



**OZON UYGULAMASININ, ETLİK PİLİÇ
YEMLERİNİN MİKROBİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİ VE BESİN MADDE
KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Orçun ÇELİK
Yüksek Lisans Tezi
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
Danışman: Dr.Öğr. Üyesi Aylin AĞMA OKUR

2019

T.C.

TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**OZON UYGULAMASININ, ETLİK PİLİÇ YEMLERİNİN
MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE BESİN MADDE KOMPOZİSYONU
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Orçun ÇELİK

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Aylin AĞMA OKUR

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır

Dr. Öğr. Üyesi Aylin AĞMA OKUR danışmanlığında, Orçun ÇELİK tarafından hazırlanan “Ozon Uygulamasının, Etlik Piliç Yemlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri ve Besin Madde Kompozisyonu Üzerine Etkileri” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Dr. Öğr. Üyesi İsa COŞKUN

İmza :

Üye: Prof. Dr. Fisun KOÇ

İmza :

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Aylin AĞMA OKUR

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OZON UYGULAMASININ, ETLİK PİLİÇ YEMLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE BESİN MADDE KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Orçun ÇELİK

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aylin AĞMA OKUR

Ozon, hızla oksijene parçalanması, hiçbir kalıntı bırakmaması sebebiyle başta gıda, kimyasal endüstri ve sağlık sektörü olmak üzere birçok farklı alanda koruyucu ve dezenfeksiyon amaçlı kullanılmaktadır. Bu çalışmada ozon uygulamasının, etlik piliç yemlerinin mikrobiyolojik özellikleri ve besin madde kompozisyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla saf oksijenden üretilen ozon, farklı doz ve farklı sürelerde etlik piliç yemlerine uygulanmıştır. Ozon uygulaması öncesi yemlere *Aspergillus niger* küfü bulaştırılmış, ardından farklı doz ve sürelerde ozon gazı uygulamasının etkileri incelenmiştir. Ozon uygulaması sonucu yem örneklerindeki *Aspergillus niger* ve küf-maya sayılarında azalma görülmüş ve istatistikî olarak farklılık önemli bulunmuştur ($P<0,01$).

Anahtar kelimeler: Etlik piliç yemi, ozon, *Aspergillus niger*, yem hijyeni

2019, 101 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

EFFECTS OF OZONE USAGE ON MICROBIAL PROPERTIES AND NUTRIENT COMPOSITION OF BROILER FEEDS

Orçun ÇELİK

Tekirdağ Namık Kemal University Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Aylin AGMA OKUR

Ozone is quickly used for preservation and disinfection in many different areas, especially in the food, chemical industry and health sector due to its disintegration into oxygen and no residue. In this study, the effects of ozone application on the microbiological properties and nutrient composition of broiler feed were investigated. For this purpose, ozone produced from pure oxygen was applied to broiler feed at different doses and different times. *Aspergillus niger* was introduced into the feeds before the application of ozone and then the effects of ozone gas application at different doses and times were investigated. *Aspergillus niger* and mold-yeast numbers were decreased in the feed samples as a result of the ozone application and statistically significant difference was found ($P < 0,01$).

Keywords: Broiler feed, ozone, *Aspergillus niger*, feed hygiene

2019, 101 pages

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGE DİZİNİ	v
ŞEKİL DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ÖNSÖZ	ix
1.GİRİŞ	1
2.LİTERATÜR TARAMASI	6
2.1.Yem Hijyeni ve Gıda Güvenliği.....	6
2.1.1.Yem üretiminde oluşabilecek risk faktörleri.....	7
2.1.2.Yem üretiminde zararlılara ve mikrobiyal faaliyetlere karşı alınan önlemler.....	9
2.1.3. Yem üretiminde zararlılar ve mikrobiyal faaliyetlere karşı korumada kullanılan yöntemler.....	10
2.2.Küf Mantarları ve Etkileri.....	12
2.2.1.Morfolojik yapısı.....	12
2.2.2.Mayalar.....	14
2.2.3.Mikotoksin.....	15
2.3.Bakteriler ve Etkileri.....	20
2.3.1.Morfolojik yapısı.....	21
2.4.Dezenfektan Olarak Ozon Uygulaması.....	24
2.4.1.Ozonun tarihi ve tanımı.....	24
2.4.2.Fiziksel ve kimyasal özellikleri	26
2.4.3.Ozonun başlıca kullanım alanları.....	27
2.4.3.1.Gıda endüstrisi.....	28
2.4.3.2.Sağlık sektörü.....	30
2.4.3.3.Hava, yüzey ve ekipman sterilizasyonu.....	31
2.4.3.4.Kimya ve tekstil endüstrisi.....	32
2.4.3.5. İçme suyu tesisleri.....	32
2.4.4.Üretimi ve ozon jeneratörleri.....	33
2.4.5.Ozon uygulama metotları.....	34
2.5.Etki Mekanizması.....	36
2.5.1.Ozonun mikotoksinlere olan etkisi.....	37
2.5.2.Ozonun antimikrobiyal etkileri ve bakteri hücre yapısına etkisi.....	40
2.5.3.Ozonun yem ve hammaddelerde bulunan haşerelere etkisi.....	43
2.5.4.Ozonun yemin besin madde kompozisyonu üzerine etkisi.....	44
2.6.Ozonun Toksikitesi ve Sınırları.....	45
3.MATERYAL ve YÖNTEM	47
3.1.Yem Materyali.....	47
3.1.1.Küf süspansiyonunun hazırlanması.....	48
3.1.2.Püskürtme işlemi.....	49

3.1.3.Ozon uygulaması.....	51
3.2.Yem Analizleri.....	53
3.2.1.Kuru madde analizi.....	53
3.2.2.Ham kül	53
3.2.3.Ham protein.....	54
3.2.4.Ham yağ.....	55
3.2.5.Ham selüloz.....	56
3.3.Yağ Asidi Profili.....	57
3.4.Mikrobiyolojik Analizler.....	58
3.5.İstatistik Analizler.....	58
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	60
4.1.Ozon Uygulama Sonrası Yemlerin Besin Madde İçerikleri.....	60
4.1.1.Başlatma yeminin besin madde özellikleri.....	60
4.1.2.Büyütme yeminin besin madde özellikleri	61
4.1.3.Bitirme yeminin besin madde özellikleri	62
4.2.Ozonun Toplam Maya-Küf ve <i>Aspergillus niger</i> Üzerine Etkileri.....	63
5.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	78
6.KAYNAKLAR.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	89

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Son 17 yılda Türkiye’de Üretilen Karma Yem Miktarları (Ton/Yıl) (Anonim 2019).....	2
Çizelge 2.1 :Patojenleri etkisiz hale getirmek amacıyla yapılan çeşitli uygulamalar ve etki mekanizmaları (Maciorowski ve ark. 2007).....	11
Çizelge 2.2 : Doğada bulunabilen bazı önemli ve yaygın küf türleri.....	14
Çizelge 2.3 : Hayvansal üretimde en çok zarar veren mikotoksinler (Binder 2007).....	16
Çizelge 2.4 : <i>Aspergillus niger</i> kaynaklı mikotoksinler (Frisvad ve ark. 2018).....	16
Çizelge 2.5 :Mikotoksinlerin kabul edilebilir sınırları ve mikrobiyolojik limitler (Anonim 2019e).....	19
Çizelge 2.6 :Yem ve tahıllarda mikotoksinleri kontrol stratejileri (Maciorowski ve ark. 2007).....	20
Çizelge 2.7 : Bazı önemli patojenik bakteriler ve etkileri (Maciorowski ve ark. 2007)...	22
Çizelge 2.8 : Ozonun fiziksel özellikleri (Çatal ve İbanoğlu 2010).....	26
Çizelge 2.9 :Ozonun başlıca kullanım alanları (Boztaş ve Ömürlü 2014).....	28
Çizelge 2.10 :Çeşitli gıda ürünlerinde ozon uygulamaları (Karaca 2010).....	38
Çizelge 2.11 : Oksidasyon potansiyeli- Elektron voltajları (Hamil 2017).....	39
Çizelge 2.12 :Ozon uygulamasının mikotoksin ve küfler üzerine etkileri (Tiwari ve ark. 2010).....	40
Çizelge 2.13 : Önemli dezenfektanların zararlılara karşı yıkımlama katsayıları, mg-dk./L. (Hamil 2017).....	41
Çizelge 2.14 : 5°C de mikroorganizmaların tamamını inaktive etmek için gereken Ct* değerleri mg-dk./L (Hamil 2017).....	42
Çizelge 2.15 :Mikroorganizmalar üzerinde ozon uygulamasının etkileri (Prabakaran ve ark. 2012).....	42
Çizelge 3.1 : Başlatma, büyütme ve bitirme yemleri için deneme planı.....	48
Çizelge 3.2 : Başlangıç yemlerindeki maya-küf sayıları	48
Çizelge 4.1 : Başlatma yeminin besin madde kompozisyonu	60
Çizelge 4.2 : Başlatma yemlerinin yağ asidi profilleri	61
Çizelge 4.3 : Büyütme yeminin besin madde kompozisyonu	61
Çizelge 4.4 : Büyütme yemlerinin yağ asidi profilleri	62
Çizelge 4.5 : Bitirme yeminin besin madde kompozisyonu	62
Çizelge 4.6 : Bitirme yemlerinin yağ asidi profilleri.....	63
Çizelge 4.7 : Ozon uygulaması öncesi başlatma yeminin mikroorganizma yükü.....	63
Çizelge 4.8 : Başlatma yeminin ozon uygulaması sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayıları.....	64
Çizelge 4.9 : Başlatma yeminin t testi sonuçları.....	66
Çizelge 4.10 : Ozon uygulaması öncesi büyütme yeminin mikroorganizma yükü.....	68
Çizelge 4.11 : Büyütme yeminin ozon uygulaması sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayıları.....	68
Çizelge 4.12 : Büyütme yeminin t testi sonuçları	70
Çizelge 4.13 : Ozon uygulaması öncesi bitirme yeminin mikroorganizma yükü.....	71

Çizelge 4.14. Bitirme yeminin ozon uygulaması sonrası <i>A.niger</i> ve toplam küf-maya sayıları.....	72
Çizelge 4.15. Bitirme yeminin t testi sonuçları.....	74



ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Son 17 yılda Türkiye’de Üretilen Karma Yem Miktarları Grafiği (Ton/Yıl, Anonim 2019a).....	3
Şekil 1.2 : Türkiye Karma Yem Fiyatları Grafiği Tl, Ton (Karakuş 2017).....	3
Şekil 2.1 :Etiç piliçlerde gelişmelere bağlı hayvanların yapısal değişimi (Anonim 2019b).....	6
Şekil 2.2 : a) Küf-maya örnekleri, b) <i>Aspergillus niger</i>	13
Şekil 2.3 : a) Aflatoksin (Anonim 2019c) ve b) Okratoksin (Anonim 2019d).....	17
Şekil 2.4 : <i>Aspergillus niger</i>	18
Şekil 2.5 :Bakteri hücre yapısı (Anonim 2019g).....	22
Şekil 2.6 :Christian Friedrich Schönbein, 1799-1868 (Anonim 2019i).....	25
Şekil 2.7 :Ozon molekülünün rezonans yapısı (Seydim ve ark. 2004).....	27
Şekil 2.8 :Korona akım modeli şeması (Ekici ve ark. 2006).....	33
Şekil 3.1 : a)Başlatma, b) Büyütme, c) Bitirme yemleri.....	47
Şekil 3.2 :Küf spreyleme işlemi.....	50
Şekil 3.3 : DRBC agar ve <i>Aspergillus niger</i> gelişimine bir örnek.....	50
Şekil 3.4 : Kullanılan ozon jenaratörleri.....	51
Şekil 3.5 : Oksijen beslemeli konsantratör.....	52
Şekil 3.6 : Dikdörtgen plazma kap.....	52
Şekil 4.1 : Başlatma yeminin ozon uygulaması öncesi ve sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayılarının değişim grafiği	65
Şekil 4.2 : Başlatma yeminin ozon uygulaması sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayılarının yüzdellik gösterimi	66
Şekil 4.3 : Başlatma yemi a) <i>A. niger</i> ve b) Küf-maya Box ve Whisker grafikleri....	67
Şekil 4.4 : Büyütme yeminin ozon uygulaması öncesi ve sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayılarının değişim grafiği	69
Şekil 4.5 : Büyütme yeminin ozon uygulaması sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayılarının yüzdellik gösterimi	69
Şekil 4.6 : Büyütme yemi a) <i>A. niger</i> ve b) Küf-maya Box ve Whisker grafikleri ...	71
Şekil 4.7 : Bitirme yeminin ozon uygulaması öncesi ve sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayılarının değişim grafiği.....	73
Şekil 4.8 : Bitirme yeminin ozon uygulaması sonrası <i>A. niger</i> ve toplam küf-maya sayılarının yüzdellik gösterimi.....	73
Şekil 4.9 : Bitirme yemi a) <i>A. niger</i> ve b) Küf-maya Box ve Whisker grafikleri.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
g	: Gram
K_2SO_4	:Potasyum sülfat
kg	: Kilogram
Kj	: Kilo joul
L	: Litre
m ³	: Metreküp
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaOH	:Sodyum hidroksit
O ₂	: Oksijen
O ₃	: Ozon
°C	: Santigrad derece
ppm	:Parts per milion
Se	:Selenyum
μ	: Mikro

AFB ₁	: Aflatoxin B ₁	:
AFB ₂	:Aflatoxin B ₂	
AFG ₁	:Aflatoxin G ₁	
AFG ₂	:Aflatoxin G ₂	
AOAC	:Association of Official Agricultural Chemists	
DRBC	:Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol	
FDA	:Food and Drug Administration	
GMP	:Good manufacturing practice	
GRAS	:Generally recognized as safe	
OTA	: Okratoksin	
UV	:Ultraviolet	

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini esirgemeyen, çalışmamı yönlendiren, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşıp yetişmemi sağlayan çok değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Aylin AĞMA OKUR, Prof. Dr. Hasan Ersin ŞAMLI, başta olmak üzere ilgi ve bilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet Levent ÖZDÜVEN, Prof. Dr. Eser Kemal GÜRCAN, Prof. Dr. Fisun KOÇ, Araş. Gör. Göksel TIRPANCI SİVRİ ve bütün hocalarıma ve daima bana destek olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2019

Orçun ÇELİK
Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı beslenme konusunda tüketicilerin bilinçlenmesi, daha kaliteli ve güvenli gıdaya yönelişine sebep olmaktadır. Bu durum, gıda üreticilerini de etkilemekte ve uygulamalarında gıda güvenliği ilkesini temel almaktadırlar. Yemin niteliğini ve kalitesini etkileyen faktörlerden biri de yemin hijyenidir. Karma yem üretiminde, kullanılacak hammaddenin üretiminden, fabrikaya getirilmesine, nihai ürüne dönüştürülmesine ve sonrasında depolanmasına kadar her aşamada hijyen önemli bir unsurdur (Budağ 2011). Çiftlik hayvanlarından kaliteli ve sağlıklı gıda elde edilebilmesinde hayvanların bakımı ve sağlıklarının korunmasının yanında tükettikleri yemin kalitesi de oldukça önemlidir.

Karma yem, birbirinden farklı besin maddesi içeriklerine sahip bitkisel ve hayvansal hammaddelerden oluşabilmektedir. Hammaddelerin üretimi, hasadı, fabrikaya getirilmesi, fabrikada işlenmesi ve karma yemin üretilmesi sırasında çeşitli faktörler tarafından zarar görebilmekte ve bu da karma yemin kalitesini bozarak, bunları tüketen hayvanlar üzerinde olumsuz etkiler olabilmektedir. Buna bağlı olarak hayvan yetiştiricileri ve gıda üreticileri de büyük ekonomik kayıplar yaşayabilmektedir.

Yem üretiminde kaliteyi ve hijyeni etkileyen risk faktörleri temel olarak fiziksel, mikrobiyolojik ve kimyasal faktörlerdir. Üretim süresi boyunca fabrikada kullanılan malzemeler, depolama koşulları, mikroorganizmalar, haşereler, kemirgenler, kuşlar, üretim ve nakil unsurları yeme zarar verebilmekte ve niteliğinin bozulmasına sebep olabilmektedir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

Dünya tarım ürünleri üretiminde yalnızca mikotoksinlerden kaynaklanan riskler konunun önemini gözler önüne sermektedir. FAO açıkladığı bilgilere göre, dünya bazında üretilen tarımsal ürünlerin mikotoksin ile bulaşma oranının %25, karma yemlerin bulaşma derecesinin ise (%40) olduğunu bildirmektedir (Peraica ve ark. 2002). Mikrobiyal açıdan bulaşık yemleri tüketen hayvanlarda; büyümede gerileme, canlı ağırlıkta azalma, yemden yararlanmanın azalması, bağışıklık sisteminin bozulması gibi etkiler görüldüğü gibi, ileri seviye toksikasyon durumunda hayvanın ölümüne kadar gidebilmektedir (Torlak ve ark. 2016). Özellikle yumurtadan çıkıştan kesime gideceği döneme kadar 35-42 gün üretim süresi olan etlik piliçler, mikotoksinlere diğer hayvan gruplarından daha da hassasiyet gösterirler. Bu

sebeple yemleri küf, bakteri ve diğer zararlılara karşı korumak oldukça önem arz eden bir konudur (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

Karma yem, hayvanlardan en yüksek seviyede verim alınabilmesi ve hayvanların besin madde ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için, çeşitli hammaddelerin standardına uygun olarak karıştırılmasıyla elde edilen yemdir. Yemlerin karılması fikri ilk olarak İngiltere’de 1870’li yıllarda düşünülmüş olup, ilk uygulamaları ise Almanya’da yapılmıştır. Almanların yaptığı ‘‘At Bisküvisi’’ rasyonu temel olarak %30-40 yulaf ezmesi, %20-40 bezelye unu, %20-30 çavdar unu ve %10 keten tohumundan oluşmaktaydı. Günümüzde tarımsal mekanizasyon ve teknolojik gelişmeler sayesinde endüstri büyüyüp gelişmiş ve önemli bir ticaret hacmine ulaşmıştır (Budağ 2011).

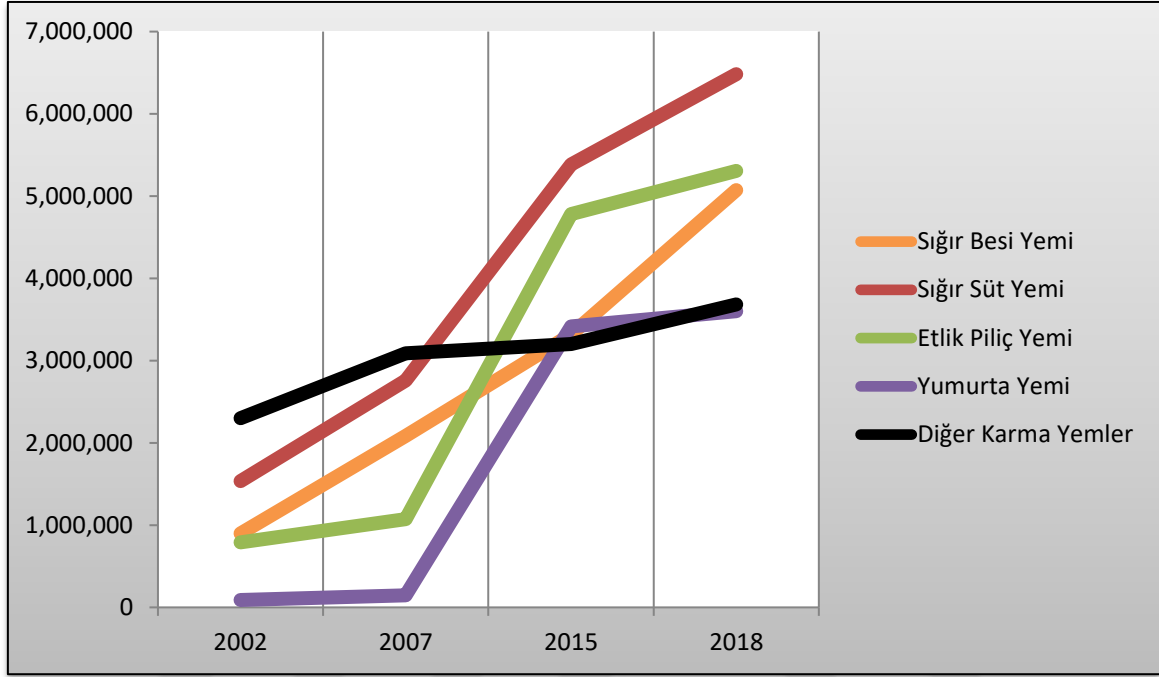
Çizelge 1.1. Son 17 yılda Türkiye’de Üretilen Karma Yem Miktarları (Ton/Yıl) (Anonim 2019)

Yıllar	Besi Yemi	Süt Yemi	Etlik Piliç Yemi	Yumurta Yemi	Diğer Karma Yemler*	Genel Toplam
2002	898.944	1.535.418	790.814	89.836	2.300.141	5.615.153
2003	1.061.397	1.598.018	888.066	90.243	2.048.754	5.686.478
2004	1.373.824	2.002.974	1.082.036	12.251	2.434.485	6.905.570
2005	1.355.332	2.027.578	1.076.135	96.411	2.278.817	6.834.273
2006	1.717.011	2.361.194	914.985	106.339	2.367.552	7.467.081
2007	2.083.731	2.759.042	1.071.894	147.991	3.089.774	9.152.432
2008	1.883.970	2.948.616	2.886.173	695.373	1.149.169	9.563.301
2009	1.760.430	2.679.020	2.923.299	673.389	1.383.058	9.419.196
2010	2.169.487	3.466.422	3.453.846	820.753	1.257.022	11.167.530
2011	2.686.728	3.875.836	4.141.768	953.819	1.504.190	13.162.340
2012	2.881.354	4.365.168	4.224.111	1.058.733	1.959.173	14.488.539
2013	2.846.217	5.163.788	4.083.687	1.602.364	2.265.811	15.961.867
2014	3.386.565	5.621.664	3.979.945	2.480.547	2.534.895	18.003.616
2015	3.320.221	5.384.586	4.779.916	3.417.209	3.203.051	20.104.983
2016	3.827.073	5.840.262	4.566.237	2.958.232	3.210.048	20.401.852
2017	4.594.552	6.171.275	4.753.989	3.369.665	3.528.862	22.418.333
2018	5.072.549	6.481.999	5.306.118	3.600.843	3.682.980	24.144.489

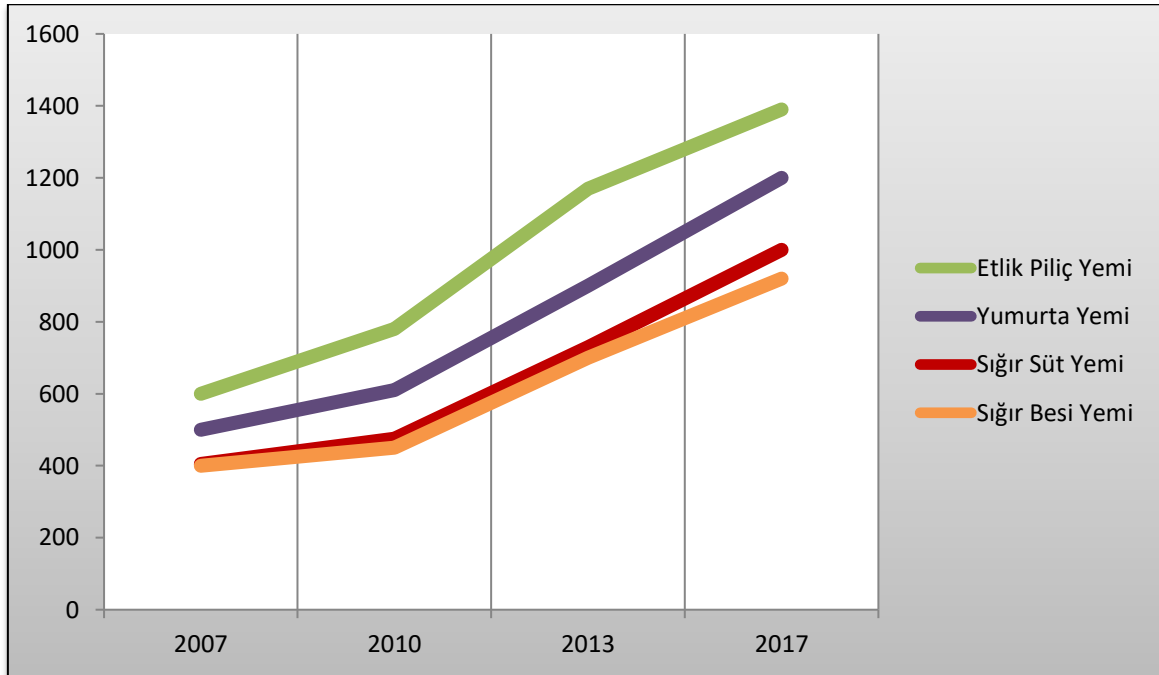
*Diğer Karma Yemler: Balık yemi, at yemi, küçükbaş hayvan yemleri, süs hayvanları yemi vb.

Türkiye’de geçtiğimiz 17 yılda çok büyük oranda gelişme gösteren karma yem sektörü, 2017 yılı itibariyle karma yem üretiminde 22 milyon tona ulaşmıştır (Çizelge 1.1). Farklı karma yem çeşitlerinin, üretim miktarlarının yıllara göre gösterdiği değişim, Şekil 1.1’de görüldüğü gibidir. Tarım sektöründe yaşanan problemler ve değişken döviz kurları sebebiyle 2018 yılı üretiminin hedeflenen 25 milyon tonun altında olduğu tespit edilmiştir (Karakuş 2017). Karma yem fiyatları da üretiminde kullanılan hammaddelerin ithalatına ve

döviz kurlarına bağlı olarak son 10 yılda %138 seviyesinde artış göstermiştir (Şekil 1.2). Bu sebeplerle, işletmenin maliyetinin %60-70 'ini oluşturan yem ayrı bir önem kazanmıştır.



Şekil 1.1. Son 17 yılda Türkiye’de Üretilen Karma Yem Miktarları Grafiği (Ton/Yıl, Anonim 2019a)



Şekil 1.2. Türkiye Karma Yem Fiyatları Grafiği TL/ Ton (Karakuş 2017)

Yemleri mikrobiyal faaliyetlere karşı korumada çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Yeme yüksek ısı ve basınç muamelesi, havalandırma, kurutma uygulamaları, klorin gazı, amonyak ve organik asit ile muamele bunlardan bazılarıdır. Bu uygulamaların etkinlikleri değişken olmakla birlikte, kimyasal dezenfeksiyon yöntemlerinde kalıntı bırakma ve bu yemleri tüketen hayvanlara zarar verebilme riski bulunmakta, bu durum ise üreticiyi tedirgin etmektedir. Bu sebeple yemlerin korunmasında kalıntı bırakmayan UV, ozon gibi yöntemler araştırılmaya başlanmıştır (Kaya ve Yarsan 1995).

Ozon yapısında üç oksijen atomu bulunduran, oda sıcaklığında renksiz, karakteristik kokusu olan bir gazdır. Stratosfer tabakasında doğal olarak bulunan ozon, güneşin UV ışınları tarafından oluşmaktadır. Ozon bilinen en etkili mikrop öldürücü ve koku gidericidir. Yüksek oksidasyon gücü sayesinde diğer dezenfektanlara göre oldukça üstün olması, uygulanmasının ardından hızlıca oksijene parçalanması ve hiçbir kalıntı bırakmaması sebebiyle başta gıda ve kimya endüstrisi olmak üzere birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Ozon gaz ve sıvı formda uygulanabilmektedir. Meyve, sebzelerin depolanmasında, mikrobiyal faaliyetlere engel olmak, gıdaların raf ömrünü uzatmak, içme suyu ve havanın dezenfeksiyonunda, tavuk etinin ve kesimhane ekipmanlarının sterilizasyonunda kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten, endüstriyel atıkların arıtılmasında, tahıllarda, yemlerde mikrobiyal faaliyetlere ve haşerelere karşı dezenfektan olarak kullanılmasının yanı sıra, un, kağıt ve parfüm sanayisinde de ozon kullanılmaktadır (Remondino ve Valdenassi 2018).

Geçmişte ozon gazı uygulamasının çeşitli endüstrilerde sınırlı olarak kullanılmasının nedeni, ozon jeneratörlerinin büyük ve maliyetli olması idi (Jaksch ve ark. 2004). Fakat günümüzde teknoloji ve mekanizasyonda yaşanan gelişmeler sayesinde ozon jeneratörlerinin daha küçük boyutlarda üretilmesi ile birlikte kullanım alanları da artmaktadır. Özellikle insanların gıda güvenliği ve kalitesi gibi konular hakkında bilinçlenmesi ve önem vermesi, endüstrileri bu gibi kalıntı bırakmayan dezenfeksiyon uygulamalarına yöneltmiştir.

Bu çalışma ile yem üretildikten sonra ozon uygulaması yapılmasının etkilerinin ortaya konması planlanmaktadır. Bu uygulama ile üretim aşamasındaki olası risk ve kayıpların önlenmesine çalışılacaktır. Etlik piliç yemlerine farklı doz ve sürelerde ozon uygulamasının

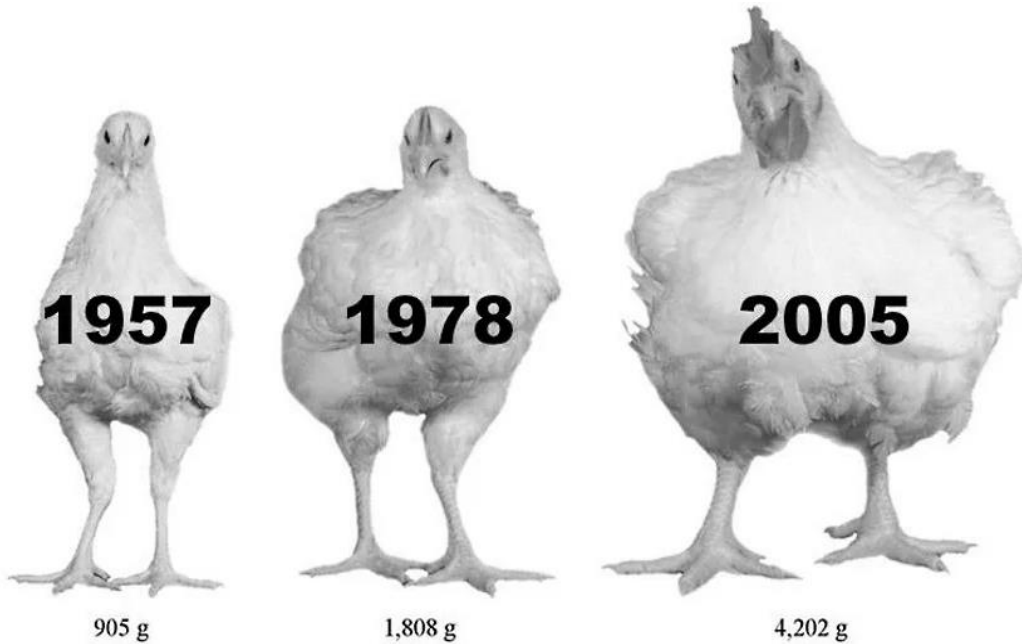
yemlerin mikrobiyolojisi, besin değerleri ve yağ asidi profili üzerine etkilerini ortaya koymak amaçlanmıştır.



2. LİTERATÜR TARAMASI

2.1.Yem Hijyeni ve Gıda Güvenliği

Etlik piliçlerin entansif üretimde tükettiği yemler, günlük ihtiyaçlarını karşılamaları adına birçok farklı hammaddeden oluşan karma yemlerdir. Üretim süreleri genellikle yumurtadan çıkıştan kesime gideceği zamana kadar 35-42 gün arasında olan etlik piliçler, bu süre zarfındaki ihtiyaçlarına uygun olarak farklı besin değerlerine sahip rasyonları tüketirler. Yem mekanizasyonundaki gelişmeler ve besin değeri yüksek hammaddelerin işlenerek, tüketilebilir hale getirilmesi sayesinde etlik piliç üretiminde son 25 yılda endüstri büyük yol kat etmiştir. Bu ilerlemede ıslahın yanı sıra, yem bilimi ve üretim teknolojilerinde ki gelişim, eksojen enzim kullanımı ile yemden daha iyi yararlanılması, besin madde ihtiyaçlarının ve sindirilebilirliğin daha iyi anlaşılması ve besleme programlarını optimize etmede bilgisayar program ve teknolojilerinin kullanımının büyük katkısı bulunmaktadır (Şekil 2.1). Tüm bu ilerlemeler sayesinde etlik piliçlerde temel performans değerleri artmış ve her bir kg canlı ağırlık kazanımı için tükettiği yem miktarı ve ölüm oranları azalmıştır (Uçar ve ark. 2018).



Şekil 2.1. Etlik piliçlerde gelişmelere bağlı hayvanların yapısal değişimi (Anonim 2019b)

Etlik piliç üretiminde yem, işletme maliyetinin %60-70'ini oluşturmaktadır. Bu sebeple hayvanlardan en yüksek miktar ve nitelikte ürün elde etmek için yemin fiziksel ve mikrobiyolojik yapısı oldukça önem arz eden bir konudur (Basmacıoğlu ve Ergül 2003). Etlik piliç yemlerinin üretiminde kullanılan hammaddelerin, fabrikaya getirilip, işlenip, nihai ürüne dönüşmesi gibi tüm aşamalarda yem, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik faktörler tarafından zarar görebilmekte, buna bağlı olarak yemin besin madde içeriği ve niteliği olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Bu gibi zarar görmüş hatta bozulmuş yemleri tüketen özellikle genç yaş ve ağırlıktaki etlik piliçlerde büyümede gerileme, canlı ağırlıkta azalma, yemden yararlanmanın azalması, hayvanların bağışıklık sisteminin azalması, hastalıklara karşı dayanıklılığın azalması ve ölüm gibi olumsuz etkiler daha da fazla görülebilmektedir. Buna bağlı olarak hayvan yetiştiricileri ve gıda üreticileri büyük ekonomik kayıplar yaşayabilmektedir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

2.1.1.Yem üretiminde oluşabilecek risk faktörleri

Yem üretimi sırasında çeşitli faktörler etlik piliçlerin sağlığı ve performansını olumsuz etkilemekle birlikte, bunlardan elde edilen etlerinde kimyasal yapısını bozabilmekte ve gıda güvenliğini tehdit edebilmektedir (Yalçın 2008). Bu faktörler;

- Mikrobiyal kontaminasyon
- Çeşitli vektör zararlıları ve bulaştırmaları
- Üretim ve nakil unsurları ile bu süreçlerindeki iklim koşulları
- Yem üretim aşamalarında kullanılan araç gereçler,
- Yem üretimi öncesi ve sonrası depolama şartları,
- Yem üretim sürecinde oluşabilecek hatalar
- Üretim biriminin bulunduğu konum,
- Yem üretiminde çalışan personeldir (Yalçın 2008).

Hammaddelerin üretim sürecinde kullanılan çeşitli gübre, ilaç ve koruyucular yemi kirletebilmekte ve mikroorganizma bulaşımını arttırabilmektedir (Kaya ve Yarsan 1995).

Yem hijyeni ve gıda güvenliğinde en büyük risk faktörü ve kirleticisi, mikroorganizmalardır. Etlik piliç yemlerinde bulunan baklagil ve buğdaygiller mikroorganizmalar için önemli bir yaşam ortamı oluştururlar. Yemlerde bulunan en önemli mikroorganizma grupları; bakteriler, küf mantarları, mayalar ve virüslerdir (Budağ 2011).

Karma yemler için üretilen bitkisel kökenli hammaddelerin büyük bir bölümü hasat öncesi ve sonrasında kuşlar, kemirgenler, böcekler ve çeşitli hayvanlar tarafından zarara uğramakta ve bu zararlıların ürettikleri salgılar, idrar, dışkı gibi faktörlerde ürünlerin yapısını bozarak mikrobiyal kontaminasyona uygun ortam yaratmaktadır. Böcek, kemirgen ve kuşlar besleyici değer açısından zengin olan tahılları gerek tarlada hasat öncesi, gerekse fabrikada tüketerek hammadde ve yemin niteliğini bozarlar. Bunun dışında bitkisel hammaddelerin fabrikaya taşınması sırasında hijyen kurallarına uygun olmayan nakil araçları yine kontaminasyon oluşturmaktadır. Nakil sırasında iklim şartları gereği yağmur yağması durumunda ürün ıslanabilir ve ürünün nem içeriği artabilir. Nem alan hammaddeler de mikrobiyal kontaminasyona açık durumdadır. Fabrikada kullanılan silolar, dozajlama ekipmanları, peletleme ve kurutma üniteleri vb malzemeler de hammaddeye zarar verebilmekte, önceki partiden üretilen ürünlerin gecikmeye bağlı olarak mikrobiyal yükü artabilmekte ve sonraki üretimlere bu mikrobiyal yükü aktarabilmektedir. Depolama sırasında mikroorganizmaların büyüme sıcaklıkları 0-46°C gibi geniş bir aralıkta olmakta, ortam neminin ise %75 'in üzerine geçmemesi gerekmektedir. Bununla birlikte üretim aşamasında yapılan yanlış uygulamalar, üretim biriminin konumu ve üretim personeli yem hijyenini ve gıda güvenliğini olumsuz etkilemekte, niteliğini ve besin değerini bozabilmektedir (Ergün 2002).

Yem ham maddelerinin ekilmesinden, karma yem üretim süreçlerine kadar tüm aşamalarda mikrobiyal bulaşma, çoğalma ve toksin oluşumu söz konusu olup, tüm bu noktalarda alınacak önlemler yem hijyeni ve gıda güvenliğinin temelini oluşturmaktadır.

2.1.2.Yem üretiminde zararlılara ve mikrobiyal faaliyetlere karşı alınan önlemler

Hammaddeleri üretim dönemi boyunca zararlılara ve mikrobiyal faaliyetlere karşı korumak için alınan bazı hasat öncesi ve sonrası tedbirler bulunmaktadır (Budağ 2011).

Hammaddelerin hasatından önce alınması gereken önlemler;

- Bölgeye adapte bitkiler ekmek,
- Toprağı iyi işlemek,
- Münavebeli ekim yapmak,
- Bilinçli gübreleme yapmak,
- Sıkışık ekim yapmamak,
- Hasat uygun hava şartlarında yapılması,
- Hasat öncesi böceklerle mücadele,
- Mantar üremesine dirençli tohumlar ekmek.

Hasat sonrası ve depolamada alınması gereken önlemler ise;

- Depoların zemini sert, nemsiz, aydınlık, havalandırılabilir, kapı, pencere, çatısı sağlam olmalı,
- Yemler öğütülmüş, parçalanmış, kabuk bütünlüğü bozulmuşsa depo süresinin kısa tutulması,
- Karma yemler 2-3 haftadan fazla depolanmamalı,
- Yeni yem koyulmadan önce temizlik yapılmalı,
- Böcekler tarafından hasara uğramış yemlerde koruyucu maddeler kullanılmalı,
- Depo ısısı yüksek olmamalı,
- Depolanacak yemlerin nem miktarı %12'nin altında olmalı,
- Çevre ve depo koşulları kontrol altında tutulmalı (Maciorowski ve ark. 2007).

2.1.3.Yem üretiminde zararlılar ve mikrobiyal faaliyetlere karşı korumada kullanılan yöntemler

Etlik piliç yemlerini ve yem hammaddelerini zararlılara ve mikroorganizmalara karşı korumada uygulanan çeşitli uygulamalar vardır. Bu uygulamalar; fiziksel, biyolojik ve kimyasal yöntemler adı altında 3 gruba ayrılabilir. Kullanılan fiziksel yöntemler yemi korumaya yönelik uygulamaları kapsamaktadırlar. Pelet yem üretimi, bu gruba giren bir uygulama örneği olarak verilebilir. Etlik piliç üretiminde kullanılan pelet yemler; küçük parçacıklı toz haldeki hammaddelerin nem, sıcaklık ve basınçla birlikte mekanik bir işlem uygulanması ile mozaik yapısında daha büyük parçacıklar haline getirilerek üretilmektedirler. Pelet yem üretimi sırasıyla kırma, karıştırma, tavlama, peletleme, soğutma, eleme ve paketleme aşamalarından oluşur (Abdollahi ve ark. 2013).

Peletlemenin bazı avantajları şunlardır:

- Yem maliyetini %15-20 oranında azaltır.
- Tavuklarda seçici yeme davranışını azaltarak yem kayıpları önlenir.
- Pelet yeminin üretimi esnasında uygulanan sıcaklık ve basınç, hammadde kaynaklı patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırır.
- Yemlerin sindirilebilirliği artar.
- Toz yemlere göre 3-4 kat daha uzun süre tazeliğini koruyarak depolanabilir.
- İnce ve toz yemde hayvanlar daha lezzetli öğeleri seçip yerler. Pelet yemde bu durumu söz konusu değildir (Amerah ve ark. 2007).

Çizelge 2.1. Patojenleri etkisiz hale getirmek amacıyla yapılan çeşitli uygulamalar ve etki mekanizmaları (Maciorowski ve ark. 2007)

Çeşitli Kontrol Uygulamaları	Hedef
Hızlı kurutma uygulaması	Mevcut su miktarını azaltır
Daha kısa depolama süresi	Yemin topaklanmasını, kekleşmesini ve yemin kızılaşmasını azaltır.
Çinko basitrasın	Gram pozitif bakterilerin büyümesini kontrol eder ve <i>Clostridium spp.</i> sporlarını engeller.
Mineral asitler, kısa zincirli yağ asitler, izopropil alkol, aldehitler ve trisodyum fosfat	Yeme dezenfektan olarak katılır.
Bakteriyofajlar	Yemde aktif olarak büyüyen bakterileri öldürürler.
Propiyonik asit üreten bakteriler	Asit üretimini desteklemek amacıyla silaja eklenirler.
Bakteriyosin üreten bakteriler	Patojenleri kontrol etmek için silaja eklenirler.

Yemin fiziksel olarak korunmasında peletleme işleminin etkisi büyüktür. Bu uygulamanın dışında; küçük işletmelerde bulaşık kısmın temizlenmesi, kabuklu hammaddelerin kabuklarının ayrılması, güneş altında kurutma yemi koruma yöntemlerinden bazılarıdır. Yeme organik asit, etanol ve çeşitli adsorbanlar (zeolit, bentonit, aktif kömür, kaolin) katılarak da fiziksel koruma sağlanmaktadır (Abdollahi ve ark. 2013; Çizelge 2.1).

Biyolojik yöntemlerde ise, çeşitli bitkisel ekstratlar yeme küf önleyici olarak ilave edilebilmekte ve iştah açıcı olarak ta görev almaktadırlar (Budağ 2011).

Yemleri kimyasal yöntemlerle korumada, endüstride çeşitli kimyasallar kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları; Hidrojen peroksit, klorin gazı, HCL, gaz, sıvı ve kuru amonyak ile muamele ve sodyum bisülfat olarak sayılabilir. Kimyasal yönteme başvurmada gıda üreticilerinin en büyük endişesi bu ürünlerle muamele edilmiş yemleri tüketen etlik piliçlerde kalıntı bırakma riski ve bunun gıda güvenliğine aykırı oluşudur (Xu 1999, Beltran ve ark. 2005). Bu sebeplerden dolayı, yemlerinin korunma yöntemlerinde alternatif uygulamalar araştırılmaktadır (Daş ve ark. 2006).

2.2. Kf Mantarları ve Etkileri

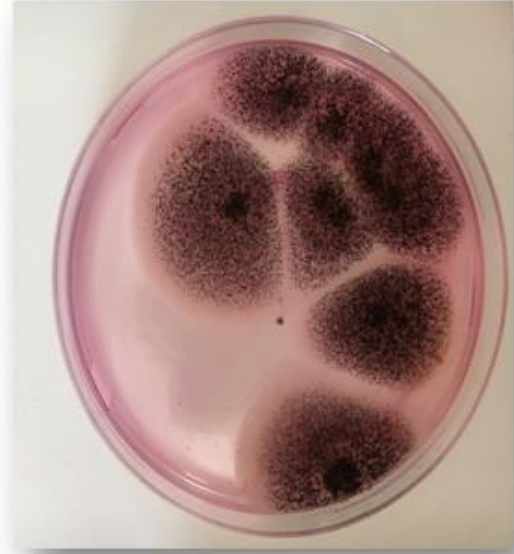
Etlik piliç yemlerinde kf oluşunu, hayvanların sağlığı ve işletmenin ekonomisi için büyük tehdit oluşturmaktadır. 100 000 den fazla mantar türü tarım ve gıda ürünlerinde etki gösterebilmekte ve bunları kirleterek tketelemez hale getirmektedir. Küfler, dallanarak geniş bir alana yayılırlar. Yemin besin değeri ve duysal özellikler üzerindeki olumsuz etkilerinin yanı sıra küfler ayrıca farklı mikotoksinleri sentezleyebilmekte ve bu da hayvan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Shareef 2010).

Küfler, hayvan yemlerinde tat-aroma ve görünüş bozukluklarına neden olmakta ve aktiviteleri sonucu meydana gelen ve ürünlerde acı tat, ransid tat olarak tanımlanan tat bozukluklarının kaynakları arasında önemli yer tutmaktadırlar (Greco ve ark. 2014).

Küfler; yeşil, siyah, sarı ve turuncu gibi birçok farklı renkte olabilmekte ve yemlerdeki varlıkları bu karakteristik rengi ve görünüşleriyle anlaşılabilmektedir.

2.2.1.Morfolojik yapısı

Küfler yaşadığımız doğanın hemen her yerinde bulunmasıyla birlikte özellikle uygun nem ve sıcaklık şartlarında çoğalan, çok hücreli ve filamentli (uzantılı) funguslardır. Kf hücreleri ard arda dizilerek hif adı verilen uzantılar oluştururlar ve bu oluşumlara misel adı verilmektedir (Forbes ve ark. 1992).



Şekil 2.2. a) Küf –Maya örnekleri

b) *Aspergillus niger*

Küf hücreleri; maya ve bakterilerdekine benzer olarak bir hücre duvarı ile çevrili bulunmakta ve bu yapı selülozdan oluşmaktadır. Bazı küflerin hücre duvarlarında selüloz ile birlikte böcek ve örümcek gibi hayvanların dış iskeletinde bulunan polisakkarit yapıdaki kitin de bulunabilmektedir. Bu yapı, küf mantarlarının hücre duvarlarını oldukça sert yapmakta, hücre duvarının antijenik yapısı ve koruyucu enzimler içermesi nedeniyle, hücreleri olumsuz dış ortama karşı korumaktadır. Hücre duvarlarının yapısı gereği büyük olması, mantar hücresinin şeklini tayin edebilmekte ve hücreyi tanımlayabilmektedir (Forbes ve ark. 1992; Şekil.2.2)

Çizelge 2.2.'de ise bazı önemli ve yaygın küflerin isimleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Doğada bulunabilen bazı önemli ve yaygın küf türleri

Küf Türleri			
<i>Alternaria</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Monilia</i>
<i>Cladosporium</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Geotricum</i>	<i>Wallemia</i>
<i>Mucor</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Trichothecium</i>	<i>Xeromyces</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Byssosclamyces</i>	<i>Colletotrichum</i>

2.2.2. Mayalar

Mayalar; hücre zarlarında bulunan mannanoligosakkarit yapıları nedeniyle mantarlardan ayrılmaktadırlar. Karbonhidratça zengin un, makarna, ekmek gibi gıdalarda mantar küfleri görülürken, reçel gibi daha çok şeker içerikli gıdalarda mayalar bulunmaktadır. Herhangi yolla yem hammaddelerine bulaşan mayalar, ortamda yeterli besin ve nem olması durumunda çabucak faaliyete geçerler ve üremeye başlarlar. Bu mikroorganizma grubunun, yemler vasıtasıyla hayvana ve hayvansal ürüne geçtiği kanıtlanmıştır (Budağ 2011).

2.2.3. Mikotoksin

Mikotoksin terimi, mantar anlamına gelen ''myco'' ve zehir anlamına gelen ''toxin'' kelimelerinin birleşmesinden türetilmiştir. İlk olarak 1962 yılında İngiltere'de hindilerde görülen olağandışı ani ölümlerle birlikte anılmaya başlanmış ve daha sonrasında bu ölümlerin hayvanların tükettikleri fıstık ununda bulunan *Aspergillus flavus* küfünden kaynaklı aflatoksinin yol açtığı keşfedilmiştir (Bennet ve Klich 2003).

Mikotoksinler; toksik etki gösteren *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* gibi bazı küf mantarları tarafından üretilmekte, insan ve hayvanlar tarafından tüketildikleri zaman, latent, kronik veya akut zehirlenmelere yol açan düşük molekül ağırlıklı, çok çeşitli kimyasal yapıya sahip maddeler veya metabolitlerdir. Bu toksinler başta tahıl gruplarından mısır, buğday, arpa, yulaf, çavdar ve yerfıstığı, pamuk küspesi gibi hammaddelerde bulunabilirler. Özellikle etlik piliç rasyonlarında bolca kullanılan yüksek enerji değerine sahip mısır, kontaminasyon açısından en büyük riske sahiptir (Scudamore ve ark. 2009).

Kanatlı hayvan yemlerinde küf ve mikotoksin varlığı, üretiminde kullanılan hammaddelerden kaynaklanmaktadır. Küf ve mikotoksin kontaminasyonu bitkisel hammaddelerin hasatından önce ve/veya sonrasında meydana gelebilmektedir. Bu dönemlerde sıcaklık, nem gibi çeşitli çevresel, kimyasal ve mikrobiyolojik faaliyetler kontaminasyonun artmasında önemli rol oynamaktadır.

Düşük seviyelerde mikotoksin alımı etlik piliçlerde *mikotoksikozise* neden olmakla birlikte, bağışıklık sisteminde bozulmalara yol açarak hayvanların enfeksiyonlara karşı direncini azaltmakta, verimliliği düşürmekte ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Jan ve ark. 1995). Bu bulgulara ilaveten toksik etkilerini karaciğer ve böbrekte göstermekte, merkezi sinir sistemini tahrip ederek özellikle genç yaştaki kanatlı hayvanları ölüme kadar götürebilmektedir (Jewers 1990).

Doğada küf mantarları tarafından üretilen yüzlerce mikotoksin çeşidi bulunmakla birlikte, bunların çok azı kapsamlı bir şekilde saptanabilmiştir. Bu mikotoksin çeşitlerinden en önemlileri Aflatoksin (AFB₁), Zearalenon, Okratoksin A, Triketesener, Fumonisin ve

Ergotoksinlerdir. Bunlardan aflatoksinler, fumonisinler ve okratoksinlerin kanserojenik olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Hayvansal üretimde en çok zarar veren mikotoksinler (Binder 2007)

Önemli Mikotoksinler	Tahıl ve Yemlerde En Çok Bulunanlar	Mikotoksini Üreten Mantar Türleri	Hayvanlarda Gözlenen Etkiler
Aflatoksin	Aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> <i>Aspergillus niger</i>	Karaciğer tahribatı, Kanserojen etkiler
Trikosesenler	Deoksinivaleno l, 3- veya 15- Asetil- deoksinivalenol ,T-2 Toksin,HT-2 toksin, Zearalenone	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusariums porotrichioides</i> <i>Fusarium poae</i> <i>Fusarium equiseti</i>	Bağıışıklık sistemi tahribatı, Sindirim bozuklukları, Dermatit, Doku yangıları, Ödem
Zearalenon	Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i>	Östrojenik tahribat, Döl verimi bozuklukları
Okratoksin	Okratoksin A	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Penicillium viridicatum</i> <i>Aspergillus niger</i>	Nefrotoksisite, Karaciğer tahribatı
Ergot alkaloitleri	Ergometrin, Ergosin, Ergotamin	<i>Claviceps purpurea</i> <i>Claviceps paspaspali</i> <i>Claviceps fusiformis</i>	Sinir veya kangren sendromları
Fumonisinler	Fumonisin B ₁ , B ₂ , B ₃	<i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Akciğer ödemi, Nefrotoksisite,Hepatotoksisite

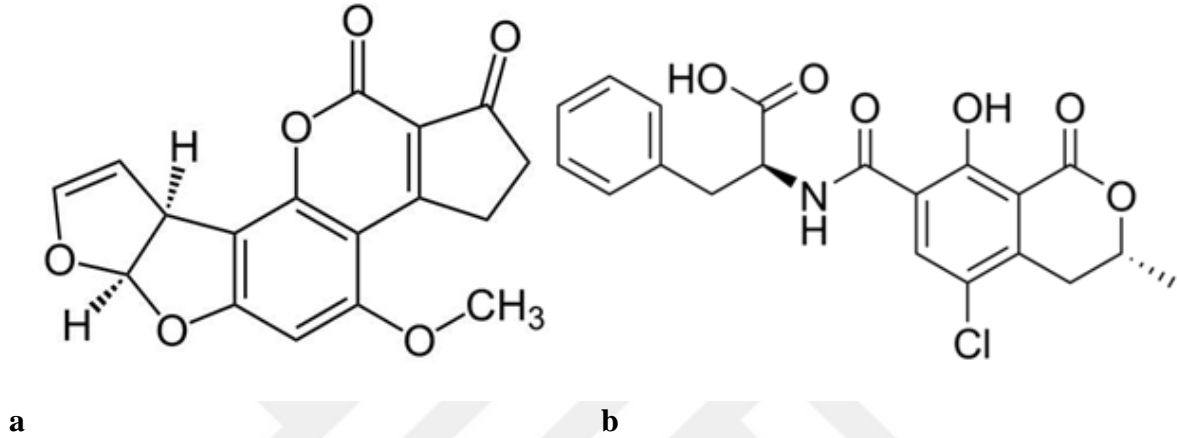
Çizelge 2.4. *Aspergillus niger* kaynaklı mikotoksinler (Frisvad ve ark. 2018)

Mikotoksin	Açıklama
Fumonisin B₂	Bu mikotoksin, incelenen <i>A. niger</i> suşlarının %75'inden fazlasında bulunmuştur.
Fumonisin B₄	
Aflatoksin B₁, B₂, G₁	
Fumonisin B₆	
Okratoksin	Bu mikotoksin, incelenen <i>A. niger</i> suşlarının %10'undan azında bulunmuştur.
Oksalik asit	Neredeyse tüm <i>A. niger</i> suşları Oksalik asit üretir.

Son derece toksik etkiye sahip olan aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küfleri tarafından üretilmektedir. Özellikle mısırdaki aflatoksin kontaminasyonu dünya hayvancılığında büyük bir sorun teşkil etmekte ve işletmeleri ekonomik kayba

uğratmaktadır. Aflatoksinlerde kendi içlerinde gruplara ayrılmakla birlikte ultraviyole ışık altında mavi floresans verenler AFB₁ ve AFB₂, yeşil floresans verenler ise AFG₁ ve AFG₂ olarak isimlendirilmektedir. Bu toksinler etlik piliç yemlerinde ve hammaddelerinde farklı miktarlarda bulunmaları ile birlikte, genellikle en etkin olan AFB₁ toksindir.

Çizelge 2.4.'de *Aspergillus niger* kaynaklı mikotoksinler gösterilmiştir.



Şekil 2.3. a)Aflatoksin B₁(Anonim 2019c) ve b) Okratoksin (Anonim 2019d)

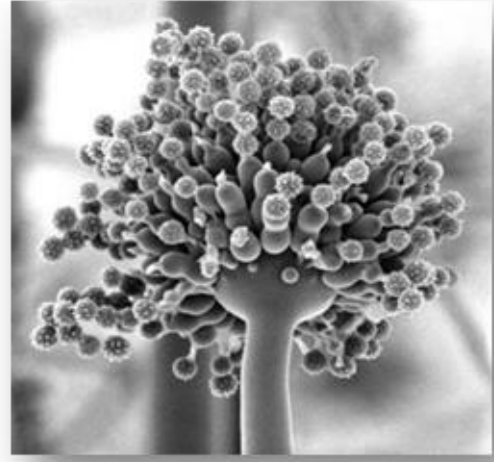
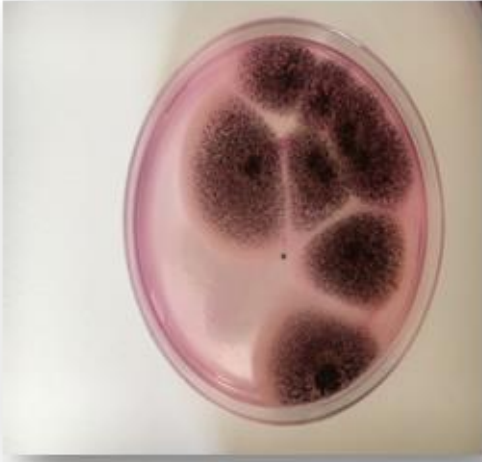
AFB₁ (Şekil 2.3a) başlıca karaciğer ve dokulara zarar verir. Etlik piliçlerin üretim dönemi boyunca performans verilerini olumsuz yönde etkiler, aynı zamanda ette birikmesi sebebiyle de bunları tüketen insanlara zarar verebilir. AFB₁ toksitesi çevresel faktörler, maruziyet doz ve süresi, etlik pilicin yaşı, canlı ağırlık ve rasyon tipine göre farklılık gösterebilmektedir (Giambone ve ark. 1985).

Okratoksinler (Şekil 2.3b), çeşitli *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen başka bir mikotoksin grubudur. Özellikle *Aspergillus niger* küfü (Şekil 2.4) Okratoksin üreten, *Aspergillus* cinsinin en yaygın türlerinden biridir. Üzüm, kayısı, soğan ve yer fıstığı gibi bazı meyve ve sebzelerde “kara küf” olarak adlandırılan bir hastalığa neden olur ve gıdalarda yaygın bir kirleticidir.

Okratoksinler üç bileşenden oluşur; bunlar Okratoksin A, B veya C' dir. Bu üçü arasında, okratoksin A (OTA) en zararlı olanıdır. Okratoksinler, sığanlarda, insanlarda ve

kümes hayvanlarında nefrotoksinler, kanserojenler ve immün toksinler olarak kabul edilir (Fareed ve ark. 2014).

OTA yem ile vücuda alındıktan sonra hızlı bir şekilde ince bağırsaklardan emilir ve serum proteinlerine güçlü bir şekilde bağlanır. Özellikle genç çiftlik hayvanları için son derece tehlikeli olmakla birlikte karaciğer, böbrek, yağ ve et dokusuna geçebilmektedir (Atmaca ve Aksoy 2015).



Şekil 2.4. *Aspergillus niger*

Çizelge 2.5. Mikotoksinlerin kabul edilebilir sınırları ve mikrobiyolojik limitler (Anonim 2019e)

İstenmeyen toksinler	Hayvan yemi olarak kullanılan ürünler	Kabul edilebilir en çok miktar mg/kg (ppm) (% 12 rutubet içeren yeme göre)
Aflatoksin B ₁	Yem maddeleri: Tamamlayıcı ve tam yemler; aşağıdakiler dışında:	0,02 0,01
	-Süt sığırları ve buzağılar, süt koyunları ve kuzular, süt keçileri ve oğlaklar, domuz yavruları ve genç kanatlı hayvan karma yemleri	0,005
	-Sığır (süt sığırları ve buzağılar hariç), koyun (süt koyunları ve kuzular hariç), keçi (süt keçileri ve oğlaklar hariç), domuz (domuz yavruları hariç), kanatlı (genç kanatlılar hariç) karma yemleri	0,02
Okratoksin A	Yem maddeleri:	
	-Tahıllar ve tahıl ürünleri	0,25
	Tam ve tamamlayıcı yemler:	
	-Domuz tam ve tamamlayıcı yemleri	0,05
	-Kanatlı tam ve tamamlayıcı yemleri	0,1
<u>Gıda</u>	<u>Miroorganizmalar</u>	<u>Limitler (kob/g-mL)</u>
Tahıl ve unları, soya unu ve diğer unlar	Koliform bakteri	10 ³ - 10 ⁴
	Küf	10 ⁴ - 10 ⁵
	Maya ve küf	10 ³ - 10 ⁴

Önemli mikotoksinlerin kabul edilebilir sınırları ve mikrobiyolojik limitler, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının Resmi Gazetede yayınladığı tebliğe göre Çizelge 2.5.'de verilmiştir.

Çizelge 2.6. Yem ve tahıllarda mikotoksinleri kontrol stratejileri (Maciorowski ve ark. 2007)

Çeşitli Kontrol Uygulamaları	Etki Mekanizması
Ayırma-Eleme	Enfekte olmuş tahılların / tohumların renk, yoğunluk, büyüklük veya flüoresana (siyah ışık) göre ayrılarak taranabilir. Kırık tane parçacıkları, sağlam tahıllara göre daha yüksek seviyelerde mikotoksinlere sahip olabilmektedir.
Propiyonik asit	Küf oluşumunu önlemek için depolanan tahıl ve yemlere eklenir. Kimyasal olarak mikotoksinleri denatüre etmektedir.
UV ışın uygulaması	Küf mantarlarını etkisiz hale getirmek için depolanmadan önce tahıl veya yemlere UV ışını uygulanabilir. Mikotoksinler bu işlem ile fiziksel olarak devre dışı bırakılır.
Yüksek sıcaklık muamelesi	Mikotoksinleri etkisiz hale getirmek için tahıl veya yemlere yüksek sıcaklık uygulanabilmektedir. Bazı mikotoksinler, 260 °C'ye yaklaşan sıcaklıkta bile etkinliğini koruyabilmektedir.
Kalsiyum hidroksit, sodyum bisülfat, hidrojen peroksit, sodyum hipoklorit	Mikotoksinleri kimyasal olarak etkisiz hale getirmek amacıyla yeme katılabilirler.
Ozon uygulaması	Mikotoksinlerin oksidatif bozulmalarına neden olmak için yem ve tahıllara uygulanabilmektedir.

Mikotoksinleri etkisiz hale getirmede çeşitli fiziksel ve kimyasal uygulamalar bulunmaktadır (Çizelge 2.6).

2.3.Bakteriler ve Etkileri

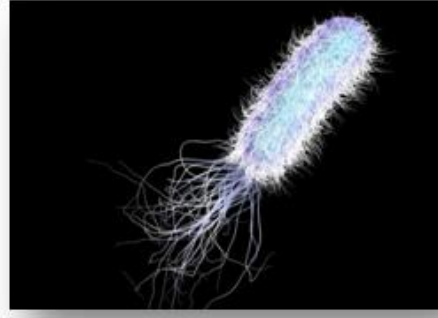
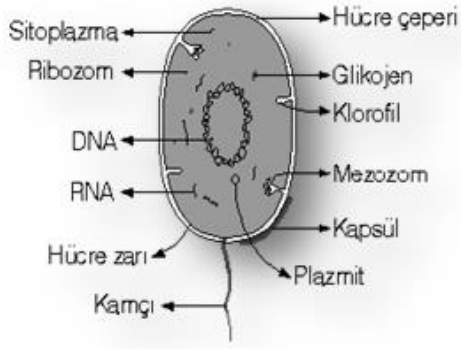
Etlik piliç yemlerinin kimyasal ve besin bileşenleri, hayvanların beslenmesi ve büyümesi için oldukça önemlidir. Gelişim dönemindeki civcivler çevresel faktörlere karşı oldukça duyarlıdır. Özellikle bu dönemde, çeşitli etmenler tarafından oluşan stres faktörleri genç hayvanların sindirim metabolizmasını bozmakta ve hayvana zarar vermese de ileriki dönemde hayvandan istenilen performans değerlerine ulaşamamaktadır (Lin ve ark. 2006).

Etlik piliç yemlerinde kullanılan hammaddeler sadece hayvanın besin kaynağı değil, aynı zamanda birçok tek hücreli ökaryotik ve prokaryotik mikroorganizmaların da besin kaynağını oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar toz, toprak, su, böcekler gibi birçok kaynaktan hammaddelere bulaşabilmekte ve çevre şartlarının etkisiyle kontaminasyon oluşturabilmektedir. Yemlerde kullanılan hammaddeler büyük oranda bitkisel kaynaklardan ve belirli miktarlarda hayvansal kaynaklı hammaddelerden oluşmaktadır. Ayrıca bazı toprak kökenli maddelerde hayvanların mineral ihtiyacını karşılamak adına rasyona katılabilmektedir. Dolayısıyla üretilen yemlere bakteri bulaşma riski oldukça yüksektir (Myint ve ark. 2007).

2.3.1.Morfolojik yapısı

Bakteriler klorofil içermeyen prokaryotik mikroorganizmalardır. Hücrelerinin yapıları dışarıdan içe doğru; hücre duvarı, sitoplâzma ve çekirdekten oluşmaktadır (Şekil 2.5). Bir kısım bakteri hücrelerinde kapsül, kirpik ve piluslar yer alabilir. Bakterilerde spor oluşumu bulunmaktadır. Hücreyi dış etkenlerden koruyan hücre duvarı dirençli olup hücre zarını çevreler. Hücrelerin zarı yarı geçirgen yapıda olduğundan dayanıksızdır. Hücre zarı bir kısım yerlerde sitoplâzmaya doğru girintiler oluşturur, bu oluşumlara mezozom denir. Mezozom bakterilerin bölünmesinde görev alırlar.

Eğer bir bakteri, uygun bir katı besi yerinde ve uygun şartlarda (süre, ısı, oksijen, rutubet vs.) üretilirse, az bir zaman içinde gözle görülebilen küme (koloni) ortaya çıkarırlar. Bakteri türleri, kendilerine özel kokuda, renkte, yapıda ve büyüklükte koloniler meydana getirirler. Bir kolonide milyonlarca ya da milyarlarca mikroorganizma bulunabilmektedir (Anonim 2019f).



Şekil 2.5. Bakteri hücre yapısı (Anonim 2019g)

Çizelge 2.7. Bazı önemli patojenik bakteriler ve etkileri (Maciorowski ve ark. 2007)

Bakteri	Semptom/Hastalık	Notlar
<i>Cl. perfringens</i>	Nekrotik enterit, Dermatit	Kötü şartlarda depolanmış yemlerde kontaminasyon oluşturabilir.
<i>Cl. botulinum</i>	Gıda zehirlenmesi	Kötü şartlarda depolanmış yemlerde kontaminasyon oluşturabilir. Bağışıklık sistemini bozan etkili toksinleri üretir.
<i>Listeria spp.</i>	Septisemi, Göz enfeksiyonları	Kötü şartlarda depolanmış yemlerde kontaminasyon oluşturabilir.
<i>Escherichia coli</i>	Septisemi, şişmiş kafa sendromu	Olumsuz çevre şartlarında hayatta kalabilirler.
<i>Salmonella spp.</i>	Enterit, ishal ve septisemi	Olumsuz çevre şartlarında hayatta kalabilirler.

Hayvan veya insan sağlığı için patojenik bakteriler (Çizelge 2.7) çeşitli yollarla yemi kirlettiklerinde, hızlı bir şekilde çoğalarak hastalık oluşumu için potansiyel ortamı oluşturmakta ve bu konu üretici ve tüketiciler için büyük endişe yaratmaktadır (Crump ve ark. 2002). Yemdeki doğal bakteriyel kontaminasyonun oluşmasındaki en büyük faktör hammaddeler ile birlikte taşınan topraktır. Bu toprakta bulunan gübre, çeşitli hayvan dışkıları, böcek gibi organik maddeler ilk başta hammaddeyi kirleterek, daha sonra yeme geçebilmektedir.

Bu patojenik bakterilerin hayvanın bağırsak kanalı dışındaki hayatta kalma mekanizmaları ve maksimum yaşama süreleri tam olarak anlaşılamamıştır. Dorn ve Schleiff (1997), tarafından havada kurutulmuş dışkıda yapılan incelemede, *E. coli* 85 gün sonra dahi izole edilebilmiş, *Salmonella spp.* ise maksimum 25 günden sonra izole edilememiştir.

E. coli, *Enterobacteriaceae* ailesinden olup fakültatif anaerob ve gram negatif bir patojen bakteridir. *E. coli* suşları, hayvan bağırsak mikroflorasında bulunabilen bir patojen olmakla birlikte yemlere bulaşabilmesi dışkı kontaminasyonu olduğunun bir göstergesi olabilir (Geornaras ve ark. 2001). Halkman ve ark. (1998) ve Dursun (2008), yaptığı çalışmalara göre, *E. coli*'nin hayvancılık sektöründe üretimi yapılan etlik ve yumurtacı piliçler, süt ve et sığırları gibi hayvanların dışkıları ile ete, yumurtaya, süte ve doğal çevreye yayıldığı tespit edilmiştir.

Salmonella, *Enterobacteriaceae* ailesinin bir parçası olan gram-negatif olup, aerobik veya anaerobik koşullar altında büyüeyebilen kapsüllenmemiş bakterilerdir. Sıcaklık 35-43 °C ve 6,6-8,2 pH aralığı bakterilerin büyümeleri için elverişli ortamı oluşturur. Bununla birlikte *Salmonella*, 4,5 ile 9,5 arasındaki pH değerlerinde ve 5 ile 54 °C arasındaki sıcaklıklarda büyümeye devam edebilir (Nurmi ve Rantala 1973).

Kanatlı hayvan ürünlerindeki *Salmonella* kontaminasyonunun yaklaşık %15'inin yemden kaynaklandığı ve yemde bulunan *Salmonella*'nın %90'ının, özellikle ısı işlem görmüş hayvansal yan ürünler veya balık unu, et-kemik unu gibi yüksek protein seviyelerine sahip olan ham maddelerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Etlik piliç üretiminde ve kanatlı etlerinde *Salmonella* kontaminasyonunu azaltmak için bütün entegrasyon (damızlık üretim kümesleri, kuluçkahaneler, yem fabrikaları, etlik piliç üretim tesisleri, çeşitli taşıyıcılar, kesimhaneler) eksiksiz bir kontrol mekanizması altında çalışmalı, patojen yüklerinde önemli bir azalma elde etmek için, müdahale stratejilerinin bir kombinasyon halinde uygulanması gerekmektedir (Cortyl 2010).

Yemlerde bulunabilen bir diğer endişe kaynağı ise *Clostridia* bakterisidir. Anaerobik olan *Cl. perfringens* ve *Cl. botulinum* kanatlı hayvanlarda nekrotik enterit başlıca olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir. Doğal olarak hayvanların bağırsak mikroflorasında olmakla birlikte, herhangi bir stres kaynağı sonucunda mikrobiyal floranın bozulmasıyla fırsatçı olan bu patojen hızlı bir şekilde çoğalarak mikrobiyal dengeyi bozmakta ve hayvanı

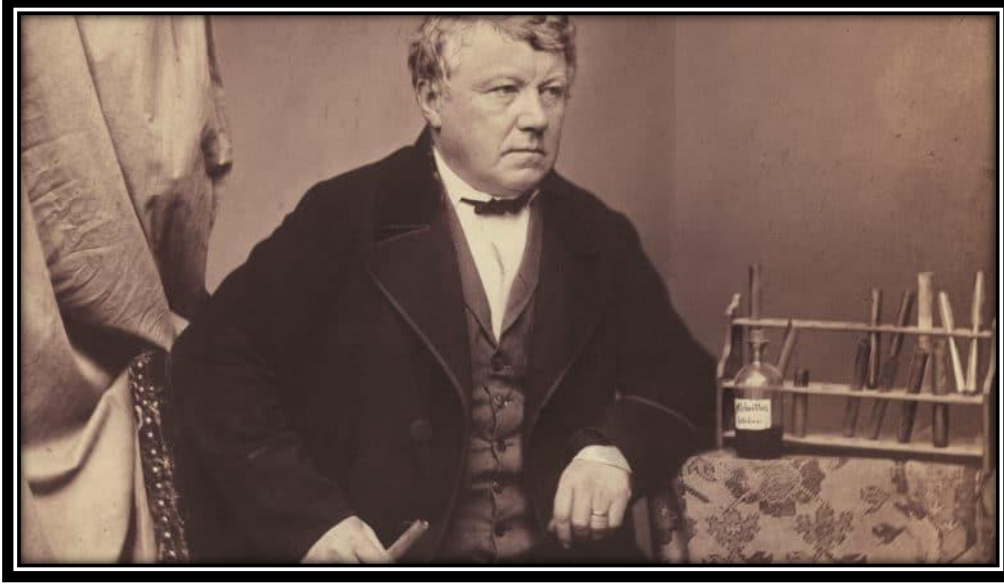
hasta edebilmektedir (Haagsma 1991). Ürettikleri salgılar, gastrointestinal mukozaya zarar vermekte ve sindirim enzimlerinin etkinliğini bozarak hayvanda performans değerlerinde gerileme yaşatmaktadır (Cooper ve ark. 2013).

2.4.Dezenfektan Olarak Ozon Uygulaması

2.4.1.Ozonun tarihi ve tanımı

Ozon, farklı bir kimyasal bileşik olarak ilk kez Alman Christian Friedrich Schönbein (Şekil 2.6) tarafından tanımlanmıştır. Alman profesör, 1828 tarihinden itibaren Basel Üniversitesinde kimya alanında çalışmış ve 1868'de ölene dek ozon ve kimyasal yapısı hakkında önemli çalışmalara imza atmıştır. Ozonun moleküler formülü 1865'te Soret tarafından belirlenmiş ve 1867'de Schönbein'in ölümünden kısa bir süre önce kendisi tarafından onaylanmıştır (Rubin 2001).

Ozon gazı keskin kokusuyla, Yunanca'da '*ozein*' (koklamak) anlamına gelmektedir. Şimşek ve yıldırımlardan sonra oluşan, taze hava kokusu olarak nitelendirilen gaz; bulutların elektriklenmeleri esnasında oluşan ozon gazıdır. 1860 yılından itibaren birçok yerde yüzey ozon ölçümlerine başlanmıştır. 1913 yılında, ultraviyole ölçümleri sonucunda ozonun en fazla stratosfer tabakası içinde olduğunun belirlenmesinin ardından, ilk atmosferik ozon gözlemleri 1920'li yıllarda gerçekleşmiştir. 1934 yılından itibaren 20 km civarındaki maksimum ozon konsantrasyonunun balonlu ölçüm cihazları ile ölçümüne başlanılmasından sonra, 1950'li yılların sonuna doğru düzenli ozon gözlemlerine başlanılmıştır (Anonim 2019h).



Şekil 2.6. Christian Friedrich Schönbein, 1799-1868 (Anonim 2019i)

Ozon gazı (O_3), 3 oksijen atomundan oluşan molekülleriyle renksiz bir gazdır ve atmosferin üst katmanlarında yer alır. Oksijenin allotropudur, trioksijen olarak da tanımlanır. Normal koşullarda atmosferin alt kısımlarında O_3 miktarı yaklaşık 0,4 ppm değerindedir. Deniz seviyesine yakın yerlerde 10 milyon hava partikülü başına bir partikül O_3 (0,1 ppm) konsantrasyonlarında duman şeklinde bulunur. 2000 metre yükseklikte, çok daha azalarak 0.003-0.004 ppm seviyelerine düşmektedir (Anonim 2019j). Ozon güneşin ultraviyole ışınları ya da yıldırım esnasında havadan ayrışma ile doğada meydana gelmektedir (Rubin 2001).

Ozon tarih boyunca birçok alanda kullanılmıştır. Örneğin; 1.Dünya Savaşı sırasında ozon, Alman askerlerine yaşadıkları travma sonrasında enfekte yaralar ve çeşitli yanıkların tedavisi için kullanılmıştır. Amerika'da ise 1880-1932 yılları arasında alternatif ilaç olarak kabul edilmiştir (Boztaş ve Ömürlü 2014).

2.4.2.Fiziksek ve kimyasal özellikleri

Ozon veya trioksijen, O₃ kimyasal formülüne sahip, keskin bir kokuya sahip inorganik bir moleküldür. Oksijenden farklı olarak 3 atoma sahiptir ve gaz halindeyken mavi renktedir. Ozon, ultraviyole ışığın (UV) ve atmosferdeki elektriksel yükün etkisiyle dioksijenden oluşur. Kararsız bir yapıya sahip olan ozon, suda kısmen çözünebilmektedir (Çatal ve İbanoğlu 2010). Ozonun fiziksel özellikleri Çizelge 2.8’de verilmiştir.

Ozon havadan yaklaşık 1,5 kat daha ağırdır, O₃ formülüne tekabül eden 24 buhar yoğunluğuna sahiptir ve sudaki oksijenden daha da çözüdür.

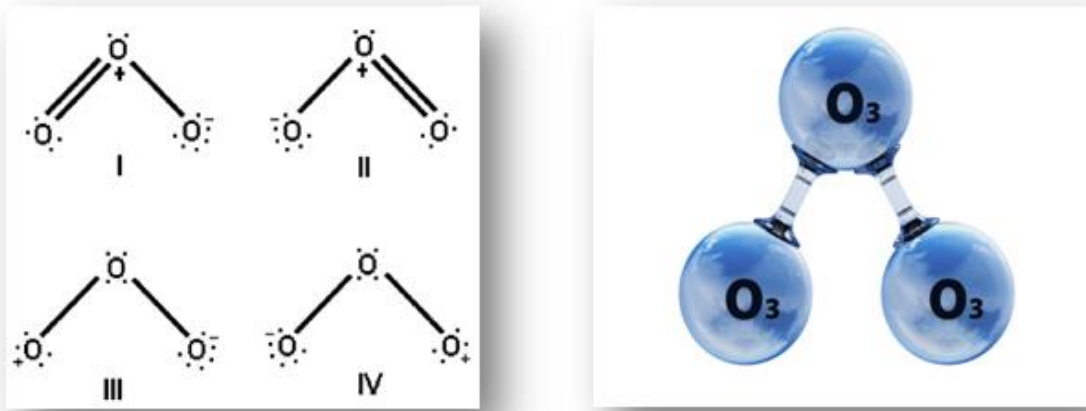
Çizelge 2.8. Ozonun fiziksel özellikleri (Çatal ve İbanoğlu 2010)

Fiziksel özellikleri	Değerler
Formülü	O ₃
Kaynama noktası, °C	-111,9
Yoğunluk, kg/m ³	2,14
Oluşma ısısı, kJ/mol	144,7
Erime noktası, °C	-192,7
Molekül ağırlığı, g/mol	48
Oksidasyon kuvveti, V	2,075
Özgül ağırlık	1,658
Renk	Açık mavi

Ozon, -112 °C kaynama noktasına sahip, mavimsi, renkli bir gazdır. Standart basınç ve sıcaklıkta ozonun çözünürlüğü oksijenin on üç katıdır (Seydim ve ark. 2004). 2,07 Volt'un oksidasyon potansiyeli, ozonun güçlü bir oksitleyici olduğunu, aslında su arıtımı için mevcut en güçlü oksitleyicilerden biri olduğunu kanıtlamaktadır (Manley ve Niegowski 1967). Yirmiden fazla ozon içeren yoğunlaştırılmış ozon ve oksijen karışımları hem sıvılarda hem de gazlarda patlayıcı olabilir (Seydim ve ark. 2004). Ticari ozon jeneratörlerinde bu tehlike

görülmez, çünkü bu yoğun karışımlar kolayca üretilemez. Ozon, sulu bir çözeltide havadakine göre oldukça dengesizdir; sudaki yarılanma süresi yaklaşık 20 dakikadır (Rice 1986).

Havadaki O_2 molekülü, yüksek enerji ile 2 adet oksijen atomuna parçalandıktan sonra, bir diğer O_2 molekülü ile tepkimeye girerek kararsız bir molekül oluşur. Bu yeni molekül ozondur (Şekil 2.7). Bu kararsız yapısı ona üstün bir oksidasyon gücü vermektedir. Kararsız yapısı sebebiyle ortamdaki bakteri, virüs, mantar, küf gibi istenmeyen organikleri yok ederken, demir, mangan, klor, nitrit vb. maddeleri de oksitleyerek ortamdan uzaklaştırır (Seydim ve ark. 2004).



Şekil 2.7. Ozon molekülünün rezonans yapısı (Seydim ve ark. 2004)

2.4.3. Ozonun başlıca kullanım alanları

Ozon bilinen en etkili mikrop öldürücü ve koku gidericidir. Yüksek oksidasyon gücü sayesinde diğer dezenfektanlara göre oldukça üstün olması, uygulanmasının ardından hızlıca oksijene parçalanması ve hiçbir kalıntı bırakmaması sebebiyle başta gıda, kimya ve sağlık sektörleri olmak üzere birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Çizelge 2.9). Ozon gaz ve sıvı formda uygulanabilmektedir (Çatal ve İbanoğlu 2010).

Çizelge 2.9. Ozonun başlıca kullanım alanları (Boztaş ve Ömürlü 2014)

Gıda Endüstrisi	Kimyasal Endüstri	Diğer Endüstriyel Kullanımları
<ul style="list-style-type: none">• Besin koruması,• Raf ömrünü uzatmak,• Ekipman sterilizasyonu,• Bitkisel yiyecek atıklarının değerlendirilmesi,• Soğuk saklama odalarındaki yiyecekler için dezenfektan ajanı olarak,• Meyve depolamada küf ve maya büyümesine engel olmak amacıyla,• Beyaz ve kırmızı et karkaslarının korunması,• Tahıl ve yem hammaddelerini patojen mikroorganizmalardan koruması.	<ul style="list-style-type: none">• Organik kimya endüstrisinde oksidize ajanı olarak,• Un, kâğıt hamuru, nişasta ve şekerin ağartılmasında,• Birtakım parfüm, vanilinlerin işlenmesinde,• Vernik ve baskı mürekkeplerinin hızlı kurumasında,• Nitrik asitten klorinin çıkarılmasında,• Siyanür ve fenolün oksidasyonunda,• Likör ve odunun yıllandırılmasında,• Tekstil sektöründe.	<ul style="list-style-type: none">• İçme suyu ve havanın dezenfeksiyonunda dezenfektan ajanı olarak,• Endüstriyel atıkların arıtılmasında,• Uçucuların, havanın ve kanalizasyon gazının kokusunun giderilmesinde,• Bakteri öldürmede,• Steroid hormonu üretmede,• Sağlık sektöründe,• Yüzey dezenfeksiyonunda,• Diş hekimliğinde.

2.4.3.1. Gıda endüstrisi

Gıda endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan dezenfektanlardan birisi klorindir. Fakat kullanılan bu kimyasal maddenin uygulandığı gıdalarda kalıntı bırakabilmesi ve insan sağlığını tehdit edebilmesi gibi nedenlerden dolayı çevre ve sağlık örgütlerinin dikkatini çekmiş durumdadır. Ayrıca izin verilen miktarlarda klorinin mikroorganizma popülasyonu üzerinde sadece 1 veya 2 logaritmik azalma gerçekleştirmesi, etkisinin sınırlı olduğunu göstermiş ve sektörü farklı dezenfektan uygulamaları denemeye yöneltmiştir (Ekici ve ark. 2006).

Ozonun doğal bir dezenfektan olmasına karşın, klorinden 1,5 kat daha fazla oksitleme gücüne sahip olması ve etki spektrumunun daha geniş olması nedeniyle kullanım alanlarının arttığı görülmektedir (Xu 1999). Ayrıca ozon, 1997'de ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından güvenilir onayı (GRAS) almış bir dezenfektandır (Seydim ve ark. 2004).

Gıda endüstrisinde yaygın olarak içme suları, balık üretim ve işleme tesisleri, meyve ve sebzeler, kuru gıdalar, yemlik tahıllar, kanatlı sektöründe yumurta raf ömrü uzatma ve piliç etlerinin dezenfeksiyonu, meyve suları, çeşitli fırıncılık ürünleri ve işletme sularının yeniden kullanımı gibi birçok alanda ozon uygulamaları yapılmaktadır. Ozonun gıda endüstrisinde kullanılmasının bazı avantajları bulunmaktadır (Ekici ve ark. 2006);

- 1) Ozon, alternatif kimyasal ve fiziksel dezenfektan yöntemlerine kıyasla daha fazla oksitleme gücüne sahiptir,
- 2) Uygulandıktan sonra hızlı bir şekilde oksijene parçalanır ve hiçbir kalıntı bırakmaz,
- 3) Mikroorganizma faaliyetlerini durdurur ve gıda güvenliği sağlar,
- 4) Gıdaların raf ömrünü arttırır,

Ozonlamanın günümüzde en çok uygulandığı ürünler meyve ve sebzelerdir. Özellikle son dönemlerde teknolojik gelişmeler sayesinde ozon üreten ev tipi jeneratörler piyasaya sunulmuştur. Ozonlama, genellikle gıdaların depolanması ve tüketim öncesi aşamasında uygulanmaktadır. Oksitleme özelliği nedeniyle gıdaları küf ve bakterilere karşı koruyarak, ürünlerin raf ömrünü uzatmakla birlikte herhangi bir kalıntı bırakmamaktadır. Ozonla ilgili yapılan birçok çalışmada ozonun gıda ürünlerindeki *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *L. Monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 vb. patojenleri inhibe ettiği gibi, maya ve küf sayılarını da azalttığı ve ürünü koruduğu tespit edilmiştir (Beltran ve ark. 2005).

Ozon uygulamalarında ürünün kimyasal ve fiziksel özelliklerinin yanında, ozonun uygulama dozu, ortam sıcaklığı ve nemi, yıkama suyu sıcaklığı, pH ve su kalitesi gibi çevresel faktörlerde ozonun etkinliğini değiştirebilmektedir (Xu 1999).

Birçok endüstride olduğu gibi gıda endüstrisinde de tonlarca su çeşitli aşamalarda kullanılmakta ve organik içeriği yüksek bu atık sular çevreye yayılmaktadır. Küresel ısınma ve yağışlardaki dengesizlik gibi sebepler yüzünden günden güne su kaynaklarının azalması, insan yaşamı için olmazsa olmaz olan suyun önemini bir kez daha hatırlatmaktadır. Ozonun su sterilizasyonunda kullanılması uzun yıllardır uygulanmakta ve kimyasal uygulamalara karşı büyük bir alternatif olma özelliği taşımaktadır. Yapılan çalışmalarda ozonun içme sularındaki demir, manganez ve sülfürü etkisiz hale getirerek uzaklaştırdığı, tat ve kokuyu düzelterek kalitesini arttırdığı belirtilmektedir (Xu 1999).

Ozon, hayvansal kaynaklı gıdalarda da raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Özellikle piliç eti ve sığır etlerinde karkaslara uygulanan ozonun, kesimden sonra ürün üzerindeki başta *Salmonella* olmak üzere birçok patojeni inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Sığır etleri üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda 2,3 ppm ozon gazı uygulamasının renk ve kokuyu değiştirmeden aerobik mezofil bakterilerin ve patojenlerin sayısını önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Ekici ve ark. 2006). Yıldız ve Yangılar (2014) yaptıkları çalışmada, ozonun yumurta kabuğuna uygulanmasıyla birlikte raf ömrünün uzadığını tespit etmişlerdir.

Önemli gıda ürünlerinden olan tahıllar, hasat ve depolama gibi birçok aşamada mikroorganizmalar tarafından kayba uğratılmaktadır. Özellikle küflerin sebep olduğu aflatoksin ve okratoksin gibi mikotoksinler, onu tüketen insanlar ve hayvanlar için oldukça zehirli, mutajenik ve kanserojen etkili olabilmektedirler. Mısır, buğday, arpa, çavdar, yulaf, pirinç gibi birçok mahsulde aflatoksinlere rastlamak mümkündür. Düşük konsantrasyonlardaki ozonun tahıllarda yapılan çalışmalarında fungileri, fungal sporları ve patojen bakterileri inaktive etmede oldukça etkili bir dezenfektan olduğu tespit edilmiş, bunlardan elde edilen un gibi yan ürünlerinde duyuusal ve kimyasal özelliklerini değiştirmedeği gözlemlenmiştir (Zhu 2018).

2.4.3.2. Sağlık sektörü

Tıbbın gelişmesi ve insanların bilinçlenmesi ile birlikte hastalıkların tedavisinden daha çok, koruyucu yöntemlerin önemi anlaşılmıştır. Bedensel ve zihinsel olarak yoğun çalışma temposu, hava kirliliği, güneş ve radyasyon gibi çevresel yıkıcı faktörler insan vücudunu yıpratmakta ve zaman içerisinde tamiri mümkün olmayan rahatsızlıklara sebep olabilmektedir (Boztaş ve Ömürlü 2014).

Medikal endüstride ozonun ilk olarak, 1. Dünya savaşında Alman askerlerinin yaralanma sonrasında rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. 50'li yıllardan sonra ozonun vücut üzerindeki iyileştirici etkileri ve çeşitli uygulama yöntemleri kullanılmaya başlanarak günümüzde de kullandığımız ozon tedavisi ortaya çıkmıştır (Boztaş ve Ömürlü 2014). Almanya'da günümüzde 12 000'den fazla doktor ozon tedavisini çeşitli hastalıklarda

ve ortopedide verimli olarak kullanılmaktadır. Medikal sektöründe ozon, bakteri, mantar öldürücü ve virüs çoğalmasını önleyici özellikleri sebebiyle, enfekte olmuş yaraların dezenfekte edilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca viral hastalıklara karşı mücadelede de olumlu sonuçlar alınmıştır. Kan dolaşımını artırma etkisi nedeni ile dolaşım ile ilgili bozuklukların tedavisinde kullanılabilir. Düşük dozlarda kullanıldığında, vücudun direncini arttırdığı, diğer bir deyişle ozon bağışıklık sistemini aktive ettiği bildirilmiştir (Borrelli ve Bocci 2018).

Ozon gazı, diş hekimliğinde de kullanım alanları bulmuştur. Araştırmalar ozon gazının, diş çürüklerinde tedavi edici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ozonun bu etkisi, ağızda bulunan ve başlangıç çürüklerine neden olan mikroorganizmaları oksitleyerek inhibe etmesi ile gözlemlenmiştir (Boztaş ve Ömürlü 2014).

2.4.3.3. Hava, yüzey ve ekipman sterilizasyonu

Çevremizde, çıplak gözle göremediğimiz zararlı ve/veya zararsız mikroorganizmalar bulunmaktadır. Kapalı alanlar, okul ve hastaneler ile kullandığımız ve hayatımızı kolaylaştıran birçok ekipman doğal olarak birçok mikroorganizmaya ev sahipliği yapmaktadır. Özellikle hastane gibi kalabalık ortamlarda mikroorganizma sayısı ve çeşitliliği de artabilmekte, dolayısıyla toplum sağlığı için bu kontaminasyon, risk oluşturabilmektedir. Sadece hastanelerde hava ve yüzey sterilizasyonu için çok büyük kaynaklar tahsis edilmektedir. Örneğin, son zamanlarda İngiltere Hükümeti ülkedeki tüm hastanelerde “detaylı temizlik” (hava ve yüzey sterilizasyonu) yapabilmek için 57,5 milyon sterlin bütçe ayırdığını açıklamıştır (Zoutman ve ark. 2011). Kullanılan çeşitli kimyasal deterjan ve dezenfektanlar maliyetli olmalarının yanında patojen yüklerini azaltmadaki etkinlikleri sınırlı olmaktadır. Dolayısıyla ozon gibi alternatif dezenfektanların bu alanda da kullanımı ile ilgili çeşitli uygulamalar mevcuttur.

Ozonun güçlü reaktivitesi sayesinde çeşitli moleküller ile reaksiyona girerek onları oksitlemektedir. Bu reaksiyonlar sonucunda havadaki bakterileri ve mikropları yok edebilmektedir. Reaksiyondan kısa bir süre sonra ozon hızlı bir şekilde oksijene

parçalanmakta ve bu özelliği sayesinde ozon diğer dezenfektan maddelerinin aksine atık madde bırakmamaktadır (Seydim ve ark. 2004). Ozonla yapılan çalışmalar sonucunda, ozonun güçlü bir oksidan olması sayesinde su, hava ve ekipmanlarda; mikrop kırıcı, koku giderici, ortamı kirleten pek çok organik molekülün yok edicisi olarak kullanılabilceği ispat edilmiştir (Zoutman ve ark. 2011).

2.4.3.4. Kimya ve tekstil endüstrisi

Tekstil malzemelerinin ıslak işlenmesi ile büyük miktarda elektrik, yakıt ve su harcanmaktadır. Bu nedenle, sera gazı emisyonları ve kirli atıklar büyük bir çevre sorunu haline gelmiş durumdadır. Dünyadaki hükümetlerin çoğu, tekstil üretimi içeren tüm sanayi sektörlerini, çevre kirliliği konusunda dikkatli olmaları konusunda uyarmaktadır. İnsanların çevre bilinçlerinin artması ve rekabetçi küresel pazar, tekstil endüstrisini çevre dostu tekstil ürünleri üretmeye zorlamaktadır (Körlü 2018).

Ozon gazının antibakteriyel, antifungal gibi özelliklerinin yanı sıra çok kuvvetli bir renk açıcı olması sebebiyle tekstil sektöründe üretilen giysilerin parça yıkama tesislerinde; geri boyamayı önlemesi, homojen şekilde renk ağartılması sağlaması ozonun kullanımına olanak sağlamakla birlikte herhangi bir kalıntı bırakmamakta ve atık madde oluşturmamaktadır (Körlü 2018).

Ozon ayrıca, un ve kağıt hamurunun ağartılmasında, birtakım parfüm ve vanilinlerin işlenmesinde, siyanür ve fenolün oksidasyonu gibi çeşitli alanlarda etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Boztaş ve Ömürlü 2014).

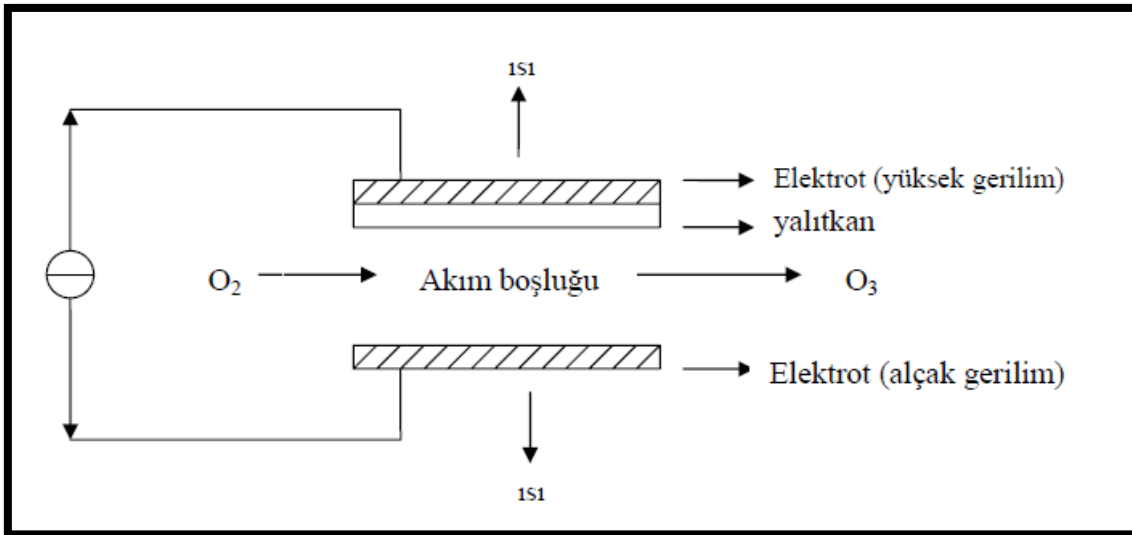
2.4.3.5. İçme suyu tesisleri

Ozon, içme suyunun arıtılması amacıyla ilk kez 1906 yılında Fransa'nın Nice kentinde kurulan tesiste dezenfektan olarak kullanılmış ve günümüze kadar faaliyetini sürdürmüştür. Günümüzde dezenfeksiyon ve diğer birçok amaç için ozonlama tekniği kullanan, dünya

genelinde 1000'den fazla içme suyu arıtma tesisi bulunmaktadır. Bu tesislerin büyük çoğunluğu, aynı zamanda sektörün öncülüğünü yapan Avrupa ülkelerinde bulunmaktadır. İçme suyunun arıtılması için ozonlama tekniğinin kullanılması, yalnızca klorlama sırasında halojenli organiklerin oluşumunun potansiyel bir halk sağlığı olarak tanımlanmasından dolayı ABD'de de ilgiyi arttırmıştır. Ozonlama uygulamaları genel olarak, içme suyunda bulunan organik ve inorganik maddelerin oksidasyonu ve suyu bulandıran maddelerin uzaklaştırılması, filtre edilmesi temellerine dayanmaktadır (Rice ve ark. 1981).

2.4.4. Üretimi ve ozon jeneratörleri

Rice ve ark.(1981), ozon üretimi için bir *diatomik* oksijen molekülünün ayrılması gerektiğini açıklamışlardır. Sonuçta ortaya çıkan serbest radikal oksijen, bu şekilde, üçlü ozon molekülünü oluşturmak üzere başka bir *diatomik oksijen* ile reaksiyona girebilmektedir. Ancak, O – O bağı kırılmak çok fazla enerji gerektirir. Ultraviyole radyasyon (188nm dalga boyu) ve korona akım modeli, serbest radikal oksijen oluşumunu başlatmak ve böylece ozon üretimini sağlamak için kullanılan yöntemlerden sayılabilir. Fakat ticari ozon seviyelerinin üretilmesi için genellikle korona akım yöntemi tercih edilmektedir (Rice ve ark. 1981).



Şekil 2.8. Korona akım modeli şeması (Ekici ve ark. 2006)

Korona akım modelinde (Şekil 2.8), biri yüksek gerilimli, diğeri de düşük gerilimli elektrot (toprak elektrotu) olmak üzere iki elektrot bulunmaktadır. Bunlar seramik dielektrik alanı ve dar bir boşaltım aralığı ile birbirinden ayrılmışlardır. Elektronlar, oksijen molekülünü ayırtırmak için yeterli kinetik enerjiye sahip olduktan sonra ayrışma işlemi gerçekleşir ve her bir oksijen atomundan bir ozon molekülü oluşur. Eğer jeneratörlerden hava geçirilirse ozon üretimi %1-3 aralığında olurken, saf oksijen kullanılması ile ozon üretimi %6'ya kadar çıkarılabilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda yüksek seviyede saf oksijen kullanımıyla ozon üretiminin %16 seviyesine kadar çıkabildiği tespit edilmiştir. Korona akım metodu ile çok daha yüksek miktarlarda ozon üretimi mümkündür. Aynı zamanda diğer ozon üretim yöntemlerine göre daha ekonomiktir.

Sonuç olarak, ozon konsantrasyonu, oluşum ve imha oranlarının eşit olduğu noktadan daha fazla arttırılmaz (Manley ve Niegowski 1967). Ozon gazı uygulanmasının ardından hızlı bir şekilde oksijene parçalanmakta ve bu nedenle depolanamamaktadır (Seydim ve ark. 2004). Ozon gazı uygulamasının çeşitli endüstrilerde sınırlı olarak kullanılmasının nedeni ozon jeneratörlerinin büyük ve maliyetli olmasından kaynaklanmaktaydı (Jaksch ve ark. 2004). Fakat günümüzde teknoloji ve mekanizasyondaki gelişmeler sayesinde ozon jeneratörlerinin daha küçük boyutlarda üretilebilmesi ile birlikte kullanım alanları da artmaktadır.

2.4.5. Ozon uygulama metotları

Ozonun ticari ve sanayide kullanılan mevcut bütün sanitasyon kimyasallarından önemli ölçüde daha etkili olduğu ortaya konmuştur. Ozonun antimikrobiyal etkinliği çok güçlüdür ve mikrobiyal yükün azaltılması bakımından alternatiflerinden üstün olduğu bildirilmiştir. Ayrıca uygulama yöntemi, kullanılan malzeme ve çevresel güvenlik kontrolleri göz önüne alındığında, tesisler, ürünler veya çalışanlar üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi bulunmamaktadır. Üstelik uygulanmasındaki kolaylık ve maliyetsiz olması ozonun birçok endüstride tercih edilmesine neden olmuştur (Hamil 2017).

Ozon gaz ve sıvı formda uygulanabilmektedir. Gıda sektöründe, özellikle de meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda genellikle ozonlu sular kullanılmaktadır. Tahıllar ve yemlerde ozon, yem materyalinin formu gereği silo veya depolarda gaz formda uygulanması düşünülebilir.

Ozonun gaz olarak uygulamasından önce, ozon jeneratörlerinin büyük ticari silolarda kullanımlarını optimize etmek için çeşitli hammadde tiplerine göre ozon hareketinin dinamiklerini karakterize etmek gereklidir (Shunmugam ve ark. 2005). Çünkü etlik piliç (toz ve pelet) yemleri farklı hammaddelerden oluşan yemlerdir ve dönemsel olarak kullanılan hammaddeler farklılık gösterebilir veya oransal olarak kullanım miktarları değişebilir. Ozon gazının bir silo veya yem ile doldurulmuş bir depo içerisindeki hareketi bu sebeplerden dolayı değişebilmektedir. Ozonun adsorpsiyonu ve daha sonra yemin içerisine nüfuz etmesi, yem tanelerinin yüzey özellikleri, mikrobiyal kontaminasyonu, böceklerin varlığı, nem içeriği vb. bazı içsel ve dışsal faktörlere bağlı olmaktadır. Ozonun tane içindeki penetrasyonu ve hareketi, diferansiyel kinetik - difüzyon denklemi ile ifade edilebilmektedir (Raila ve ark. 2006). Mikrobiyal kontaminasyona karşı toz formundaki yem materyalleri, tahıl tanesi veya pelet formdaki yem materyallerinin fiziksel ve kimyasal bileşenlerine göre daha duyarlıdır. Ayrıca tahıl taneleri ve pelet yemlerin yüzey alanlarının, toz formdaki yem materyaline göre daha düşük olması, ozonun etkinliğini arttırmakta ve partikül sayıları bakımından daha düşük olan tane ve pelet yem materyallerine ozon adsorpsiyonu daha etkili olmaktadır (Zhu 2018, Raila ve ark. 2006).

Yem tanelerindeki ozon adsorpsiyonu, besleme gazındaki ozon konsantrasyonuna, maruz kalma süresine, gaz akış hızına, sıcaklığa, tane özelliğine, organik ve inorganik maddelerin varlığına göre etkilenebilmektedir. Nem mevcudiyeti, aynı zamanda, yemlerin ozon reaktivitesinde önemli bir rol oynar, çünkü su ozonu çözündürür ve gaz ile yem taneleri arasındaki teması artırır. Bu da ozonun, yem ve tahıllarda gaz olarak uygulanmasının nedenlerinden birisi olduğu söylenebilir. Raila ve ark. (2006), daha yüksek mikrobiyolojik kontaminasyonu olan tahıl tabakaları arasında ozon penetrasyonunun daha yavaş olduğunu gözlemlemişlerdir.

Sıcaklık, mikotoksinlerin etkisiz hale getirilmesinde ozonun reaktivitesini etkileyebilmektedir. Proctor ve ark. (2004), fıstık çekirdeğindeki aflatoksinlerin daha yüksek sıcaklıklarda daha fazla yıkımlandığını bildirmektedirler. Çalışmalarında, 15 dakika boyunca

25 °C' de uygulanan ozon Aflatoksin B₁'lerin %77'sini, 10 dk boyunca 75 °C' de uygulanan ozon ise %80'ini etkisiz hale getirmiştir.

2.5. Etki Mekanizması

Ozonun patojenlere ve diğer zararlı mikroorganizmalara karşı etkili bir dezenfektan olduğu, onları etkisiz hale getirerek gıda güvenliği sağladığı uzun yıllardan beri bilinmektedir. (Burleson ve ark. 1975). Fakat etki mekanizması tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Patojen mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesinde, bazı araştırmacılar moleküler ozonun etkili olduğunu düşünürken, bazıları ise ozon üretimi sırasında oluşan serbest radikallerden kaynaklandığını düşünmektedir (Hunt ve Marinos 1997). Bu etki genelde ozonun hücre zarı materyalini oksitleyerek, patojen hücrenin bütünlüğünün bozulması şeklinde gözlenmektedir (Ekici ve ark. 2006). Spesifik olarak ozon, gram negatif patojen bakterilerin lipopolisakkarit ve lipoprotein katmanlarına etki etmesi sonucu hücrenin geçirgenliğini bozmakta ve hücreyi parçalamaktadır (Greene ve ark. 1993).

Ozonun patojen bakteriler ve mikroorganizmalar üzerindeki etkinliği; mikroorganizma suşuna, mikroorganizma yoğunluğuna, ozonun uygulanma konsantrasyonuna, uygulama yöntemine ve sıcaklık, pH, nem gibi çevresel faktörlere bağlı olmak üzere değişebilmektedir (Kuşçu ve Pazır 2004). Ozon, yapısı gereği oldukça kararsız bir moleküldür ve ortamda oksitleyebileceği ne varsa hızlı bir şekilde etki etmekte ve oksijene parçalanmaktadır. Dolayısıyla stabil olmayan bu yapısı gereği ozonun etkinliği, uygulandığı ortam şartlarına göre oldukça değişiklik gösterebilmektedir.

Ozonun diğer dezenfekte edici yöntemler ile birlikte kullanılmasında patojen bakteriler ve mikroorganizmalar üzerine olan etkisinin arttığı belirtilmiştir (Kim ve ark. 2003).

2.5.1. Ozonun mikotoksinlere olan etkisi

Yem hammaddeleri, yetiştirme, hasat, işleme ve depolama sırasında herhangi bir zamanda bakteri ve mantarlarla kirlenebilirler. Mikotoksinler, toksik etki gösteren bazı küf mantarları tarafından üretilmekle birlikte, insan ve hayvanlar tarafından alındıkları zaman, latent, kronik veya akut zehirlenmelere yol açan kimyasal maddeler veya metabolitlerdir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

Kanatlı yemlerindeki mikrobiyal faaliyetler nedeniyle oluşan küf ve mantar kontaminasyonları, yemin kalitatif ve kantitatif kalitesini belirleyen en önemli konulardan biridir. Mikrobiyal kontaminasyon, kuru madde ve besin maddelerinin azaltılması, küflü veya ekşi kokulara neden olması ve yemlerin topaklanması gibi sayısız yolla da yem kalitesini olumsuz yönde etkilenebilmektedir (Torlak ve ark. 2016). Yem ve gıdaların yüzeylerinde veya tamamına kontamine olan mikroorganizmalar, ürünlerin besin kalitesini bozar ve ayrıca insan ve hayvan sağlığı için tehlikeli olan metabolitler (mikotoksinler) üretir. Bunların kanserojen ve immünosüpresif özellikler gösterdiği ve hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli fizyolojik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir (Rawal ve ark. 2010).

Kanatlı hayvanların mikotoksinlere maruz bırakılması, öncelikle kontamine mısır, tahıl veya diğer yem bileşenlerinin tüketilmesi ile oluşur. Biyolojik ve kimyasal koruma, yemin işlenmesi ve depolamadaki koruyucu önlemlere rağmen, mikotoksin kontaminasyonu yemdeki varlığını devam ettirerek, yem endüstrisi için hala ciddi bir sorun olmaya ve yem tedarik güvenliği için süregelen bir risk oluşturmaya devam etmektedir (Rawal ve ark. 2010).

Yemlerde mikotoksinleri etkisiz hale getirmek ve mantar kontaminasyonunu ortadan kaldırmadaki etkinlikleri ile bağlantılı olarak çeşitli kimyasal işlemler incelenmiştir. Bununla birlikte, kullanılan bu kimyasalların çoğu, toksik kalıntı bırakmalarının yanı sıra kanserojen özelliklere sahiptir (Hamil 2017).

Ozon, mantar büyümesini kontrol etmek ve mikotoksin bulaşmasını azaltmak için etkili bir şekilde kullanılabilir (Çizelge 2.10). Oksitleyici bir madde olan ozon,

terminal furan halkasında 8-9 uncu karbon atomları arasındaki çift bağda elektrofilik bir etkiyle açılma meydana getirir. Ozonun mikroorganizmalar üzerindeki etki mekanizması hücre duvarlarının oksitlenmesi yoluyla öldürülmesinden kaynaklanmaktadır (Samarajewa ve ark. 1989, Kaya ve Yarsan 1995).

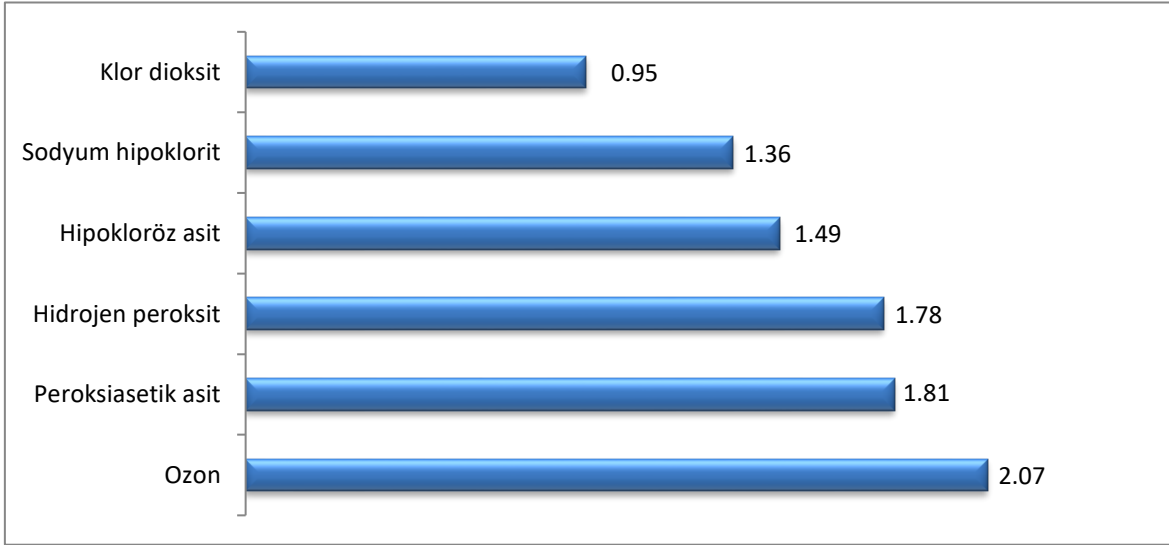
Çizelge 2.10. Çeşitli gıda ürünlerinde ozon uygulamaları (Karaca 2010)

Gıda Türü	Mikotoksin	Ozon Uygulaması	Sonuçlar
Kuru incir	Aflatoksin B ₁	13,8 ppm gaz ozon uygulandı.	Toksin seviyesinde %90 oranında yıkım sağlandı.
Elma suyu	Patulin	Gaz ozon uygulandı.	Patulin tamamen yok edildi.
Kırmızıbiber	Aflatoksin B ₁	Farklı seviyelerde gaz ozon uygulandı.	30 ppm ozon ile %80, 66ppm ozon ile %93 oranında yıkım sağlandı.
Antep fıstığı	Aflatoksin	5-9 ppm ozon 140 veya 420 dakika uygulandı.	9 ppm 420 dakika uygulamasında toksin seviyelerinde %5-24 arası yıkım sağlandı.
Mısır	Aflatoksin	Gaz ozon uygulandı.	Aflatoksin seviyeleri %92 oranda azaldı.
Buğday	<i>Fusarium, Aspergillus ve Penicillium</i> kaynaklı mikotoksinler	1,4 g / m ³ gaz ozon uygulandı.	Küf ve mikotoksin sayılarında düşüş gözlemlendi.

Ozonun, aflatoksin, patulin, siklopiazonik asit, sekalonik asit D, okratoksin A ve Zen gibi yaygın olarak ortaya çıkan mikotoksinlerin detoksifikasyonunda ve parçalanmasında etkili olduğu bildirilmektedir (Lemke ve ark. 1999).

Ozon, potansiyel oksitleyici kapasitesi nedeniyle güçlü ve çevre dostu bir antimikrobiyal ajandır (Çizelge 2.11). Geniş mikrobiyal inaktivasyon spektrumunun yanı sıra, mikotoksinleri bozma potansiyeline sahiptir. Ozonun depolanması, özel muamele veya karıştırma ile ilgili hususları gerektirmemesi nedeniyle, diğer kimyasal dezenfektanlarla karşılaştırıldığında avantajlı olarak görülebilir. Tarımsal ürünlerin dekontaminasyonu için uygundur, çünkü hızla oksijene ayrışır ve dolayısıyla istenmeyen yan ürünler veya artıklar bırakmaz.

Çizelge 2.11. Oksidasyon potansiyeli- Elektron voltajları (Hamil 2017)



Gazlı veya sulu formdaki ozonun, doğal mikroflora seviyelerinin yanı sıra, *Bacillus*, *Coliform* bakterileri, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Aspergillus* ve *Penicillium* sporları dahil olmak üzere tahıl ve kanatlı yemlerinde bakteri, mantar ve küf kontaminasyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Naito ve Takahara 2006). Ozonla muamele edilmiş *Bacillus* sporlarının, ozonun dış spor bileşenini (spor kabuk katmanı spor hacminin yaklaşık % 50'sini içerir) parçalayarak etkisiz hale getirdiğini, böylece korteksin ve çekirdeğin ozon etkisine maruz kaldığı transmisyon elektron mikroskobu ile görülmektedir (Foegeding 1985).

Ozon, 100 °C' de, 2 saat süreyle, %22 rutubet içeren pamuk tohumlarında, Aflatoksin B₁'i %91 oranında yıkımlarken, %30 rutubet içeren yer fıstıklarında 1 saat süreyle ozonun etkisine maruz bırakılma sonucu %78'lik bir yıkımlama sağlamıştır (Kaya ve Yarsan 1995). Dolayısıyla ozonun etkinliğinde ortamın nem içeriği oldukça önemlidir ve bu konuyla ilgili birçok çalışma mevcuttur. Bu konu nemli ortamdaki mikrobiyal varlığın daha fazla olmasıyla açıklanabilir. Örneğin, Raila ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, %15,2 nem içeriğine sahip bir buğday tanesinin kuru buğday tanesine göre mantar kontaminasyonu oranı 2,2 kat, %22 oranda nem içeriğine sahip buğday tanesinin ise 3 kat oranında fazla olduğu tespit edilmiştir.

Ozonun etkinliği ayrıca, ortamın sıcaklık, pH, yemin kimyasal ve fiziksel bileşimine bağlı olmakla birlikte ozonun dozu ve uygulama süresi de mikrobiyal detoksifikasyonunda

oldukça önemlidir. Çizelge 2.12’de ozon uygulamasının tahıl ve gıdalarda bulunan mikotoksin ve küfler üzerine etkileri çalışılmıştır.

Çizelge 2.12. Ozon uygulamasının mikotoksin ve küfler üzerine etkileri (Tiwari ve ark. 2010)

Ürün veya tahıl	Mikotoksin	Uygulama koşulları	Yıkımlama
Fıstık unu	Aflatoksin	25 mg ozon/dk	AFB ₁ ve G ₁ : %100, AFB ₂ : %78 oranında yıkımlandı.
Mısır	Aflatoksin	92 saat boyunca 200 mg/dk ozon uygulaması	AFB ₁ %95 oranında yıkımlandı.
Mısır	<i>Aspergillus parasiticus</i>	3 gün boyunca 50 ppm ozon uygulaması	%63 oranında küf sporlarında yıkımlanma sağlandı.
Buğday	<i>Deoxynivalenol</i>	1 saat boyunca ozon uygulaması	%70 oranında yıkımlanma sağlandı.
Arpa	<i>Fusarium</i>	15 dakika boyunca 11 ve 26 mg/g gaz ozon uygulaması	<i>Fusarium</i> kolonisinde %24-36 oranında azalma sağlandı.
Soğan	<i>Aspergillus niger</i>	Gaz ozon uygulaması	Spor çimlenmesinde azalma görüldü, koloni rengi ve üniformitesi değişti.

2.5.2. Ozonun antimikrobiyal etkileri ve bakteri hücre yapısına etkisi

Patojenler kişiden kişiye yayılan ve çeşitli hastalıklara neden olabilen bakterilerdir. Patojenler birçok farklı yolla bulaşırken, enfeksiyon genellikle gıdada bulunan bakterilerin bir

sonucu olarak ortaya çıkar. Gıda kaynaklı hastalıklar ABD'de her yıl tahmini 48 milyon enfeksiyona ve 3.000 ölüme neden olmaktadır (Ağma Okur ve ark. 2018).

Hayvan veya insan sağlığı için patojenik bakteriler çeşitli yollarla yemi kirlettiklerinde, hızlı bir şekilde çoğalarak hastalık oluşumu için potansiyel ortamı oluşturmakta, bu konu üretici ve tüketiciler için büyük endişe yaratmaktadır (Crump ve ark. 2002).

Ozon, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* gibi gram negatif ve gram pozitif patojen bakterilerin büyümesini engelleyerek, ölümlerine neden olmaktadır.

J.C. Morris, ozonun dezenfektan olarak etkinliğini göstermek için ölümcüllük katsayısı geliştirmiştir ve diğer dezenfektanlar ile birlikte bir kıyaslama yapmıştır. Çalışmasına göre bu katsayı, mikroorganizmaların %99'u nu yok etmek için gereken süreyi belirler ve katsayı ne kadar yüksek ise dezenfektanın gücü de o kadar yüksek olmaktadır. Enterik bakteriler için (Toplam bakteri, *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*) ozonun ölümcüllük katsayısı 500 iken, klorin sadece 20 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2.13). Çalışmada diğer alternatif dezenfektanların katsayıları, daha da düşük değerde tespit edilmiştir. Bu, ozonun alternatiflerine göre daha kısa zaman ve daha büyük oranda mikroorganizma yok edebileceğini göstermektedir (Ağma Okur ve ark. 2018).

Çizelge 2.13. Önemli dezenfektanların zararlılara karşı yıkımlama katsayıları, mg-dk./L. (Hamil 2017)

Dezenfektan	Enterobakter	Virüs	Bakteri sporları	Ampi kistler
O ₃ (Ozon)	500	5	2	0,5
HOCl (Hipoklorik asit)	20	1 ve üstü	0,05	0,05
OCl ⁻ (Hipoklorit iyonu)	0,2	< 0,02	< 0,0005	0,0005
NH ₂ Cl (Kloramin)	0,1	0,005	0,001	0,02

Çizelge 2.14. 5°C de mikroorganizmaların tamamını inaktive etmek için gereken Ct* değerleri mg-dk./L (Hamil 2017)

Dezenfektan				
Mikroorganizmalar	Serbest Klor (pH 6 ila 7)	Kloramin (pH 8 ila 9)	Klorür Dioksit (pH 6 ila 7)	Ozon (pH 6 ila 7)
<i>E. coli</i>	0,034-0,05	95-180	0,4-0,75	0,02
<i>Polio 1</i>	1,1-2,5	770-3740	0,2-6,7	0,1-0,2
<i>Rotavirüs</i>	0,01-0,05	3810-6480	0,2-2,1	0,006-0,06
<i>Faj f2</i>	0,08-0,18	--	--	--
<i>G. lamblia</i> kistleri	47->150	--	--	0,5-0,6
<i>G. muris</i> kistleri	30-630	1400	7,2-18,5	1,8-2,0

* Ct: Çözünmüş dezenfektan konsantrasyonu

Ozonun farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkileri klor ile karşılaştırılmış ve ozonun *E. coli*' yi klor ve klor ürünlerine kıyasla çok daha üstün seviyede ve hızlı yok edebildiği tespit edilmiştir (Çizelge 2.14). Ozonun bakteri hücre zarları üzerindeki etkinliği de klorin ile karşılaştırıldığında aynı üstünlüğü koruduğu tespit edilmiştir (Singh ve ark. 2002). Ozon, mikroorganizmaları temel olarak hücre parçalanması yoluyla etkisizleştirdiğinden, bu mikroorganizmalar, diğer kimyasal dezenfektanlarda olduğu gibi ozona karşı dirençli hale gelememektedir (Cho ve ark. 2010).

Prabakaran ve ark. (2012), yaptığı bir çalışmada ozon, patojenik bakteriler üzerine 5, 10, 15 dakika sürelerle uygulanmış ve her uygulamadan sonra kültür sayımları yapılmıştır. Muamele edilen bakteri türleri arasında *E. coli*, ozon muamelesine karşı ve diğer bakteri suşları ile karşılaştırıldığında yüksek hassasiyet göstermiştir.

Çizelge 2.15. Mikroorganizmalar üzerinde ozon uygulamasının etkileri (Prabakaran ve ark. 2012)

Mikroorganizma	Ozon uygulaması öncesi	Ozon uygulaması sonrası		
	Kontrol	5 dakika	10 dakika	15 dakika
<i>E. coli</i>	0,811	0,5	0,21	0,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,219	0,178	0,086	0,045
<i>Salmonella typhi</i>	0,290	0,261	0,245	0,221
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,256	0,254	0,235	0,220

Ozon gazının bakteri ve virüs bulaşmalarını kontrol etmek için son derece etkili olduğu gözlemlenmektedir. Özellikle *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* gibi hayvana ve insana zarar verebilecek patojen bakterilerin ozon gazına oldukça duyarlı olduğu Çizelge 2.15'te görülmüştür. Doğrudan sayım yönteminin kullanılması, dezenfeksiyondan sonra bakteriyel hücrelerin, belirli bir aktivite derecesini muhafaza etmelerine rağmen kültür ortamında çoğalma yeteneklerini yitirdiğini ortaya koymaktadır (Desmont ve ark. 1990).

2.5.3. Ozonun yem ve hammaddelerde bulunan haşerelere etkisi

Depolanan bitkisel kaynaklı ürünlerdeki böcek zararlılarının kontrolü, çoğu türde pestisit direncinin gelişmesi nedeniyle giderek zorlaşmaktadır. Ayrıca, depolanan ürünlerin korunması için pestisitlerin kullanımı azalmaktadır. Bunun sebepleri ise; çevre, güvenlik kaygıları ve tüketicilerin gıda tüketimi konusunda bilinçlenmesiyle artık kimyasal içermeyen gıdalara olan talebin artmasıdır. Sınırlı kontrol seçenekleri ve böcek ilaçlarına karşı direnç potansiyeli düşünüldüğünde, depolanan ürünlerdeki böceklerin imhası için ek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Doğal alternatif çözüm sağlayabilecek olan ozonun, ürünlerin depolanmasında zararlı olan çeşitli haşere zararlılarına karşı etkili olduğu yapılan araştırmalarda kanıtlanmıştır (Isikber ve Athanassiou 2015).

Ozonun depolanmış ürünlerde etkinliği ile ilgili yapılmış birkaç çalışmada, çeşitli dozlarda uygulanmasından sonra önemli seviyede böcek, haşere ve bit gibi zararlıları (kırmızı un böceği, un güvesi, mısır bitleri) etkisiz hale getirdiği ortaya konmuştur (Isikber ve Athanassiou 2015).

Ozon, çeşitli böcek zararlılarına karşı uygun bir biyo-fumigant olarak kullanılabilir ve geleneksel böcek ilaçlarına karşı etkili bir alternatif olmaktadır (Isikber ve Athanassiou 2015).

2.5.4. Ozonun yemin besin madde kompozisyonu üzerine etkisi

Etlik piliç rasyonları, hayvanların üretim süresi boyunca ihtiyaçlarını karşılamak üzere dengeli olarak yapılmaktadır. Bu üretim süresinde hayvanlar yaygın olarak başlatma, büyütme ve bitirme rasyonları ile beslenmektedirler (Saleh ve ark. 1997). Farklı besin madde içeriklerine sahip olma özelliği gösteren bu rasyonlar, protein, yağ ve karbonhidratça zengin içeriklere sahiptirler. Ozonun hızlı oksitleme gücünün, yemde bulunan protein, yağ ve karbonhidrat gibi yapılara etkisi aşağıdaki gibi bazı çalışmalarda incelenmiştir.

Ozon tahıl nişastasının hidroksil grubunu, karbonil ve karboksil gruplarına oksitleyebilmektedir. Bu oksidasyon, oluşan reaksiyon koşullarına bağlı olarak nişasta moleküllerinin çapraz bağlanmasına veya bozulmasına neden olabilmektedir (Zhu 2018).

Tahıl proteinlerinde yapılan çalışmalarda düşük dozda ozonun, protein yapısına herhangi bir olumsuz etki göstermediği tespit edilmiştir (Wang ve ark. 2016).

Kells ve ark. (2001), ozonun; doymamış yağ molekülleri ile bir araya geldiğinde, kendisini oluşturan oksijen atomlarını, temas ettiği yağ asitlerinin çift bağlarına aktararak yağ moleküllerini okside etmeye başladığını ve ardından yağ asitlerinin parçalanmalarıyla ortaya yeni ürünlerin (lipit oksidasyon ürünleri) oluştuğunu belirtmişlerdir. Bunun aksine başka bir çalışmada, yüksek ozon konsantrasyonunun soya fasulyesinin, buğdayın ve mısırın yağ asitleri ve aminoasit kompozisyonlarına, buğday ve mısırın öğütme karakteristiklerine ve buğdayın pişme karakteristiğine olumsuz bir etkisi olmadığı belirtilmiştir (Çatal ve İbanoğlu 2010).

Ozon gibi gaz halindeki antimikrobisidallerin, yem matrislerinin bileşimlerini, sulu çözeltilerine kıyasla değiştirme olasılıkları daha düşüktür ve basit, kuru, tahribatsız uygulama avantajlarına sahip oldukları belirtilmiştir (Yıldız ve Yangılar 2014).

Dubois ve ark. (2006) ozon gazı işleme tabi tutulan buğday çekirdeğindeki lipid içeriğinin etkilenmediğini tespit etmişlerdir. Benzer sonuçlar, Wang ve ark. (2016), tarafından yapılan çalışmada bulunmuş, buğday tanelerindeki (350 g) lipid peroksidasyon profilinin ozon gazı işleminden (60 µmol/mol, 3 saat) etkilenmediğini gözlemlemişlerdir. Buna karşılık

Sandhu ve ark. (2011), buğday ununa ozon gazı uygulamasının (1500 ppm, 45 dakika) lipitleri oksitlediğini gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise Qi ve ark. (2016), ozon uygulamasının, mısırdaki lipitlerin asit değerini %40 arttırdığını bulmuş, Obadi ve ark. (2018) ise, ozon gazının (5 g/saat, 45 dakika), buğday ununun yağında palmitik asit (C16:0) içeriğini artırırken, linoleik asidi (C18:2) oksitlediğini göstermiştir. Ozon uygulaması, asitlerin değerini ve lipaz aktivitesini düşürürken, lipidlerin peroksit değerini ise arttırdığı saptanmıştır.

Buğdaydaki lipidlerin, tahılın yapısı gereği, un formuna göre daha iyi korunduğu ve mısırdaki lipitlerin, ozon uygulamasından, buğdaydakilere göre daha duyarlı olduğu yapılan çalışmalar tarafından görülmektedir. Bu etki muhtemelen matris etkisinden kaynaklanıyor olabilir (Zhu 2018).

Ozonun, tahıl veya yem hammaddelerinin besin değerlerine olan olumlu ve olumsuz etkileri farklı çalışmalar ile gösterilmiş ve etkileri tüm yönleriyle anlaşılamamıştır.

2.6. Ozonun Toksisitesi ve Sınırları

Ozonun yüksek konsantrasyonlarda uzun süre kullanılması halinde maruz kalan canlıya zarar verebildiği belirtilmektedir (Xu 1999). Köpeklerde yapılan bir çalışmada 1-2 saat süreyle 0,65 ppm düzeyinde ozona maruz bırakılma sonucu köpeklerin solunum hızının arttığı, farelerde ise uzun süre maruz kalma sonucu akciğerlerinin şiştiği gözlemlenmiştir (Ekici ve ark. 2006).

Endüstrilerde ozonla temas edebilecek kişileri izlemek ve herhangi bir sağlık problemi olup olmadığını tespit etmek önemlidir. İnsanlarda, ozon öncelikle solunum yollarını etkilemektedir. Ozon toksisitesinin başlıca belirtileri; baş dönmesi, göz ve boğazda yanma hissi, keskin bir tat, koku ve öksürük şeklinde olabilmektedir. Kronik toksisite semptomları ise; zayıflığa, hafızanın azalmasına, bronşit prevalansının artmasına ve kas uyarımının

artmasına neden olabilmektedir (Hoof 1982). Ozon uygulamasının devamlı yapıldığı iş yerlerinde, çalışanlar için uzun süre ozona maruz kalınabilecek eşik değeri 0,11 ppm 8 saat/gün olarak belirtilmektedir (Ekici ve ark. 2006).

Schwean-Lardner ve ark. (2009) tarafından yapılmış çalışmada, etlik piliçler üzerine kümes ortamında gaz ozon uygulanmış, kümes içi atmosfere verilen 0,03 ppm ozon gazının büyüme hızını yavaşlattığı ve ölüm oranını arttırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada etlik piliçlerin atmosferine ozon eklenmesinin hayvanların dolaşım sisteminde bir soruna neden olduğu, kalp ile ilişkili hastalıkların arttığı gözlemlenmiştir.

Ozonun, piyasada kullanılan diğer kimyasal gazlardan daha güvenli olmasının nedenleri şöyle sıralanabilir (Ekici ve ark. 2006);

- Oksidasyon potansiyeli çok yüksek olduğundan, düşük konsantrasyonlarda kullanılır ve temas süresi azalır.
- Yarılanma ömrü daha kısadır.
- Keskin bir kokuya sahip olmasından dolayı düşük konsantrasyonlarda bile koku fark edilip, önlem alınabilir.
- Ozon uygulanmasının ardından tamamen güvenli olan oksijene parçalanmaktadır. Yağ dokusunda birikmemekte ve herhangi bir kanserojen özelliği bulunmamaktadır. (Xu 1999)

İyi üretim uygulamaları (GMP) kapsamında işletilen ozon sistemleri çalışanlar için oldukça güvenlidir. Sistemler, feci bir ekipman arızası meydana gelmesi ve ozon konsantrasyonu güvenli maruz kalma sınırlarını aşması durumunda, bölgedekileri uyarmak için ortam ozon seviyesini tespit eden monitörlerle denetlenmektedir. Bu monitörler ayrıca sisteme onarım yapılmadan önce ozon gazının daha fazla sızmasını önlemek için ozon jeneratörüne giden gücü keseceklerdir. Ozon güçlü bir oksitleyici olduğundan, uzun süre ozon maruziyetine dayanabilecek uyumlu (paslanmaz çelik, alüminyum, cam, boyalı beton) malzemelerin kullanılması önerilmektedir (Hamil 2017).

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Yem Materyali

Araştırmada yem materyali olarak ticari bir firmadan alınan etlik piliç yemleri kullanılmıştır. Söz konusu yemler soya ve mısıra dayalı olup, etlik piliçlerin ihtiyaçlarına bağlı olarak üç farklı döneme uygun şekilde (Başlatma, Büyütme ve Bitirme) besin madde içeriklerine sahiptirler (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. a) Başlatma, b) Büyütme, c) Bitirme yemleri

Yemlere oda sıcaklığı (22°C; %46 nisbi nem) koşullarında 2 farklı doz (0,9 g/saat ve 5,6 g/saat) ve iki farklı süre (15 ve 30 dakika) ozon uygulaması yapılmıştır (Çizelge 3.1). Buna ilaveten, *Aspergillus niger* bulaştırılmış, fakat ozon uygulaması yapılmamış yemlerin de mikrobiyolojik ve besin madde analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Başlatma, büyütme ve bitirme yemleri için deneme planı

Yemler	doz	süre
Başlatma 0	başlangıç materyali	küf bulaştırılmamış, ozon uygulanmamış
Başlatma 1	5,6 gr/h	15 dakika
Başlatma 2	5,6 gr/h	30 dakika
Başlatma 3	0,9 gr/h	15 dakika
Başlatma 4	0,9 gr/h	30 dakika
Başlatma 5	0	küf bulaştırılmış, ozon uygulanmamış
Büyütme 0	başlangıç materyali	küf bulaştırılmamış, ozon uygulanmamış
Büyütme 1	5,6 gr/h	15 dakika
Büyütme 2	5,6 gr/h	30 dakika
Büyütme 3	0,9 gr/h	15 dakika
Büyütme 4	0,9 gr/h	30 dakika
Büyütme 5	0	küf bulaştırılmış, ozon uygulanmamış
Bitirme 0	başlangıç materyali	küf bulaştırılmamış, ozon uygulanmamış
Bitirme 1	5,6 gr/h	15 dakika
Bitirme 2	5,6 gr/h	30 dakika
Bitirme 3	0,9 gr/h	15 dakika
Bitirme 4	0,9 gr/h	30 dakika
Bitirme 5	0	küf bulaştırılmış, ozon uygulanmamış

Küf bulaştırılmamış başlangıç yemi materyaline küf-maya analizi yapılmış ve çizelgedeki değerler bulunmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2.Başlangıç yemlerindeki küf-maya sayıları

Küf Bulaştırılmamış Başlangıç Materyali	Küf-Maya (\log_{10} kob/g)
Başlatma	4,08
Büyütme	4,08
Bitirme	3,77

3.1.1. Küf süspansiyonunun hazırlanması

Araştırmada kullanılan küf (*Aspergillus niger*) suşu çalışma süresince ayda bir yatık DRBC (Dichloran-rose bengal chloramphenical, 1.00466.0500– Merck, Almanya)

besiyerinde yenilerek +4°C'de muhafaza edilmiştir. Püskürtme şişesi içerisine konulacak olan küf süspansiyonu için taze olarak yatık DRBC besiyerine ekimi yapılan kültürler 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde yatık agarda gelişen kültürlerin üzerine 10 mL %0,01 (v/v)'lik Tween 80 (Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monooleate, Merck, Almanya) ihtiva eden steril serum fizyolojik ilave edilerek, 1 dk boyunca tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin ardından içerilerinde 240 mL steril serum fizyolojik bulunan iki adet püskürtme şişesinin içerisine küf süspansiyonu dökülerek inokülasyon süspansiyonları elde edilmiştir. İnokülasyon süspansiyonlarının yükü DRBC ortamında yüzeye ekim yapılarak tespit edilmiştir.

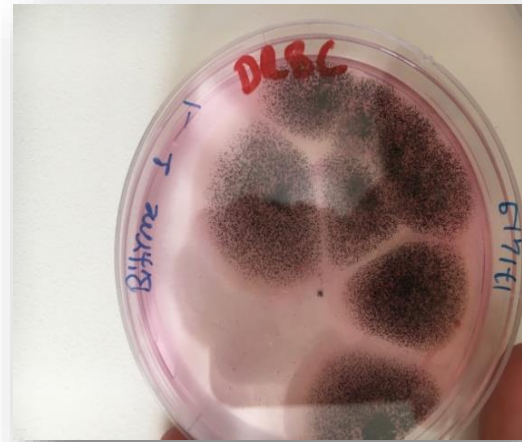
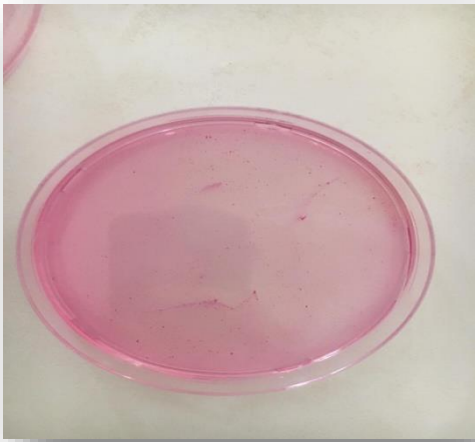
3.1.2. Püskürtme işlemi

Yemlerin üzerine yapılacak olan püskürtme işleminin homojen ve tekrarlanabilir olması için bir düzenek kurulmuştur. Ozon uygulaması öncesi, örnekler 200'er gram olacak şekilde tartılmış, mikotoksin üreten bir küf çeşidi olan *Aspergillus niger* spreyleme yöntemi ile bu yemlere bulaştırılmıştır (Şekil 3.2). Çapı 14,5 cm olan silindir şeklindeki galvaniz boru içerisine 50 gram yem örneği steril yağlı kağıtlar üzerine koyulup, 13,5 cm mesafeden spreyleme yöntemi ile küf bulaştırması yapılmış, steril poşetlere aktarılmıştır. Silindir şeklindeki galvaniz boru hem püskürtme sırasında etrafa küf-maya süspansiyonunun saçılmasını engellemiş hem de her defasında aynı yükseklikten püskürtme işleminin yapılmasını sağlamıştır.



Şekil 3.2.Küf spreyleme işlemi

Küfle muamele edilen örnekler küfün homojen dağılması için iyi bir şekilde karıştırılmış, steril poşetlere alınmış ve ozon uygulaması öncesi ekimleri yapılmıştır. Uygulama öncesi ve sonrasında yem örneklerinde maya ve küf sayımı için Dichloran-rose bengal chloramphenical (DRBC) agar kullanılmış (Şekil 3.3), 5 gün 25°C de inkübatörde bekletilerek sayımı yapılmıştır.



Şekil 3.3. DRBC agar ve *Aspergillus niger* gelişimine bir örnek

3.1.3. Ozon uygulaması

Küfle muamele edilen yemlere oda sıcaklığı koşullarında 2 farklı doz (0,9 g/saat ve 5,6 g/saat) ve iki farklı süre (15 ve 30 dakika) ozon uygulaması yapılmıştır. Uygulamada güç kapasiteleri ayarlanabilir olan 2 farklı ozon jeneratörü (PortoMatik 6000) kullanılmıştır (Şekil 3.4). Uygulama PCS firmasına ait Ozonmatik cihazları ile yapılmıştır (Maltepe, İstanbul).



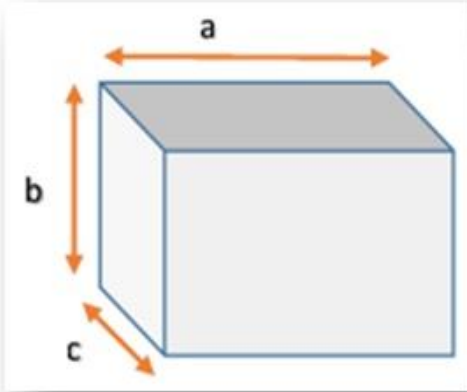
Şekil 3.4. Kullanılan ozon jeneratörleri

Ozon üretimi için gerekli olan saf oksijen, oksijen konsantratöründen elde edilmiştir. %80-90 oksijen beslemeli olan bu konsantratör (Şekil 3.5) ozon jeneratörüne bağlanmış ve bu sayede istenilen seviyelerde ozon üretimi sağlanmıştır. Geriye kalan %10-20' lik besleme, ortamdaki havadan çekilmektedir.



Şekil 3.5. Oksijen beslemeli konsantratör

Uygulama; Şekil 3.6.'da görüldüğü gibi $a= 28,7$ cm, $b=28,5$ cm, $c=13,8$ cm ölçülerinde dikdörtgen plazma kapta yapılmıştır. Uygulama esnasında herhangi bir ozon sızıntısı olmaması için kap streç film ile kapatılmış ve üzerine ağırlık konulmuştur. Ozonun okside olmasından sonra oluşan oksijen, plastik gider borusu ile dışarı atılmıştır.



Şekil 3.6. Dikdörtgen plazma kap

3.2. Yem Analizleri

3.2.1. Kuru madde analizi

Steril poşetlerden alınan yaklaşık 4-6 gram yem örnekleri darası alınmış porselen kroze içerisine konarak 105°C’ de kurutulmuştur. Kurutma işleminin sonunda yem materyali içeren krozenin tartımı yapılmıştır. Yemlerin kuru madde içerikleri aşağıdaki formül (3.1) kullanılarak belirlenmiştir (AOAC 1990).

$$\%KM = (100 - \%Nem) \quad (3.1)$$

$$\%Nem = ((C_1 - B) - (C_2 - B)) / E \times 100$$

KM: Kuru madde (%),

C1: Yem + kroze darası (g),

B: kroze darası (g),

E: Kuru madde + kroze darası (g)

Kurutma işleminden sonra yem örnekleri 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülerek, ham kül, ham protein ve ham yağ analizleri için nem almayacak şekilde naylon torba içerisinde saklanmıştır.

3.2.2. Ham kül

Boş porselen krezeler ham kül fırınında 550°C’de 2 saat bekletilmiştir ve steril hale getirilmiştir. Daha sonra desikatöre alınarak soğutulmuştur. Hassas terazide darası alınarak (B), içerisine 1 g yem (A) materyali tartılmıştır (A₁). Yem örnekleri ham kül fırınına yerleştirilmiş ve 550°C’lik fırında 8 saat boyunca yakılmıştır. Yakma işleminden sonra

desikatöre alınan krozeler soğutulmuş ve hassas terazide tartımları yapılmıştır (A_2). Gerekli hesaplamalar (3.2; 3.3) yapıldıktan sonra yem materyalinin yüzde ham kül içeriği bulunmuştur (AOAC 1990).

$$\% \text{HK} = ((A_1 - B) - (A_2 - B)) A \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.3. Ham protein

Kjeldahl yöntemine göre; yem örnekleri derişik sülfürik asit (H_2SO_4) ile yakılarak içindeki azot (N) önce amonyum sülfata sonrada amonyağa dönüştürülerek, titrasyonla amonyaktaki azot miktarına karşılık gelen ham protein miktarı hesaplanmıştır (AOAC 1990).

Kullanılan Kimyasallar:

1. %98lik azot içermeyen H_2SO_4
2. %40 lık azot içermeyen NaOH
3. %2-4 lük H_3BO_3 (borik asit)
4. Katalizör tablet (3,5 g K_2SO_4 , 0,0035 g Se)
5. İndikatör (Methylred, Bromocresol Green)
6. 0,1 N HCL

Ham protein analizi 3 bölümden oluşmaktadır. Bunlar;

- I. Yaş yakma
- II. Destilasyon
- III. Titrasyon

I. Yaş Yakma

0,4-0,7 gr yem materyali tartılarak kjeldahl tüpüne konduktan sonra tüpe 2 adet katalizör tablet ve 15 ml H_2SO_4 eklenmiştir. Tüplerden bir tanesine ise sadece numune koymadan gerekli kimyasallar konularak kör deneme yapılmıştır. Kjeldahl tüpleri işlem sonucu oluşan sıvı berraklaşınca kadar yaklaşık 90 dakika boyunca 385°C 'de yakılmıştır.

II. Destilasyon

Öncelikle erlenmayerlere 25 ml %4' lük borik asit konulmuştur. Destilasyon ünitesinin gerekli kimyasalları ve saf suyu kontrol edildikten sonra kjeldahl tüpüne 8 saniye NaOH gelecek şekilde ve Destilasyon ünitesi 350 saniye olarak ayarladıktan sonra Destilasyon ünitesi çalıştırılmıştır. Öncelikle ünitedeki hortumların gerekli kimyasallarla doldurmak için üniteye boş Kjeldahl tüpü ve erlenmayer konularak düzenek bir sefer boş olarak çalıştırılmıştır. Daha sonra yağ yakma yaptığımız tüpler önce kör denemeden başlayarak tek tek destilasyona tabi tutulmuştur. Tüp içerisindeki sıvı lavaboya boşaltılmış, erlenmayerler ise titrasyon işlemine tabi tutulmuştur.

III. Titrasyon

Destilasyon ünitesinden alınan erlenmayerler otomatik bürette HCL ile açık pembe renk alıncaya kadar reaksiyona tabi tutulmuştur. Kullanılan HCL miktarı okunarak kaydedilmiştir.

Gerekli rakamlar (HCL miktarı ve kör deme miktarı) protein analiz formülünde uygun yere yazılarak numunedeki yüzde protein oranı hesaplanmıştır (3.4).

$$\% \text{ Protein} = (T) \times (U) \times (n) \times (f_{\text{HCL}}) \times (100) / (A) \times (1000) \times (fp) \quad (3.4)$$

T: 14,007 (Azotun atom ağırlığı)

U: Kullanılan HCl (ml)

n: HCl'nin normalitesi (0,1)

f_{HCL}: 0,1 N HCl'nin faktörü

fp: Proteine çevirme faktörü (6,25)

A: Tartılan yem miktarı

3.2.4. Ham yağ

Soxhlet ekstraktor yöntemine göre; yem örneklerinden 5-8 g (A) hassas terazi de tartıldıktan sonra Soxhlet kartuşu içine konmuş ve kartuşun ağzı ekstraksiyon kısmında

numune dışarı çıkmayacak şekilde pamukla sıkıştırılmıştır. Daha sonra kartuşlar ve yağ balonları 95 °C 'de 2 saat kurutma dolabına bırakılmıştır. Kurutma dolabından alınan malzemeler desikatörde soğutulduktan sonra balonların hassas terazi de daraları alınıp (D), balonlara Soxhlet aletinin ekstraksiyon kısmı yerleştirilmiştir. Kartuşlar ise Soxhlet'in ekstraksiyon kısmına konduktan sonra ekstraksiyon kısmına bir tam birde yarım sifon olacak şekilde heksan konmuştur. Bu düzenek Soxhlet aletine yerleştirilip, soğutma ve ısıtma düzeni ayarlanarak (60 °C) düzenek çalıştırılmıştır. 4 saat sonunda ekstraksiyon kısmındaki heksan bir kaba alınarak yağ ile heksan birbirinden ayrılmıştır. İçerisinde yağ bulunan balonlar 95 °C deki kurutma dolabında 1 saat bekletildikten sonra desikatöre alınarak soğutulmuştur. Daha sonra desikatörden alınarak hassas terazi de tartımı yapılmış (A₁) sonuçların gerekli hesaplamaları yapıldıktan sonra yem materyalinin yüzde ham yağ içeriği bulunmuştur (3.5; AOAC 1990).

$$\% \text{HY} = (A_1 - D) / A \times 100 \quad (3.5)$$

3.2.5. Ham selüloz

Metodun prensibi yem maddesinin bünyesinde bulunan ham selüloz dışındaki organik maddeleri çözmek için yem maddesi arka arkaya belirli konsantrasyonlardaki sülfürik asit ve potasyum hidroksit ile kaynatılmasıdır. Süzme işleminden sonra kalması muhtemel organik kalıntılar seyreltik sülfürik asit, sodyum hidroksit, su ve asetonla yıkanır. Kalıntı kurutulur, tartılır ve yakılır. Yakma sonucunda görülen ağırlık farkı ham selüloz miktarını verir (AOAC 1990).

Analiz için 0,5-0,6 g yem örneği 250 ml'lik behere tartılmıştır. Üzerine 100 ml % 1,25'lik sülfürik asit çözeltisi eklenip ısıtılmış, kaynamaya başladıktan sonra ise 2-3 damla köpürmeyi önleyici madde (silikon, amylalkol vb.) konularak 30 dakika kaynatılmıştır. Kaynama anında hacmin sabit tutulması için beher üzerine soğutma düzeni (içerisinde soğuk su dolaşımı sağlanan 500 ml'lik dibi yuvarlak balon gibi) veya saat camı ile kapatılmıştır. Süre bitiminden sonra 10 ml %28'lik potasyum hidroksit çözeltisi eklenmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır.

Kaynatılan örnek sıcak olarak, hazırlanan cam süzgeçten filtre edilmiştir. Süzme işlemi sırasında ham selüloz parçacıkları tıkanmalara neden olabilmektedir. Bunu önlemek için vakum kesilerek kuvars kumu tabakasının üstü cam bagetle hafifçe karıştırılır.

Süzme işleminde kuvars kumu tabakasının üzerindeki kalıntı, iki defa sıcak saf su, 10 ml %1'lik sülfürik asit çözeltisi ve tekrar sıcak saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra 10 ml %1'lik sodyum hidroksit çözeltisi dökülmüş, tekrar sıcak saf su ile yıkanmış ve 10 ml %1'lik sülfürik asit çözeltisi döküldükten sonra tekrar iki defa daha sıcak saf su ile yıkanarak işleme devam edilmiş ve sonunda aseton ile yıkanarak işlem tamamlanmıştır.

Yıkama ve süzme işlemi bittikten sonra cam süzgeçteki kalıntılar 1 saat 130 °C'de otomatik kurutma dolabında kurutulmuştur. Desikatörde soğutulduktan sonra tartımı yapılmıştır (Tartım I).

Tartım II ise cam süzgecin yakma fırınına konarak 550-600 °C'de 30 dakika sabit ağırlığa gelene kadar yakılarak desikatörde soğutulup, tartılmasıyla elde edilmiştir (Yılmaz 2011).

Sonuç şu şekilde hesaplanmıştır (3.6);

$$\% \text{ Ham Selüloz} = (((\text{Tartım I} - \text{Tartım II}) / \text{Örnek (g)}) \times 100) \quad (3.6)$$

3.3. Yağ Asidi Profili

I. Metil Esterlerinin Elde Edilmesi

Yağ asitlerinin GC-FID ile tanımlanabilmeleri için, serbest yağ asidi hallerinden uçucu türevleri haline getirilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle yağ ekstraktları transesterifikasyon işlemi ile metil esterlerine çevrilir. Türevlendirme işlemi için, 100 mg yağ ekstraktı 10 ml heksanda tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında vortekslenir. Sonra çözeltinin üzerine 0,5 ml 2 N KOH (MeOH' de) ilave edilir ve 30 sn boyunca vorteks cihazı ile karıştırılır. Üst faz

berraklaşana kadar karanlıkta 1-2 saat beklenir. Bekleme sonrasında oluşan ikili fazdan; üst faz (hekzan) ayrılarak GC vialine aktarılır.

II. GC-FID Analizi

Yağ asitlerinin uçucu türevlerinin analizi, SHIMADZU 2010 Gaz Kromatografisi (GC) cihazı ile gerçekleştirilir. Analiz için Gaz kromatografisi cihazı Alev İyonizasyon Detektörü (FID) ile birlikte kullanılmıştır. Yağ asitlerinin analizinde, TR-CN 100 (0,25mmx100mx0,2mm) kapiler kolon kullanılmıştır. İnlet sıcaklığı 250 °C' ye ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak Helyum kullanılmış, akış hızı (He) 30 ml/dk olarak belirlenmiştir. Fırın sıcaklık programı 100 °C' den başlayarak 240 °C' ye 3 °C/dk hızla çıkarılmış, 10 dakika 240 °C' de bekletilmek üzere toplam 60 dakika olarak uygulanır.

3.4. Mikrobiyolojik Analizler

Küf ve maya sayımı amacıyla 10 g örnek aseptik şekilde tartılarak içerisinde 90 ml peptonlu su (% 0,1'lik peptone) bulunan stomacher torbası içine aktarılmış ve stomacherda (Seward 400) 60 s süre ile homojenize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan 10⁻¹'lik dilüsyondan diğer desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan çift paralelli olacak şekilde steril petri kaplarına bir mililitre aktarılacak üzere daha önceden eritilmiş 45-50 °C'lik su banyosunda bekletilen DRBC (Merck 1.00466) besiyerinden yaklaşık 15-20 mililitre dökülmüş ve standart karıştırma yöntemiyle karıştırılmıştır. İnoküle edilen petriyerler 25 °C'de 3-5 gün inkübe edilmiş, inkübasyon süresi sonunda örneğin gramındaki küf ve maya sayısı hesaplanmıştır (Tournas ve ark. 2001).

3.5. İstatistik Analizler

Çalışma, sürenin iki hali (15, 30 dakika) ve ozon uygulama dozunun iki hali (0,9 g/saat; 5,6 g/saat) olacak şekilde 2x2 faktöriyel deneme desenine uygun olarak planlanmıştır. Elde edilen veriler, F testi önemli çıkması halinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre

yapılmıştır (3.7). İlave olarak, bağımlı (eşleştirilmiş) gözleme göre t testi analiz de yapılmıştır. Başlatma, Büyütme ve Bitirme dönemi yemlerinin her biri kendi içinde değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistik analizleri, SPSS paket programı (2018) kullanılarak yapılmıştır.

Yapılan çalışmanın istatistik modellemesi aşağıda verilmiştir.

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + O_j + (SO)_{ij} + e_{ijk} \quad (3.7)$$

- Y_{ijk} : i. süre, j. doza göre gözlem değeri
 μ : Populasyon ortalaması
 S_i : i. sürenin etkisi
 O_j : j. ozon dozunun etkisi
 $(SO)_{ij}$: Süre x Ozon dozunun etkisi
 e_{ijk} : Hata

4. BULGULARI VE TARTIŞMA

Farklı dozlarda ve sürelerde uygulanan ozonun, yemlerin mikrobiyal yüküne etkisi aşağıda özetlenmiş ve besin madde içerikleri verilmiştir.

4.1.Ozon Uygulama Sonrası Yemlerin Besin Madde İçerikleri

Ozon uygulaması sonrası, kontrol grubu dahil olmak üzere yemlere Wende analizleri uygulanmış ve besin madde içeriklerine bakılmıştır.

4.1.1. Başlatma yeminin besin madde özellikleri

Ozon uygulaması öncesi ve sonrası başlatma yeminin besin madde içerikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Başlatma yeminin besin madde kompozisyonu

	Kuru madde	Ham kül	Ham protein	Ham yağ	Ham selüloz
Başlangıç materyali	89,03	5,60	21,98	5,99	2,83
Başlatma 1	85,76	5,46	21,51	5,51	2,48
Başlatma 2	85,43	5,34	21,26	5,46	2,47
Başlatma 3	87,59	5,60	21,33	5,58	2,97
Başlatma 4	87,07	5,56	21,58	4,72	2,42
<i>A. niger</i> +başlangıç materyali	85,68	5,24	21,85	5,91	2,34

Çizelge 4.2.' de başlatma yeminin yağ asidi profilleri verilmiştir. Buna göre ozon uygulama dozu arttıkça, yüksek karbon sayısına sahip doymamış yağ asitlerinde bir azalma

görülmüştür. Çift bağa sahip C18:n9t yağ asitinde ozon dozu ve süresine bağlı olarak bir azalma gözlenmiştir. Kells ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar bulmuş ve yağ asitlerinin ozon tarafından oksitlendiğini tespit etmişlerdir. Bunun aksine Çatal ve İbanoğlu (2010) mısır üzerine yaptıkları çalışmada, yüksek ozon dozu uygulamasının mısırın yağ asidi kompozisyonuna herhangi bir etkisinin olmadığını gözlemlemişlerdir.

Çizelge 4.2. Başlatma yemlerinin yağ asidi profilleri

Yağ asitleri	Başlatma 0	Başlatma 1	Başlatma 2	Başlatma 3	Başlatma 4
C8	1,12	0,98	-	1,35	1,93
C14	1,55	-	5,08	1,55	-
C16	37,15	34,91	38,69	39,23	42,24
C18	14,96	15,91	16,73	18,70	22,89
C18:n9t	36,81	36,17	28,79	30,24	27,58
C18:2n6c	4,84	7,35	5,50	3,55	2,70
C18:3n6	1,33	-	5,21	2,70	2,65
C20	1,01	1,12	-	1,20	-
C22	-	0,84	-	-	-
C22:6n3	-	0,77	-	-	-
C24:1	1,24	1,97	-	1,49	-

4.1.2. Büyütme yeminin besin madde özellikleri

Ozon uygulaması öncesi ve sonrası büyütme yeminin besin madde içerikleri Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Büyütme yeminin besin madde kompozisyonu

	Kuru madde	Ham kül	Ham protein	Ham yağ	Ham selüloz
Başlangıç materyali	88,93	5,11	20,82	7,26	2,69
Büyütme 1	85,00	4,79	20,13	7,06	2,77
Büyütme 2	84,74	5,28	19,93	7,28	3,01
Büyütme 3	86,20	4,80	20,16	6,87	2,52
Büyütme 4	86,02	4,78	20,13	7,11	2,93
<i>A. niger</i> +başlangıç materyali	85,01	4,67	19,12	7,20	2,95

Çizelge 4.4.' de büyütmeye yeminin yağ asidi profilleri verilmiştir. Çift bağa sahip C18:2n6c yağ asitinde yüksek ozon dozuna bağlı olarak bir azalma gözlenmiştir. Sandhu ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, ozonun buğday unundaki lipitleri oksitlediğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.4. Büyütme yemlerinin yağ asidi profilleri

Yağ asitleri	Büyütme 0	Büyütme 1	Büyütme 2	Büyütme 3	Büyütme 4
C8	-	1,61	-	1,20	1,39
C14	-	-	-	1,10	-
C16	37,32	39,70	30,16	35,21	40,71
C18	16,60	18,53	13,44	20,51	18,76
C18:n9t	38,40	35,33	45,36	34,77	32,60
C18:2n6c	5,22	2,95	7,72	4,51	2,63
C18:3n6	-	-	2,29	-	-
C20	1,16	-	1,03	1,04	1,33
C22	-	-	-	0,82	1,12
C22:6n3	-	-	-	-	-
C24:1	1,30	1,88	-	0,84	1,46

4.1.3. Bitirme yeminin besin madde özellikleri

Ozon uygulaması öncesi ve sonrası bitirme yeminin özellikleri Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Bitirme yeminin besin madde kompozisyonu

	Kuru madde	Ham kül	Ham protein	Ham yağ	Ham selüloz
Başlangıç materyali	88,06	4,25	18,99	8,81	3,08
Bitirme 1	85,73	4,16	19,11	8,44	2,59
Bitirme 2	85,35	4,05	19,17	8,58	3,39
Bitirme 3	86,03	4,02	19,12	8,19	2,93
Bitirme 4	84,91	3,91	19,22	8,79	2,37
A. niger +başlangıç materyali	85,56	4,01	18,15	8,95	3,38

Çizelge 4.6.' da bitirme yeminin yağ asidi profilleri verilmiştir. Bu sonuçlara göre, bitirme yeminde ozon uygulamasının lipid kompozisyonu üzerine belirgin bir etki gözlenmemekle beraber, C18:3n6 yağ asidi kontrol grubundan bulunurken, ozon uygulaması

yapılan gruplarda saptanmamıştır. Dubois ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada, ozon gazı işlemine tabi tutulan buğday çekirdeğindeki lipid içeriğinin etkilenmediğini bildirmişlerdir. Bunun aksine Qi ve ark. (2016), ozon uygulamasının, mısırdaki lipitlerin asit değerini %40 arttırdığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.6. Bitirme yemlerinin yağ asidi profilleri

Yağ asitleri	Bitirme 0	Bitirme 1	Bitirme 2	Bitirme 3	Bitirme 4
C8	-	-	1,15	-	-
C14	1,30	-	-	-	3,50
C16	30,86	35,48	33,23	31,67	31,86
C18	11,68	12,33	14,12	12,88	12,27
C18:n9t	38,57	44,43	38,86	40,66	39,63
C18:1n9c	-	-	-	-	1,75
C18:2n6c	11,70	7,76	6,50	10,62	8,29
C18:3n6	2,46	-	-	-	-
C20	0,92	-	1,04	-	-
C22	-	-	-	-	-
C22:6n3	-	-	1,18	1,28	-
C24:1	2,51	-	3,92	2,89	2,72

4.2. Ozonun *Aspergillus niger* ve Toplam Küf-Maya Üzerine Etkileri

❖ *Aspergillus niger* bulaştırması yapıldıktan sonra başlatma yeminin mikroorganizma sayıları Çizelge 4.7.'deki gibidir:

Çizelge 4.7. Ozon uygulaması öncesi başlatma yeminin mikroorganizma yükü

Başlatma yemi	<i>A. niger</i> (log ₁₀ kob/g)	Küf-Maya (log ₁₀ kob/g)
1	2,87	3,61
2	2,87	3,83
3	2,39	3,85
4	3,00	3,85

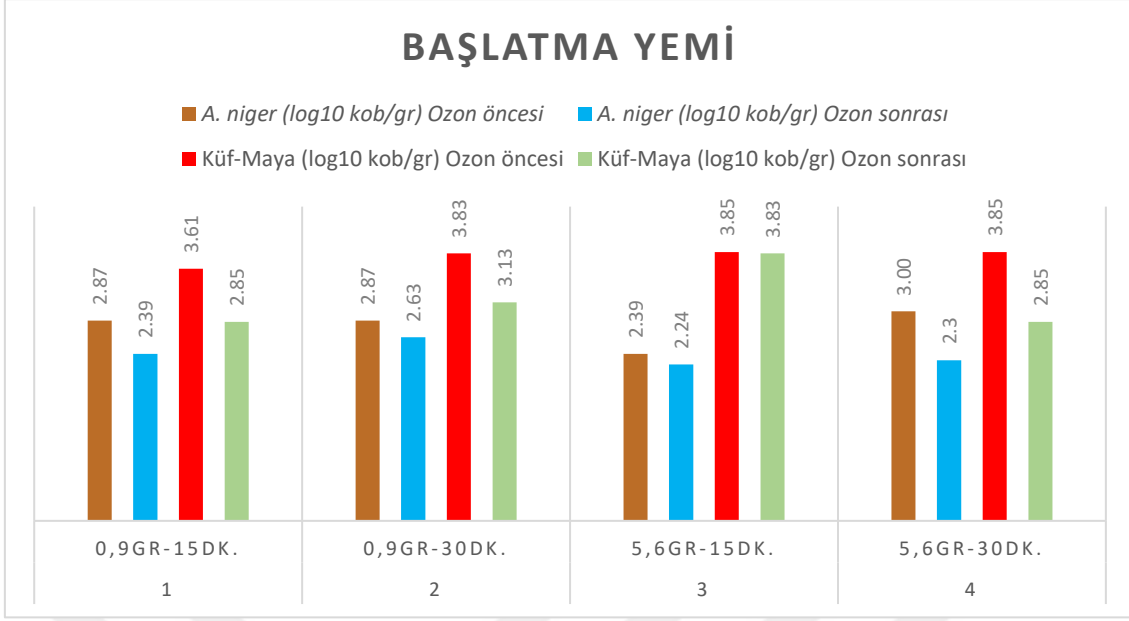
Çizelge 4.8. Başlatma yeminin ozon uygulaması sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayıları

Başlatma Yemi	Doz (gr/saat)	Süre (dk.)	<i>A. niger</i> (log ₁₀ kob/g)		Küf-Maya (log ₁₀ kob/g)	
			Ozon sonrası	Δ	Ozon sonrası	Δ
1	0,9	15	2,39bc	0,49ab	2,85c	0,76 ab
2		30	2,63a	0,24bc	3,13 b	0,69 b
3	5,6	15	2,24c	0,15 c	3,83a	0,02 c
4		30	2,30c	0,70a	2,85c	1,01a
Standart Hataların Ortalaması			0,058	0,077	0,126	0,115
P değerleri						
Doz			0,023	0,547	0,003	0,028
Süre			0,116	0,166	0,003	0,000
Doz x Süre			0,331	0,004	0,000	0,000

a-c; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak önemlidir (P<0,01).

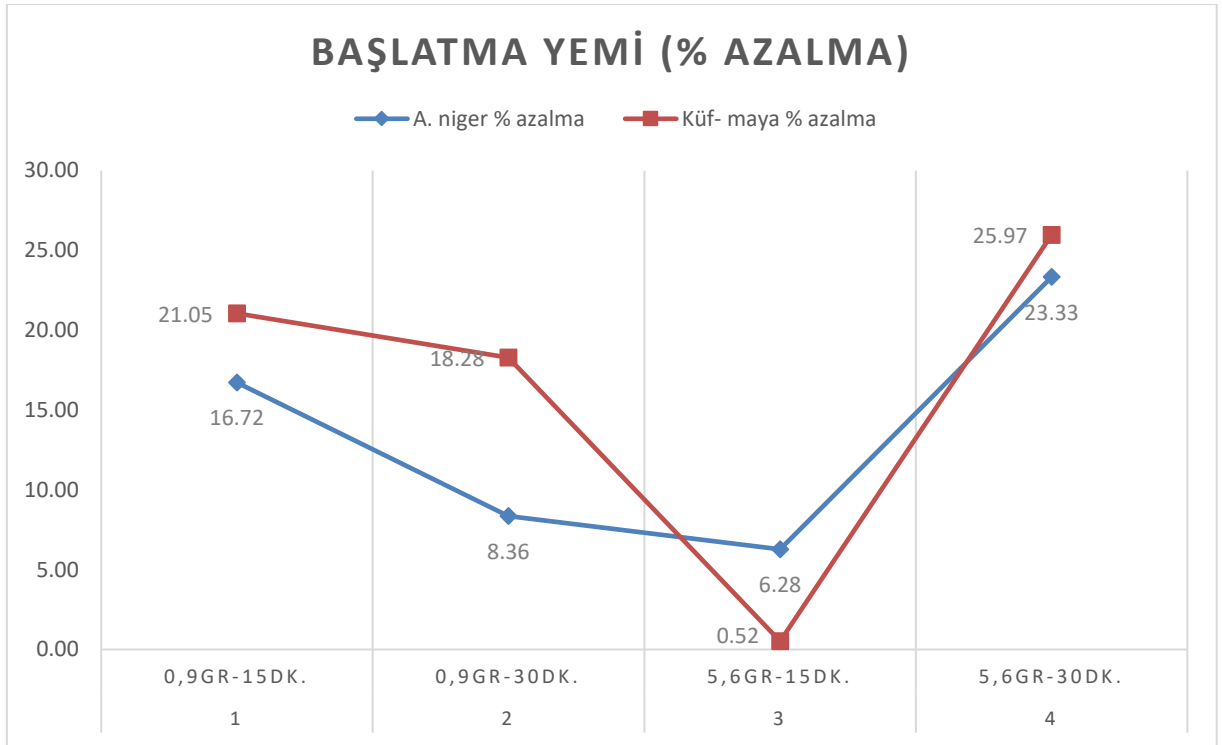
Δ= Ozon öncesi mikroorganizma yükü- Ozon sonrası mikroorganizma yükü

Çizelge 4.8'de başlatma yemine farklı doz ve sürelerde ozon uygulamasının *A. niger* ve küf sayıları üzerine etkisi ortaya konulmuştur. *A. niger* sayılarında; Ozon uygulaması öncesi ile sonrasının farkları bakımından en büyük değişim 0,70 ile ozonun 5,6 g/saat ve 30 dakika uygulandığı yemlerde görülmüştür (P<0,01). Küf-maya sayılarında da benzer (1,0) sonuç gözlenmiştir (P<0,01, Şekil 4.1). Bu sonuç, ozonun dozu ve süresi arttıkça etkinliğinin arttığını ortaya koymaktadır. Kim ve ark. (1999), peynirde yaptıkları çalışmada farklı ozon dozları ile küf sporlarında benzer bir etki gözlemlemişlerdir. Her bir yem örneğinin mikroorganizma yükü öncesinde saptandığı için, ozon uygulaması sonrası etkileri ayrı ayrı incelenebilmektedir. Ozon uygulaması sonucu yem örneklerindeki *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarında azalma görülmüştür (P<0,01). *A. niger* sayılarında ozonun dozu daha etkili bulunurken, küf-maya sayılarında doz, süre ve ikisinin interaksyonu da önemli bulunmuştur.



Şekil 4.1. Başlatma yeminin ozon uygulaması öncesi ve sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarının değişim grafiği

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi başlatma yemine 5,6 g/saat ve 30 dakika ozon uygulaması; *A. niger* sayılarında %25, toplam küf-maya sayılarında ise %23’lük bir azalmaya sebep olmuştur.



Şekil 4.2. Başlatma yeminin ozon uygulaması sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarının yüzdeler gösterimi

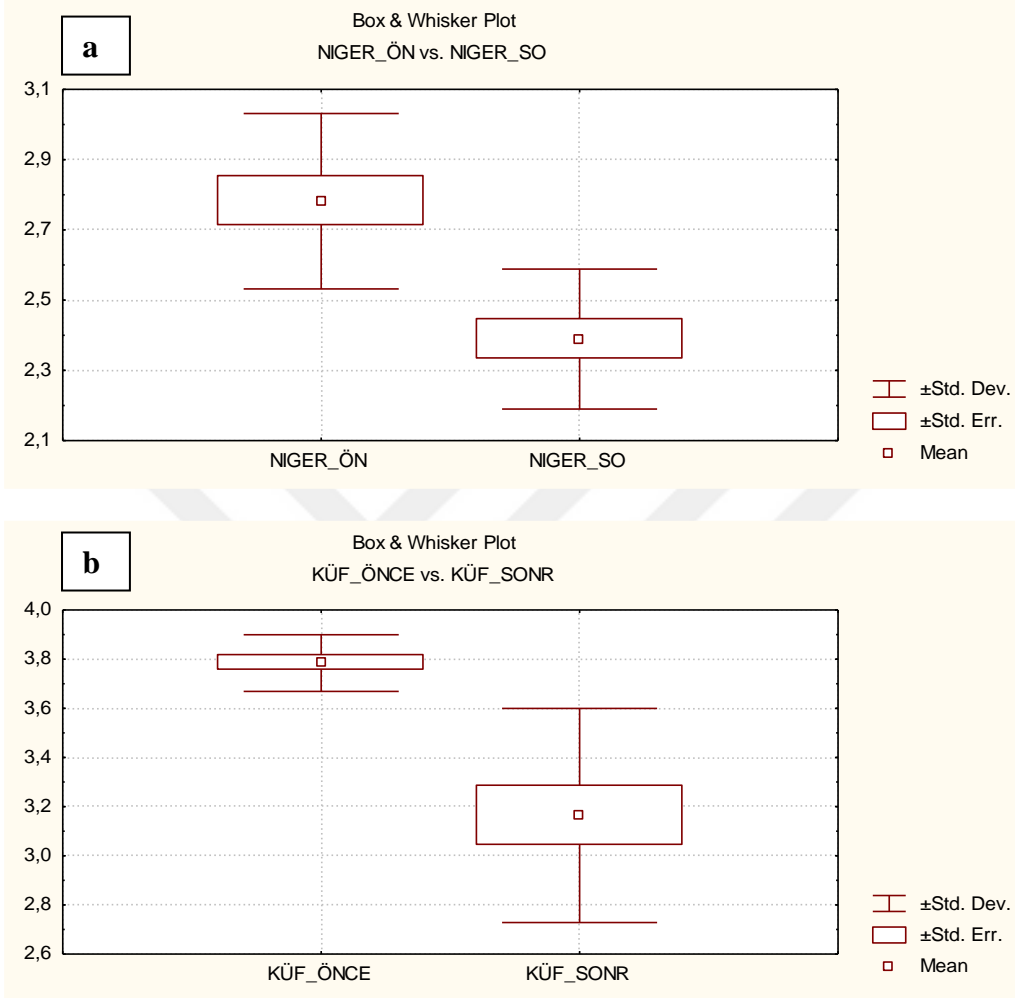
Başlatma yeminin *A. niger* ve küf-maya sayılarına t testi uygulandığında, ozon uygulaması öncesi ile saptanan farklılığın önemli olduğu görülmüştür. *A. niger* ve küf-maya için t değerleri sırasıyla 5,099 ve 5,407, p değerleri ise sırasıyla 0,001 ile 0,001 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Başlatma yeminin t testi sonuçları

Uygulama		Ortalama	Std. Sapma	N	t	P
Ozon öncesi	<i>A. niger</i>	2,782	0,250	12	5,099	0,001
Ozon sonrası	<i>A. niger</i>	2,389	0,199			
Ozon öncesi	Küf-maya	3,784	0,115	12	5,407	0,001
Ozon sonrası	Küf-maya	3,164	0,436			

Ozon uygulaması sonucunda elde edilen *A. niger* ve küf-maya yüklerinde gözlenen değişimin, t testi sonuçlarına göre oluşturulmuş “Box ve Whisker” grafikleri aşağıda verilmiştir. Şekilde; Ortalamalar, Standart hata ve standart sapmalar görülmektedir. Bununla

birlikte, aynı şekil üzerindeki Box'ların birbirine değmemesi, aradaki farklılığın önemini ortaya koymaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Başlatma yemi a) *A. niger* ve b) Küf-maya Box ve Whisker grafikleri

❖ *Aspergillus niger* bulaştırması yapıldıktan sonra büyüme yeminin mikroorganizma sayıları Çizelge 4.10.'daki gibidir:

Çizelge 4.10. Ozon uygulaması öncesi büyüme yeminin mikroorganizma yükü

Büyütme yemi	<i>A. niger</i> (log ₁₀ kob/g)	Küf-Maya (log ₁₀ kob/g)
1	2,48	3,62
2	2,96	3,86
3	2,50	3,78
4	2,50	3,70

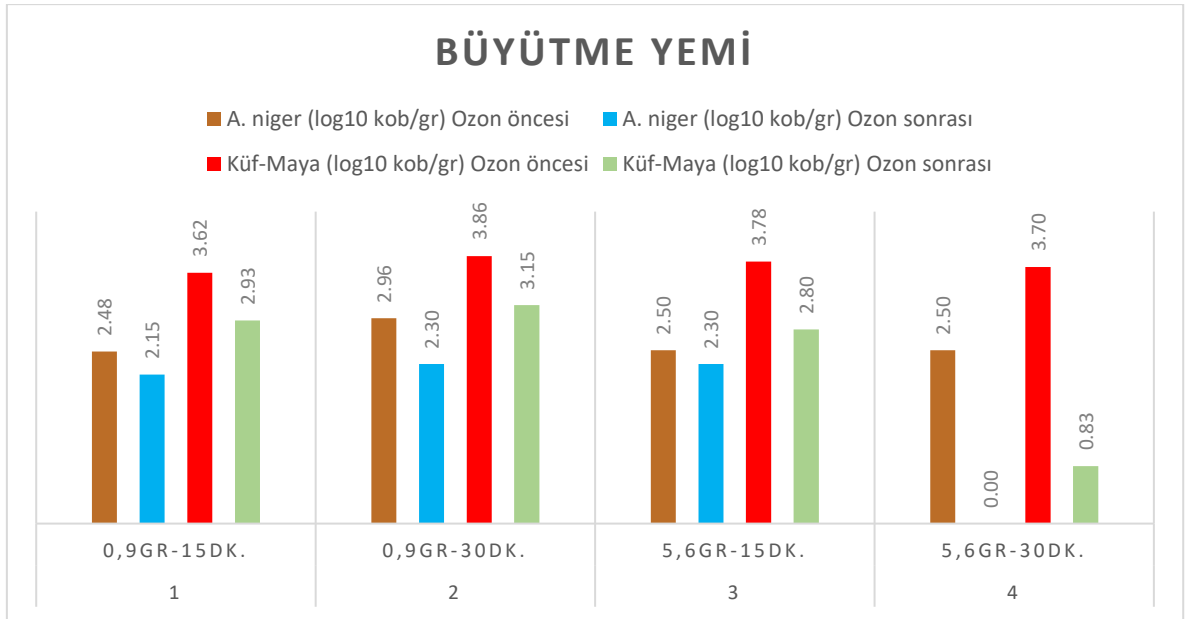
Çizelge 4.11.'de büyüme yemine farklı doz ve sürelerde ozon uygulamasının *A. niger* ve küf-maya sayıları üzerine etkisi ortaya konulmuştur. Ozon uygulaması sonucu büyüme yemi örneklerindeki *A. niger* ve küf-maya sayılarında azalma görülmüştür (P<0,01). Δ değerleri incelendiğinde, ozon uygulaması sonrası *A. niger* ve küf-maya sayılarındaki değişim daha açık bir şekilde görülebilmektedir (Şekil 4.4). Başlatma yemine benzer şekilde, büyüme yeminde de yüksek doz ve süre etkili bulunmuştur. Özellikle *A. niger*'in tamamen inhibe olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.11. Büyütme yeminin ozon uygulaması sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayıları

Büyütme Yemi	Doz (gr/saat)	Süre (dk.)	<i>A. niger</i> (log ₁₀ kob/g)		Küf-Maya (log ₁₀ kob/g)	
			Ozon sonrası	Δ	Ozon sonrası	Δ
1	0,9	15	2,15 a	0,33b	2,93a	0,70b
2		30	2,30 a	0,66 b	3,15 a	0,71 b
3	5,6	15	2,30 a	0,20b	2,80 a	0,97 b
4		30	0,00 b	2,50 a	0,83b	2,88a
Standart Hataların Ortalaması			0,300	0,286	0,334	0,323
P değerleri						
Doz			0,000	0,000	0,020	0,016
Süre			0,000	0,000	0,072	0,044
Doz x Süre			0,000	0,000	0,032	0,047

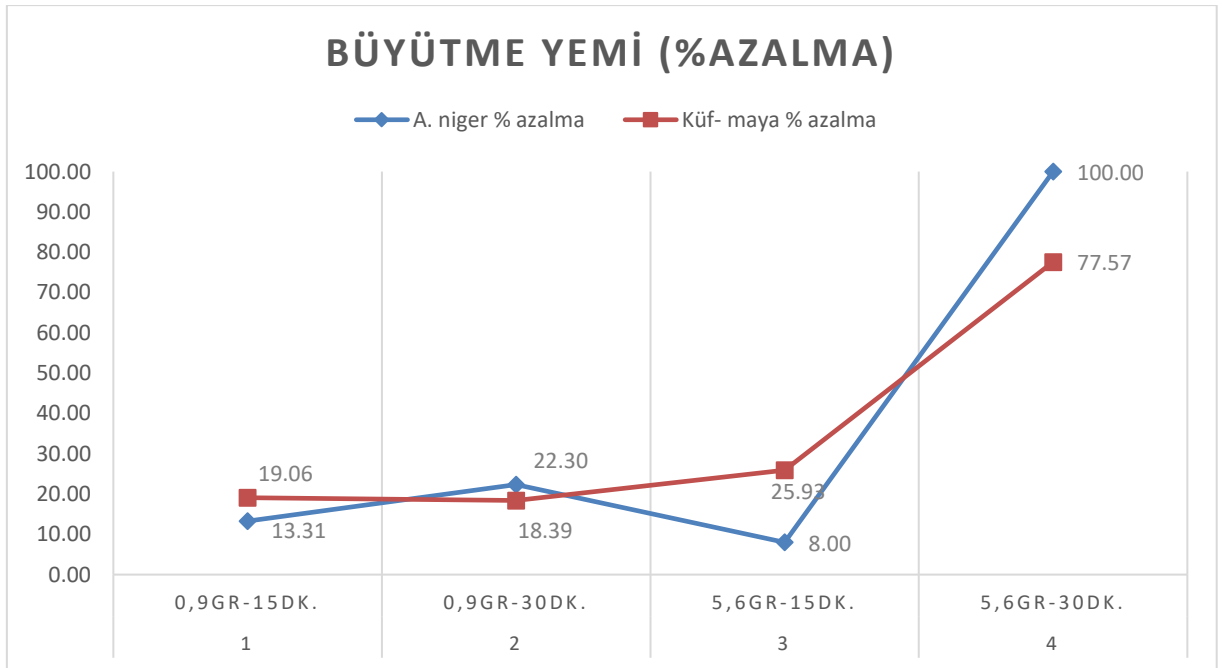
a-b; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak önemlidir (P<0,01).

Δ= Ozon öncesi mikroorganizma yükü- Ozon sonrası mikroorganizma yükü



Şekil 4.4. Büyütme yeminin ozon uygulaması öncesi ve sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarının değişim grafiği

Şekil 4.5'te görüldüğü gibi büyütme yemine 5,6 g/saat ve 30 dakika ozon uygulamasının *A. niger* sayılarında %100, toplam küf-maya sayılarında ise %77'lik bir azalma sağlanmıştır.



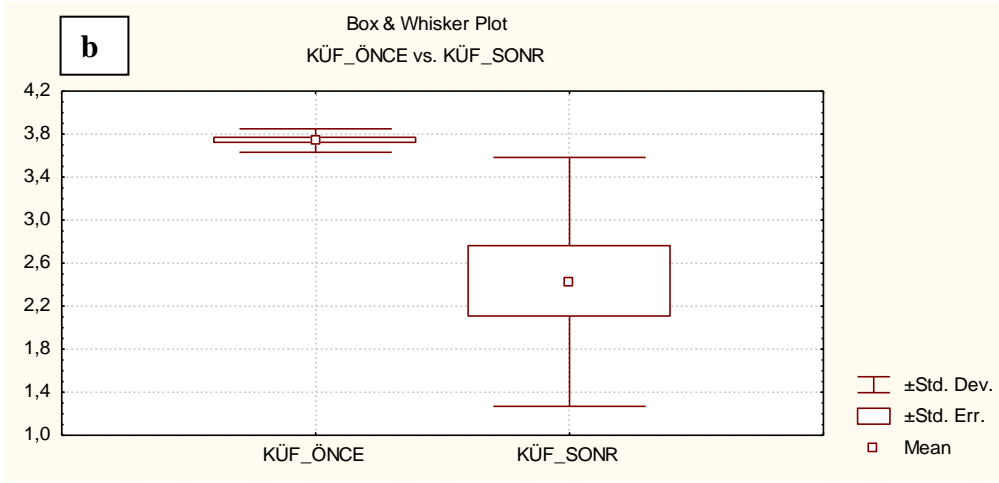
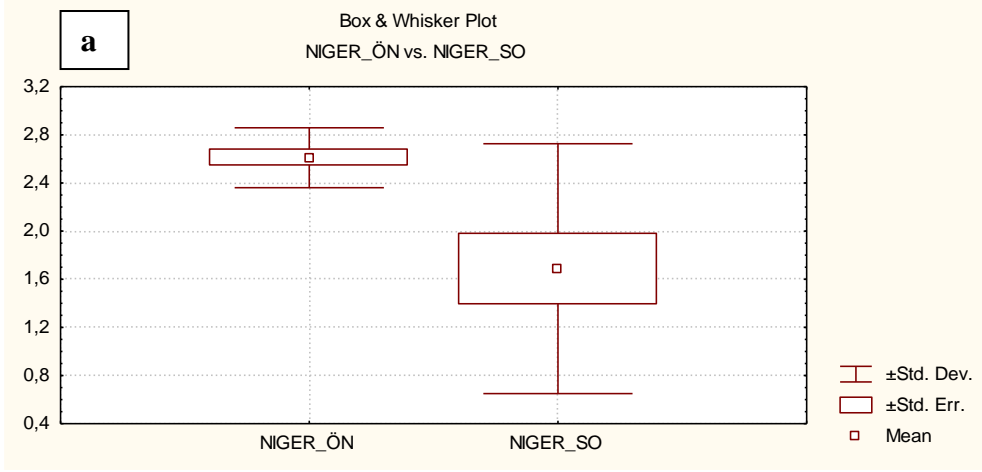
Şekil 4.5. Büyütme yeminin ozon uygulaması sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarının yüzdelik gösterimi

Büyütme yeminin *A. niger* ve küf-maya sayılarına t testi uygulanmış ve ozon uygulaması öncesi ile saptanan farklılığın önemli olduğu görülmüştür. *A. niger* ve küf-maya için t değerleri sırasıyla 3,221 ve 4,071, p değerleri ise sırasıyla 0,009 ile 0,002 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Büyütme yeminin t testi sonuçları

Uygulama		Ortalama	Std. Sapma	N	t	P
Ozon öncesi	<i>A. niger</i>	2,610	0,249	12	3,221	0,009
Ozon sonrası	<i>A. niger</i>	1,688	1,038			
Ozon öncesi	Küf-maya	3,741	0,109	12	4,071	0,002
Ozon sonrası	Küf-maya	2,427	1,157			

Büyütme yemine ozon uygulaması sonucunda elde edilen *A. niger* ve küf-maya yüklerinde gözlenen değişimin, t testi sonuçlarına göre oluşturulmuş “Box ve Whisker” grafikleri aşağıda verilmiştir. Şekilde Ortalamalar, Standart hata ve standart sapmalar görülmektedir. Bununla birlikte, aynı şekil üzerindeki Box’ların birbirine değmemesi, aradaki farklılığın önemli bir göstergesidir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Büyütme yemi a) *A. niger* ve b) Küf-maya Box ve Whisker grafikleri

❖ *Aspergillus niger* bulaştırması yapıldıktan sonra bitirme yeminin mikroorganizma sayıları Çizelge 4.13.'deki gibidir:

Çizelge 4.13. Ozon uygulaması öncesi bitirme yeminin mikroorganizma yükü

Bitirme yemi	<i>A. niger</i> (log ₁₀ kob/g)	Küf-Maya (log ₁₀ kob/g)
1	2,30	3,34
2	2,15	3,19
3	2,69	3,64
4	2,59	3,50

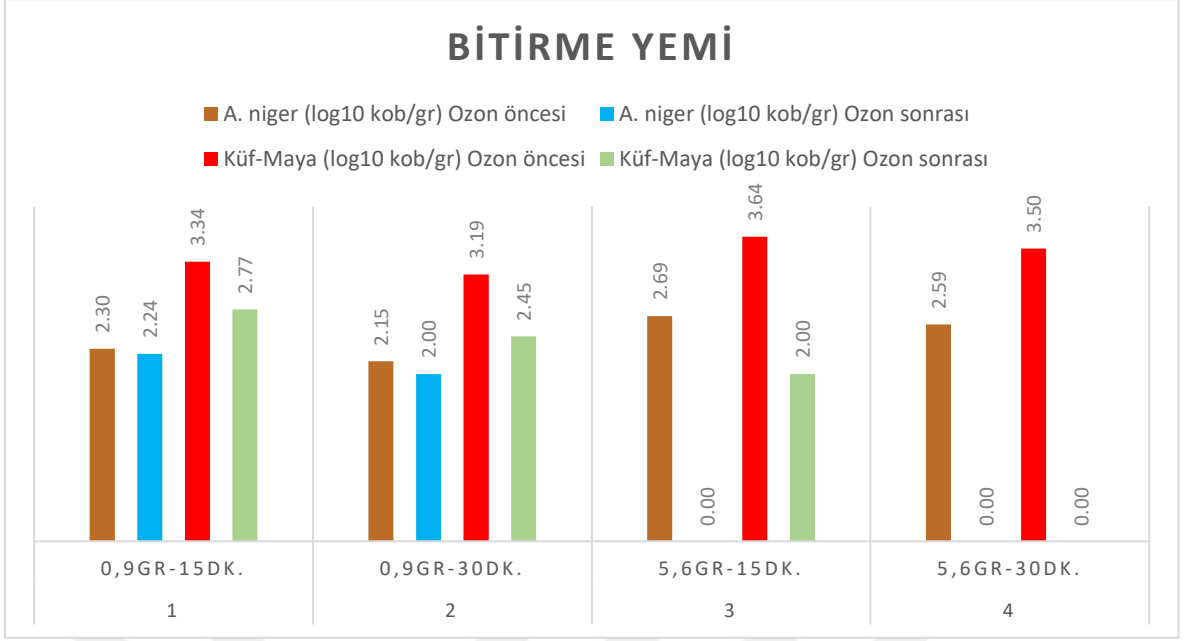
Çizelge 4.14.'te pelet formdaki bitirme yemine farklı doz ve sürelerde ozon uygulamasının *A. niger* ve küf-maya sayıları üzerine etkisi ortaya konulmuştur. Ozon uygulaması sonucu bitirme yemi örneklerindeki *A. niger* ve küf-maya sayılarında azalma görülmüştür ($P<0,01$, Şekil 4.7). Bu çalışma ile toz ve pelet formdaki yemlerin her birinde ozon, *A. niger* ve küf-maya sayıları üzerinde etkili bulunmuştur. Bununla birlikte pelet yemler üzerindeki etkisinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu gözlemin, ozonun oksidasyon kabiliyetinde yem materyalinin fiziksel, kimyasal yapısı ve etkileşimde bulunduğu yüzey alanının etkili olduğu söylenebilir. Sonuçlarımıza benzer şekilde Proctor ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, küf-maya sayıları bakımından fıstık tanesinde, fıstık ununa kıyasla çok daha fazla oranda yıkımlama sağlandığını ve daha büyük maruz kalma alanı nedeniyle, ozonun tanede daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.14. Bitirme yeminin ozon uygulaması sonrası *A.niger* ve toplam küf-maya sayıları

Bitirme Yemi	Doz (gr/saat)	Süre (dk.)	<i>A. niger</i> (log10 kob/g)		Küf-Maya (log10 kob/g)	
			Ozon sonrası	Δ	Ozon sonrası	Δ
1	0,9	15	2,24a	0,06 b	2,77 a	0,57d
2		30	2,00 b	0,15 b	2,45 b	0,74c
3	5,6	15	0,00 c	2,69 a	2,00 c	1,64 b
4		30	0,00 c	2,59a	0,00 d	3,50 a
Standart Hataların Ortalaması			0,322	0,385	0,326	0,351
P değerleri						
Doz			0,000	0,000	0,000	0,000
Süre			0,122	0,951	0,000	0,000
Doz x Süre			0,122	0,399	0,000	0,000

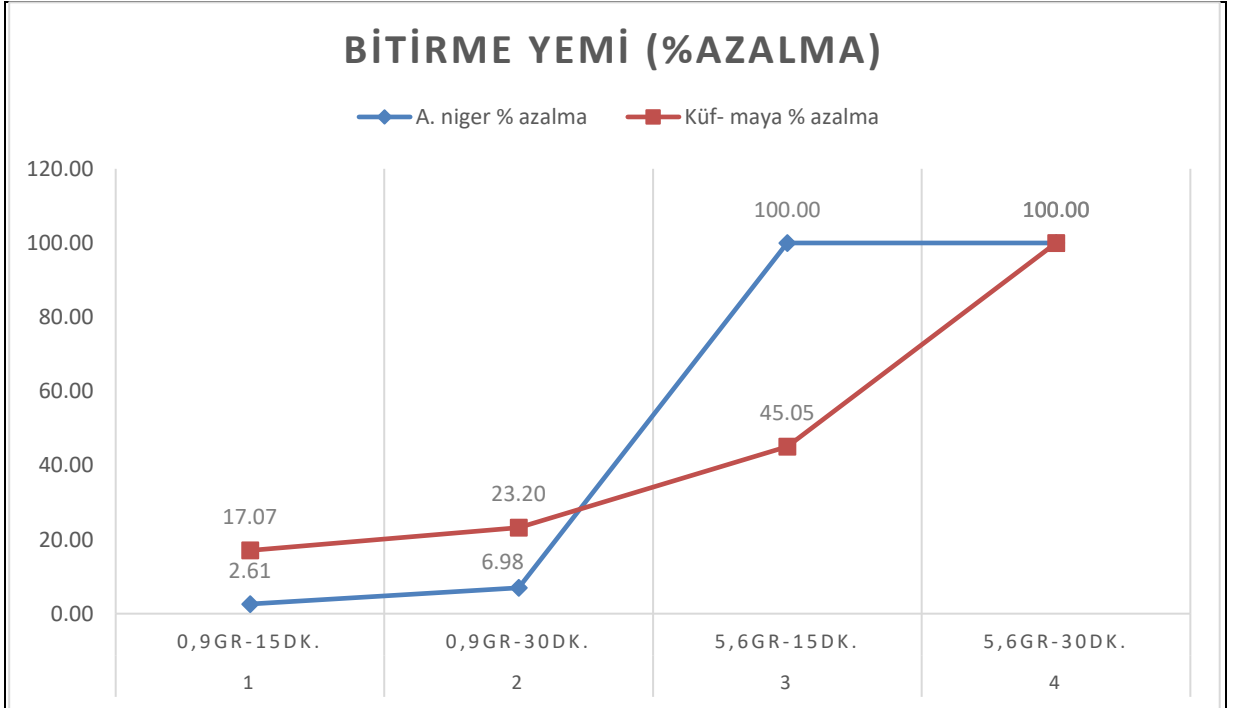
a-d; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiki olarak önemlidir ($P<0,01$).

Δ = Ozon öncesi mikroorganizma yükü- Ozon sonrası mikroorganizma yükü



Şekil 4.7. Bitirme yeminin ozon uygulaması öncesi ve sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarının değişim grafiği

Şekil 4.8’de görüldüğü üzere bitirme yemine 5,6 g/saat ve 30 dakika ozon uygulaması ile *A.niger* ve küf-maya sayılarının tamamı inhibe edilmiştir.



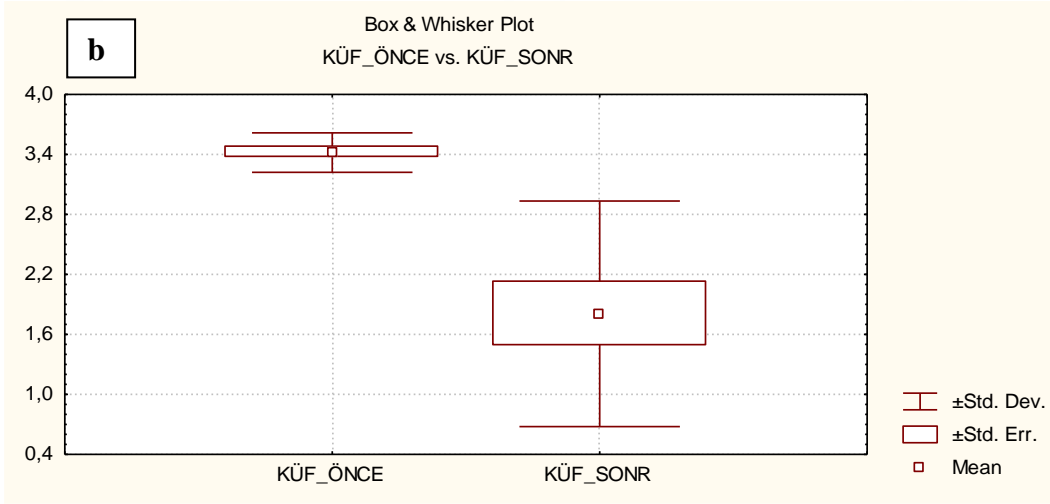
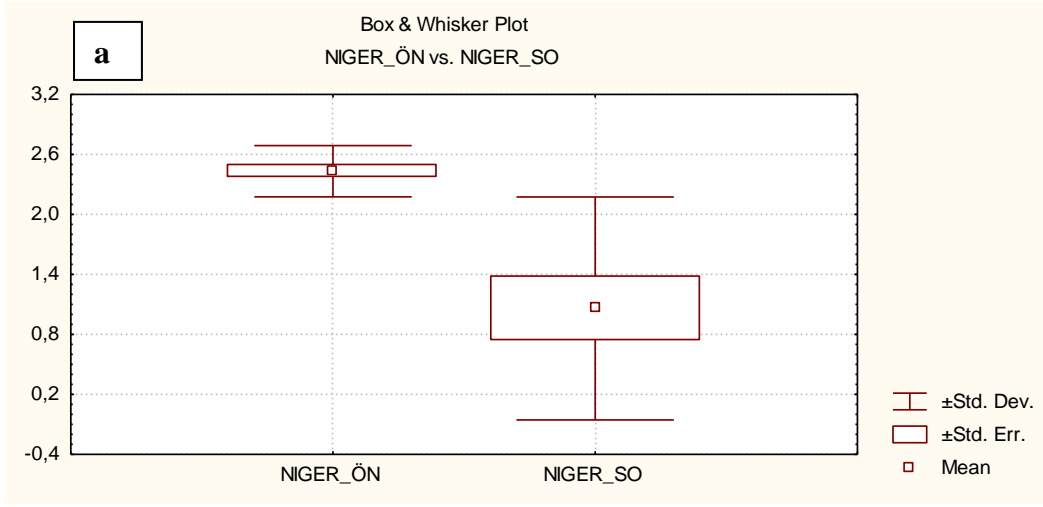
Şekil 4.8. Bitirme yeminin ozon uygulaması sonrası *A. niger* ve toplam küf-maya sayılarının yüzdelik gösterimi

Bitirme yeminin *A. niger* ve küf-maya sayılarına t testi uygulandığında, ozon uygulaması öncesi ile bulunan farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir. *A. niger* ve küf-maya için t değerleri sırasıyla 3,567 ve 4,592, p değerleri ise sırasıyla 0,004 ile 0,001 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Bitirme yeminin t testi sonuçları

Uygulama		Ortalama	Std. Sapma	N	t	P
Ozon öncesi	<i>A. niger</i>	2,432	0,256	12	3,567	0,004
Ozon sonrası	<i>A. niger</i>	1,060	1,115			
Ozon öncesi	Küf-maya	3,419	0,197	12	4,592	0,001
Ozon sonrası	Küf-maya	1,806	1,128			

Ozon uygulaması sonucunda elde edilen *A. niger* ve küf-maya yüklerinde gözlenen değişimin, t testi sonuçlarına göre oluşturulmuş “Box ve Whisker” grafikleri aşağıda verilmiştir. Şekilde Ortalamalar, Standart hata ve standart sapmalar görülmektedir. Bununla birlikte, aynı şekil üzerindeki Box’ların birbirine değmemesi, aradaki farklılığın önemini ortaya koymaktadır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Bitirme yemi **a)** *A. niger* ve **b)** Küf-maya Box ve Whisker grafikleri

Bu sonuçların, Torlak ve ark. (2016)'nın kanatlı yemlerine 2,8 ve 5,3 mg/L ozon gazı uygulaması ile yaptıkları çalışma ile uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmada, oda sıcaklığında gaz ozona maruz bırakılmasının bir sonucu olarak, kanatlı yemlerinde maya ve küf sporları büyük oranda etkisiz hale getirildiği gözlemlenmiştir.

Başka bir çalışmada Luo ve ark. (2014) 90 mg / L konsantrasyonda gazlı ozonla muamele edilmiş mısırdaki küf ve maya sporlarının degradasyonu ve AFB₁'in bozulmasını değerlendirmiştir. AFB₁ seviyeleri ve küf-maya sporlarını büyük oranda etkisiz hale getirildiğini bildirmişlerdir.

Okratoksin A, tahıllarda yaygın olarak bulunan *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen önemli bir mikotoksindir. Qi ve ark. (2016), ozon uygulamasının mısırdaki Okratoksin A içeriğini büyük ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir.

Kim ve ark. (1999), peynirde yaptıkları çalışmada, 0,1-10 µg/L ozon gazı uygulamasının, peynirin duyuşal özelliklerinde kayba neden olmadan küf sporlarının sırasıyla 80% ve 90% oranlarında inaktif hale geldiğini gözlemlemişlerdir.

Barth ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada, böğürtlenlerin 2 °C 'de 0,3 ppm ozon gazı ile muameleleri sonucu küf gelişiminin baskılandığını belirlemişlerdir.

Öztekin ve ark. (2006), kuru incirler üzerinde yaptıkları çalışmada 5 ve 10 ppm dozlarında ozon gazı uygulaması ile toplam aerobik mezofil, maya/küf sayılarını sırası ile %38 ve %72 oranında azalırken, *koliform* bakterilerin tamamının inhibe edildiğini gözlemlemişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçların, Zotti ve ark. (2008)'nin ozon uygulamasının *Aspergillus* suşları üzerindeki etkisini görmek amacıyla yaptıkları çalışma ile uyumlu olduğu görülmüştür. Yaptıkları bu çalışmada, ozonun *Aspergillus niger* üzerinde büyümeyi tamamen engelleyici etkisi bulunduğunu tespit etmişlerdir. Denenen farklı *Aspergillus* suşlarında ise küf sporlarında ki gelişme yavaşlamış ve azalmıştır. Jahn ve ark. (1997), Lukiewicz ve ark. (1980), *A. fumigatus* ve *A. niger* mutantlarının dezenfektan ajanları tarafından öldürülmeye daha duyarlı olduklarını kanıtlamışlardır.

El-Desouky ve ark. (2012), buğday tanelerinde bulunan *Aspergillus* suşları üzerine yaptıkları çalışmada, farklı süre ve dozlarda ozon uygulamasının etkilerini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada, 40 ppm ve 20 dakika ozon muamelesinin buğday tanelerindeki *Aspergillus* küflerini etkisiz hale getirdiği gözlenmiş ve aflatoksini yıkımlamada ideal oran olduğu bildirilmiştir.

Vijayanandraj ve ark. (2006) soğan üzerine yaptıkları çalışmada, yüksek konsantrasyon ozon uygulamasının (4,8 g/m³, 5 dakika) *Aspergillus niger* sporlarının çimlenmesinin azaldığını ve koloni üniformitesinin bozulduğunu gözlemlemişlerdir.

Buğday ile ilişkili başka bir çalışmada ise, Wu ve ark. (2006) 5 dakikalık ozon muamelesinin, *Aspergillus* mantarlarının etkisiz hale getirilmesinde çok etkili olduğunu, mantar sporlarının % 96,6'sının, 0,33 mg ozon (g /buğday/dakika) uygulanarak etkisiz hale geldiğini bildirmiştir.

Yukarıda *Aspergillus* ve küf-maya üzerine ozonun farklı düzeylerde etkilerini ortaya koyan literatür bildirişleri verilmiştir. Ozonun bu etkisinin sonuçlarımıza benzer şekilde Victorin (1992), Daş ve ark. (2006) sülfiril gruplarını, enzim amino asitlerini, peptidleri, proteinleri ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi hücresel bileşenlerin ve hücre zarının oksidasyonu yoluyla mikroorganizmaları öldürdüğü bildirilmiştir.



5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada ozon uygulamasının, etlik piliç yemlerinin mikrobiyolojik özellikleri ve besin madde kompozisyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Ozon uygulaması öncesi yemlere *Aspergillus niger* küfü bulaştırılmış, ardından farklı doz ve sürelerde ozon gazı uygulamasının etkileri incelenmiştir.

Yem ve hammaddelerin mikrobiyolojik olarak temiz sayılabilmesi için, her gramdaki mantar sayısı 1000'in, bakteri sayısı ise 10000'in üzerinde olmamalıdır. Bununla birlikte mikroorganizmalar uygun şartlar altında çok hızlı bir şekilde gelişip, çoğalarak sayılarını 10 kat arttırabilmektedirler (Eagon 1962). Toz ve pelet haldeki etlik piliç yem örneklerimizde bulaştırma öncesi yapılan mikrobiyolojik analizler neticesinde küf-maya tespit edilmiştir. Yemlerin depolama şartları ve süresine bağlı olarak mikroorganizma yüklerinde bir artış gözlenmiş olabilir.

Bu çalışma ile toz ve pelet formdaki yemlerin her birinde ozon, *A. niger* ve küf-maya sayıları üzerinde etkili bulunmuştur. Bununla birlikte pelet yemler üzerindeki etkisinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu gözlemin, ozonun oksidasyon kabiliyetinde yem materyalinin fiziksel, kimyasal yapısı ve etkileşimde bulunduğu yüzey alanının etkili olduğu söylenebilir.

Yapılan ozon uygulaması sonucu, yemlerin yağ asitleri profilinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Başlatma ve büyütme yeminde ozon uygulama dozu arttıkça, yüksek karbon sayısına sahip doymamış yağ asitlerinde bir azalma görülmüştür. Bu sonuçlara göre, bitirme yeminde ozon uygulamasının lipit kompozisyonu üzerine belirgin bir etki gözlenmemekle beraber, C18:3n6 yağ asiti kontrol grubundan bulunurken, ozon uygulaması yapılan gruplarda saptanmamıştır.

Ozon uygulaması sonucu tüm yem örneklerindeki *Aspergillus niger* ve küf-maya sayılarında azalma görülmüş ve istatistikî olarak farklılık önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Bu azalmanın, uygulanan doz ve süreyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ozonun etlik piliç yemlerini koruyucu ve kalitesini arttırıcı etkisini ortaya koymuştur. Ozonun yüksek oksitleme kapasitesi nedeniyle etlik piliç yemlerinde görülebilecek besinsel madde kayıplarının araştırılması, yemlerdeki mikrobiyal kontaminasyonu daha fazla elemine

edilmesi açısından çok yararlı olacaktır. Ayrıca yüksek oksitleme kapasitesi, yağ kalite ltleri olan tiyobarbütirik asit analizi, serbest yağ asitliği ve peroksit değeri gibi parametrelerin de saptanması, ozonun etkisini anlamada daha yararlı olacaktır.

Ayrıca, ozon ile muamele edilmiş yemle beslenen etlik bıldırcın veya piliçlerde performans, iç organ, mikrobiyoloji, histoloji ve et kalitesi gibi parametreler üzerine etkilerinin bakılması, ozonun canlı hayvan üzerindeki etkisini anlamada da yararlı olacaktır.



6. KAYNAKLAR

- Abdollahi MR, Ravindran V, Svihus B (2013). Pelleting Of Broiler Diets: An Overview With Emphasis On Pellet Quality And Nutritional Value. *Animal Feed Science And Technology*, (179): 1-23.
- Ağma Okur A, Tırpancı Sivri G, Okur E (2018). Use of Ozone in Poultry Production. 9th International Conference of Strategic Research on Scientific Studies and Education (9th ICoSReSSE) & 3th International Conference on Multidisciplinary Sciences (3th icomus), 17-29, Antalya, Turkey.
- Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG, Thomas DG (2007). Feed Particle Size: Implications on The Digestion and Performance of Poultry. *World's Poultry Science Journal*, 63 (3): 439-455.
- Anonim (2019). Karma Yem Üretim Miktarı. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/GKGM.pdf> (erişim tarihi, 20.03.2019).
- Anonim (2019a). Türkiye Karma Yem Üretim Grafiği. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/GKGM.pdf> (erişim tarihi, 22.03.2019).
- Anonim (2019b). Etlik piliçlerde Gelişmelere Bağlı Hayvanların Yapısal Değişimi. Firstwefeast, <https://firstwefeast.com/eat/2014/10/how-did-modern-chickens-get-so-damn-big> (erişim tarihi, 03.04.2019).
- Anonim (2019c). Aflatoksin. Wikipedi, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Aflatoksin> (erişim tarihi, 15.04.2019)
- Anonim (2019d). Ochratoxin Wikipedia, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Aflatoksin> (erişim tarihi, 17.04.2019)
- Anonim (2019e). Mikotoksinler. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ Resmî Gazete, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2008/05/20080517-7.htm> (erişim tarihi, 25.03.2019).
- Anonim (2019f). Bakteri Morfolojisi. Bakteriler.gen, <https://www.bakteriler.gen.tr/bakteri-morfolojisi.html> (erişim tarihi, 25.04.2019).

- Anonim (2019g). Biyoloji Hakkında Herşey. Biyoloji sayfası, <http://biyolojisayfasi.blogspot.com/2013/02/monera-alemi.html> (erişim tarihi, 15.04.2019).
- Anonim (2019h). Ozone Properties. Wikipedia, <https://en.wikipedia.org/wiki/Ozone> (erişim tarihi, 15.04.2019)
- Anonim (2019j). Important Properties Of Ozone. Chem.Libretexts, [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Inorganic_Chemistry\)/Descriptive_Chemistry/Elements_Organized_by_Block/2_p-Block_Elements/Group_16%3A_The_Oxygen_Family_\(The_Chalcogens\)/Z%3D008_Chemistry_of_Oxygen_\(Z%3D8\)/Ozone/Important_properties_of_ozone](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Supplemental_Modules_(Inorganic_Chemistry)/Descriptive_Chemistry/Elements_Organized_by_Block/2_p-Block_Elements/Group_16%3A_The_Oxygen_Family_(The_Chalcogens)/Z%3D008_Chemistry_of_Oxygen_(Z%3D8)/Ozone/Important_properties_of_ozone) (erişim tarihi, 19.04.2019).
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis.15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc.,Virginia, USA, pp:770-771.
- AOCS Cd 8-53 (1989). Official Methods and Recommended Practices of the Oil Chemist' Society, 3rd ed. Ed: R.O. Walker. American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois
- Atmaca E, Aksoy A (2015). Toksikolojik Açidan Yemlerde Oluşabilecek Doğal Kaynaklı Risk Faktörleri. Türkiye Klinikleri J Anim Nutr&Nutr Dis-Special Topics, 1(1): 32-42.
- Barth MM, Zhou C, Mercier J, Payne FA (1995). Ozone Storage Effects on Antocyanin Content and Fungal Growth in Blackberries. Journal of Food Science, (60): 1286-1288.
- Basmacıoğlu H, Ergül M (2003). Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. Hayvansal Üretim, 44(1): 9-17.
- Beltran D, Selma MV, Tudela J A, Gil MI (2005). Effect of Different Sanitizers on Microbial and Sensory Quality of Fresh-Cut Potato Strips Stored Under Modified Atmosphere or Vacuum Packaging. Postharvest Biology and Technology, (37): 37-46.
- Bennet JW, Klich M (2003). Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev., 16 (3): 497-516.
- Binder EM (2007). Managing The Risk Of Mycotoxins İn Modern Feed Production. Animal Feed Science and Technology, (133): 149-166.
- Borrelli E, Bocci V(2018). The Use of Ozone in Medicine. Annals of Medical and Health Sciences Research, (8): 117-119.
- Boztaş G, Ömürlü H (2014). Restoratif Diş Hekimliğinde Ozon Tedavileri. Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg., (9): 158-168.

- Budağ C (2011). Yem Fabrikalarında Hijyen Sorunu ve Zoonoz Hastalıklar. Iğdır Üni. FenBilimleri Enst. Der., (2): 141-154.
- Burleson GR, Murray TM, Pollard M (1975). Inactivation of Viruses and Bacteria by Ozone, With and Without. Applied Microbiology, 29 (3): 340-344.
- Cho M, Kim J, Kim JY, Yoon J, Kim JH (2010). Mechanisms Of Escherichia Coli Inactivation By Several Disinfectants. Water Research, (44): 3410-3418.
- Cooper KK, Songer JG, Uzal FA (2013). Diagnosing Clostridial Enteric Disease in Poultry. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 25(3): 314-327.
- Cortyl M (2010). Control of Salmonella and Other Pathogens in Broilers – The Importance of a Coherent Approach. WEB lab. Unggas UGM, <https://chickaholic.wordpress.com/2010/06/02/control-of-salmonella-and-other-pathogens-in-broilers-%E2%80%93-the-importance-of-a-coherent-approach/> (erişim tarihi, 20.03.2019).
- Crump JA, Griffin PM, Angulo FJ (2002). Bacterial Contamination of Animal Feed and Its Relationship to Human Foodborne Illness. Clin. Infect. Dis., (35): 859-865.
- Çatal H, İbanoğlu Ş (2010). Gıdaların Ozonlanması. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, (5): 47-55.
- Daş E, Gürakan GC, Bayındırlı A (2006). Effect of Controlled Atmosphere Storage, Modified Atmosphere Packaging and Gaseous Ozone Treatment on the Survival of Salmonella enteritidis on Cherry Tomatoes. Food Microbiology, 23(5): 430-438.
- Desmont C, Minet J, Colwell R Cormier M (1990). Fluorescent-Antibody Method Useful For Detecting Viable But Nonculturable Salmonella Spp. In Chlorinated Wastewater. Applied And Environmental Microbiology, (56): 1448–1452.
- Dorn W, Schleiff G (1997). Veterinary—Hygienic Aspects Of Assessment On Processes Of Handling Poultry Faeces. J. Vet. Med. B, (44): 105-118.
- Dubois M, Coste C, Despres AG, Efstathiou, T, Nio C, Dumont E (2006). Safety Of Oxygen, An Ozone Treatment On Wheat Grains. Food Additives & Contaminants,(23): 1-15.
- Dursun SG (2008). Broiler Piliçlerinden Escherichia Coli O157:H7 Serotipinin İdentifikasyonu Ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Eagon RG (1962). Pseudomonas Natriegens, A Marine Bacterium With A Generation Time Of Less Than 10 Minutes. Journal of Bacteriology, 83(4): 736-737.

- Ekici L, Sağdıç O, Kesmen L (2006). Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan: Ozon. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi , (1): 47-57.
- El-Desouky TA, Sharoba AMA, El-Desouky AI, El-Mansy HA, Naguib K (2012). Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and Aspergillus Flavus Fungal. J Environment Analytic Toxicol, (2): 1-6.
- Ergün A (2002). Yem Hijyeni ve Teknolojisi. Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojis, Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersen MK, Küçükersen S, Şehu A. Özkan Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 177-212.
- Fareed G, Khan SH, Anjum HA, Ahmed N (2014). Determination Of Aflatoxin And Ochratoxin In Poultry Feed Ingredients And Finished Feed In Humid Semi-Tropical Environment. J. Adv. Vet. Anim. Res., 1(4): 201-207.
- Foegeding PM (1985). Ozone Inactivation Of Bacillus And Clostridium Spore Populations And The Importance Of The Spore Coat To Resistance. Food Microbiology 2, (2): 123-134.
- Forbes GA, Bandyopadhyay R, Garcia G (1992). A Review of Sorghum Grain Mold. Sorghum And Millets Diseases: A Second World Review, 265-272
- Frisvad JC, Møller LLH, Larsen TO, Kumar R, Arnau J (2018). Safety Of The Fungal Workhorses Of Industrial Biotechnology: Update On The Mycotoxin And Secondary Metabolite Potential Of Aspergillus Niger, Aspergillus Oryzae, And Trichoderma Reesei. Appl Microbiol Biotechnol. 2018 Nov, 102(22): 9481-9515.
- Geornaras I, Hastings JW, Holy A (2001). Genotypic Analysis Of Escherichia Coli Strains From Poultry carcasses And Their Susceptibilities To Antimicrobial Agents. Appl. Environ. Microbiol, (67): 1940-1944.
- Giambrone JJ, Diener UL, Davis ND, Panangala VS, Hoerr FJ (1985). Effects Of Aflatoxin On Young Turkeys And Broiler Chickens. Poult Sci. 1985, 64(9): 1678-1684.
- Girgin G, Başaran N, Şahin G (2001). Dünyada Ve Türkiye’de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. Türk Hij Den Biyol Derg, (53): 97-118.
- Greco MV, Franchi ML, Golba SLR, Pardo AG, Pose GN (2014). Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Poultry Feed for Food-Producing Animals. The Scientific World Journal, Volume 2014: 1-9.
- Greene AK, Few BK, Seraflnl JC (1993). Comparison of Ozonation and Chlorination for the Disinfection of Stainless Steel Surfaces. Journal of Dairy Science, (76): 3617-3620.
- Guzel-Seydim ZB, Greene AK, Seydim AC (2004). Use of ozone in the food industry. Lebensm.-Wiss. u.-Technol, (37): 453-460.

- Haagsma J (1991). Pathogenic Anaerobic Bacteria And The Environment. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., (10): 749-764.
- Halkman AK, Noveir MR, Dogan HB (1998). Çesitli Hayvansal Gıda Ürünlerinde E. Coli O157:H7 Aranması. TÜB_TAK-VHAG-1192 Nolu Proje. Ankara.
- Hamil B (2017). Ozone Sanitation - A Sustainable and Efficacious Approach to Food Safety. Research Gate, <http://bethhamilo3consulting.com/wp-content/uploads/2017/05/Ozone-White-Paper-05-03-17.pdf> (erişim tarihi, 02.04.2019).
- Hoof FV (1982). Professional Risks Associated With Ozone. Ozonation Manual For Water And Waste Watertreatment, Hoof FV. Wiley-Interscience, New York, 200–201.
- Hunt NK, Marinos BJ (1997). Kinetics of Escherichia coli Inactivation with Ozone. Water Research, 31 (6): 1355-1362.
- Isikber AA, Athanassiou CG (2015). The Use Of Ozone Gas For The Control Of İnsects And Micro-Organisms İn Stored Products. Journal of Stored Products Research, (64): 139-145.
- Jahn B, Koch A, Schmidt A, Wanner G, Gehringer H, Bhakdi S, Brakhage AA (1997). Isolation and Characterization of a Pigmentless Conidium Mutant of Aspergillus fumigatus with Altered Conidial Surface and Reduced Virulence. Infect. Immun., (65): 5110-5117.
- Jaksch D, Margesin R, Mikoviny T, Skalny JD, Hargunten E, Schinner F, Mason NJ, Mark T D (2004). The Effect of Ozone Treatment on the Microbial Contamination of Pork Meat Measured by Detecting the Emissions Using PTR-MS and by Enume Using PTR-MS and by Enumeration of Microorganisms. International Journal of Mass Spectrometry, (239): 209-214.
- Jan SK, Singh PP, Amarjit S (1995). Observations Of Occurrence Of Poultry Diseases Associated With Mycotoxins İn Feeds. Indian Journal of Animal Sciences,(65): 1063-1067.
- Jewers K (1990). Mycotoxins And Their Effect On Poultry Production. L' aviculture en Méditerranée, (7): 195-202
- Karaca H (2010). Use of Ozone in the Citrus Industry. Ozone: Science & Engineering, 32(2): 122-129.
- Karakuş Ü (2017). Türkiye’de Yem Üretimi: Hedefler ve Potansiyel Problemler. Türkiye Yem Sanayicileri Birliği, https://vtd.org.tr/siteimages/meeting_02_2017/3-Ulku_Karakus_Sunumu-Turkce-Turkiyede_Yem_Uretimi-Hedefler_ve_Potansiyel_Problemler.pdf (erişim tarihi, 14.03.2019).

- Kaya S, Yarsan E (1995). Yem ve Yem Hammaddelerinde Küflenmenin Önlenmesi ve Mikotoksinlerle Kirletilmiş Bu Tür Yemlerin Değerlendirilmesine Yönelik Uygulamalar. Ankara Üni” Vet Fak Derg, 42 (2): 111-122.
- Kells SA, Mason LJ, Maier DE, Woloshuk CP (2001). Efficacy And Fumigation Characteristics Of Ozone İn Stored Maize. Journal of Stored Products Research, (37): 371-382.
- Kim JG, Yousef AE, Dave S (1999). Application of Ozone for Enhancing the Microbiological Safety and Quality of Foods. A Review. Journal of Food Protection, (62): 1071-1087.
- Kim JG, Yousef AE, Khadre MA (2003). Ozone and Its Current and Future Application in the Food Industry. Advances in Food and Nutrition Research, (45): 167-218.
- Körlü A (2018). Use of Ozone in the Textile Industry. Textile Industry and Environment, 1-23.
- Kuşçu A, Pazır F (2004). Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları. Gıda, 29 (2): 123-129.
- Lemke SL, Mayura K, Ottinger SE, McKenzie KS, Wang N, Fickey C, Kubena LF, Phillips TD (1999). Assessment Of The Estrogenic Effects Of Zearalenone After Treatment With Ozone Utilizing The Mouse Uterine Weight Bioassay. Journal of Toxicology and Environmental Health – Part A, 56 (4): 283-295.
- Lin H, Decuypere E, Buyse J (2006). Acute Heat Stress İnduces Oxidative Stress İn Broiler Chickens. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, (144): 11-17.
- Lukiewicz S, Reszka K, Matusak Z (1980). Simultaneous Electrochemical-Electron Spin Resonance (SEESR) Studies on Natural and Synthetic Melanins. Bioelectrochem. Bioenerg., (7): 154-165.
- Luo X, Wang R, Wang L, Li Y, Bian Y, Chen Z (2014). Effect Of Ozone Treatment On Aflatoxin B1 And Safety Evaluation Of Ozonized Corn. Food Control, (37): 171-176.
- Maciorowski KG, Herrera P, Jones FT (2007). Effects On Poultry And Livestock Of Feed Contamination With Bacteria And Fungi. Animal Feed Science and Technology, (133): 109-136.
- Manley TC, Niegowski SJ (1967). Ozone. In Encyclopedia Of Chemical Technology (Vol. 14, 2nd), Manley TC, Niegowski SJ. Wiley, New York, NY, 410-432.
- Myint MS, Johnson YJ, Paige JC, Bautista DA (2007). A Cross-Sectional Study Of Bacterial Contamination in Plant-Protein Feed From Feed Stores in Northern Virginia And Maryland. Animal Feed Science and Technology, (133): 137-148.

- Naito S, Takahara H (2006). Ozone Contribution in Food Industry in Japan. *Ozone- Science & Engineering* 28, (6): 425-429.
- Nurmi E, Rantala M (1973). New Aspects of Salmonella Infection in Broiler Production. *Nature*, (241): 210-211
- Obadi M, Zhu KX, Peng W, Noman A, Mohammed K, Zhou HM. (2018). Oil Characterization of Whole Grain Flour As Effected By Ozone Gas. *Journal of Cereal Science*, 79, 527-533.
- Öztekin S, Zorlugenç B, Zorlugenç FK (2006). Effects of Ozone Treatment on Microflora of Dried Figs. *Journal of Food Engineering*, 75 (3): 396-399.
- Peraica M, Domijan AM, Jurjević Z, Cvjetković B (2002). Prevention of Exposure To Mycotoxins From Food And Feed. *Arh Hig Rada Toksikol*, (53): 229-237.
- Prabakaran M, Tamil Selvi S, Merinal S, Panneerselvam A (2012). Effect Of Ozonation On Pathogenic Bacteria. *Advances in Applied Science Research*, 3(1): 299-302.
- Proctor AD, Ahmedna M, Kumar JV, Goktepe I (2004). Degradation Of Aflatoxins In Peanut Kernels/Flour By Gaseous Ozonation And Mild Heat Treatment. *Food Additives and Contaminants* 21, (8): 786-793.
- Qi L, Li Y, Luo X, Wang R, Zheng R, Wang L (2016). Detoxification Of Zearalenone And Ochratoxin A By Ozone And Quality Evaluation Of Ozonised Corn. *Food Additives & Contaminants: Part A.*, (33): 1700-1710.
- Raila A, Lugauskas A, Steponavicius D, Railiene M, Steponaviciene A, Zvicevicius E (2006). Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 13 (2): 287-294.
- Rawal S, Kim JE, Coulombe JR (2010). Aflatoxin B1 In Poultry: Toxicology, Metabolism And Prevention. *Research in Veterinary Science*, (89): 325-331.
- Remondino M, Valdenassi L (2018). Different Uses of Ozone: Environmental and Corporate Sustainability. *Literature Review and Case Study. Sustainability* 2018, (10): 47-83.
- Rice RG (1986). Application Of Ozone In Waterand Waste Water. *Analytical Aspects Of Ozone Treatment Of Water And Waste Water*, Rice RG, Browning MJ. The Institute, Syracuse, NY, 7-26.
- Rice RG, Robson CM, Miller GW, Hill AG (1981). Uses Of Ozone In Drinking Water Treatment. *Journal Of The American Water Works Association*, 73(1): 44-57.
- Rubin MB (2001). The History Of Ozone. The Schönbein Period, 1839-1868, *Bull. Hist. Chem.*, Volume 26, Number 1 (26): 40-56.

- Saleh EA, Watkins SE, Waldroup PW (1997). Changing Time of Feeding Starter, Grower, and Finisher Diets for Broilers 3. Birds Grown to 3.3 kg. *The Journal of Applied Poultry Research*, 6(3): 290-297
- Samarajewa H, Sen AC, Cohen MD, Wel CJ (1989). Detoxification On Aflatoxins Infeed And Feeds By Physical And Chemical Methods. *J Food Protcel*,(53): 489-501.
- Sandhu HPS, Manthey FA, Simsek S, Ohm JB (2011). Comparison Between Potassium Bromate And Ozone As Flour Oxidants In Breadmaking. *Cereal Chemistry*,(88): 103-108.
- Schwean-Lardner K, Dahiya JP, Olkowski AA, Barber EM, Riddell C, Classen HL (2009). Effect Of Adding Ozone Into An Intensive Broiler Production Unit On Performance, Mortality, Ammonia Levels, And Bacterial Levels As Compared With A Non-Ozone-Treated Broiler Unit. *J. Appl. Poult. Res.*, (18): 649-657.
- Scudamore KA, Nawaz S, Hetmanski MT (2009). Mycotoxins In Ingredients Of Animal Feeding Stuffs: II. Determination Of Mycotoxins In Maize And Maize Products. *Journal Food Additives & Contaminants*, 15(1): 30-55.
- Shareef A (2010). Molds And Mycotoxins In Poultry Feeds From Farms Of Potential Mycotoxicosis. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 24(1):17-25
- Shunmugam G, Jayas DS, White NDG, Muir WE (2005). Diffusion Of Carbon Dioxide Through Grain Bulks. *Journal of Stored Products Research*, 41 (2): 131-144.
- Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Stroshine RL (2002). Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, (35): 720-729.
- SPSS (2018). PASW® Statistics 18, Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)
- Tiwari BK, Brennan CS, Curran T , Gallagher E, Cullen PJ , O' Donnell CP (2010). Application Of Ozone In Grain Processing. *Journal of Cereal Science*, (51): 248-255.
- Torlak E, Akata I, Erci F, Uncu AT (2016). Use Of Gaseous Ozone To Reduce Aflatoxin B₁ And Microorganisms in Poultry Feed. *Journal Of Stored Products Research*, (68): 44-49.
- Tournas V, Stack ME, Mislivec PV, Koch HA, Bandler R (2001). *Bacteriological Analytical Manual Online*. US Food and Drug Administration, <http://www.cfsan.fda.gov/ebam/bam-18.html> (erişim tarihi, 25.04.2019).
- Uçar A, Türkoğlu M, Sarıca M (2018). Etlik Piliç ve Ebeveynlerinin Gelişimi. *Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(1): 73-77.

- Victorin K (1992). Review Of Genotoxicity Of Ozone. *Mutat Res*, (227): 221-238.
- Vijayanandraj VR, Nagendra Prasad D, Mohan N, Gunasekaran M (2006). Effect Of Ozone On *Aspergillus Niger* Causing Black Rot Disease İn Onion. *Ozone Sci Eng*, (28): 347-350.
- Wang L, Shao H, Luo X, Wang R, Li Y, Li Y (2016). Effect of Ozone Treatment on Deoxynivalenol and Wheat Quality. *PLoS ONE*, 11(1): e0147613.
- Wu JN, Doan H, Cuenca MA (2006). Investigation Of Gaseous Ozone As An Antifungal Fumigant For Stored Wheat. *J Chem Technol Biotechnol*, (81): 1288-1293.
- Xu L (1999). Use of Ozone to Improve the Safety of Fresh Fruits and Vegetables. *Food Technology*, 53 (10): 58-63.
- Yalçın S. (2008). Proteinler ve metabolizması. *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları*, Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, Şehu A, ed. Pozitif baskı, Ankara, 79-82
- Yıldız PO, Yangılar F (2014). Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1): 94-101.
- Yılmaz AM (2011). Farklı Karma Yemlerde Yem Mikroskopisi Ve Kimyasal Metotlarla Belirlenen Ham Protein İle Ham Selüloz Değerlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Zhu F (2018). Effect Of Ozone Treatment On The Quality Of Grain Products. *Food Chemistry*, (264): 358-366.
- Zotti M, Porro R, Vizzini A, Mariotti MG (2008). Inactivation of *Aspergillus* spp. by Ozone Treatment. *Ozone: Science and Engineering*, (30): 423-430.
- Zoutman D, Shannon M , Mandel A (2011). Effectiveness Of A Novel Ozone-Based System For The Rapid High-Level Disinfection Of Health Care Spaces And Surfaces. *Am J Infect Control* 2011, (39): 873- 879.

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Adana’da doğdu. İlkokulu ve ortaokulu Yahya Kemal Beyatlı Ortaokulu’nda tamamladı. Lise öğrenimini ise Bolu Behiye Baysal Anadolu Meslek Lisesinde tamamladı. 2012 yılında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü’nü kazandı ve 2016 yılında lisans öğrenimini tamamladı. Lisans eğitiminin son dönemini Erasmus öğrencisi olarak Macaristan Szent Istvan University’de tamamladı. Aynı yıl Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Yaklaşık 2 yıl kadar DSM firmasında İzmir Bölge Yöneticisi olarak çalıştı.

