

## Tavuk işleme atıklarının sürdürülebilir biyoteknolojik dönüştürülmesiyle pepton üretimi

Saeid CHOBDAR RAHİM , Zehra Betül AHİ , Beyza ÇAY 

Kazlıçesme Ar-Ge Merkezi ve Test Laboratuvarları, 34950 Tuzla, İstanbul, Türkiye.

\*Yazışma Yazarı: Saeid CHOBDAR RAHİM

E-mail: saeid.choobar@hotmail.com

Makale gönderimi: 15.10.2025

Online kabul: 10.12.2025

Online basım: 30.03.2026

**Özet:** Bu çalışmada, tavuk işleme atıklarının alkalaz enzimi kullanılarak enzimatik hidroliz yoluyla biyoteknolojik olarak değerlendirilmesiyle sürdürülebilir bir tavuk peptonu üretimi amaçlanmıştır. Artan hayvansal üretim faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan protein açısından zengin atıkların çevreye zarar vermeden değerlendirilmesi, sürdürülebilir üretim yaklaşımları ve döngüsel ekonomi perspektifi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda, söz konusu atıkların katma değerli biyoproses ürünlerine dönüştürülmesi hem çevresel yükün azaltılması hem de ekonomik fayda sağlanması açısından dikkat çekmektedir. Enzimatik hidroliz sürecinin optimizasyonu için Yanıt Yüzey Metodolojisi uygulanmış; enzim konsantrasyonu ve hidroliz süresinin pepton verimi ve protein içeriği üzerindeki etkileri sistematik olarak incelenmiştir. Optimum koşullar %0,5 enzim konsantrasyonu ve 12 saat hidroliz süresi olarak belirlenmiş ve bu şartlarda en yüksek pepton verimi (%60) ile protein oranı (%92,00) elde edilmiştir. Kimyasal karakterizasyon sonuçları, üretilen tavuk peptonunun yüksek toplam azot (%16,22), serbest amino azot (%4,51) ve çözümlü protein içeriğine sahip olduğunu göstermiştir. Yapısal analizler, peptonun yüksek hidroliz derecesi (%28,56) ve ortalama 418 Da molekül ağırlığı ile ağırlıklı olarak düşük molekül ağırlıklı peptit fraksiyonlarından oluştuğunu ortaya koymuştur. Bu durum, ürünün biyoyararlanım potansiyelinin yüksek olduğuna ve hızlı metabolize edilebilirliğine işaret etmektedir. Ayrıca amino asit kompozisyonunun, mikrobiyal metabolizma açısından kritik öneme sahip glutamik asit, aspartik asit, alanin ve glisin bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Üretilen peptonun mikrobiyal büyüme ortamı olarak etkinliği değerlendirildiğinde, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* kültürlerinde ticari peptonlara eşdeğer hatta bazı durumlarda daha yüksek büyüme performansı sağladığı saptanmıştır. Bu durum, peptonun dengeli amino asit profili, düşük molekül ağırlıklı peptit içeriği ve yüksek biyoyararlanımı ile doğrudan ilişkilendirilmektedir. Elde edilen bulgular, tavuk işleme atıklarının yüksek katma değerli biyoproses ürünlerine dönüştürülmesinde etkili bir yaklaşım sunduğunu ve sürdürülebilir, ekonomik ve çevre dostu pepton üretimi için önemli bir alternatif kaynak oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, geliştirilen bu yaklaşımın endüstriyel ölçekte uygulanabilirliği açısından da önemli bir potansiyel taşıdığı değerlendirilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Tavuk işleme atıkları, hidroliz, pepton, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*.

## Biotechnological valorization of chicken processing by-products for sustainable peptone production

**Abstract:** In this study, it was aimed to produce a sustainable chicken peptone through the biotechnological valorization of poultry processing by-products via enzymatic hydrolysis using alcalase. The effective utilization of protein-rich wastes generated by increasing animal production activities, without causing environmental harm, is of great importance for sustainable production approaches and circular economy principles. In this context, converting such wastes into value-added bioprocess products is noteworthy for both reducing environmental burden and providing economic benefits. Response Surface Methodology was employed to optimize the enzymatic hydrolysis process, and the effects of enzyme concentration and hydrolysis time on peptone yield and protein content were systematically investigated. The optimum conditions were determined as 0.5% enzyme concentration and 12 hours of hydrolysis, under which the highest peptone yield (60%) and protein content (92.00%) were achieved. Chemical characterization results demonstrated that the produced chicken peptone has high total nitrogen (16.22%), free amino nitrogen (4.51%), and soluble protein content. Structural analyses revealed that the peptone predominantly consists of low molecular weight peptide fractions, with a high degree of hydrolysis (28.56%) and an average molecular weight of 418 Da, indicating high bioavailability and rapid metabolizability. Furthermore, the amino acid composition was rich in glutamic acid, aspartic acid, alanine, and glycine, which are critical for microbial metabolism. Evaluation of the produced peptone as a microbial growth medium showed comparable, and in some cases superior, growth performance to commercial peptones in cultures of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. This performance is associated with its balanced amino acid profile, low molecular weight peptide content, and high bioavailability. Overall, the findings demonstrate that poultry processing by-products are a promising alternative resource for the sustainable, economical, and environmentally friendly production of high value-added peptones, with significant potential for industrial-scale applications.

**Keywords:** Chicken processing by-products, hydrolysis, peptone, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*.

### Araştırma makalesi

**Referans:** Chobdar Rahim, S., Ahi, Z. B., & Çay, B. (2026). Tavuk işleme atıklarının sürdürülebilir biyoteknolojik dönüştürülmesiyle pepton üretimi. *ITU Journal of Food Science and Technology*, 4(1), 6-15.

## 1. Giriş

Son yıllarda artan nüfus, kentleşme ve gıda güvenliği ihtiyacı, dünya genelinde hayvansal protein üretiminde hızlı bir artışa yol açmıştır. Özellikle tavuk eti üretimi, kısa üretim döngüsü, düşük çevresel yük ve ekonomik avantajları nedeniyle küresel ölçekte et üretiminin en hızlı büyüyen segmenti haline gelmiştir. FAO verilerine göre, 2023 yılında dünya genelinde kümes hayvanı eti üretimi yaklaşık 103 milyon ton düzeyine ulaşmış, bu miktarın önümüzdeki yıllarda da artmaya devam edeceği öngörülmektedir (FAO, 2024; USDA-FAS, 2025). Türkiye özelinde ise 2024 yılı itibarıyla 2,5 milyon tonun üzerinde tavuk eti üretilmiş olup, ülke bu alanda Avrupa'nın önde gelen üreticileri arasında yer almaktadır (BESD-BİR, 2024; TÜİK, 2024).

Bununla birlikte, tavuk işleme endüstrisi yalnızca gıda üretimi değil, aynı zamanda önemli miktarda yan ürün ve organik atık oluşumuna da neden olmaktadır. Yapılan araştırmalar, işlenen her birim tavuk etinin yaklaşık %20–30'unun kemik, deri, kıkırdak, tüy ve iç organ gibi yenmeyen bileşenlerden oluştuğunu göstermektedir (Seidavi vd., 2019). Küresel ölçekte bu oran, yılda 40–50 milyon tonun üzerinde işlem atığının ortaya çıkması anlamına gelmektedir. Bu tür atıklar yüksek oranda protein (özellikle kolajen ve keratin) içerdiği halde, çoğu zaman hayvan yemi olarak kullanılmakta veya konvansiyonel geri kazanım süreçleri ile katma değeri düşük ürünlere dönüştürülmektedir; bu da hem çevresel yükün artmasına hem de biyoteknolojik potansiyelin atılmasına yol açmaktadır.

Sürdürülebilir üretim anlayışı, bu organik yan ürünlerin çevreye zarar vermeden yüksek katma değerli bileşiklere dönüştürülmesini hedeflemektedir. Özellikle enzimatik hidroliz gibi çevre dostu biyoteknolojik yöntemler, tavuk işleme atıklarından pepton, peptit ve amino asit açısından zengin ürünler elde edilmesine olanak tanımaktadır. Böylece hem atık yönetimi problemleri azaltılmakta hem de mikrobiyal kültür ortamları veya gıda endüstrisinde kullanılabilecek ekonomik ve sürdürülebilir azot kaynakları üretilebilmektedir (Vasileva-Tonkova vd., 2007; Taskin vd., 2011).

Pepton, kısmen hidrolize edilmiş proteinlerin oluşturduğu çözünür bir karışımdır. İçeriğinde polipeptitler, oligopeptitler, serbest amino asitler ile bazı inorganik iyon ve iz besin maddeleri bulunur (örneğin tuzlar, bazı vitaminler). Pepton üretimi genellikle enzimatik, asidik, bazik veya fermantasyon temelli hidroliz yöntemleriyle gerçekleştirilir (Kuncorojakti vd., 2024). Pek çok mikroorganizma için azot, amino asit ve peptit kaynağı olarak kullanılan pepton, mikrobiyolojik besiyerlerinde yaygın bir bileşendir; özellikle zengin besin içeriğine ihtiyaç duyan mikroorganizmaların büyümesini destekler (Davami vd., 2015). Bunun yanı sıra peptonlar, kültür ortamlarında pH tamponlama, kriyoprotektif etkiler ve hücre stres koşullarına karşı koruma gibi ek işlevler de gösterebilir (Hubalek, 2003).

Son zamanlarda birçok araştırmada, geleneksel pepton hammaddesi yerine alternatif biyokütle kaynaklarından pepton üretilmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin kümes hayvanı işleme atıkları, böcek larvaları ve balık atıkları gibi kaynaklar, ticari peptonlara benzer performans gösteren alternatif pepton üretimi için değerlendirilmiştir (Saeed vd., 2025; Liu et al., 2024).

Yapılan bir araştırmada, Boso balığı (*Oxyeleotris marmorata*) atıkları kullanılarak papaya lateksinden elde edilen papain enzimiyle pepton üretimi gerçekleştirilmiştir. Hidroliz koşulları 50–65 °C sıcaklık aralığında, pH 6,0'da ve %0,1 enzim oranında optimize edilmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek çözünür protein içeriği 8,6 mg/mL,  $\alpha$ -amino azotu %0,59 ve toplam azota oranı (AN/TN) %5,47 olarak belirlenmiştir. SDS-PAGE analizine göre elde edilen balık peptonunun baskın molekül ağırlığı 17–28 kDa aralığındadır. Üretilen pepton, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* kültürlerinde ticari

peptonlarla benzer büyüme performansı göstermiştir (Priatni vd., 2017). 2025 yılında Saeed ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, tavuk işleme atıkları kullanılarak enzimatik hidroliz yöntemiyle pepton üretimi optimize edilmiştir. Araştırmada, *Bacillus subtilis* ATCC 6051 suşu için uygun besiyeri geliştirmek amacıyla farklı işlem parametreleri değerlendirilmiş ve optimum koşullar altında yüksek çözünür protein verimi elde edilmiştir. Elde edilen peptonun amino asit profili, ticari peptonlara kıyasla özellikle aspartik asit, glutamik asit ve glisin bakımından daha zengin bulunmuştur. Ayrıca bu pepton, mikrobiyal kültürlerde etkili bir azot kaynağı olarak kullanılmış ve *B. subtilis* ATCC 6051 büyümesini desteklemede ticari peptonlarla benzer performans göstermiştir. Bu bulgular, tavuk atıklarının biyoteknolojik olarak değerli peptonlara dönüştürülmesinin hem çevresel hem de ekonomik açıdan uygulanabilir bir çözüm sunduğunu ortaya koymuştur (Saeed vd., 2025).

Araştırmacıların gerçekleştirdiği başka bir çalışmada, siyah asker sineği (*Hermetia illucens*) larvalarından pepton üretimi amaçlanmıştır. Araştırmada enzimatik hidroliz koşulları optimize edilerek (pH 7,5, 55 °C, 3 saat) yüksek verimli protein hidrolizatları elde edilmiştir. Üretilen peptonun kimyasal bileşimi incelendiğinde, toplam azot içeriği ve serbest amino asit düzeylerinin ticari peptonlarla benzer olduğu belirlenmiştir. Mikrobiyal testlerde, *E. coli*, *B. subtilis* ve *Lactobacillus plantarum* gibi türlerin büyüme hızlarının ticari peptonlarla eşdeğer veya daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, böcek biyokütlesinin sürdürülebilir, düşük maliyetli ve çevre dostu bir pepton kaynağı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Zhang vd., 2024).

Drabold ve arkadaşlarının 2025 yılında yayımladığı çalışmada, tavuk işleme yan ürünlerinin termal hidroliziyle mikrobiyal besiyeri üretimi araştırılmıştır. Yüksek sıcaklık (120 °C) ve kısa süreli (20 dk) termal hidroliz işlemiyle proteinlerin parçalanması sağlanmış; oluşan sıvı fraksiyonun yüksek çözünür azot ve amino asit içeriği nedeniyle "stick water" olarak mikrobiyal büyüme ortamlarında kullanılabileceği gösterilmiştir. Elde edilen hidrolizatın özellikle alanin, glisin ve lösin bakımından zengin olduğu, *Bacillus licheniformis* kültürlerinde hızlı büyüme ve enzim üretimini desteklediği bildirilmiştir. Bu çalışma, tavuk yan ürünlerinin karmaşık kimyasal süreçlere gerek kalmadan biyoteknolojik pepton alternatifi olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır (Drabold vd., 2025).

Yapılan çok sayıda araştırma, farklı biyokütle kaynaklarından pepton üretiminin mümkün olduğunu göstermektedir. Ancak, tavuk işleme atıklarının sistematik olarak değerlendirilmesine yönelik optimizasyon, karakterizasyon ve uygulama odaklı çalışmalar hâlen sınırlıdır. Bu nedenle, tavuk endüstrisi yan ürünlerinin biyoteknolojik dönüşümü hem çevresel sürdürülebilirlik hem de ekonomik katma değer açısından önemli bir fırsat sunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, tavuk işleme atıklarından enzimatik hidroliz yöntemiyle pepton üretimini gerçekleştirmek, elde edilen peptonların kimyasal bileşimini ve mikrobiyolojik kullanım potansiyelini değerlendirmektir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Materyaller

Bu çalışmada kullanılan ana hammadde, Erpiliç Entegre Tavuk İşleme Tesisi'nden (Bolu, Türkiye) temin edilen, tavuk tüyü hariç tüm işleme atıklarıdır. Bu atıklar; deri, kemik, kıkırdak, kas dokusu ve iç organ kalıntılarını içermektedir. Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından sağlanmıştır. Enzimatik hidroliz işlemlerinde kullanılan Alcalase® (2,4–4,0 AU-A/g) enzimi, Novozymes (Bagsværd, Danimarka) tarafından temin edilmiştir. Tüm deneysel çalışmalarda damıtılmış su kullanılmıştır. Üretilen peptonların mikrobiyal etkinliğini test etmek amacıyla *E. coli*

ATCC 8739 ve *B. subtilis* ATCC 6633 mikroorganizmaları kullanılmıştır. *E. coli* ATCC 8739 ve *B. subtilis* ATCC 6633 suşları, American Type Culture Collection (ATCC)'dan temin edilmiştir. Karşılaştırma amacıyla dört ticari pepton referans olarak kullanılmıştır: Kazein Pepton Tip I (Neogen, Lansing, MI, ABD), Bakteriyolojik Pepton (Neogen, Lansing, MI, ABD), Tripton (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, İngiltere) ve Soya Peptonu (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, İtalya). Çalışmada kullanılan kısaltmalar şu şekildedir: TP: Tavuk Pepton, SP: Soya Pepton, KP: Kazein Pepton ve RP: Tripton, BP: Bakteriyolojik pepton.

## 2.2. Deneysel tasarım ve optimizasyon

Bu çalışmada, tavuk işleme atıklarından pepton üretiminde enzimatik hidroliz koşullarının optimizasyonu amacıyla Yanıt Yüzeysel Metodolojisi (Response Surface Methodology, RSM) uygulanmıştır. Deneysel tasarımda bağımsız değişkenler olarak enzim konsantrasyonu (A, %0,1–0,5) ve hidroliz süresi (B, 4–12 saat) belirlenmiş; bağımlı değişkenler ise pepton verimi (%) ve protein oranı (%) olarak tanımlanmıştır. Optimizasyon çalışması, iki faktörlü ve üç seviyeli Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design, CCD) yaklaşımıyla yürütülmüştür. Her bir faktör düşük (–1), orta (0) ve yüksek (+1) seviyelerde kodlanmıştır. Kodlanmış ve gerçek değerler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Merkezi Kompozit Tasarımın (Central Composite Design, CCD) faktörleri ve seviyeleri.

Table 1. Factors and Levels of Central Composite Design (CCD).

Kod	Faktör	Birim	Düşük seviye (–1)	Orta seviye (0)	Yüksek seviye (+1)
A	Enzim konsantrasyonu	%	0,1	0,3	0,5
B	Hidroliz süresi	Saat	4	8	12

Elde edilen veriler Design-Expert® (Version X.X, Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Yanıt değişkenleri ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki, ikinci dereceden polinomial bir modelle tanımlanmış; modelin uygunluğu ve anlamlılığı varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Optimum koşullar, yazılım tarafından tahmin edilen en yüksek yanıt değerlerine göre belirlenmiş ve deneysel olarak doğrulanmıştır.

## 2.3. Enzimatik hidroliz

Tavuk işleme atıkları, enzimatik hidroliz öncesinde yüzeydeki kan, toz ve diğer kirlenmelerin uzaklaştırılması amacıyla bol miktarda distile su ile iyice yıkanmıştır. Ardından, yüzeyde bulunabilecek lipofilik bileşenlerin ve aşırı yağın giderilmesi için örnekler %10 (v/v) konsantrasyonunda izopropil alkol çözeltisi içerisinde 2 saat süreyle muamele edilmiştir. Alkol uygulamasının ardından kalıntı çözücünün tamamen uzaklaştırılması amacıyla örnekler birkaç kez deiyonize su ile durulanmıştır. Temizleme işlemlerinden sonra tavuk atıkları, endüstriyel tip bir öğütücü (Empero, Ersoz ve Gonca Ind. & Trade Inc., Konya, Türkiye) kullanılarak homojen bir bulamaç haline getirilmiştir. Elde edilen bulamaç, alkalaz enzimi kullanılarak optimum sıcaklık (55 °C) ve pH (8.0) koşullarında hidrolize edilmiştir. Hidroliz işlemi enzim konsantrasyonu %0,5 (w/v) olarak belirlenmiş ve reaksiyon süresi 12 saat olarak uygulanmıştır. Hidroliz tamamlandıktan sonra, enzim aktivitesini sonlandırmak amacıyla numuneler 90 °C'de 15 dakika süreyle ısıtılarak enzim deaktivasyonu sağlanmıştır. Hidroliz sonrası elde edilen pepton çözeltileri, safsızlıkların ve partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla çok aşamalı bir saflaştırma sürecine tabi tutulmuştur. İlk olarak çözünmeyen katı parçacıklar kaba filtrasyonla uzaklaştırılmış, ardından ince partiküller ve olası yağ kalıntılarının elimine edilmesi için linter filtrasyon uygulanmıştır. Takip eden adımda, mikrobiyal kontaminasyonu önlemek ve

kolloidal maddeleri uzaklaştırmak amacıyla 0,45 µm gözenek çapına sahip kartuş filtre kullanılarak mikrofiltrasyon gerçekleştirilmiştir. Saflaştırma işlemlerinin tamamlanmasının ardından, pepton çözeltileri –20 °C'de dondurulmuş ve daha sonra Christ Beta 2–8 LSC Plus marka liyofilizatör kullanılarak dondurarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemin sonucunda, yüksek saflıkta pepton tozu elde edilmiş ve karakterizasyon çalışmaları kapsamında çeşitli kimyasal ve biyolojik analizler yapılmıştır.

## 2.4. Pepton ve ticari peptonların kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

Üretilen tavuk peptonu (TP) ile ticari pepton örneklerinin (SP, KP, RP ve CP) nem, kül, protein ve yağ içerikleri AOAC International standart yöntemlerine göre belirlenmiştir. Analizlerde sırasıyla nem için AOAC 934.01, protein için 955.04, yağ için 2003.06 ve kül için 942.05 numaralı yöntemler uygulanmıştır (Cunniff, 1997). Kül tayini 550 °C'de kül fırınında sabit ağırlığa ulaşmaya kadar yakma yöntemiyle; nem tayini 105 °C'de etüvde kurutma yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Toplam protein miktarı Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir.

## 2.5. Toplam azot ve amino azot analizi

Tavuk peptonu ile ticari pepton örneklerinin toplam azot tayini Kjeldahl yöntemi ile yapılmıştır. Amino azot içerikleri ise formol titrasyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Kosasih vd., 2018). Belirli miktarda pepton örneği deiyonize su ile seyreltilmiş ve pH 8,2'ye ayarlanmıştır. Ardından, nötralize edilmiş formaldehit çözeltisi ilave edilerek karışım pH 9,2'ye ulaşmaya kadar 0,1 N NaOH çözeltisiyle titre edilmiştir. Amino azot yüzdesi, aşağıdaki Eşitlik (1) yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Serbest azot}(\%) = \left( \frac{v}{w \times 10} \right) \times M_{\text{NaOH}} \times 14.008 \quad (1)$$

Burada v, titrasyonda kullanılan NaOH hacmini (mL), w, örnek miktarını (g) ve  $M_{\text{NaOH}}$ , NaOH çözeltisinin molaritesini (mol/L) ifade etmektedir.

## 2.6. Çözünür protein analizi

Pepton örneklerinin çözünür protein miktarı, Deepachandi ve arkadaşlarının (2020) yönteminden yararlanarak belirlenmiştir. Analiz için 0,5 mL pepton çözeltisi bir reaksiyon tüpüne alınmış ve 5 mL Lowry C çözeltisi (50 mL Lowry A ve 1 mL Lowry B karışımı) ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra 0,5 mL 1 N Folin–Ciocalteu reaktif eklenmiş ve karışımın rengi mavime dönene kadar bekletilmiştir. Renk gelişimini takiben absorbans değerleri, UV–Vis spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Protein miktarı, bovine serum albümin (BSA) standart çözeltilerinden (0–1000 mg/L) elde edilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır. Absorbans–konsantrasyon ilişkisi doğrusal olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar mg protein/mL örnek olarak ifade edilmiştir. Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve ortalama değerler raporlanmıştır.

## 2.7. Hidroliz derecesinin OPA yöntemiyle belirlenmesi

Pepton örneklerinin hidroliz derecesi (DH, %), Nielsen ve arkadaşlarının (2001) tarafından bildirilen yöntemin hafif modifiye edilmiş versiyonu kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla o-fitalaldehit (OPA) reaktif taze olarak hazırlanmıştır. Reaktifin hazırlanmasında sodyum tetraborat dekahidrat, sodyum dodesil sülfat (SDS), OPA (%97) ve ditiotritol (DTT, %99) bileşenleri deiyonize suda çözülmüştür. Standart olarak 0,1 g/L serin çözeltisi kullanılmıştır. Her bir ölçüm için 3 mL OPA reaktifi; deiyonize su (blank), serin standardı veya numune çözeltisinden

400 µL ile karıştırılmıştır. Karışımlar oda sıcaklığında 2 dakika reaksiyona bırakılmış ve ardından UV-Vis spektrofotometre (V-650, Jasco Europe, İtalya) kullanılarak absorpsiyon değerleri okunmuştur. Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Hidroliz derecesi aşağıdaki Eşitlikler (2-4) yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Serin-NH}_2 = \left[ \frac{(\text{OD}_{\text{örnek}} - \text{OD}_{\text{blank}})}{(\text{OD}_{\text{standart}} - \text{OD}_{\text{blank}})} \right] \times 0.9516 \text{ meqV/L} \times \left[ \frac{(0.1 \times 100 \text{ L/g protein})}{(X \times P)} \right] \quad (2)$$

$$DH = \frac{h}{h_{\text{tot}}} \times 100 \quad (3)$$

$$h = \frac{(\text{Serin-NH}_2 - \beta)}{\alpha} \quad (4)$$

Burada; Serin-NH<sub>2</sub>, protein başına düşen serbest amino gruplarının eşdeğer miktarını (meqV/g protein) göstermektedir. X, numunenin gram cinsinden ağırlığı; P, protein yüzdesi; 0.1, numune hacmini (L) ifade etmektedir. α ve β sabitleri kullanılan hammaddeye özgü değerlerdir. h<sub>tot</sub> ise proteinin toplam peptit bağı sayısını göstermektedir.

## 2.8. Amino asit kompozisyonu

Üretilen ve ticari pepton örneklerinin amino asit kompozisyonu belirlemek için numunelere 6 N HCl eklenmiş ve 110 °C'de 16 saat kapalı tüplerde hidroliz uygulanmıştır. Hidroliz sonrası çözeltiler seyreltilip filtre edilmiş, ardından HPLC (Waters 410, Acc Q-Tag kolon, 3.9 × 150 mm) sistemiyle analiz edilmiştir. Mobil faz olarak Eluent A, Eluent B ve %60 asetonitril içeren ikincil elüent kullanılmış, akış hızı 1.0 mL/dk olarak ayarlanmıştır (Göçer vd., 2023).

## 2.9. Moleküler ağırlık dağılımı (HP-SEC)

Pepton örneklerinin moleküler ağırlık dağılımı, yüksek performanslı boyut ayırma kromatografisi (HP-SEC) kullanılarak belirlenmiştir (López-Morales vd., 2019). Analizler, Agilent 1200 HPLC sistemi (Almanya) ve TSKgel G2000 SWXL kolonu (Tosoh, Japonya) ile gerçekleştirilmiştir. Her çalışmada 20 µL pepton çözeltisi enjekte edilmiş, mobil faz olarak KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaCl, benzoik asit ve ultra saf su karışımı kullanılmıştır. Elüsyon hızı 0,5 mL/dak olarak ayarlanmış ve dedeksiyon 214 nm dalga boyunda UV dedektör ile yapılmıştır. Moleküler ağırlık kalibrasyonu, bilinen moleküler ağırlıklara sahip (1920, 2850, 3310, 4560 ve 7765 Da) kolajen peptit standartları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 2.10. Üretilen peptonun mikrobiyal büyüme ortamı olarak uygulanması

Üretilen peptonun mikrobiyal büyüme ortamı olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla biri Gram-negatif olan *E. coli* ATCC 8739 ve biri Gram-pozitif olan *B. subtilis* ATCC 6633 suşları kullanılmıştır. Deneysel prosedürler, Petrova ve arkadaşları (2021) tarafından tanımlanan metodolojiden uyarlanarak gerçekleştirilmiştir. Her iki bakteri türü, birer öze dolusu kültürün 100 mL Nutrient Broth (NB) ortamına inoküle edilmesiyle hazırlanmış ve çalkalamalı inkübatörde ön kültürlenmiştir. *E. coli* kültürleri 37 °C'de, *B. subtilis* kültürleri ise 30 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Ardından her inokulandan 1 mL alınarak, içerisinde %5 (v/v) pepton ekstraktı bulunan 100 mL taze NB ortamına aktarılmıştır. Kültürler, *E. coli* için 37 °C'de, *B. subtilis* için 30 °C'de 24 saat boyunca çalkalamalı inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriyel büyüme performansları, her 2 saatte bir 600 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD<sub>600</sub>) ölçülerek izlenmiş ve sonuçlar üretilen pepton ile ticari pepton ortamları arasında karşılaştırılmıştır.

## 3. Sonuçlar ve Tartışma

### 3.1. RSM deneysel sonuçları

Tavuk işleme atıklarından enzimatik yöntemle pepton üretimi sürecinde, enzim konsantrasyonu (A: %0,1–0,5) ve hidroliz süresi (B: 4–12 saat) değişkenleri üzerinde optimizasyon çalışması yapılmıştır. RSM ile oluşturulan deneysel tasarımda, pepton verimi ve protein oranı çıktıları değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Enzim konsantrasyonu ve hidroliz süresine göre protein oranı ve pepton verimi.

Table 2. Effect of enzyme concentration and hydrolysis time on protein content and peptone yield.

Deneme No	A: Enzim Kons. (%)	B: Süre (saat)	Protein Oranı (%)	Pepton Verimi (%)
1	0,1	4	64	42
2	0,5	4	67	45
3	0,1	12	79	48
4	0,5	12	92	60
5	0,1	8	70	52
6	0,5	8	73	55
7	0,3	4	65	44
8	0,3	12	83	51
9	0,3	8	80	50
10	0,3	8	80	50

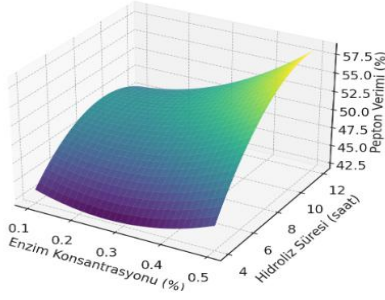
Regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden modeller istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Pepton verimi için modelin belirleme katsayısı R<sup>2</sup> = 0,947, protein oranı için ise R<sup>2</sup> = 0,909 olarak hesaplanmıştır. Her iki model de yüksek uyum göstermiş ve anlamlılık testinde (p<0,05) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Pepton Verimi Modeli:  $Y_{\text{pepton}} = 33,40 - 40,71A + 4,11B + 55,36A^2 - 0,24B^2 + 2,81AB$

Protein Oranı Modeli:  $Y_{\text{protein}} = 53,15 + 32,62A + 1,76B - 69,64A^2 - 0,02B^2 + 3,13AB$

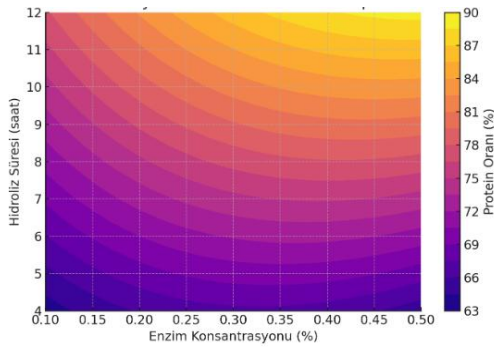
Analizler, alkalaz enzim konsantrasyonunun ve hidroliz süresinin artışının pepton verimi ve protein oranını olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Model tahminlerine göre optimum şartlar %0,5 enzim konsantrasyonu ve 12 saat hidroliz süresi olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında en yüksek pepton verimi %60, protein oranı ise %92 olarak hesaplanmıştır.

3D yanıt yüzey grafiğinde, pepton veriminin en yüksek değerlere (%60 civarı) ulaştığı bölge, yüksek enzim konsantrasyonu (%0,5) ve uzun hidroliz süresi (12 saat) kombinasyonunda gözlenmiştir. 2D kontur grafiği ise bu eğilimi destekleyerek, optimum bölgenin açıkça tanımlanabildiğini göstermektedir (Şekil 1, 2).



Şekil 1. Enzim konsantrasyonu ve hidroliz süresinin pepton verimine etkisini gösteren 3D yanıt yüzey grafiği.

Figure 1. 3D response surface plot showing the effect of enzyme concentration and hydrolysis time on peptone yield.



Şekil 2. Aynı değişkenlerin protein oranı üzerindeki etkisini gösteren 2D kontur grafiği.

Figure 2. 2D contour plot showing the effect of the same variables on protein content.

### 3.2. Tavuk Peptonu ve Ticari Peptonların Kimyasal Özellikleri

Pepton örneklerinin kimyasal bileşimleri Tablo 3'te verilmiştir. Tüm örneklerin nem oranı %5'in altında olup, bu durum ürünlerin stabilitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. En düşük nem içeriği TP (%3,86) örneğinde belirlenmiştir. Kül oranı tüm örneklerde %15 sınırının altında kalmış, TP (%12,69) ve BP (%12,34) örnekleri en düşük değerleri göstermiştir. Toplam azot bakımından TP (%16,22) örneği, diğer peptonlara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bir değer göstermiştir ( $p<0,05$ ). Serbest azot (FAN) miktarı da benzer şekilde TP (%4,51) örneğinde en yüksek bulunmuş ve bu sonuç, tavuk peptonunun daha ileri düzeyde hidrolize olmuş yapısını yansıtmaktadır. Toplam protein oranı %82,74–92,00 aralığında değişmiş olup, TP örneği en yüksek değeri vermiştir. Klorür içeriği tüm örneklerde %2'nin altında kalmıştır. Bu sonuçlar, tüm pepton örneklerinin biyokimyasal pepton spesifikasyonlarını karşıladığını ve TP'nin özellikle yüksek azot içeriğiyle mikrobiyal büyüme için en uygun aday olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. Pepton örneklerinin kimyasal bileşimi.  
Table 3. Chemical composition of peptone samples.

Parametre	TP	SP	KP	RP	BP	Referans Değeri (Biyokimyasal Pepton)
Nem (%)	3,86 <sup>a</sup>	4,35 <sup>b</sup>	4,61 <sup>b</sup>	4,68 <sup>b</sup>	4,29 <sup>b</sup>	<5,0
Kül İçeriği (%)	12,69 <sup>a</sup>	13,46 <sup>b</sup>	14,11 <sup>c</sup>	13,75 <sup>b</sup>	12,34 <sup>a</sup>	<15,0
Toplam Azot (%)	16,22 <sup>c</sup>	14,28 <sup>b</sup>	12,73 <sup>a</sup>	12,42 <sup>a</sup>	14,17 <sup>b</sup>	>12,0
Serbest Azot (%)	4,51 <sup>b</sup>	3,84 <sup>a</sup>	3,22 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>	3,19 <sup>a</sup>	>2,5
Toplam Protein (%)	92,00 <sup>b</sup>	82,74 <sup>a</sup>	86,35 <sup>a</sup>	88,34 <sup>a</sup>	90,14 <sup>b</sup>	–
Klorür İçeriği (Cl olarak, %)	-	1,01	0,54	0,63	0,59	<2,0

\* Her satırdaki farklı harfler istatistiksel farkı vurgular ( $p<0,05$ )

Yapılan bir çalışmada, uskumru baş atıklarından ekstrakte edilen peptonun nem oranı yaklaşık %5,07, toplam azot içeriği %11,53 ve kül içeriği %3,78 olarak rapor edilmiştir; ayrıca bu pepton, ticari peptonlarla karşılaştırıldığında bakteriyel büyüme performansında dengeli ve etkili sonuçlar vermiştir (Setijawati vd., 2019). Bu literatür sonuçları, üretilen pepton örnekleri ile güçlü bir paralellik göstermektedir: TP peptonda nem %3,86, toplam azot %16,22 ve kül %12,69 gibi daha yüksek azot ve daha düşük nem değerleri elde edilmiştir. Bu farklılıklar, çalışmada kullanılan hidroliz yönteminin, kaynak protein yapısının ve saflaştırma adımlarının yüksek verimli olduğunu işaret etmektedir. Vasileva-Tonkova'nın (2007) kolajen kaynaklı pepton çalışmalarında da benzer bir eğilim görülmüş olup yüksek azot içerikleri ve mikrobiyal büyüme destek kapasitesi, üretilen peptonun performansının birbiri ile doğru orantılı olduğu görülmüştür. Literatürde bulunan örnekler, çalışmada sunulan kimyasal bileşim ve mikrobiyal büyüme verilerinin geçerliliğini ve güvenilirliğini pekiştirmektedir.

### 3.3. Pepton örneklerinin çözünür protein miktarları

Pepton örneklerinin çözünür protein miktarları Tablo 4'te verilmiştir. Sonuçlara göre, RP ( $8,81 \pm 0,20$  mg/mL) ve TP ( $8,42 \pm 0,15$  mg/mL) örnekleri en yüksek çözünür protein içeriğine sahip olmuş ve bu değerler diğer ticari peptonlara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). SP ( $7,36 \pm 0,24$  mg/mL) orta düzeyde, KP ( $6,88 \pm 0,31$  mg/mL) ve BP ( $6,54 \pm 0,27$  mg/mL) ise en düşük çözünür protein miktarlarına sahiptir. Bu sonuçlar, tavuk atıklarından üretilen peptonun çözünürlük bakımından yüksek biyoyararlanıma sahip bir azot kaynağı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. Pepton örneklerinin çözünür protein miktarları.  
Table 4. Soluble protein content of peptone samples.

Örnek	Çözünür Protein (mg/mL)	İstatistiksel Grup ( $p<0,05$ )
TP	$8,42 \pm 0,15$	a
SP	$7,36 \pm 0,24$	b
KP	$6,88 \pm 0,31$	c
RP	$8,81 \pm 0,20$	a
BP	$6,54 \pm 0,27$	c

\*Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma ( $n = 3$ ) olarak verilmiştir. Farklı harfler, satır içi örnekler arasında istatistiksel farkı göstermektedir (Tek yönlü ANOVA, Tukey HSD testi,  $p<0,05$ ).

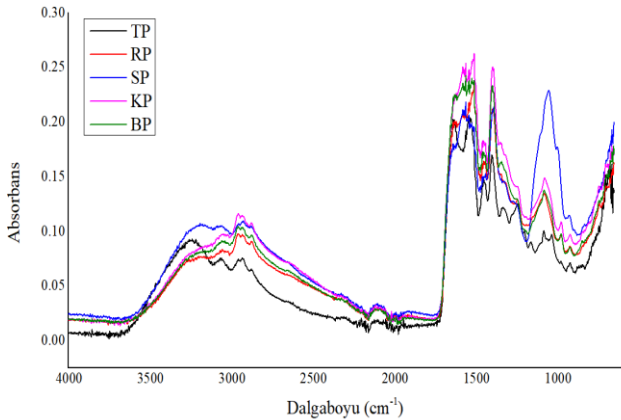
Elde edilen bulgular, literatürde bildirilen sonuçlarla önemli ölçüde paralellik göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalarda, tavuk işleme atıklarından veya balık yan ürünlerinden üretilen peptonların yüksek çözünür protein içeriği ve güçlü mikrobiyal büyüme desteği sunduğu rapor edilmiştir (Saeed vd., 2025; Liu vd., 2024; Vazquez vd., 2020). Örneğin, Saeed ve arkadaşları (2025) tarafından yapılan çalışmada, tavuk atıklarından elde edilen pepton örneklerinin çözünür protein miktarı 7,5–8,0 mg/mL aralığında bulunmuş ve ticari peptonlarla benzer düzeyde performans sergilediği bildirilmiştir.

Benzer şekilde, Liu ve arkadaşları (2024) tarafından yürütülen çalışmada da balık başı kaynaklı peptonlarda çözünürlük oranlarının %98'in üzerinde olduğu ve özellikle glisin ile glutamik asit bakımından zengin oldukları belirtilmiştir. Vazquez ve arkadaşları (2020) ise deniz ve bitkisel kaynaklardan elde edilen peptonların genel olarak 2,6–11 g/L çözünür protein aralığında olduğunu rapor etmişlerdir. Bu bulgular, sunulan çalışmada TP (8,42 ± 0,15 mg/mL) ve RP (8,81 ± 0,20 mg/mL) örneklerinde gözlenen yüksek çözünür protein değerleriyle uyum içindedir. Sonuç olarak, literatürdeki bu çalışmalar, tavuk işleme atıklarından üretilen peptonun kimyasal bileşimi ve çözünür protein açısından ticari muadilleriyle kıyaslanabilir, hatta bazı yönleriyle üstün nitelikte olduğunu desteklemektedir.

### 3.4. Fourier Transform Infrared (FTIR) analizi

Tavuk peptonu ve ticari pepton örneklerine ait FTIR spektrumları Şekil 3'te verilmiştir. Tüm örneklerde yaklaşık 3270–3300 cm<sup>-1</sup> civarında gözlenen geniş bant, kolajen ve protein yapılarında yer alan –NH (Amid A) ve –OH gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. 2920–2850 cm<sup>-1</sup> aralığındaki zayıf pikler ise C–H gerilme titreşimlerini göstermektedir. Amid I bandı (yaklaşık 1635–1650 cm<sup>-1</sup>) karbonil (C=O) gerilmesi ile ilişkili olup, polipeptit zincirinin sekonder yapısı hakkında bilgi vermektedir. Amid II bandı (1550 cm<sup>-1</sup> civarı) N–H bükülme ve C–N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmıştır. Ayrıca Amid III bölgesi (1230–1300 cm<sup>-1</sup>) C–N gerilme ve N–H bükülme modlarını göstermiştir.

Tüm ticari pepton örneklerinde Amid I ve II piklerinin daha belirgin olduğu, buna karşın TP örneğinde bu bantların daha düşük yoğunlukta olduğu gözlenmiştir. Bu durum, TP'nin daha ileri hidroliz derecesine sahip olduğunu ve düşük molekül ağırlıklı peptitlerin oranının yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca 1000–1100 cm<sup>-1</sup> aralığında yer alan C–O–C gerilme titreşimleri karbonhidrat veya peptit yan zincirlerinden kaynaklanmakta olup, TP örneğinde bu bölgedeki piklerin zayıf görünmesi saflaştırmanın etkili olduğunu desteklemektedir.



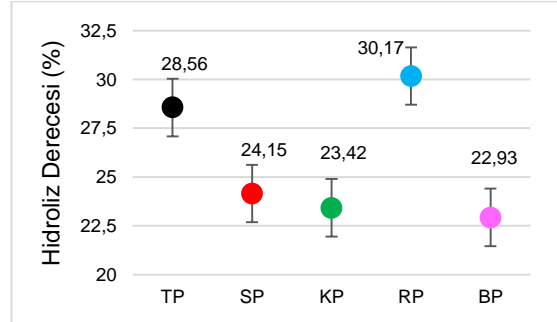
Şekil 3. Örneklere ait FTIR spektrumları.  
Figure 3. FTIR spectra of the samples.

Elde edilen FTIR spektrumları, literatürde bildirilen benzer çalışmalarla güçlü bir paralellik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, protein hidrolizatlarının FTIR analiziyle moleküler yapı değişimleri incelenmiş ve özellikle 1650 cm<sup>-1</sup> (Amid I) ve 1550 cm<sup>-1</sup> (Amid II) bant yoğunluklarının hidroliz derecesiyle doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir (Wubshet vd., 2017). Bu durum, TP örneğinde gözlenen düşük bant yoğunluklarının, daha ileri hidroliz derecesine sahip peptitlerin oluştuğunu göstermesiyle uyumludur. Ayrıca Trivedi ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan bir başka FTIR çalışmasında da

pepton örneklerinde 3200–3300 cm<sup>-1</sup> aralığındaki N–H ve O–H gerilme bantlarının protein yapısını karakterize ettiği ve hidroliz düzeyine bağlı olarak bu bölgelerde değişimler gözlemlendiği rapor edilmiştir. Benzer şekilde, sunulan çalışmada da TP örneğinde bu bantların daha zayıf gözlenmesi, düşük molekül ağırlıklı peptitlerin yoğunluğunu ve saflaştırma etkinliğini desteklemektedir. Dolayısıyla, literatürdeki bu sonuçlar FTIR analizinin geçerliliğini ve TP'nin yapısal olarak daha ileri düzeyde parçalanmış bir protein profiline sahip olduğunu doğrulamaktadır.

### 3.5. Hidroliz derecesi

Hidroliz derecesi (DH) sonuçları, üretilen tavuk peptonu ile dört ticari pepton arasında belirgin farklılıklar göstermiştir (Şekil 4). En yüksek DH değeri %30,17 ile RP örneğinde gözlenirken, bu değeri sırasıyla TP (%28,56), SP (%24,15), KP (%23,42) ve MP (%22,93) takip etmiştir. Elde edilen sonuçlar, tavuk işleme atıklarından elde edilen TP peptonunun hidroliz derecesinin, birçok ticari peptonla karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu ve bazı durumlarda daha yüksek değerler sergilediğini göstermektedir. TP peptonundaki yüksek hidroliz derecesi, Alkalaz enziminin etkinliği ve tavuk kaynaklı proteinin enzimatik parçalanmaya uygun yapısal özellikleri ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca DH değerlerinin, kullanılan protein kaynağı ve uygulanan işlem koşullarına bağlı olarak değiştiği; yüksek DH değerlerinin ise daha fazla peptit bağının kırıldığı, dolayısıyla daha küçük moleküler ağırlıklı peptitlerin oluştuğu anlamına geldiği bilinmektedir. Bu sonuçlar, TP'nin mikrobiyal büyüme ortamlarında yüksek biyoyararlanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. Üretilen tavuk peptonu ile ticari pepton örneklerinin hidroliz dereceleri (%).  
Figure 4. Degree of Hydrolysis (%) of the produced chicken peptone and commercial peptone samples.

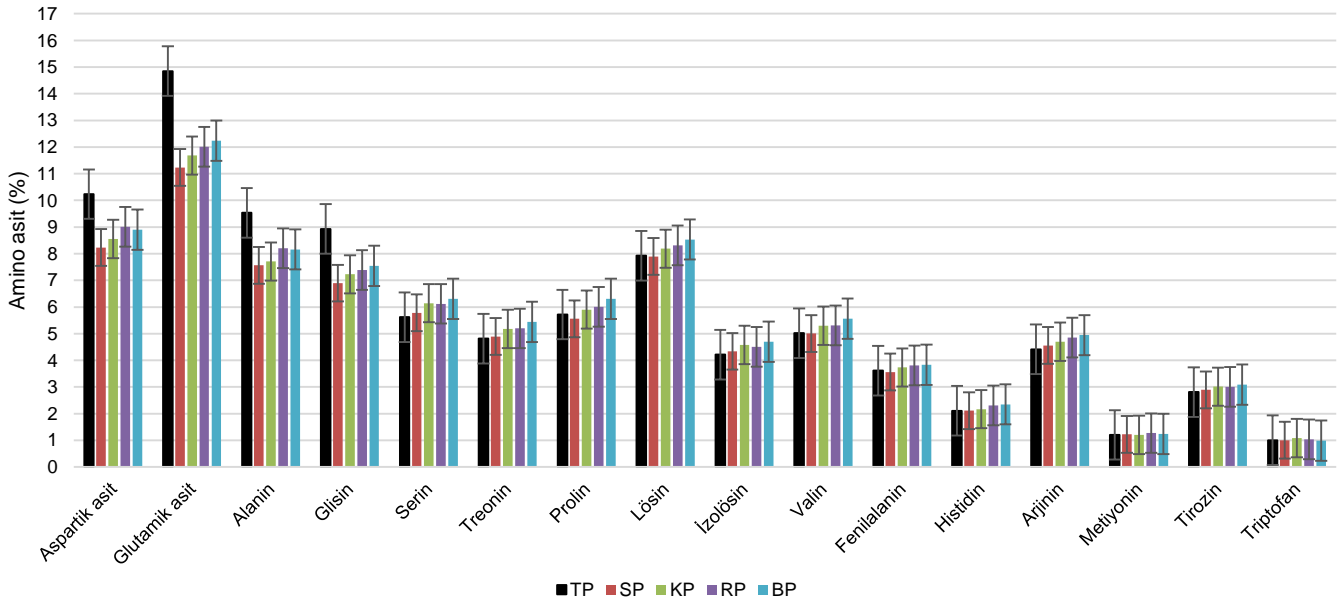
Yapılan bir çalışmada İslam ve arkadaşları (2022), soya proteini kaynaklı hidrolizatlarda hidroliz derecesi ile çözünürlük ve biyolojik aktivite arasında pozitif bir ilişki tespit etmiş; yüksek DH değerlerinin peptitlerin çözünürlüğünü ve fonksiyonel performansını artırdığını raporlamışlardır. Benzer şekilde Cui ve arkadaşları (2024), farklı peptit profilleri üzerinde yürüttükleri analizlerde, FTIR ve moleküler ağırlık tayinleri ile DH'nin peptit zincir parçalanmasıyla doğrudan ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bu literatür bulguları, RP (%30,17 DH) ve TP (%28,56 DH) örneklerinin yüksek hidroliz derecelerinin, daha küçük moleküler ağırlıklı peptitler oluşumuna ve dolayısıyla mikrobiyal büyüme ortamlarında daha etkili azot kullanımı potansiyeline işaret ettiğini güçlü şekilde desteklemektedir.

### 3.6. Pepton örneklerinin amino asit bileşimi

Amino asit bileşimi sonuçları, tavuk işleme atıklarından elde edilen peptonun ticari peptonlarla karşılaştırıldığında daha zengin bir amino asit profiline sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 5). En yüksek düzeyde bulunan amino asitler tüm

örneklerde glutamik asit, aspartik asit, alalin ve glisin olmuştur. Bu dört amino asidin oranı, özellikle TP örneğinde belirgin şekilde yüksek bulunmuş; glutamik asit %14,8, aspartik asit %10,2, alanin %9,5 ve glisin %8,9 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, toplam protein içeriğiyle (yaklaşık %92) uyumlu olup, TP'nin protein kaynaklı azot açısından daha kompleks bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Glutamik ve aspartik asit, mikrobiyal büyümede enerji metabolizması için temel öneme sahip amino asitlerdir. Bu nedenle TP örneğindeki yüksek düzeyleri, bu peptonun mikroorganizmalar için biyolojik olarak daha erişilebilir bir azot kaynağı olabileceğini göstermektedir. Ayrıca alanin ve glisin miktarlarının yüksek olması, protein hidrolizatın daha küçük zincirli peptitlerden oluştuğunu ve çözünürlüğünün yüksek olduğunu desteklemektedir. RP örneği de glutamik ve aspartik asit bakımından görece yüksek değerlere sahip olsa da TP örneği genel olarak en dengeli ve besin açısından zengin amino asit profilini sunmuştur. Bu sonuçlar, tavuk atıklarının sadece protein kaynağı olarak değil, aynı zamanda mikrobiyal besiyeri formülasyonlarında fonksiyonel bir pepton alternatifi olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda hayvansal kaynaklı peptonların amino asit profilleri incelendiğinde, sonuçlarımızla güçlü bir benzerlik görülmektedir. Balık işleme atıklarından enzimatik yöntemle üretilen peptonlarda glutamik asit (%13,7–15,1), aspartik asit (%9,8–11,2), glisin (%8,3–9,0) ve alanin (%7,5–9,4) oranları rapor edilmiştir (Fallah vd., 2015). Benzer şekilde, sığır kanı protein hidrolizatlarında glutamik asit oranı %14,5, aspartik asit %10,1, glisin %8,7 ve alanin %8,4 olarak belirlenmiştir (Rezaee vd., 2022). Bu değerler, TP peptonunda elde edilen glutamik asit (%14,8), aspartik asit (%10,2), glisin (%8,9) ve alanin (%9,5) oranlarıyla büyük ölçüde örtüşmektedir. Elde edilen sonuçlar, tavuk işleme atıklarının da tıpkı balık ve sığır kaynakları gibi yüksek oranda protein ve serbest amino asit içeriğine sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle glutamik ve aspartik asit düzeylerinin yüksek olması, TP'nin mikrobiyal büyümede enerji metabolizması ve azot döngüsü açısından biyolojik olarak üstün bir pepton kaynağı olduğunu desteklemektedir.



Şekil 5. Pepton örneklerinin amino asit bileşimi (%).  
Figure 5. Amino acid composition (%) of the peptone samples.

### 3.7. Moleküler ağırlık dağılımı (HP-SEC)

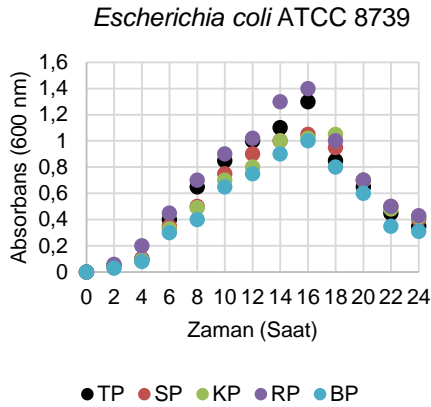
Pepton örneklerinin moleküler ağırlık dağılımları, yüksek performanslı boyut dışlama kromatografisi (High-Performance Size-Exclusion Chromatography, HP-SEC) analizi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, TP, 418 Da ortalama molekül ağırlığıyla en düşük değeri göstermiştir. Bu durum, peptitlerin ileri düzeyde hidrolize olduğunu ve düşük molekül ağırlıklı fraksiyonların baskın olduğunu göstermektedir. Ticari peptonlardan MP (1016 Da) ve SP (1005 Da) daha yüksek moleküler ağırlıklara sahipken, KP (912 Da) ve RP (822 Da) orta düzeyde değerler göstermiştir. TP'deki düşük ortalama molekül ağırlığı, alkalaz enziminin etkin hidroliz gücüyle ilişkilendirilmiş ve bu durumun mikroorganizmalar tarafından daha kolay asimile edilebilir kısa zincirli peptitlerin oluşumunu desteklediği düşünülmüştür. Genel olarak sonuçlar, tavuk atıklarından elde edilen TP'nin, ticari peptonlara kıyasla daha yüksek hidroliz derecesine ve biyolojik kullanılabilirliğe sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada farklı peptonlarda

%80'den fazlasının <1 kDa moleküler ağırlıkta olduğu rapor edilmiştir (Davami vd., 2015). Ayrıca, kolajen kaynaklı hidrolizatlar peptitlerin yaklaşık %60'ının <1 kDa olduğu tespit edilmiştir (Chen vd., 2016). Bu literatür sonuçları, TP'nin düşük molekül ağırlıklı yapısı ve yüksek biyolojik kullanılabilirliği ile ticari peptonlara güçlü bir alternatif olduğunu desteklemektedir.

### 3.8. TP ve ticari peptonların *E. coli* ATCC 8739 ve *B. subtilis* ATCC 6633 suşlarının büyüme etkisi üzerindeki etkisi

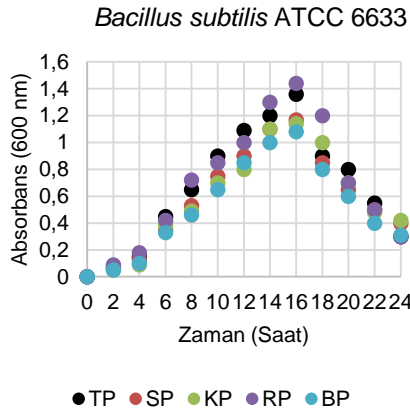
TP ve ticari peptonların mikrobiyal büyüme üzerindeki etkileri incelendiğinde, her iki bakteri türü için de benzer büyüme eğrileri gözlenmiş, ancak TP ile beslenen kültürlerde daha erken ve yüksek büyüme değerleri elde edilmiştir (Şekil 6,7). *E. coli* kültürlerinde, TP'nin sağladığı azot ve serbest amino asitler sayesinde 12–14 saat arasında maksimum absorbans (~1,3–1,4) değerine ulaşılmıştır. Ticari peptonlar (SP, KP, RP, BP) ise benzer eğilim göstermiş ancak maksimum büyümeye

genellikle 1–2 saat daha geç ulaşmıştır. Benzer şekilde *B. subtilis* ATCC 6633 için de TP kullanıldığında hücre büyümesi daha hızlı başlamış ve 14. saat civarında maksimum absorbans (~1,5) değeri kaydedilmiştir. Bu sonuç, TP'nin yüksek serbest azot içeriği (%4,51) ve hidroliz derecesi (%28,56) ile doğrudan ilişkilendirilebilir. Ayrıca, tavuk kaynaklı proteinlerin alkalaz enzimiyle hidrolizi sonucu oluşan düşük molekül ağırlıklı peptitlerin mikroorganizmalar tarafından daha kolay asimile edildiği düşünülmektedir. Genel olarak bu bulgular, TP'nin mikrobiyal büyüme ortamlarında kullanılabilecek güçlü bir alternatif besin kaynağı olduğunu ve biyoteknolojik üretim süreçlerinde ticari peptonların yerine kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.



Şekil 6. *Escherichia coli* ATCC 8739 suşunun farklı pepton ortamlarındaki büyüme eğrileri.

Figure 6. Growth curves of *Escherichia coli* ATCC 8739 in media supplemented with different peptones.



Şekil 7. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 suşunun farklı pepton ortamlarındaki büyüme eğrileri.

Figure 7. Growth curves of *Bacillus subtilis* ATCC 6633 in media supplemented with different peptones.

Elde edilen tüm sonuçlar bir bütün olarak değerlendirildiğinde, tavuk işleme atıklarından üretilen TP'nin hem kimyasal bileşimi hem de biyolojik performansı açısından ticari peptonlara güçlü bir alternatif oluşturduğu görülmektedir. TP peptonu, yüksek toplam azot (%16,22) ve serbest azot (%4,51) içeriği, ileri hidroliz derecesi (%28,56) ve zengin amino asit profili (özellikle glutamik, aspartik, alanin ve glisin) sayesinde *E. coli* ve *B. subtilis* kültürlerinde hızlı ve dengeli büyüme sağlamıştır. Nakamura ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında tavuk atıklarından elde edilen peptonların *E. coli* büyümesini desteklediği bildirilmiş, bu durum TP'nin performansıyla paralellik göstermektedir. Rezaee ve arkadaşları (2022) ise sığır kanı protein hidrolizatlarının pepton olarak kullanılabileceğini göstermiş ve mikrobiyal büyümede etkili olduğunu rapor etmiştir. Fallah ve arkadaşları

(2015) çalışmalarında balık atıklarından üretilen peptonun çözünür protein performansı ve mikrobiyal büyüme desteği incelendiğinde, TP peptonunun değerleriyle benzer ya da üzerinde performanslar elde edilmiştir. Bu literatür bulguları, TP'nin ticari peptonlara kıyasla biyoyararlanım potansiyelinin yüksek olduğunu kuvvetle desteklemektedir.

#### 4. Sonuç

Bu çalışma, tavuk işleme atıklarının biyoteknolojik yöntemlerle pepton üretiminde sürdürülebilir bir kaynak olarak değerlendirilebileceğini açıkça göstermiştir. Alkalaz enzimi kullanılarak gerçekleştirilen enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen TP, kimyasal bileşimi, hidroliz derecesi ve amino asit profili açısından ticari peptonlarla karşılaştırılabilir düzeyde performans sergilemiştir. Özellikle glutamik asit, aspartik asit, alanin ve glisin gibi mikrobiyal büyüme için kritik öneme sahip amino asitlerin yüksek oranda bulunması, TP'nin biyolojik olarak zengin bir azot kaynağı olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca *E. coli* ATCC 8739 ve *B. subtilis* ATCC 6633 suşları üzerinde yapılan büyüme testleri, TP'nin ticari peptonlara eşdeğer hatta bazı durumlarda üstün mikrobiyal büyüme desteği sağladığını göstermiştir. Bu sonuçlar, hayvansal kökenli atıkların katma değerli ürünlere dönüştürülmesinin çevresel katkılarına yanı sıra, bu çalışmada optimum koşullarda %60 olarak hesaplanan pepton verimi dikkate alındığında, ekonomik açıdan da önemli bir potansiyel sunduğunu vurgulamaktadır.

Elde edilen bu başarı ışığında, gelecekteki çalışmaların, bu araştırmanın endüstriyel ve bilimsel etki alanını genişletmek amacıyla odaklanması gerekmektedir. Öncelikle, laboratuvar ölçeğinde belirlenen optimum hidroliz koşullarının endüstriyel düzeyde uygulanabilirliğini değerlendirmek ve maliyet etkinliğini artırmak üzere pilot ölçekli üretim süreçlerine odaklanılacaktır. Aynı zamanda, üretilen tavuk peptonunun farklı endüstriyel mikroorganizma türleri (örn. probiyotikler, maya veya aşı üretimi suşları) üzerindeki büyüme performansı test edilerek uygulama alanı çeşitlendirilecektir. Son olarak, çalışmanın ekonomik sürdürülebilirliğini tam olarak desteklemek için, hammadde maliyetleri ve enerji tüketimi de dahil olmak üzere kapsamlı bir tekno-ekonomik analiz yapılması büyük önem taşımaktadır.

Sonuç olarak bu araştırma, tavuk işleme atıklarından elde edilen tavuk peptonunun gıda, biyoteknoloji ve mikrobiyoloji endüstrilerinde ticari peptonlara sürdürülebilir bir alternatif olarak değerlendirilebileceğini ve gelecekte daha büyük ölçekli üretim sistemlerinde uygulanabilir potansiyele sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

#### Teşekkür ve Bilgi

Bu çalışma, 4-6 Eylül 2025 tarihlerinde İstanbul Teknik Üniversitesi'nde gerçekleştirilen Türkiye 2. Gıda Mikrobiyolojisi Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur.

#### Yazar Katkısı

S.CR.: Veri düzenleme ve yönetimi, Araştırma; B.Ç.: Yöntem geliştirme, Araştırma; S.CR.: Yöntem geliştirme, Orijinal taslak yazımı; ZB.A.: Yazım – gözden geçirme ve düzenleme

#### Veri Erişilebilirlik Beyanı

Bu çalışmada üretilen ve/veya analiz edilen veri setleri, makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

#### Finansman Beyanı

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 1501 Sanayi Ar-Ge Projeleri Destek Programı kapsamında, 3241321 numaralı proje ile finanse edilmiştir. Çalışma ayrıca Kazlıçeşme Ar-Ge

Merkezi'nin altyapı ve teknik olanakları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

## Etik Beyanı

Bu çalışma insan katılımcıları veya hayvan deneylerini içermemektedir.

## Kaynaklar

- Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçıları Birliği Derneği. (2024). *Kanatlı beyaz et sektörü üretim verileri* [Poultry white meat sector production data]. BESD-BİR. <https://www.besd-bir.org/sector-verileri/>
- Chen, J., Li, L., Yi, R., Xu, N., Gao, R., & Hong, B. (2016). Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *LWT - Food Science and Technology*, *66*(9), 453-459. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.070>
- Cui, Q., Li, Y., Li, T., Yu, J., Shen, G., Sun, X., Zhou, M., & Zhang, Z. (2024). Characterization of Peptide Profiles and the Hypoallergenic and High Antioxidant Activity of Whey Protein Hydrolysate Prepared Using Different Hydrolysis Modes. *Foods*, *13*(18), 2978. <https://doi.org/10.3390/foods13182978>
- Cunniff, P. (Ed.). (1997). *Official methods of analysis of AOAC International* (16th ed., 4th rev.). AOAC International. <https://doi.org/10.1093/jaoac/80.6.127A>
- Davami, F., Eghbali, F., Nematollahi, L., Barkhordari, F., & Mahboudi, F. (2015). Effects of peptone supplementation in different culture media on growth, metabolic pathway and productivity of CHO DG44 cells; A new insight into amino acid profiles. *Iranian Biomedical Journal*, *19*(4), 194-205. <https://doi.org/10.7508/ibj.2015.04.002>
- Deepachandi, B., Weerasinghe, S., Andrahennadi, T. P., Karunaweera, N.D., Wickramarachchi, N., Soysa, P., & Siriwardana, Y. (2020). Quantification of soluble or insoluble fractions of *Leishmania* parasite proteins in microvolume applications: A simplification to standard Lowry assay. *International Journal of Analytical Chemistry*, *2020*, Article 6129132. <https://doi.org/10.1155/2020/6129132>
- Drabold, E. T., Sakhakarmy, M., Shanmugam, S. R., Adhikari, S., Arthur, W., Rudar, M., Boersma, M., Wang, Q., & Higgins, B. T. (2025). Thermal hydrolysis of poultry byproducts for the production of microbial media. *Scientific Reports*, *15*, Article 6107. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-90411-7>
- Fallah, M., Bahram, S., & Javadian, S. R. (2015). Fish peptone development using enzymatic hydrolysis of silver carp by-products as a nitrogen source in *Staphylococcus aureus* media. *Food science & nutrition*, *3*(2), 153-157. <https://doi.org/10.1002/fsn3.198>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2014). *Poultry development review*. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/3531e>
- Göçer, M., Yanar, Y., & Aydın, M. (2023). Determination of amino acid profile and some characteristics of collagen extracted from skin and bone of Mangar (*Luciobarbus esocinus* Heckel, 1843). *LimnoFish*, *9*(2), 94-107. <https://doi.org/10.17216/LimnoFish.1213720>
- Hubálek Z. (2003). Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, *46*(3), 205-229. [https://doi.org/10.1016/s0011-2240\(03\)00046-4](https://doi.org/10.1016/s0011-2240(03)00046-4)
- Islam, M., Huang, Y., Islam, S., Fan, B., Tong, L., & Wang, F. (2022). Influence of the Degree of Hydrolysis on Functional Properties and Antioxidant Activity of Enzymatic Soybean Protein Hydrolysates. *Molecules*, *27*(18), 6110. <https://doi.org/10.3390/molecules27186110>
- Kosasih, W., Ratnaningrum, D., Endah, E. S., Pudjihartati, S., & Priatni, S. (2018). The use of papain enzyme in fish peptone processing. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *160*(1), Article 012007. IOP Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/160/1/012007>
- Kuncorojakti, S., Delaiah, D., Aswin, A., Puspitasari, Y., Damayanti, Y., Susilowati, H., Diyantoro, Hamid, I., Arif, M., Suwarno, & Rodprasert, W. (2024). Development of peptone-based serum-free media to support Vero CCL-81 cell proliferation and optimize SARS-CoV2 viral production. *Heliyon*, *10*(13), e41077. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e41077>
- Liu, G., Tiang, M. F., Ma, S., Wei, Z., Liang, X., Sajab, M. S., Abdul, P. M., Zhou, X., Ma, Z., & Ding, G. (2024). An alternative peptone preparation using *Hermetia illucens* (Black soldier fly) hydrolysis: process optimization and performance evaluation. *PeerJ*, *12*, e16995. <https://doi.org/10.7717/peerj.16995>
- López-Morales, C. A., Vázquez-Leyva, S., Vallejo-Castillo, L., Carballo-Uicab, G., Muñoz-García, L., Herbert-Pucheta, J. E., Zepeda-Vallejo, L. G., Velasco-Velázquez, M., Pavón, L., Pérez-Tapia, S. M., & Medina-Rivero, E. (2019). Determination of peptide profile consistency and safety of collagen hydrolysates as quality attributes. *Journal of Food Science*, *84*(3), 430-439. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14466>
- Nakamura, A., Takahashi, H., Sulaiman, S., Phraephaisarn, C., Keeratipibul, S., Kuda, T., & Kimura, B. (2021). Evaluation of peptones from chicken waste as a nitrogen source for micro-organisms. *Letters in applied microbiology*, *72*(4), 408-414. <https://doi.org/10.1111/lam.13428>
- Nielsen, P. M., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, *66*(5), 642-646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>
- Petrova, I., Tolstorebrov, I., Zhivlyantseva, I., & Eikevik, T. M. (2021). Utilization of fish protein hydrolysates as peptones for microbiological culture medias, *Food Bioscience*, *42*, 101063. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101063>
- Priatni, S., Kosasih, W., Budiwati, T., & Ratnaningrum, D. (2017). Production of peptone from boso fish (*Oxyeleotris marmorata*) for bacterial growth medium. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *60*(1), Article 012009. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/60/1/012009>
- Rezaee, N., Hasanvand, P., Bagheri Lotfabad, T., Heydarinasab, A., Khodabandeh, M., & Yaghmaei, S. (2022). Study on the use of bovine blood protein hydrolysate as a peptone in microbial culture media. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, *53*(5), 531-539. <https://doi.org/10.1080/10826068.2022.2119577>

- Saeed, H. M., Ragaey, A. M., Samy, Z. A., Awad, H. M., & El-Toukhy, N. M. (2025). Optimization and characterization studies of poultry waste valorization for peptone production using a newly Egyptian *Bacillus subtilis* strain. *AMB Express*, 15, Article 9. <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01794-1>
- Seidavi, A., Zaker, H., & Scanes, C. G. (2019). Present and potential impacts of waste from poultry production on the environment. *World's Poultry Science Journal*, 75(1), 1–14. <https://doi.org/10.1017/S0043933918000922>
- Setijawati, D., Jaziri, A., Yufidasari, H., Wardani, D., Dwi Pratomo, M., Ersyah, D., & Huda, N. (2019). Characteristics of Peptone from the Mackerel, *Scomber japonicus* Head by-Product as Bacterial Growth Media. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 12, 829. <https://doi.org/10.21786/bbrc/12.4/1>
- Taskin, M., Sisman, T., Erdal, S., & Inan, O. (2011). Use of waste chicken feathers as peptone for production of carotenoids in submerged culture of *Rhodotorula glutinis* MT-5. *European Food Research and Technology*, 233(4), 657–665. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1561-2>
- Trivedi, M., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., Mishra, R., & Jana, S. (2015). Physicochemical evaluation of biofield treated peptone and Malmgren modified terrestrial orchid medium. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*, 3(6), 169–177. <https://doi.org/10.11648/j.bio.20150306.15>
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2024). *Kümes hayvancılığı üretimi* [Poultry production]. TÜİK Haber Bülteni. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretim-Mayis-2024-49659>
- U.S. Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service. (2025, April 10). *Livestock and poultry: World markets and trade*. <https://www.fas.usda.gov/data/livestock-and-poultry-world-markets-and-trade>
- Vasileva-Tonkova, E., Nustorova, M., & Gushterova, A. (2007). New protein hydrolysates from collagen wastes used as peptone for bacterial growth. *Current microbiology*, 54(1), 54–57. <https://doi.org/10.1007/s00284-006-0308-y>
- Vázquez, J. A., Durán, A. I., Mendiña, A., & Nogueira, M. (2020). Biotechnological Valorization of Food Marine Wastes: Microbial Productions on Peptones Obtained from Aquaculture By-Products. *Biomolecules*, 10(8), 1184. <https://doi.org/10.3390/biom10081184>
- Wubshet, S. G., Måge, I., Böcker, U., Lindberg, D., Knutsen, S. H., Rieder, A., Airado-Rodríguez, D., & Afseth, N. K. (2017). FTIR as a rapid tool for the evaluation of hydrolysis degree of proteins. *Analytical Methods*, 9(25), 3937–3945. <https://doi.org/10.1039/C7AY00865A>
- Zhang, Z., Adebayo, I. A., O'Shea, R., & Astatkie, T. (2024). Production of a high-quality peptone from black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae defatted meal using enzymatic hydrolysis. *Heliyon*, 10(7), e28664. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28664>