bildirilmiştir (Akpolat ve ark., 2015).

Bir araştırmada, tuzlanmış deri numunelerinde bulunan ılımlı halofil bakterilerin (10^2 - 10^7 kob/g), proteolitik ılımlı halofil bakterilerin (10^2 - 10^5 kob/g) ve lipolitik ılımlı halofil bakterilerin (10^5 - 10^6 kob/g) sayımları da bildirilmiştir (Çağlayan ve ark., 2015). Derinin

muhafazası işlemindeki yetersizliğin tuzlanmış derilerde ve ıslatma sıvılarında bakteri gelişimine neden olduğu açıktır.

Tablo 3.3. Islatma sıvısı numunelerinde toplam haloversatil bakteri sayısı

Islatma Sıvısı Numuneleri	OAB	HAB	JAB	T80AB	RZAB
ISN1	5.4×10^4	6.7×10^4	1.2×10^4	2.8×10^4	7.0×10^3
ISN2	3.8×10^4	7.2×10^4	2.5×10^4	3.0×10^4	9.0×10^3
ISN3	5.8×10^4	7.3×10^4	1.7×10^4	3.9×10^4	6.0×10^3
ISN4	7.0×10^4	9.6×10^4	2.2×10^4	4.2×10^4	7.0×10^3
ISN5	6.0×10^4	8.5×10^4	3.7×10^4	2.3×10^4	1.1×10^4
ISN6	1.1×10^6	1.1×10^6	3.4×10^5	2.5×10^5	4.2×10^4
ISN7	1.0×10^6	1.6×10^6	5.8×10^5	4.6×10^5	6.1×10^4
ISN8	4.6×10^5	6.3×10^5	3.9×10^5	4.0×10^5	9.6×10^4
ISN9	6.3×10^5	7.8×10^5	3.3×10^5	3.9×10^5	1.1×10^5
ISN10	7.1×10^5	8.2×10^5	3.1×10^5	2.4×10^5	1.5×10^5

OAB: Oligotrofik Agar Besiyeri, **HAB:** Halofilik Agar Besiyeri, **JAB:** Jelatin Agar Besiyeri, **T80AB:** Tween 80 Agar Besiyeri, **RZAB:** Rodamin B-Zeytinyağı Agar Besiyeri.

3.4. Islatma Sıvısı Örneklerinden Haloversatil Bakterilerin İzolasyonuna Ait Bulgu ve Tartışma

Bu çalışmada, ıslatma sıvısı örneklerinden beş farklı haloversatil bakteri türü izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bunlar: *Terribacillus halophilus* (HBİ-1 izolatu), *Brevibacterium luteolum* (HBİ-2 ve HBİ-4 izolatları), *Bacillus australimaris* (HBİ-3 izolatu), *Bacillus siamensis* (HBİ-5 izolatu), *Bacillus mojavensis* (HBİ-6 izolatu)'tir.

3.5. Haloversatil Bakterilerin Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesine Ait Bulgu ve Tartışma

Enzimatik sonuçlar, tüm izolatlar tarafından sırasıyla %83, %83, %67, %50, %17 lipaz, proteaz, kazeinaz, amilaz, selüloz üretildiğini göstermiştir. Ancak izolatlar tarafından ksilanaz, DNaz, pullulanaz ve üreaz enzimleri üretilmediği tespit edilmiştir (Tablo 3.4).

Terribacillus halophilus, *Bacillus siamensis* ve *Brevibacterium luteolum* katalaz pozitif, oksidaz negatif olarak belirlenirken; *Bacillus australimaris* ve *Bacillus mojavensis* ise katalaz ve oksidaz pozitif olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.4. Haloversatil bakteri izolatlarının enzimatik özellikleri

İzolatlar	HBİ*-1	HBİ-2	HBİ-3	HBİ-4	HBİ-5	HBİ-6	Pozitif İzolat Sayısı	Pozitif İzolatların Yüzdesi
Enzimler								
Amilaz	-	+	-	+	+	-	3	50%
Kazeinaz	-	+	-	+	+	+	4	67%
Lipaz	+	+	+	+	-	+	5	83%
Ksilinaz	-	-	-	-	-	-	0	-
Selülaz	-	-	-	-	+	-	1	17%
Proteaz	+	+	+	+	+	-	5	83%
DNaz	-	-	-	-	-	-	0	-
Pullulanaz	-	-	-	-	-	-	0	-
Üreaz	-	-	-	-	-	-	0	-

HBİ: Haloversatil Bakteri İzolatı

3.6. Haloversatil Bakteriler Tarafından Farklı Amino Amino Asitlerin ve Farklı Şeker Kaynaklarının Kullanılmasına Ait Bulgu ve Tartışma

Tüm izolatların L-serin kullandığı gözlemlenirken, izolatların hiçbirinin L-alanin, L-izolösin, L-sistin, Lösin, L-metionin, L-tirozin ve L-valin amino asit kaynaklarını kullanmadığı tespit edilmiştir. L-arjinin, L-histidin, L-lizin ve L-treonin amino asitleri ise sadece bir izolat tarafından kullanılmış ve bu amino asitlerin izolatlar tarafından kullanım yüzdeleri %17 olarak saptanmıştır. L-aspartik asit ve L-fenilalanin ise iki izolat tarafından kullanılmış olup kullanım yüzdeleri %33'tür. Glisin ve L-ornitin üç izolat tarafından kullanılmış olup kullanım yüzdeleri %50'dir. L-glutamik asit, DL-fenilalanin, trans-4-hidroksi-L-prolin ve L-prolin aminoasitleri dört izolat tarafından kullanıldığı tespit edilmiş ve kullanım yüzdeleri %66 olarak belirlenmiştir (Tablo 3.5).

İzolatların şeker kaynaklarını kullanım oranları incelendiğinde, tüm izolatların laktoz, D-(+)-dekstroz, miyo-inositol, D-(+)-selobiyoz, adonitol, D-(-)-salisin, dulsitol ve D-mannoz kullandığı ve hiçbir izolatın D-sorbitol, D-(+)-galaktoz, maltoz, D-(+)-ksiloz, D-(+)-melibiyoz kaynaklarını kullanmadığı tespit edilmiştir. Sadece bir izolat sükroz kullanmış ve bu kaynağın izolat tarafından kullanım oranı %17 olarak belirlenmiştir. İki izolat D-(+)-melezitoz kullanmış olup kullanım oranı %33'tür. Üç izolat D-(-)-riboz

kullanmış ve kullanım oranı %50 olarak saptanmıştır. D-(+)-trehaloz, D-(-)-fruktoz ve D-mannitol ise dört izolat tarafından kullanılmış olup kullanım oranları %66'dır. Beş izolat L-(+)-arabinoz ve ksilitol kullanmış olup kullanım oranları %83'tür (Tablo 3.5).

Bu karbon ve enerji kaynaklarının, ıslatma sıvısı örneklerinden izole edilen haloversatil bakteriler tarafından kullanılması, ıslatma işlemi sırasında bu bakterilerin deri numuneleri üzerindeki potansiyel zararlı etkisini göstermiştir.

Tablo 3.5. Islatma sıvısı numunelerinden izole edilen haloversatil bakteri izolatlarının farklı amino asit ve şeker kaynaklarını kullanımı

Tür adları	<i>Terribacillus halophilus</i>	<i>Brevibacterium luteolum</i>	<i>Bacillus australimaris</i>	<i>Brevibacterium luteolum</i>	<i>Bacillus siamensis</i>	<i>Bacillus mojavensis</i>
İzolat numaraları	HBİ-1	HBİ-2	HBİ-3	HBİ-4	HBİ-5	HBİ-6
Amino asit kaynakları						
L-arjinin	+	-	-	-	-	-
L-histidin	-	-	-	-	+	-
DL-fenilalanin	+	+	-	+	-	-
L-glutamik asit	+	+	-	+	+	-
L-izolösin	-	-	-	-	-	-
L-sistin	-	-	-	-	-	-
Glisin	+	+	-	+	-	-
L-valin	-	-	-	-	-	-
L-alanin	-	-	-	-	-	-
Trans-4-hidroksi-L-prolin	+	+	-	+	+	-
Lösin	-	-	-	-	-	-
L-lizin	-	-	-	-	+	-
L-ornitin	-	+	-	+	+	-
L-metionin	-	-	-	-	-	-
L-prolin	+	+	-	+	+	-
L-fenilalanin	+	-	-	-	+	-
L-tirozin	-	-	-	-	-	-
L-treonin	-	-	-	-	+	-
L-aspartik asit	-	-	-	-	-	-
L-serin	+	+	+	+	+	+
Şeker kaynakları						
D-sorbitol	-	-	-	-	-	-
D-mannitol	-	+	+	+	-	+
Laktoz	+	+	+	+	+	+
D-(+)-dekstroz	+	+	+	+	+	+
D-(-)-fruktoz	-	+	+	+	-	+
Ksilitol	+	+	+	+	-	+
Miyo-inositol	+	+	+	+	+	+
D-(+)-galaktoz	-	-	-	-	-	-
D-(+)-melezitoz	-	-	+	-	-	+
D-(+)-selobiyoz	+	+	+	+	+	+
D-(-)-riboz	-	+	+	+	-	-
Adonitol	+	+	+	+	+	+
D-(-)-Salisin	+	+	+	+	+	+
Maltoz	-	-	-	-	-	-
Sükroz	-	-	+	-	-	-
D-(+)-trehaloz	+	+	-	+	+	-
D-(+)-ksiloz	-	-	-	-	-	-
D-(+)-melibioz	-	-	-	-	-	-
Dulsitol	+	+	+	+	+	+
L-(+)-arabinoz	-	+	+	+	+	+
D-manno	+	+	+	+	+	+

3.7. Haloversatil İzolatlar Ait DNA'nın 16S rRNA Dizilerinin Belirlenmesine Ait Bulgu ve Tartışma

27F primeri (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3') ve 1492R primeri (5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3') ile PCR kullanılarak haloversatil bakteri izolatlarının 16S rRNA genleri amplifiye edilmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2011). Arti Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda (Türkiye), izole edilen bakterilerin taksonomik karakterizasyonu amacıyla 16S rRNA gen dizileri tanımlanmıştır. EzTaxon-e aracı ve ChromasPro yazılımı kullanılarak izolatların dizi uzunluğu (1410-1472 bp), en yakın akraba türler ve 16S rRNA dizi benzerlikleri (%99-100) arasındaki ilişki belirlenmiştir (Kim et al., 2012).

3.8. Erişim Numaralarının Belirlenmesine Ait Bulgu ve Tartışma

HBİ-1, HBİ-2, HBİ-3, HBİ-4, HBİ-5 ve HBİ-6 izolatlarının 16S rRNA dizi verileri NCBI ve GenBank'ta depolanmıştır. İlgili erişim numaraları altında nükleotid dizi bilgisi: OP415442, OP415561, OP412770, OP415427, OP415545, OP435718 şeklindedir.

3.9. Tuz, pH ve Sıcaklık Faktörlerinin Haloversatil Bakterilerin Gelişmesi Üzerine Etkilerine Ait Bulgu ve Tartışma

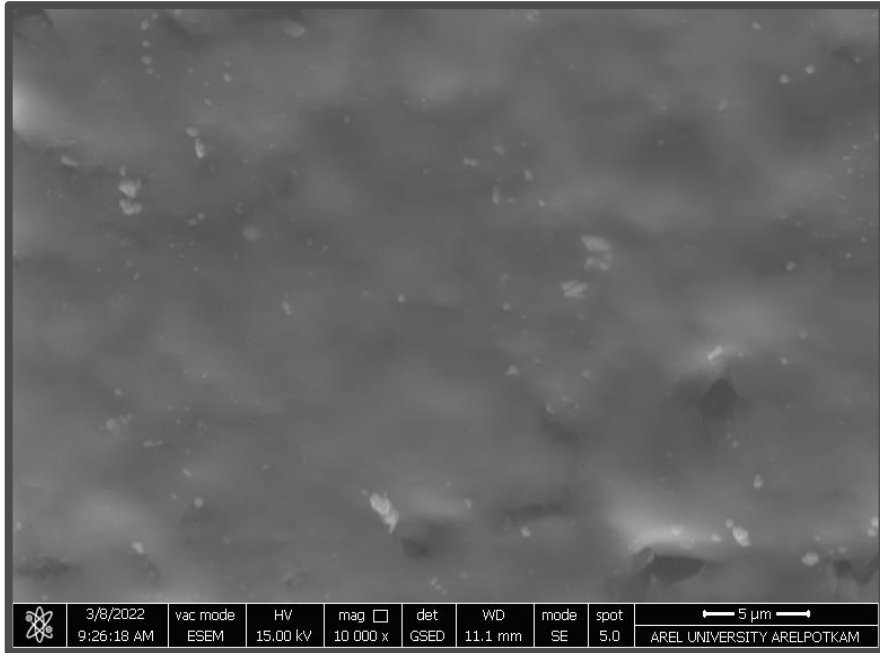
Tüm izolatlar 0-3 M sodyum klorür, pH 4-12 ve 10-50°C'e sahip ortamlarda üreyebilmiştir. Tüm izolatların optimum olarak 0.2 M sodyum klorürde büyüme gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle bu izolatlar haloversatil olarak kabul edilmiştir (Kushner ve Kamekura, 1988; Arahal ve Ventosa, 2002; Oren, 2013). Bir çalışmada, haloversatil *Bacillus haynesii*, *Staphylococcus petrasii* subsp. *jettensis*, *Kocuria sediminis*, *Bacillus simplex*, *Bacillus subtilis* subsp. *stercoris*, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, *Vibrio olivae*, *Bacillus pumilus*, *Rhodococcus enclensis*, *Marinomonas communis*, *Staphylococcus saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, *Pseudomonas psikrotolerans*, *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis*, *Vibrio neocaledonicus* türleri İzmir Çamaltı Tuzlasında üretilen tuz örneklerinden izole edilmiştir (Çağlayan, 2019). Bu izolatların 0-3 M sodyum klorür, pH 5-12 ve 10-55°C'de üreyebildikleri bildirilmiştir (Çağlayan, 2019).

3.10. Haloversatil Bakterilerin Hücre Morfolojisinin ve Pigmentasyonuna Ait Bulgu ve Tartışma

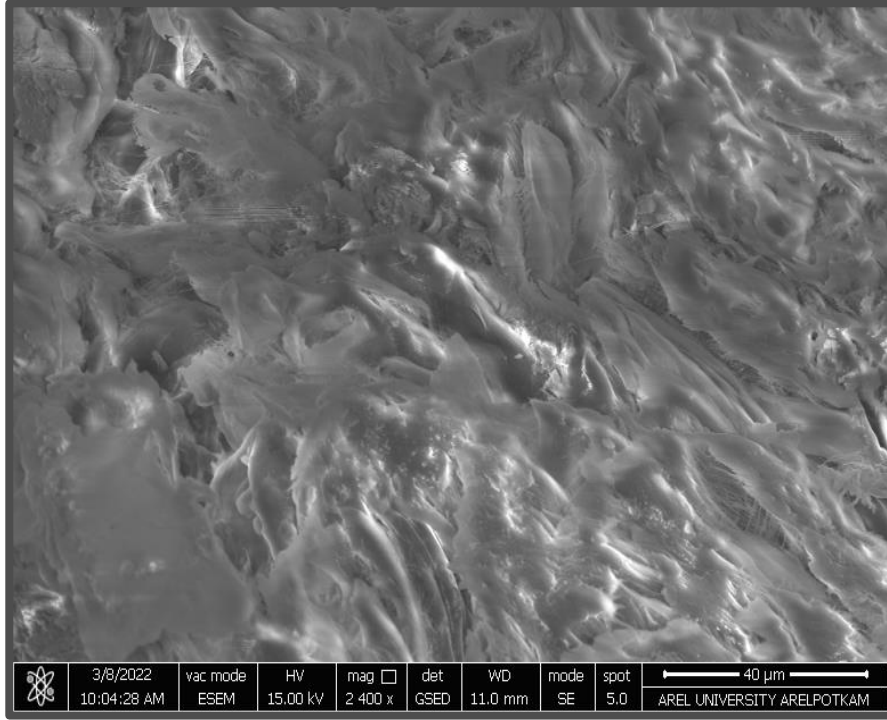
Bu çalışmada, ıslatma sıvısı örneklerinden izole edilen ve tanımlanan tüm izolatlar (*Terribacillus halophilus*, *Brevibacterium luteolum*, *Bacillus australimaris*, *Bacillus siamensis*, *Bacillus mojavensis*) Gram pozitif olarak tespit edilmiştir. İzolatların hücre morfolojileri çubuk ve kavisli çubuk şeklinde gözlemlenmiştir.

3.11. Koyun Derisinin Kürlenmesi, Saklanması ve Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi İşlemlerine Ait Bulgu ve Tartışma

Haloversatil bakteri türlerinin karışık kültürü ile muamele edilen deri örneklerindeki morfolojik değişiklikleri incelemek için bir taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır (Şekil 3.1 ve 3.2). Haloversatil bakteri türlerinin karışık kültürü ile muamele edilen deri numunesinin bakteri türlerinin hidrolitik aktivitelerinden olumsuz şekilde etkilendiği gözlemlenmiştir.



Şekil 3.1. Fizyolojik tuzlu su ile muamele edilmiş koyun derisi örneğinin SEM mikrografi (Kontrol). bar = 40 µm



Şekil 3.2. Haloversatil bakteri türlerinin karışık kültürü ile muamele edilmiş koyun derisi örneğinin SEM mikrografı. bar = 40 µm

Deri endüstrisinde, deri ve postları kürelemek için tuz kullanılmasına rağmen diğer araştırmacıların çalışmaları; aşırı halofil arkeler ve ılımlı halofil, mezofilik ve halotolerant bakteriler gibi farklı mikroorganizmaların tuz, tuzlu postlar, tuzlu deriler ve ıslatma sıvılarında bulunduğunu göstermiştir (Rodríguez-Valera ve ark., 1985; Ventosa ve ark., 1998; Elevi ve ark., 2004; Birbir ve ark., 2007; Çağlayan ve ark., 2015; Akpolat ve ark., 2015; Çağlayan ark., 2017; Çağlayan ark., 2018; Yılmaz ve Birbir, 2019).

Islatma sıvısı numunelerinin yüksek organik içeriği (yapısal proteinler, yapısal olmayan proteinler, mineral tuzlar, yağ, amino asitler) nedeniyle, yüksek sayılarda hidrolitik haloversatil bakteri türleri gelişebilmektedir. Bu mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri post ve deri yapısının bozulmasına neden olabilmektedir.

BÖLÜM 4. SONUÇLAR

Bu araştırma, deri endüstrisinden toplanan ıslatma sıvısı numunelerinde enzim üreten haloversatil bakterilerin taranması ve saptanmasına katkıda bulunan ilk çalışmadır. Deneysel sonuçlar, on adet ıslatma sıvısı örneğinde enzim üreten haloversatil bakteri türlerinin bulunduğunu göstermiştir. Bu türler zorlu ortamlarda, çok çeşitli tuz konsantrasyonlarında, geniş pH ve sıcaklık aralığında hayatta kalabilmektedir. Haloversatil bakteri, lipolitik ve proteolitik haloversatil bakteri toplam sayıları koyun derisinde bozunmaya neden olacak kadar yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deride bulunan çeşitli amino asit ve şeker kaynaklarının ıslatma sıvısı izolatlarının tamamı tarafından kullanıldığı belirlenmiştir. Bu sonuç, haloversatil bakterilerin mikrobiyal etkileri ile koyun derisindeki yapısal maddelerin parçalanmasında rol oynadığını göstermiştir. Islatma sıvılarından enzim üreten haloversatil bakterilerin izolasyonu, ıslatma işleminde alınan önlemlerin yetersizliğini göstermektedir. Islatma işleminin etkili olabilmesi için uygun bakterisit yeterli miktarda kullanılmalıdır. Ayrıca ıslatma işleminde kullanılan bakterisitlerin, ıslatma sıvılarından izole edilen haloversatil bakterilere karşı etkinliği sık sık kontrol edilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Agarwal, S., Krishnamurthy, K. (2019) Histology, skin in StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- [2] Akpolat, C., Ventosa, A., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Caglayan, P. (2015) Molecular Identification of Moderately Halophilic Bacteria and Extremely Halophilic Archaea Isolated from Salted Sheep Skins Containing Red and Yellow Discolorations. *Journal of American Leather Chemists Association*, 110(7), 211-220.
- [3] An, S.Y., Asahara, M., Goto, K., Kasai, H., Yokota, A. (2007) *Terribacillus saccharophilus* gen. nov., sp. nov. and *Terribacillus halophilus* sp. nov., spore-forming bacteria isolated from field soil in Japan. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(1), 51-55.
- [4] Anandan, R., Dharumadurai, D., Manogaran, G.P. (2016) An introduction to *actinobacteria*. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. IntechOpen.
- [5] Anderson, R. (1992) Wet Processing, Beamhouse Processing. *Leather*, 18-24.
- [6] Arahal, D.R., Ventosa, A. (2002) Moderately Halophilic and Halotolerant Species of *Bacillus* and Related Genera. *Applications and Systematics of Bacillus and Relatives*, 83-99.
- [7] Ashour, S.M., Mostafa, S.A., Ahmed, S.A. (2011) Halophilic and Halotolerant Bacteria in Mangrove Ecosystem South Safaga on the Red Sea, Egypt. *African Journal of Biological Sciences*, 7(1), 61-68.
- [8] Aslan, E., Birbir, M. (2011a) ‘‘Examination of Efficiency and Sufficiency of Salt-Pack Curing Method’’, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 95(3), 98-103.
- [9] Bailey, D.G. ve Birbir, M. (1993) ‘‘A Study of the Extremely Halophilic Microorganisms Found on Commercially Brine-Cured Cattle Hides’’, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 88, 285.
- [10] Bailey, D.G., Birbir, M. (1996) The Impact of Halophilic Organisms on the Grain Quality of Brine Cured Hides. *Journal American Leather Chemists Association*, 91, 47-51.

- [11] Bailey, D.G. (2003) The Preservation of Hides and Skins. Journal of the American Leather Chemists Association, 98, 308-319.
- [12] Baird, B.E., Lucia, L.M., Acuff, G.R., Haris, K.B., Sawell, J.W. (2006) Beef Hide Antimicrobial Interventions As a Means of Reducing Bacterial Contamination. Meat Science, 73, 245-248.
- [13] Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G.P. (2016) Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80(1), 1-43.
- [14] Bediz-Ölçer, A., Gönül, N. (2002) Perkütan Absorpsiyon ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 31(1), 33-49.
- [15] Berber, D. (2009) Tuzlarda, Tuzlanmış ve Islatılmış Ham Derilerdeki Bakteriye Popülasyonun İncelenmesi. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 10-12.
- [16] Berber, D., Birbir, M. (2010) Examination of Bacterial Populations in Salt, Salted Hides, Soaked Hides and Soak Liquors. JALCA 105, 320-327.
- [17] Beşe, M. (1974) Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri. Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 298.
- [18] Bilgehan, H. (1992) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları.
- [19] Bilgehan, H. (2004) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 4. Baskı, 35-434.
- [20] Birbir, M. ve Ilgaz, A. (1996) Isolation and Identification of Bacteria Adversely Affecting Hide and Leather Quality. Journal of the Society of Leather Technologies and Chemists, 80, 147-153.
- [21] Boyd C., Haris C., Maree C. (2003) Putrefaction Potentiometry. A New Look into Bacterial Attack on Hides and Skins. Society of Leather Technologists and Chemists.

- [22] Birbir, M., Ogan, A., Calli, B., Mertoğlu, B. (2004) Enzymatic Characteristics of Extremely Halophilic Archaeal Community in Tuzkoy Salt Mine, Turkey. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 613-621.
- [23] Birbir, M., Calli, B., Mertoglu, B., Elevi Bardavid, R., Oren, A., Ogmen, M.N., Ogan, A. (2007) Extremely Halophilic Archaea from Tuz Lake, Turkey, and the Adjacent Kaldirim and Kayacık Salterns. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 309-316.
- [24] Birbir M., Yazici E., Caglayan P. (2019) Investigation of Antibiotic-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolated from Soaked Sheepskins and Cattle Hides. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 103(1), 6-13.
- [25] Caglayan, P. (2015) Küçükbaş Hayvan Derilerindeki Ilımlı Halofil Bakterilerin Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 10-13.
- [26] Caglayan, P., Birbir, M., Ventosa, A., Sánchez-Porro, C. (2015) Characterization of Moderately Halophilic Bacteria from the Salt-pack Cured Hides. *Journal of Society Leather Technologists and Chemists*, 99(5), 250-254.
- [27] Caglayan, P., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A. (2017) Screening of industrially important enzymes produced by moderately halophilic bacteria isolated from salted sheep skins of diverse origin. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 112(06), 207-216.
- [28] Caglayan, P., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., Birbir, Y. (2018) Investigation of moderately halophilic bacteria causing deterioration of the salted sheep and goat skins and their extermination via electric current applications. *currents*, 26, 27.
- [29] Caglayan, P. (2019) Enzymatic Reactions and Phylogenetic Analysis of Haloversatile Bacteria Isolated from Çamaltı Saltern Salt Samples used in Leather Industry. *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 115, 450-461.
- [30] Christensen, W.B. (1946) Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and *Paracolon* Cultures from Each Other and from *Salmonella* and *Shigella* Types. *Journal of Bacteriology*, 52, 461-466.

- [31] Cortezi, M., Cilli, E.M., Contiero, J. (2008) *Bacillus amyloliquefaciens*: A new Keratinolytic Feather-Degrading Bacteria. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 2(1), 170-177.
- [32] Çınar, N., Tozun, H. (2020) Kültürel Miras Bağlamında Derilerin Fiziksel Özellikleri ve Ham Derinin İşlenmesi. *Sanat Tarihi Dergisi*, 29(2), 371-397.
- [33] Çınar, N. (2021) Deri Eserlerde Önleyici Koruma. *Akademik Sanat*, 12, 42-58.
- [34] Dahl, S., 1956, Prevention of microbiological deterioration of leather. *J. Amer. Leather Chem. Assoc.* 51(3), 103-118p.
- [35] Doddapaneni, K.K., Tatineni, R., Vellanki, R.N., Rachcha, S., Anabrolu, N., Narakuti, V., Mangamoori, L.N. (2009) Purification and characterization of a solvent and detergent-stable novel protease from *Bacillus cereus*. *Microbiological Research*, 164(4), 383-390.
- [36] Yazıcı E. (2016) İslatılmış derilerdeki enterobacteriaceae familyasına ait türlerin izolasyonu, tanımlanması ve farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [37] Elevi, R., Assa, P., Birbir, M., Ogan, A., Oren, A. (2004) Characterization of extremely halophilic Archaea isolated from the Ayvalik Saltern, Turkey. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(7), 719-725.
- [38] Ellis-Evans, J.C. (1985) *Microbial Ecology in Antarctica*. *Biologist*, 32, 171-176.
- [39] Euzéby, J.P. (1997) List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a Folder Available on the Internet. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47(2), 590-592.
- [40] Gosling, P. (2003) *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. *Australasian Chiropractic & Osteopathy*, 11(2), 65.
- [41] Gökçesu, Z. (2002) *Deri Teknikleri*. İstanbul, YA-PA Yayınları.
- [42] Grant, W. D., Gemmell, R. T., Mcgenity, T. J., Horikoshi, K. (1998) *Microbiol Life in Extreme Environment (Extremophiles)* ed WD Grant, New York, 93.
- [43] Gutiérrez-Arnillas, E., Rodríguez, A., Sanromán, M.A., Deive, F.J. (2016) New Sources of Halophilic Lipases: Isolation of Bacteria from Spanish and Turkish Saltworks. *Biochemical Engineering Journal*, 109, 170-177.

- [44] Haines, M.B. (1984) "Quality Rawstock", The Journal of the American Leather Chemists Association, 66(4), 164-173.
- [45] Harley, J.P., Prescott, L.M. (2002) Laboratory Exercises in Microbiology. 5th Ed. The McGraw-Hill Companies, New York, NY.
- [46] <https://bacdiv.dsmz.de/strain/1856> (Erişim tarihi: Eylöl 2022).
- [47] [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_\(Boundless\)/8%3A_Microbial_Evolution_Phylogeny_and_Diversity/8.08%3A_Gram-Positive_Bacteria_and_Actinobacteria/8.8C%3A_Firmicutes](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_(Boundless)/8%3A_Microbial_Evolution_Phylogeny_and_Diversity/8.08%3A_Gram-Positive_Bacteria_and_Actinobacteria/8.8C%3A_Firmicutes) (Erişim tarihi: Eylöl 2022).
- [48] <http://www.geredederi.com/gerede-deri-organize-sanayi-bolgesinde-uretim-basladi/> (Erişim tarihi: Temmuz 2022).
- [49] <http://www.geredederi.com/deri-uretim-asamalari> (Erişim tarihi: Eylöl 2022)
- [50] <https://lpsn.dsmz.de/genus/brevibacterium> (Erişim tarihi: Eylöl 2022).
- [51] <https://lpsn.dsmz.de/genus/terribacillus> (Erişim tarihi: Eylöl 2022).
- [52] <https://www.nuketeroglu.com/estetik-uygulamalar/cildin-anatomik-yapisi/> (Erişim tarihi: Temmuz 2022).
- [53] <http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Gray941.png> (Erişim tarihi: Temmuz 2022).
- [54] <https://veterinerakademisi.blogspot.com/2017/02/ozel-patoloji-deri-hastalklar.html> (Erişim tarihi: Ağustos 2022).
- [55] İstanbul Sanayi Odası (2004) Deri ve Deri Ürünleri, Ayakkabı, Ayakkabı Yan Sanayii ve Suni Deri Sektörü, İstanbul, 1-52.
- [56] Kanbay, H. (1993) Derinin Öyküsü, Art Decor, 7.
- [57] Kaşmer, R. (2000) Gerede'de Dericilik ve Tarihi Seyri, Geçmişten Günümüze Gerede Sempozyumu (20-21 Kasım 1999). Gerede Belediyesi Yayınları 1, Emin Ajans, 257-273.
- [58] Kılıçoğlu S. (1984) Ham Deri Ders Notları, Dericilik Araştırma ve Eğitim Enstitüsü İstanbul.
- [59] Kılıçoğlu, S. (1991) Ham Deri. Dericilik Araştırma Enstitüsü Yayınları, Pendik, İstanbul, Türkiye, 6, 65.
- [60] Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park S.C., Jeon Y.S., Lee J.H., Yi H., Won S., Chun, J. (2012) Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured

- species. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 62(Pt_3), 716-721.
- [61] Koç, Ü. (2006) XVI. Yüzyıl Anadolu'sunda Sanayi, Bizim Büro Basımevi, Ankara, Türkiye.
- [62] Kamekura, M., Oesterhelt, D., Wallace, R., Anderson, P., Kushner, D.J. (1988) Lysis of halobacteria in bacto-peptone by bile acids. Applied and environmental microbiology, 54(4), 990-995.
- [63] Koizhaiganova, M., Okca, A.K., Coşkun, S. (2016) Karacasu Dericiliği ve Günümüzdeki Durumu. Social Sciences, 11(3), 243-257.
- [64] Kumar, S.S., Mani, A. (2007) Measurement of Physical and Transport Properties of Tannery Effluent (Soak Liquor), International Communications in Heat and Mass Transfer, 34, 339-346.
- [65] Kushner, D.J. (1985) The Bacteria. In The Halobacteriaceae, Academic Press, Inc., London, 8 (3) (1985) 171-213.
- [66] Kushner, D.J. (1985). The halobacteriaceae. The bacteria, 8, 171-214.
- [67] Lagerio, M.M., Moura, M.J., Reis, A., Costa-Ferreira, M.J. (2007) Microbial Proteases Application in Leather Industry, Journal of Biotechnology, 131, 211–241.
- [68] Leafe, M.K. (Ed.) (1999) Leather technologists pocket book. Society of leather technologists and Chemists.
- [69] Limauro, D., Cannio, R., Fiorentino, G., Rossi, M., Bartolucci, S. (2001) Identification and Molecular Characterization of an Endoglucanase gene, celS, from the Extremely Thermophilic Archaeon Sulfolobus solfataricus. Extremophiles, 5, 213-219.
- [70] Liu, Y., Lai, Q., Du, J., Shao, Z. (2016) *Bacillus zhangzhouensis* sp. nov. and *Bacillus australimaris* sp. nov. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 66(3), 1193-1199.
- [71] Llyod, D.J. (1929) Red Heat in Salted Hides. Journal of Society Leather Technologists and Chemists, 13, 538-569.
- [72] Lofrano, G., Meriç, S., Zengin, G.E., Orhon, D. (2013) Chemical and biological treatment technologies for leather tannery chemicals and wastewaters: a review. Science of the Total Environment, 461, 265-281.

- [73] Maffia, G.J., Seltzer, M.A., Cooke, P.H. Brown, E.M. (2004) Collagen Processing. Journal of the American Leather Chemists Association, 99, 164-169.
- [74] Maina, P., Ollengo, M. A., Nthiga, E. W. (2019) Trends in leather processing: A Review.
- [75] Ma, J., Hou, X., Gao, D., Lv, B., Zhang, J. (2014) Greener approach to efficient leather soaking process: role of enzymes and their synergistic effect. Journal of cleaner production, 78, 226-232.
- [76] Money, C.A. (1994) “Curing of Hides and Skins: Alternative Methods”, CSIRO LRC, Editörler Money, C.A., Admins, U.
- [77] Mullis, K.B., Faloona, F.A. (1987) Specific Synthesis of DNA in vitro via a Polymerase-catalysed Chain Reaction. Methods in Enzymology, 155, 335-350.
- [78] Murtey, M. D., Ramasamy, P. (2016) Sample preparations for scanning electron microscopy–life sciences. Modern electron microscopy in physical and life sciences, 161-185.
- [79] Nigris, S., Baldan, E., Tondello, A., Zanella, F., Vitulo, N., Favaro, Guidolin V., Bordin N., Telatin A., Barizza E., Marcato S., Zottini M., Squartini A., Valle G., Baldan B. (2018) Biocontrol traits of *Bacillus licheniformis* GL174, a culturable endophyte of *Vitis vinifera* cv. Glera. BMC microbiology, 18(1), 1-16.
- [80] Norrell S. ve Messley K. (2003) Microbiology Lab Manual, 2. Baskı, Pearson, Rock Valley College, Amerika Birleşik Devletleri.
- [81] Norton, C., W. Grant. (1988) Survival of Halobacteria Within Fluid Inclusions in Salt Crystals. Journal of General Microbiology, 134, 1365-1373.
- [82] Ogino, H., Otsubo, T., Ishikawa, H. (2008) Screening, Purification and Characterization of a Leather-Degrading Protease. Biochemical Engineering Journal, 38(2), 234-240.
- [83] Orlita, A. (2004) Microbial Biodeterioration of Leather and Its Control: A Review. International Biodeterioration and Biodegradation, 53, 157-163.
- [84] Oren, A. (2013) Life at high salt concentrations, intracellular KCl concentrations, and acidic proteomes. Frontiers in microbiology, 4, 315.
- [85] Özşahin, A.D. (2006) Kahramanmaraş İli Kağıt Fabrikaları Çevresinden İzolasyonu Yapılan *Bacillus* Sp. Suşlarından Elde Edilen Selülaz Enziminin Karakterizasyonu ve Biyoteknolojide Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Yüksek

Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.

- [86] Pfeleiderer, E. ve Reiner, R. (1988) Microorganisms in processing of leather. *Biotechnology*, 6, 729-743.
- [87] QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook (2010) Sample and Assay Technologies, 1-67.
- [88] Rangarajan, R., Didato, T.D., Bryant, S. (2003) Measurement of Bacterial Populations in Typical Tannery Soak Solutions by Traditional and New Approaches. *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 98, 477-485.
- [89] Richardson, J.H. (1958) A Laboratory Screening Test of Bactericides for Use in Sheep Pelt Soaking Pits. *Applied Microbiology*, 6(2), 142-145.
- [90] Roberts, M.S., Nakamura, L.K., Cohan, F.M. (1994) *Bacillus mojavensis* sp. nov., distinguishable from *Bacillus subtilis* by sexual isolation, divergence in DNA sequence, and differences in fatty acid composition. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44(2), 256-264.
- [91] Rodríguez-Valera, F., Ventosa, A., Juez, G., Imhoff, J.F. (1985) Variation of Environmental Features and Microbial Populations with Salt Concentrations in a Multi-pond Saltern. *Microbial Ecology*, 11, 107-115.
- [92] Saiki, R.K., Scharf, S.J., Faona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim, N. (1985) Enzymatic Amplification of β -globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell anemia. *Science*, 230, 1350-1354.
- [93] Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. (1988) Primer-directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.
- [94] Sambrook, J., Russell, D.W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- [95] Sánchez-Porro, C., Martín, S., Mellado, E., Ventosa, A. (2003) Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. *Journal of applied microbiology*, 94(2), 295-300.

- [96] Sánchez-Porro, C. (2005) Caracterization Bioquímica y Molecular de la Haloproteasa CP1 Producida por Pseudoalteromonas ruthenica, PhD. Thesis, İspanya, 102-144.
- [97] Sanchez-Porro, C., Yilmaz, P., Rafael, R., Birbir, M., Ventosa, A. (2011) *Thalassobacillus pellis* sp. nov., a moderately halophilic, Gram-positive bacterium isolated from salted hides. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 61(5), 1206-1210.
- [98] Sharpouse, I.H. (1971) Leather Technician's Handbook, 11–12, 80–81, 132, 430–431, 456.
- [99] Soule, M.H. (1932) Identity of *Bacillus subtilis*, Cohn 1872. The Journal of Infectious Diseases, 191-215.
- [100] Sumpavapol, P., Tongyonk, L., Tanasupawat, S., Chokesajjawatee, N., Luxananil, P., Visessanguan, W. (2010) *Bacillus siamensis* sp. nov., isolated from salted crab (poo-khem) in Thailand. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 60(10), 2364-2370.
- [101] Şenses, İ.Ü. (1987) Kürk Teknolojisi. Pendik Dericilik Araştırma Enstitüsü, Ders Notları.
- [102] Tancous, J.J. (1964) Microorganisms in the skin and hide industry. American Institute of Biological Sciences. Washington, DC.
- [103] T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı (2008) Türkiye Tekstil, Hazır Giyim, Deri ve Deri Ürünleri Sektörlerine Yönelik Strateji Belgesi.
- [104] T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı (2018) Türkiye Tekstil, Hazır Giyim ve Deri Ürünleri Sektörleri Strateji Belgesi ve Eylem Planı, 2015-2018.
- [105] T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (2012) Türkiye’de Sanayiden Kaynaklanan Tehlikeli Atıkların Yönetiminin İyileştirilmesi, Deri Sektörü Rehber Doküman.
- [106] T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (2013) Türkiye’de Sanayiden Kaynaklanan Tehlikeli Atıkların Yönetiminin İyileştirilmesi, Deri Sektörü Rehber Doküman.
- [107] T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (2016) Deri Sektörü Sektörel Atık Kılavuzları, 1-119.
- [108] T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (2017) Çevre ve Şehircilik Bakanlığının ÇED Alanında Kapasitesinin Güçlendirilmesi için Teknik Yardım Projesi, Ham Deri İşleme Tesisleri.

- [109] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı (2011) Kimya Teknolojisi, Büyükbaş Hayvan Derileri.
- [110] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı (2011) Kimya Teknolojisi, Ham Derileri Yumuşatmaya Hazırlama.
- [111] T.C. Milli Eğitim Bakanlığı (2011) Kimya Teknolojisi, Küçükbaş Hayvan Derileri.
- [112] T.C. Ticaret Bakanlığı İhracat Genel Müdürlüğü (2020) Deri ve Deri Mamulleri Sektör Raporu, 1-11.
- [113] Toptaş, A. (1993) Deri Teknolojisi. Erdiz Masaüstü Yayıncılık, İstanbul, Türkiye.
- [114] Toptaş, A. (2004) Deri İşletisinde Hata Kaynakları. Sade Ofset ve Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, 65-71.
- [115] Turnbull, P.C.B. (1996) *Bacillus*: Barron's medical microbiology. University of Texas Medical Branch.
- [116] Uşak Ticaret ve Sanayi Odası (2020) Dericilik Sektör Raporu.
- [117] Ventosa, A., Quesada, E., Rodríguez-Valera, F., Ruiz-Berraquero, F., Ramos-Cormenzana, A. (1982) Numerical Taxonomy of Moderately Halophilic Gram-negative Rods. *Journal of General Microbiology*, 128, 1959-1968.
- [118] Ventosa, A., Márquez, M. C., Garabito, M. J., Arahal, D. R. (1998) Moderately halophilic gram-positive bacterial diversity in hypersaline environments. *Extremophiles*, 2(3), 297-304.
- [119] Vreeland, R.H. and Bailey, D.G. (1999) "Methods of Using Bile Salt to Inhibit Red Heat in Stored Brine Cured Hides and Skins", Patent Numarası 5945027, Docket number 22497, Serial number 8906333, Agricultural Research Service.
- [120] Vreeland, R.H., Huval, J.H. (1991) Phenotypic Characterization of Halophilic Bacteria from Ground Water Sources in the United States. In: *General and Applied Aspects of Microorganisms*. Rodríguez-Valera, F. (Eds.), New York: Plenum Press, 53-60.
- [121] Wauters, G., Avesani, V., Laffineur, K., Charlier, J., Janssens, M., Van Bosterhaut, B., Delmée, M. (2003) *Brevibacterium lutescens* sp. nov., from human and environmental samples. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(5), 1321-1325.

- [122] Yapıcı, A.N., Yapıcı, B.M. (2002) Deri İşletmelerinde Karşılaşılan Mikrobiyal Olaylar ve Kullanılan Mikrobisidler. Teknik Bülten, Gemsan, 34.
- [123] Yapıcı, B.M., Yapıcı, A.N., Karaboz, İ., Tozan, M. (7-8 Ekim, 2004) Deri Sektöründe Kullanılan Bazı Bakterisitlerin Etkinliğinin Tespiti Üzerine Bir Araştırma. I. Ulusal Deri Sempozyumu, İzmir, Türkiye.
- [124] Yelmen, H. (2005) Türk Dericiliği 2400 Yaşında. İstanbul, Türkiye.
- [125] Yılmaz, P. (2010) Tuzlanmış Derilerden Ilımlı ve Aşırı Halofil Bakterilerin İzolasyonu ve Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [126] Yıldız, N. (1988) Tarih İçinde Deri. Deri Dergisi, Sayı: 51, Ezgi Ajans, İstanbul, Türkiye.
- [127] Yılmaz, E. ve Birbir, M. (2019) Characterization of halotolerant *Bacillus* species isolated from salt samples collected from leather factories in Turkey. Journal of the American Leather Chemists Association, 114(4).

EKLER

İslatma Sıvılarından İzole Edilen Enzim Üretebilen Haloversatil Bakteri İzolatlarının 16S rRNA Geni Baz Dizileri

Ek 1. HBİ-1 İzolatına ait 16S rRNA Geni Baz Dizisi

Baz Sayısı: 1251

Tür: *Terribacillus halophilus*

Erişim Numarası: OP415442

TGGCCTGATAGACTGGATCGTGACTGAGGAAAAGCCTTGTGAGGGGGGG
GAAAAAAGTTACCTCTGTTCATGTCTGGTGTACCAACTCTAGTGGTGTGA
CGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGAT
CCGCGATTACCAACGATTCCGGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAA
TCCGAAGTGAAGATGGTTTTAAGGGATTTGCTTAGCCTCGCGGCTTCGCT
GCCCTTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGG
CATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTC
ACTCTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAGAATCAAGGGTTGCGCT
CGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCA
TGCACCACCTGTCACGCTGTCCCCGAAGGGAACGCCTTGTCTCCAAGGTT
GTCAGCGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAA
ACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTTGAGTTTCA
GCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGC
ACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTG
GACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGC
GTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATA
TCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCCTCTTCTGCACTC
AAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACAGTTAAGCTGTGGGCTTTTAC
ATCAGACTTAAGAAACCGCCTACGCGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGA
CAACGCTTGCCCCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTGTTAGCCGG
GGCTTTCTGGTCAGGTACCGTCAAGGTACAAGCAGTTACTCTTGTACTTG
TTCTTCCCTGACAACAGAGCTTTACGACCCGAAGGCCTTCATCGCTCACG
CGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGCT
GCCTCCCGTAGGAATCTGGGCCGGGTCTCATTCCCAGTGGGGCGATCACC
CTCTCAGGTCGGCTATGCATCGTCGCCTTGGTGGGCCGTTCCCCGCCACA

Ek 2. HBİ-2 İzolatına ait 16S rRNA Geni Baz Dizisi

Baz Sayısı: 1227

Tür: *Brevibacterium luteolum*

Erişim Numarası: OP415442

CCCTGTTGACTGGGAAACAGCCATGGAATCAAACCTCCTTGTTCGTGGACT
GGGAAACAAACCCGGATCAAACCTTCTTTCCGGGGTGGGAAAACAAAAA
CTTGACAGGGGTGTGTACGAGGAACGGGAACATATTCACCGCAGCGTTG
CTGATCTGCAATTACTAGCGACTCCGACTTCACGTAGTCGAGTTGCAGAC

TACGATCCGAACTGAGACCGGCTTTCTGGGATTCGCTCCACCTCACGGTA
TCGCCACCCTCTGTACCGGCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCCAAGACATA
AAGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCG
GCGTCTTCCATGAGTTCCACCATCACGTGCTGGCAACATAGAACGAGGG
TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGA
CAACCATGCACCACCTGTACACCAGTCCGAAGAGGGCGACTATCTCTAGCC
GTTTCCAGTGTATGTCAAGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATT
AATCCGCATGCTCCGCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTT
TAGCCTTGCGGCCGTA CTCCCCAGGGCGGGAACTTAATGCGTTAGCTACG
GCACGGAATCCGTGGAATGGACCCACACCTAGTTCCCAACGTTTACGGC
ATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCATGCTTTCGCTCCTC
AGCGTCAGTTACAGCCCAGAGTCCCGCCTTCGCCACCGGTGTTCCCTCCTG
ATATCTGCGCATTTACCGCTACACCAGGAATTCCAGACTCCCCTACTGC
ACTCTAGTCAGCCCGTACCCACTGCACGCGCAACGTTAAGCGTTGCGTTT
CCACAGCAGACGTGACCAACCACCTACGAGCTCTTTACGCCCAATAATTC
CGGACAACGCTTGTACCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTA
GCCGGTACTTCTTCTGCAGGTACCGTCACTTTCGCTTCTTCCCTACTGAAA
GCGGTTTACAACCCGAAGGCCGTCATCCCGCACGCGGCCGTCGCTGCATCA
GGGTTCCCCCATTGTGCAATATTCCCCTGCTGCCTCCCGTAGGAATCT
GGGCCGTGTCTCAGTCCCAGGGTGGCCGGTCGCCCTTTAAGGCGGGTACC
CGTCGTCGCTTGGTAGGCCCTC

Ek 3. HBİ-3 İzolatına ait 16S rRNA Geni Baz Dizisi

Baz Sayısı: 1239

Tür: *Bacillus australimaris*

Erişim Numarası: OP415442

TTTGGCGTTTCCAGGTCCCGAACAAGGTTTCATCCATTGGCCTGGTTTTTT
CCTGGGGGGTTCCCTCCTGGTGGTTTTTCCAGAAGGATAGAGTAACACGT
GGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAAT
ACCGGATAGTTCCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTTTCGG
CTGTCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAT
GGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCA
CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGG
AATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGGCAACGCCCCCGTGAGTGAT
GAAGGTTTTTCGGATCGTAAGCTCTGTTGTTAGGGAAAAACAAGTGCGAG
AGTAACTGCTCGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAAT
TATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGC
CCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCA
GAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGT
GGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTA ACTGACGCTG
AGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGC
TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCCGCAAGACT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGG
TTTAATTCGAAGCCACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGA

CAACCCTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTG
CATGGTTGTCGTCACCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC
CAATGCAACCCTTGATCTTAGTTCCCACCATTCAATTTGGGCCCTCTAGGTA
ACTGCCGGTAACAACCGGAGAAAGGTGGGTATAATCCAATCAACTGCC
CTTTGACCGGGCTCCCCATGCTCAATGGAGAACAAAGGGTTCCGAACCC
C

Ek 4. HBİ-4 İzolatına ait 16S rRNA Geni Baz Dizisi

Baz Sayısı: 1214

Tür: *Brevibacterium luteolum*

Erişim Numarası: OP415442

GTGCCGCTAGAACGGGAAAAGCAAGGATAAAAACCTTTGTGGGGACGGGGA
AAAAAACCAGGATCAAACCTCTGTCGGGACGGGGAAAAAAAAGGATTG
ACCTTTGTTGTGTAGGGGGAAAAAAAACGTATTCACCGCAGCGTTGCTGA
TCTGCGATTACTAGCGACTCCGACTTCACGTAGTCGAGTTGCAGACTACG
ATCCGAAGTGAAGACCGGCTTTCTGGGATTCGCTCCACCTCACGGTATCGC
CACCTCTGTACCGGCCATTGTAGCATGCGTGAAGCCCAAGACATAAAG
GGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGAGTTGACCCCGGCA
GTCTTCCATGAGTTCCCAACCATCACGTGCTGGCAACATAGAACGAGGGTT
GCGCTCGTTGCGGGACTTAAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGAC
AACCATGCACCACCTGTACACCAGTCCGAAGAAGCGACTATCTCTAGCCG
TTTCCAGTGTATGTCAAGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTA
ATCCGCATGCTCCGCCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTT
AGCCTTGCGGCCGTAATCCCCAGGCGGGGAACCTTAATGCGTTAGCTACGG
CACGGAATCCGTGGAATGGACCCACACCTAGTTCCCAACGTTTACGGCA
TGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCATGCTTTTCGCTCCTCA
GCGTCAGTTACAGCCCAGAGTCCCGCCTTCGCCACCGGTGTTCTCCTGA
TATCTGCGCATTTACCGCTACACCAGGAATTCCAGACTCCCCTACTGCA
CTCTAGTCAGCCCGTACCCACTGCACGCGCAACGTTAAGCGTTGCGTTTC
CACAGCAGACGTGACCAACCACCTACGAGCTCTTTCGCCCAATAATTCCG
GACAACGCTTGTACCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGC
CGGTACTTCTTCTGCAGGTACCGTCACTTTCGCTTCTTCCCTACTGAAAGC
GGTTTACAACCCGAAGGCCGTCATCCCGCACGCGGCGTCGCTGCATCAGG
GTTCCCCCATTGTGCAATATTCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGG
GCCGGGTTTCAGTCCCAGTGTGCCGGTCGCCCTCTCAGGCGGCTACCCGT
CGTCGTCTTGGTAGC

Ek 5. HBİ-5 İzolatına ait 16S rRNA Geni Baz Dizisi

Baz Sayısı: 1254

Tür: *Bacillus siamensis*

Erişim Numarası: OP415442

GGCAAGCTGTTTCCACGTTCGGACGGAGTGCCTAATACATCGCAAGTCTTT
CCAGGGGGATGGGGCTTGCTCCCTGATGTTGGCGGGCGGACGGGTGAGTA
ACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGG

GCTAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAGACATAAAAAGGTGG
CTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCAACCTGAGAGGGTGTAT
CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTAGGGTCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGA
GTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
GCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGT
CCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGCTTGA
GTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
GATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACTGA
CGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTT
AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCGGGGGAGTACGGTCCGA
AGACTGAAACTCAAAGGAATTGCGGGGGCCCGCACAAAGCCGTGGAGCAT
GTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATCCT
CTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGT
GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTGATCTAGTTGCCAGCATTACAGTTGGGCACTCTAA
GGTGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAATCATC
AGCCCCCTTAGACCGGGCTACCACGTGCTAAATGGACGAAAAAAGGGGGC
CAAACCGCGGGTTAGCCTTC

Ek 6. HBİ-6 İzolatına ait 16S rRNA Geni Baz Dizisi

Baz Sayısı: 1388

Tür: *Bacillus mojavensis*

Erişim Numarası: OP415442

AAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACG
GGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCC
GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATC
CGAACTGAGAACAGATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTTGTCTGC
CCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCA
TGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCAC
CTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAATCAAGGGTTGCGCTCGT
TGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC
ACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTC
AGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACC
ACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTC
TTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACT
AAGGGGCGGAAACCCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGA
CTACACAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCCCACGTTTTCGCTCCTCAGCG
TCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCT
CTACGCATTTACCCGCTACACGTGGAATTCACCTCTCCTCTTCTGCACTCA
AGTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACA

TCAGACTTAAGGAACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCGGAC
AACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGT
GGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTACCGCCCTATTCGAACGGTACTT
GTTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACCTTCATCACTCAC
GCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACTGC
TGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCA
CCCTCTCAGGTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCGTTACCTCACC
AACTAGCTAATGCGCCGCGGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCAC
CTTTTATGTTTGAACCATGCGGTTCAAACAAGCATCCGGTATTAGCCCCG
GTTTCCCGGAGTTATCCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCCACGTGTTACTC
ACCCGTCCGCCGCTAACATCAGGGAGCAAGCTCCCATC

ÖZGEÇMİŞ

ÖZLEM ÖZBAY

Öğrenim Durumu

- 2013-2018** : Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Biyoloji/İngilizce Lisans Programı
Mezuniyet Derecesi: 3.50/4.00
- 2009-2013** : Gölcük Barbaros Hayrettin Lisesi
Sayısal Alan

Bildiri

- [1] Birbir M., Caglayan P., Ozbay O. (2022) In Vitro Antibacterial Effect of Propolis On Reference Strains. The 5th International Health Science and Life Congress. Burdur/Türkiye.

Makale

- [1] Ozbay, O., Caglayan, P., Identification of Gram-Positive Haloversatile Bacteria in Soak Liquor Samples and Observation of Their Damage to Sheep Skin by Scanning Electron Microscopy. The Society of Leather Technologists and Chemists, November/December issue 2022, in press.

Proje

- [1] Özlem Özbay (Araştırmacı), Pınar Çağlayan (Yönetici), İslatma Sıvılarından Enzim Üreten Haloversatil Bakterilerin İzole Edilerek Tanımlanması. Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, FYL-2021-10421, 29.12.2021-29.12.2022 (Devam Ediyor), Proje Bütçesi 19.578,40 TL.

İş Durumu ve Yetkinlikler

- Mikrobiyoloji Uzman Yardımcısı, Kalite Kontrol Laboratuvarı, Deva Holding A.Ş. (2019-2021)
- Erasmus+ Staj Hareketliliği Katılımcısı (AB fonlarından hareketlilik süresinin tamamı için mali desteğe hak kazanılmıştır), Protein Metabolizması Laboratuvarı, Uluslararası Moleküler ve Hücre Biyolojisi Enstitüsü, Polonya (2018)
- İş Güvenliği ve Sağlığı Temel Eğitimi, MEB ile Elginkan Vakfı İş Birliği (2017)
- Proje Yönetimi, MEB ile Elginkan Vakfı İş Birliği (2017)
- 1. Ulusal Bitki Biyolojisi Katılımcısı, Abant İzzet Baysal Üniversitesi (2015)
- NLP ile Liderlik ve Zaman Yönetimi Eğitimi, Sürekli Eğitim ve Kalite Derneği (2014)