

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

83618

**BOYNUZ HİDROLİZATININ BAKTERİLER İÇİN BESİYERİ
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Esabı Başaran KURBANOĞLU

83618

Yönetici : Prof. Dr. Ö. Faruk ALGUR

Y.C. YÜK.
DANIŞMANI

ALGUR

Doktora Tezi

ÖZET

Boynuz hidrolizatından bakteriler için yeni bir besiyeri geliştirilmiştir. Materyal olarak, Erzurum Et Kombinasyonundan temin edilen koç boynuzları kullanılmıştır. Boynuzlar öğütüldükten sonra elde edilen boynuz unu kimyasal olarak (asit ve baz hidrolizi) hidrolize edilmiş ve hidrolizat « Ham Boynuz Ekstraktı » (HBE) olarak isimlendirilmiştir. HBE' nin protein, azot, kül, mineral madde, toplam şeker ve amino asit bileşimi belirlendi ve bir mikrobiyolojik vasat olarak kullanımı için yeterli organik ve inorganik maddeleri içerdiği saptanmıştır. HBE 10 g maya ekstraktı ve 20 g glikoz ilavesiyle zenginleştirilmiştir. Bu son çözelti « Stok Besiyeri Çözeltisi » (SBÇ) olarak isimlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki (% 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10) SBÇ' nin test mikroorganizmalarının (*B. cereus*, *L. bulgaricus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. thermophilus*) üremesi üzerindeki etkileri araştırılmış ve % 5 SBÇ (Boynuz Broth = BB)' nin optimal konsantrasyon olduğu belirlenmiştir. Boynuz Agar ortamı (BA), BB' nin litresine 15 g agar ilavesiyle hazırlanmıştır. BB ve BA vasatları diğer bazı standart vasatlara, Nutrient Broth–Agar (NB-A), Plate Count Broth–Agar (PCB-A), Trypticase Soy Broth–Agar (TSB–A), karşı saf kültür halindeki mikroorganizmaların ve çeşitli doğal ortamlardaki (toprak, su, et ve süt) mikroorganizmaların normal ve yaralanmış formlarını üretmesi bakımından test edilmiştir. Yüzey ekimi, dökme plak (koloni sayılarını karşılaştırmak için) ve çalkalama kültür (biyomas verimlerini karşılaştırmak için) çalışmalarından elde edilen sonuçlar hem yüzeyde üreme hem bakteri sayıları hem de biyomas verimleri bakımından BB ve BA vasatlarının, NB-A ve PCB-A vasatlarından biraz daha güçlü fakat TSB ve TSA vasatlarından zayıf olduğunu göstermiştir.

SUMMARY

A new medium for bacteria from horn hydrolysate was developed. Ram horns obtained from Erzurum Slaughterhouse were used as material. After the grinding, the horn flour was hydrolysed chemically (acid and base hydrolysis) and obtained hydrolysate termed as « Crude Horn Extract » (CHE). The contents of protein, nitrogen, ash, some minerals, total sugars and amino acids of CHE were determined and it was seen that it has both organic and inorganic materials enough to use as a nutrient medium. CHE was enriched by the addition of 10 g yeast extract and 20 g glucose. This later solution is termed as « Stock Medium » (SM). The effect of different SM concentrations (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 %) on the growth of test microorganism (*B. cereus*, *L. bulgaricus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. thermophilus*) were investigated and 5 % SM (Horn Broth = HB) found to be optimal one. Horn Agar Medium (HA) was prepared by the addition of 15 g of Agar to 1000 ml of HB. These media were tested against to some other standard media, Nutrient Broth–Agar (NB-A), Plate Count Broth–Agar (PCB-A), Trypticase Soy Broth–Agar (TSB–A), in their ability to support growth of both injured and noninjured bacteria in both pure cultures and natural samples such as soil, water, milk and meat. The obtained results from parallel studies with surface streaking, pour plate (for comparing the colony counts) and shaking culture (for comparing the biomass yields) procedures showed that HB and HA media yielded a little higher bacterial counts and biomass yields than did NB–A and PCB-A in both normal and injured bacteria, but these values were lower than values obtained from the TSB and TSA.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü Araştırma Laboratuvarı ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Marmara Araştırma Merkezi (Gebze) Laboratuvarlarında yapılmıştır.

Bu çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde, her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. Ö. Faruk ALGUR' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Muhlis ÖZKAN' a da teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, çalışmalarımda yardımcı olan Prof. Dr. İsmet HASENEKOĞLU, Prof. Dr. Mükerrerem KAYA, Arş. Gör. Nesimi AKTAŞ, Arş. Gör. Metin TURAN ve Bakteriolog Tevfik AKMAN ile bütün Biyoloji Bölüm Elemanlarına teşekkür ederim.

Şubat, 1999

E. Başaran KURBANOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. MATERYAL	11
2.1.1. Kimyasal Maddeler	11
2.1.2. Boynuz	11
2.1.3. Mikroorganizmalar	11
2.2. METOT	12
2.2.1. Boynuzun Fiziksel Olarak Parçalanması	12
2.2.2. Boynuz Ununun Kimyasal Olarak Hidrolize Edilmesi	12
2.2.2. Boynuz Ununun Kimyasal Olarak Hidrolize Edilmesi	12
2.2.3. HBE' nin Zenginleştirilmesi	12
2.2.4. Ham Boynuz Ekstraktının (HBE) Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi	13
2.2.4.1. Toplam Kuru Madde ve Kül Miktarının Belirlenmesi	13
2.2.4.2. HBE' de Bulunan ve Mikroorganizma Üremesinde Rolü Olan Bazı Minerallerin Miktarının Belirlenmesi	13
2.2.4.3. HBE' nin Toplam Ham Protein Miktarının Belirlenmesi	13
2.2.4.4. HBE' nin Toplam Şeker Miktarının Belirlenmesi	13
2.2.4.5. HBE' nin Amino Asit Bileşiminin Belirlenmesi	14
2.2.5. Stok Boynuz Çözeltilisinin (SBC) Mikroorganizmaları Optimal Üretme Konsantrasyonunun Belirlenmesi	14
2.2.6. SBC' nin Zenginleştirilmesinde Kullanılan Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	15

2.2.7. BB ve BA' nın Standart Besiyerleri İle Karşılaştırılması	15
2.2.7.1. Test Organizmaların BB ve Standart Besiyerlerinde Biyomas Verimleri Bakımından Karşılaştırılması	15
2.2.7.2. Test Organizmaların BA ve Standart Besiyerlerinde Üremelerinin Yüzey Ekimi Yöntemi İle Karşılaştırılması	15
2.2.7.3. BA ve Standart Besiyerlerinin Yaralı (Injured) ve Yaralanmamış (Non-Injured) Bakterileri Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması	16
2.2.7.4. Et ve Süt örneklerinin Total Aerobik Canlı Bakteri Sayılarının BA ve Standart Besiyerlerinde Karşılaştırılması	16
2.2.7.5. Anaerobik Mikroorganizmaların BA ve Standart Ortamlarda Üreme Durumlarının Karşılaştırılması	17
2.2.8. Sonuçların İstatistikî Olarak Değerlendirilmesi	18
3. BULGULAR	19
3.1. Ham Boynuz Ekstraktının (HBE) Kimyasal Bileşimi	19
3.2. SBÇ' nin Mikroorganizma Üretimi İçin En Uygun Konsantrasyonunun Belirlenmesine İlişkin Araştırma Sonuçları	20
3.3. SBÇ' nin Farklı Konsantrasyonlarının Test Mikroorganizmaların Üreme Hızına (Jenerasyon Süresine) Etkileri	22
3.4. SBÇ' nin Zenginleştirilmesinde Kullanılan Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesine İlişkin Araştırma Sonuçları	24
3.5. BA ve Standart Agarların Test Organizmaları Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	25
3.5.1. Yüzey Ekimleri Bakımından Karşılaştırılması	25
3.5.2. Bazı Zorunlu Anaerobik Bakteriler İle Toprak, Su, Süt ve Et Örneklerindeki Anaerobik Bakterilerin BA ve Standart Agarlardaki Yüzey Ekimi Sonuçlarının Karşılaştırılması	27
3.6. BB ve Standart Vasatların Test Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Biyomas Verimleri Bakımından Karşılaştırılması	28
3.7. BA ve Standart Vasatlarda Üretilen Yaralanmış ve Yaralanmamış Bakterilerin «Canlı Aerobik Bakteri» Sayıları Bakımından Karşılaştırılması	30

4. TARTIŞMA	42
4.1. Boynuz Materyalinin Hidrolize Edilmesinde İzlenen Yol	43
4.2. Ham Boynuz Ekstraktının (HBE) Kimyasal İçeriği	44
4.3. SBÇ' nin Optimum Konsantrasyonunun Belirlenmesine İlişkin Deneysel Sonuçlarının Değerlendirilmesi	49
4.4. Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Araştırılması Amacıyla Yapılan Deneysel Sonuçlarının Değerlendirilmesi	52
4.5. BB' nin Standart Vasatlarla Karşılaştırılması	53
4.5.1. Boynuz Agarın (BA) Standart Besiyerlerine Karşı Yüzey Ekimi Bakımından Kullanılabilirliği	53
4.5.2. Boynuz Agarın Standart Besiyerlerine Karşı Anaerobik Bakterileri Üretmesi Bakımından Yüzey Ekimleri Yöntemi İle Karşılaştırılması	54
4.5.3. BB ve Standart Vasatların Test Mikroorganizmalarının Üretme Potansiyelinin Biyomas Verimleri Bakımından Karşılaştırılması	54
4.5.4. BA' nın Yaralanmış ve Yaralanmamış Bakterilerin Üretilmesinde Standart Vasatlarla Karşılaştırılması	55
4.5.5. Farklı Toprak, Su, Et ve Süt Örneklerinin BA ve Tanık Vasatlarda Oluşturdukları Aerobik ve Anaerobik Bakteri Sayılarının Karşılaştırılması ..	58
4.6. Araştırmada Kullanılan Test Mikroorganizmalarının Çeşitli Özellikleri İle İlgili Değerlendirmeler	58
4.7. BB (BA) Besiyerinin Fizyolojik ve Kimyasal Özellikleri	59
4.8. BB' nin Maliyetinin Standart Vasatlarla Karşılaştırılması	59
KAYNAKLAR	61

1. GİRİŞ

Mikroorganizmaları laboratuarlarda üretmek, saf olarak ayırmak, teşhislerini yapmak ve işlevleriyle ilgili her türlü çalışmalarını yürütebilmek için, onların ihtiyacı olan besin maddelerini ihtiva eden ortamlar hazırlanır. Bu ortamlara « besiyeri » veya «besi ortamı» adı verilir (Pekin, 1980; Temiz, 1994; Halkman, 1995).

Mikrobiyoloji biliminin başlangıcından günümüze kadar besi ortamları üzerindeki çalışmalar artan bir yoğunlukla devam etmektedir. Mikroorganizmalar için besiyeri hazırlama çalışmaları, ilk olarak 1860 yılında Pasteur tarafından başlatılmıştır. Başlangıçta, bakterileri çoğaltmak için et ekstraktı kullanılmış ve 1881 yılında Robert Koch, kültür ortamlarını tarif ederek, et ekstraktının yanı sıra pepton ve tuz (NaCl)' un kullanılmasını önermiştir (Bridson, 1995). Bakteriyoloji biliminin ortaya çıktığı yıllarda, besiyeri olarak yapısında çeşitli kimyasal maddeler bulunduran bazı eriyikler, sebze suları, bitki haşlamaları, süt, serum ve hatta idrar ve özellikle et suyu kullanılmış ve buna jelatin ilavesiyle katı besiyerleri hazırlanmıştır. Ayrıca serum pıhtısı, pişmiş patates ve yumurta akı gibi maddeler üzerine de ekimler yapılmıştır. 1880 yılında Naegel' in ilk kez bakteri üretiminde peptonu teklif etmesinden sonra, bu madde besiyerlerinin çok önemli bir elemanı olmuş ve «et sulu pepton» temel besiyeri olarak bakteriyolojiye girmiştir. 1909 yılında W.D. Frost tarafından dehidre tekniğinin ortaya konulmasından sonra, besiyerlerinin ticari olarak üretimi başlamıştır. Bugün, besiyeri üreten ve pazarlayan pek çok ticari firma bulunmaktadır (Unat, 1980; Bridson, 1995).

1950' li yıllardan bu yana bazı besiyeri üretici firmalar tarafından kullanıma hazır halde besiyerleri üretilmekte ve pazarlanmaktadır. Bu firmalar (Merck, Difco, Oxoid, BBL, BioMericus, Sigma, LabM vb.) tarafından hazırlanmış dehidre besiyerleri kullanımının tartışmasız bir üstünlüğü vardır. Bu besiyerleri vidalı kapaklı tüp ve şişelerde sıvı besiyerleri, yatık agar besiyerleri, dik agar besiyerleri, eritilerek bir petriye dökülmek üzere hazırlanmış agarlı besiyeri ile petri kutularında agarlı besiyeri olarak üretilmektedir. Petri kutularındaki agarlı besiyerleri tek bir besiyerini içerebildikleri gibi, ikiye bölünmüş petri kutularında iki farklı selektif besiyeri de bulundurabilirler. Agarlı besiyerleri plastik petri kutularında hazırlanmaktadır. Bunların dışında yüzey

kontaminasyonlarının belirlenmesi ve kültürlerin taşınmasında kullanılan hazır agar slaytları da bulunmaktadır. Bu tip besiyerlerini kullanmak, laboratuarda büyük kolaylık sağlamaktadır (Halkman, 1995).

Son yıllarda besiyeri hazırlama üzerindeki araştırmalar daha çok selektif besiyerlerinin hazırlanması üzerinde yoğunlaşmıştır. Özellikle mikrop-sentez bağlamında önemli bir mikrobiyoloji alt dalı olan «endüstriyel mikrobiyoloji» alanında yapılan araştırmalarda, mikroorganizmalar yoluyla sentezlenecek maddenin sentez hızı, miktarı, saflığı ve aktivitesi gibi özellikler, organizmanın üretildiği ortamla doğrudan ilişkili bulunmuş ve bu nedenle sentezlenecek madde ve kullanılan mikroorganizmaya göre yeni besiyeri hazırlama üzerindeki çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Çetin, 1983; Rale, 1984; Leeson et al., 1984; Al-Zoreky ve Sandine, 1990; Rambach, 1990; Lim et al., 1995; Dave ve Shah, 1996). Diğer taraftan günlük hayatımızda geniş kullanım alanı bulunan organik çözücüler, antibiyotikler ve enzimler gibi önemli ürünlerin sentezi, mikroorganizmaların kullanıldığı fermentasyon süreçleriyle gerçekleştirilmektedir. Bu ürünlerin genetik manipölasyonlarla değiştirilmiş mutant ırklarla sentezi de günümüz mikrobiyoloji çalışmalarının başında gelmektedir. Bu nedenle mutant ırkların izolasyonu ve teşhisi için yeni besiyeri hazırlama çalışmaları da önem kazanmaktadır (Çetin, 1983; Zuniga et al., 1994).

Mikroorganizmaların besin ihtiyaçları türlere göre değişmektedir. Ancak tüm bakterilerin kimyasal yapısında başlıca aşağıdaki maddelerin bulunduğu saptanmıştır (Gottschalk, 1985).

1. Protein, nükleik asit, polisakkarit ve lipit gibi molekül ağırlığı büyük olan organik maddeler,
2. Koenzim, ara metabolitler gibi molekül ağırlığı küçük olan organik maddeler,
3. Su, fosfor, kükürt, sodyum, potasyum, demir gibi inorganik maddeler.

Diğer taraftan mantarların kimyasal yapıları da bakterilere benzerlik göstermektedir. Tek farklılık, mantarların hücre duvarlarında kitin bulunmasıdır. Beslenmede, bakteriler için gerekli maddelerin hemen tümü, mantarlar için de geçerlidir. Mantarlar

bakterilerden farklı olarak polivinil klorür gibi plastikleri, alkil benzen sülfonat gibi deterjanları ve bazı pestisitleri kullanabilirler. Ayrıca, selüloz yapısındaki maddeleri de bakterilerden daha iyi kullanırlar (Çetin, 1983).

Mikroorganizmaların üretilmesi için gerekli maddeler, başlıca bilinen ana gruplar altında toplanabilir:

1. Mikroorganizmanın ana yapısını oluşturan karbon, hidrojen, oksijen ve azot gibi elementleri sağlayan besinler,
2. Fosfor, potasyum, kükürt ve magnezyum gibi ikinci derecede önemli olan elementleri sağlayan besinler,
3. Mikroorganizmanın metabolizmasında koenzim olarak çeşitli işlevleri olan vitaminleri içeren besinler,
4. Üreme için zorunlu veya az gerekli iz elementler.

Besiyerleri, doğal ve yapay olmak üzere başlıca iki kısma ayrılır. Doğal besiyerleri genellikle daha ucuz olduklarından, fermentasyon teknolojisinde çok kullanılırlar. Bunlara örnek olarak üzüm ve bira şıraları, melas, soya küsbesi, süt ve artıkları, pepton, mısır maserasyon sıvısı gibi maddeler gösterilebilir. Ancak doğal besiyerlerinin bileşimlerinin tam olarak belirlenmesi oldukça zordur ve bu nedenle mikrobiyoloji laboratuvarlarında, özellikle bilimsel çalışmalarda yapay besiyerleri kullanılır. Bazı besiyerleri genel amaçlı olabilir. Bunlar, çeşitli mikroorganizmaların gelişmesine elverişlidir. Bazıları ise seçici olup, ancak belli mikroorganizmaların geliştirilmesinde kullanılır (Pekin, 1980; Hasenekoğlu, 1983; Halkman, 1995).

Gerek ülkemiz ve gerekse dünyada mikrobiyolojik çalışmaların artmasına paralel olarak, besiyeri ihtiyacı da artmaktadır. Çünkü mikrobiyoloji ve mikroorganizmalarla çalışılan her yerde mutlaka gerekli olan besiyerleri, son derece yüksek fiyatlarla pazarlanmaktadır. Gerek kontrol ve gerekse eğitim faaliyetlerini rutin olarak sürdüren insan, hayvan ve bitki sağlığı ve toprak mikrobiyolojisi ile uğraşan hastane, üniversite, çeşitli sağlık ve araştırma kuruluşlarının kullandıkları besi ortamlarının miktarları düşünülürse, bunun ekonomimize yüklediği parasal yükün ağırlığı daha iyi anlaşılabilir. Ülkemizde ticari besiyeri üretimi olmaması sebebiyle, mikrobiyolojik çalışmalarda

kullanılan besiyerleri Difco, Oxoid ve Merck gibi dış kaynaklı firmalardan sağlanmaktadır. Rutin kontrollerde bile çok miktarlarda kullanılan temel besiyerlerinin ithali, ülkemiz ekonomisi için önemli miktarlarda döviz kaybına sebebiyet vermektedir. Örneğin Türk Standartlarında gıdaların mikrobiyolojik analizlerinde mezofilik aerobik bakteri sayımında Plate Count Agar (PCA) önerilmekte ve bir örneğin analizi için yaklaşık 1300000 TL' lik besiyeri kullanılmaktadır (Topal, 1982; Dizdar ve Develi, 1987). Oysa, belirli işlerin sürekli olarak her zaman her yerde ucuza yapılabilmesi, yabancılara mümkün olduğu kadar muhtaç olmadan, yurdumuzun kaynaklarından yararlanılarak geliştirilen yöntemlerin uygulanmasıyla mümkün olabilir. Bugün ki durum, mikrobiyoloji kuruluşlarımızı besiyeri, serum ve antijen gibi kullanmaya mecbur olduğumuz maddeleri yapıp satan yabancı firmaların pazarı haline getirmiş, çok pahalı işleyen ve sürekli olabileceği garantisi olmayan bir hizmet şekli yaratmıştır. Bu nedenlerle, yerli kaynaklardan besiyeri hazırlama çalışmalarının artırılmasına şiddetle ihtiyaç vardır. Ülkemizin ünlü mikrobiyologlarından Ekrem Kadri Unat, bu ihtiyacı vurgulamak için « Türkleştirilmiş bir tıbbın ve mikrobiyolojinin özlemi içerisindeyiz » ifadesini kullanmıştır (Unat, 1980).

Besiyerindeki organik madde ihtiyacı protein ve karbohidrat içeren maddelerden sağlanmaktadır. Bu maddeler bitkisel ve hayvansal orijinli olabilirler (Bridson, 1995; Topal, 1982) Hayvansal kaynaklar arasında et ve et unları, balık ve balık unları, kazein ve jelatin gibi maddeler (Unat, 1980; Kosaric ve Miyata, 1981; Topal, 1982) , bitkisel kaynaklar arasında ise muz kabukları (Pujol ve Bahar, 1983), Hint Kirazı Çekirdeği (Malathi ve Laddha, 1989), şeker kamışı atıkları (Molina et al., 1984), meşe palamutu meyvası (Kekos ve Kauklos, 1985), yerfıstığı unu, soya unu, pamuk tohumu ve ayçiçeği tohumu (Topal, 1982) gibi maddeler kullanılmaktadır.

Önemli bir tarımsal potansiyele sahip olan ülkemizde, çok çeşitli tarımsal atıklar kullanılmadan araziye atılmakta ve ham madde kaybına neden olduğu gibi çevre kirliliği de oluşturmaktadır. Bu maddeler organik ve inorganik maddeler bakımından zengin oldukları için, doğrudan arazi ve suya atıldıklarında, mikrobiyal florada önemli değişikliklere yol açmaktadır. Topraktaki organik madde artışı, sulardaki çözünmüş oksijen miktarını hızla azaltmakta ve bunun sonucunda, başta balıklar olmak üzere,

sudaki tüm canlı hayat tehdit edilmektedir. Diğer taraftan, bu çeşit sularla tarımsal sulama yapılan alanlarda, topraktaki anaerobik şartların ortaya çıkması sonucu, bitki popülasyonunun önemli yaralar aldığı ve verimde düşüşler olduğu da belirtilmektedir (Srivastava ve Shai, 1987; Kadioğlu ve Algur, 1990; Algur ve Kadioğlu, 1992; Kadioğlu ve Algur, 1992). Çeşitli endüstriyel atıkların su kirletme özellikleri Tablo 1.1' de verilmiştir (Algur, 1992).

Tablo 1.1. İnsan ve Endüstriyel Atıkların Su Kirletme Özellikleri Yönünden Karşılaştırılması

İşletmenin cinsi	İşletme kapasitesi	İnsana eşdeğer
Bira fabrikası	1 hl bira	100
Meyva suyu fabrikası	100 kg meyva	50
Şeker fabrikası	100 kg pancar	70
Süt fabrikası	1 ton süt	30
Peynir fabrikası	100 kg peynir	130
Selüloz fabrikası	1 ton sülfite sıvısı	1500
Mezbaha	1 hayvan	21

Bu nedenlerle tarımsal ve endüstriyel atıkların çevreye atılmak yerine, faydalı ürünlere dönüştürülmesi hem onların çevre kirletici etkilerini azaltacak, hem de ekonomik kazançlar sağlanacaktır.

Ülkemizdeki başlıca tarımsal sanayii yan ürünleri şunlardır: Meyva ve sebze işleme tesislerine ait atıklar (elma, narenciye, üzüm, kayısı, şeftali, domates, patates vb.), kuru üzüm ve incirden alkol üretiminden sonra arta kalan küspe (vinas), melastan alkol üretiminden sonra arta kalan sıvı atık (şilempe = vinas), bira sanayii atıkları (arpa ıslatma suyu ile arpa ve malt işlenmesi sırasında ortaya çıkan toz), nişastalı gıda maddelerinden arta kalan ve nişasta içeren sıvı atıklar, süt endüstrisi yan ürünü olan peynir altı suyu, şeker sanayii yan ürünü olan melas, zeytinlerden yağ alındıktan sonra

arta kalan zeytin kara suyu, tahıl hasadından arta kalan saman ve benzeri maddeler, kesimhane atıkları, keçiboynuzu, döküntü incirler ve çiğit küspesi (Aran, 1978; Yazıcıoğlu vd., 1980; Aran vd., 1985; Algur,1990).

Ülkemiz kesimhane atıkları bakımından da oldukça zengindir. Bu atıkların büyük bir kısmı değerlendirilmekle birlikte, önemli miktarlarda üretilmesine rağmen, ne yazık ki boynuz değerlendirilmemekte ve çoğunlukla atılmaktadır. Gerek Erzurum Et Kombinası ve gerekse diğer bir çok kombina yetkilileriyle yaptığımız görüşmelerden, boynuzun bazı yıllar yabancı firmalar tarafından satın alındığı (kilosu 35000 TL' den), alınmadığı dönemlerde ise değerlendirilemediği ifade edilmiştir. Oysa, boynuz kemik ve kan dokularını içeren ve fibröz proteinlerce zengin olan bir yapıdır (Aysan, 1977). Sığır ve koyunlarda bulunmakta olan boynuzların temelini processus cormialis adı verilen kafatasındaki frontal kemiğin çıkıntıları teşkil etmektedir. Boynuzların corium tabakaları, bu kemik çıkıntının her tarafını kaplayıp onun periost tabakası ile kaynaşmış bir durum gösterir. Boynuz dibindeki corium, deri ile olan birleşme yerinde kalın olup, üzerinde bir sürü uzun ve ince papillalara sahiptir. Bu papillalar boynuzların uçlarına doğru seyrekleşip, boyları da kısaldığı gibi, buralarda boynuzların uzunlamasına eksenlerine paralel bir takım laminalar da bulunmaktadır (Aysan, 1977).

Yukarıda kısaca anatomik yapısı özetlenen boynuzun, büyük bir kısmı fibröz proteinlerden oluşmaktadır. Fibröz proteinler hayvanlarda bol miktarda bulunan, ektodermal hücrelerden türevlenen, suda çözünmeyen proteinlerdir. Fibröz proteinler, keratinler ve kollagenler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Keratinler, derinin yapısal protein elemanlarını oluşturur ve hayvanlarda ektodermal orijinli tüy, saç, yün, pul, tırnak, boynuz ve ipek gibi oluşumlar bu tip proteinlerden meydana gelmektedir. Keratinler α ve β keratinler olmak üzere ikiye ayrılmakta olup, bunlardan α keratinlerden, boynuz ve tırnak sert (kırılabilir) özelliğe sahip olup bilinen amino asitleri ve özellikle sistein amino asitini bol miktarda içermektedir. Diğer taraftan, daha yumuşak ve esnek olan saç, yün, tüy gibi keratinler ise sistein amino asitini daha az oranda bulundurlar. β keratinler örümcek ağları, ipek, balık pulu, kuşlar ve sürüngenlerin çıkıntı şeklindeki gagalarında bulunmakta ve sistein amino asitini ihtiva etmemektedir. Fibröz proteinlerin

diğer bir türü kollagenlerdir. Bu proteinler çok hücreli hayvanlar ve omurgalılarda bol miktarda bulunmakta olup, uzamaya ve kopmaya karşı büyük bir direnç gösterme özelliğine sahiptir. Bağ dokunun büyük bir kısmını oluşturan bu proteinler kemik, diş, kan damarları, derinin fibröz matrisleri ve tendonlarda bulunmaktadır (Lehninger, 1975; Baden ve Kubilus, 1983 a ve b; Katsuumi et al., 1989; Voet ve Voet, 1990).

Farklı fibröz proteinler üzerinde yapılan kimyasal araştırmalar neticesinde, bu proteinlerin Cu, Zn, Fe, Mn, Na, Ca, Mg ve K gibi elementleri ve canlı beslenmesinde önemli temel amino asitleri yeterli miktarlarda bulundurdukları gösterilmiştir (Vellar, 1970; Alexiou et al., 1980; Katsuumi et al., 1989; Baden ve Kubilus, 1983 a ve b; Dekio ve Jidoi, 1989).

Tüy, tırnak, saç ve boynuz gibi oluşumlardaki fibröz proteinler, çevrede bol miktarda bulunabilen ve değerlendirilemeyen ürünlerdir. Bu nedenle, yukarıda açıklanan zengin içeriği de dikkate alan araştırmacılar, fibröz proteinleri değerlendirmek için çeşitli araştırma faaliyetlerini sürdürmektedir. Nitekim Atalo ve Gashe (1993), proteaz aktivitesi yüksek bir termofilik *Bacillus* türü kullanarak çeşitli fibröz proteinlerin enzimatik hidrolizini sağlamışlar ve son ürünlerin protein kaynağı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Proteinlerin parçalanması asit ve bazların çözücü özelliğine, tuzların konsantrasyonuna, çözücünün polaritesine, pH ve sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle hidroliz işleminde asit, baz ve enzimatik uygulamalar etkili sonuç vermektedir. Örneğin 6N HCl polipeptit içerisindeki amino asitleri birbirinden ayırmakta fakat sülfür içeren amino asitler varsa, bunların zincirden ayrılması için yüksek sıcaklık uygulanması gerekmektedir. Ayrıca, 2N NaOH' ın 100 °C' de 4-8 saat süreyle uygulanması durumunda da peptit bağlarının parçalandığı ancak, bu uygulamanın serin, treonin ve arginin gibi amino asitlerin yapısını bozduğu ifade edilmektedir (Lehninger, 1975; Voet ve Voet, 1990).

Fibröz proteinler, suda, seyreltik tuz çözeltilerinde, seyreltik asit ve alkalilerde çözünmezler. Bir kadavranın diğer organları kısa sürede çürüdüğü halde, saç ve tırnak

gibi kısımları uzun süre bozulmadan kalmaktadır. Keratinler ancak ditio bağlarını açan polisülfürler ve alkali tioglikolatta çözünürler (Tekman ve Öner, 1981). İşte fibröz proteinlerin bu zor parçalanabilen yapıları nedeniyle, onların hidrolize edilmelerinde, diğer proteinlere göre daha ağır şartlar uygulanmaktadır. Protein hidrolizinde asit, baz ve enzim ve bunların birlikte uygulandığı yöntemler en çok önerilen yöntemlerdir. Nitekim muz kabuğu materyalinden besiyeri hazırlamak için yapılan araştırmalarda asit ve baz uygulaması birlikte gerçekleştirildiğinde daha yüksek hidrolizat verimlerine ulaşılmıştır (Pujol ve Bahar, 1983). Ancak hidrolize edilecek materyalin yapısına göre sadece asit veya sadece baz ile hidroliz işlemleri de başarılı olabilir. Nitekim mikrobiyal biyomas üretmek amacıyla, şeker kamışı bitkisinin hidrokarbon kaynakları % 10' luk NaOH çözeltisi kullanılarak parçalanabilmiştir (Molina et al., 1984). Aynı araştırmacılar, alkali uygulamasının yüksek sıcaklıkla birlikte yapılması halinde daha başarılı sonuçlar alınacağını belirtmişlerdir. Fibröz proteinler (-S-S-) bağlarına sahip olmaları nedeniyle hidrolize edilmeleri en güç proteinlerdendir. Bu nedenle, yüksek asit ve bazik ortamlarda parçalanabilirler. Hatta, hem asit hemde bazik hidroliz işleminin yüksek sıcaklık ve enzimatik hidrolizle birleştirilerek uygulanmasını öneren araştırmacılar da bulunmaktadır (Baden ve Kubilus, 1983 a ve b; Dalev, 1990).

Çeşitli ham maddelerden yola çıkılarak besiyeri hazırlama çalışmalarında genellikle şu yol izlenmektedir (Larkin, 1972; Aran, 1978; Unat, 1980; Yazıcıoğlu vd., 1980; Aran vd., 1985; Hao et al., 1987; Buchanon et al., 1987; Rodrigues ve Kroll, 1989; Algur, 1990; Al-Zoreky ve Sandine, 1990; Brenner et al., 1993; Gunasinghe et al., 1994; Jawad et al., 1994; Jermini et al., 1994; Halkman, 1995; Bridson, 1995).

1. Hammadde, toksik maddelerinden arındırılmalı veya bu özellikteki maddeleri en aza indirilmelidir,
2. Hammadde, mikroorganizmaların kullanabileceği forma dönüştürülmelidir (Hidroliz),
3. Hidrolizatın kimyasal içeriği belirlenmeli ve mikrop üremesini engelleyen maddeler varsa uzaklaştırılmalıdır,
4. Kimyasal içeriğinde, mikroorganizma için gerekli olan maddelerden her hangi birisi yoksa veya yetersiz ise bu madde eklenerek hidrolizat zenginleştirilmelidir,

5. Hidrolizat hangi organizmanın (veya organizmaların) üretilmesinde kullanılacaksa, o organizmaları temsil eden örnekler hidrolizatta üretilmeli ve optimal konsantrasyon belirlenmelidir,
6. Besiyeri olarak kullanılacak hidrolizatın üretici potansiyeli, diğer mikroorganizmalar ve yaralı mikroorganizmalar bakımından da araştırılmalıdır,
7. Teklif edilen besiyerinin fiziksel olarak istenilen özelliklere sahip olup olmadığı araştırılmalıdır (Besiyeri şeffaf, üreyen mikroorganizmaların kolonilerini net bir şekilde gösteren, çökelti oluşturmayan, çabuk bozulmayan, kolay kontamine olmayan ve kararlı bir yapıya sahip olmalıdır),
8. Teklif edilen besiyerinin olumlu ve olumsuz yönleri belirlenerek, besiyeri etiketine açıkça kaydedilmesi sağlanmalıdır.

Yeni besiyeri hazırlama çalışmaları dünyada selektif besiyerlerinin ve yaralanmış (injured) bakterilerin üretimini sağlayan besiyerlerinin geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmıştır (Buchanon et al., 1987; Hao et al., 1987; Rodrigues ve Kroll, 1989; Al-Zoreky ve Sandine, 1990; Brenner et al., 1993; Gunasinghe et al., 1994; Jawad et al., 1994; Jermini et al., 1994). Özellikle çeşitli gıda maddelerinde, gıdaya uygulanacak ön işlemler sonucunda yaralanan bakterileri üretebilen besiyerleri iki bakımdan önem kazanmaktadır:

1. Bu bakterilerin başlangıçta üretilerek varlığının gösterilmesi, depolanmış ürünlerdeki mikrop içeriği bakımından yanlışlıkların ortadan kaldırılmasına yardımcı olmaktadır, 2. Bu bakterileri üretebilen besiyerleri «üretici potansiyeli güçlü besiyerleri» olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, ön işleme tabi tutulmuş gıda maddelerinin rutin mikrobiyolojik analizlerinde (toplam aerobik canlı bakteri, koliform bakteri, fekal koliform bakteri vb. sayıları) Nutrient Agar (NA) ve Plate Count Agar (PCA) gibi vasatlar yetersiz bulunmakta ve yaralı bakterileri üretebilen vasatların seçimi ve geliştirilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir. Günümüzde bu amaçla kullanılması önerilen vasatların başında Trypticase Soy Broth-Agar (TSB-A) gelmektedir (Rodrigues ve Kroll, 1989; Jermini et al., 1994). Bu amaçla geliştirilen besiyerleri, suni olarak yaralanmış bakterilerle ve onların normal formlarıyla (noninjured) ayrı ayrı denenmekte ve canlandırma (iyileştirme = recovering) oranları ortaya çıkarılmaktadır. Yaralama işlemleri sıcak ve soğuk uygulamaları ve metal iyonlarıyla ayrı ayrı

yapılabilmektedir (Ray et al., 1978; Heinis et al., 1978; Mcfeters et al.,1982; Lechevaller et al., 1983; Petzel ve Hartman, 1985; Robbins et al.,1987; Rodriques ve Kroll, 1989; Hutton et al., 1991; Sörqvist 1993; Jermini et al., 1994). Çünkü gıdalar tüketime sunulmadan önce farklı ön işlemlerden geçirilmektedir (tuzlama, klorlama, sıcak ve soğuk şokuna maruz bırakma, çeşitli kimyasal maddelerle dezenfeksiyon vb.). Hatta, yaralanmış bakterilere içme sularında da önemli oranda rastlanmakta ve bu bakterilerin yaralanmasına klorlama ve başka dezenfektanlarla muamele, ısıtma, dondurma, asitli zemin, güneş ışığı ve UV ışınlarının sebep olduğu kaydedilmektedir (Lechevaller et al., 1983).

Ülkemizde besiyeri temini daima yabancılara bağımlı olarak kalmış, Fransız kültürünün baskın olduğu zamanlarda Fransız ürünleri, söz gelimi Chaponeaut Peptonu, Alman teknolojisi yurda girince de Alman ve Avusturya yöntemleri ve ürünleri, söz gelimi Witte Peptonu kullanılmıştır. Harpler ve ekonomik krizlerin ortaya çıktığı ve yabancılarla ilişkilerin bozulduğu zamanlarda, besiyeri hazırlayamama sorunu ortaya çıkmış, aşı ve serum yapımı aksamıştır. Birinci Dünya Harbi sırasında besiyeri gibi araç ve gereç sağlanması da büyük bir sorun olmuş, Türk bakteriyolog ve kimyagerleri kolera, tifo, paratifo salgınlarıyla mücadelede, eldeki olanaklardan ihtiyaçlarını karşılamak için çırpınmışlar ve ilk « Türk Peptonunu » hazırlamışlardır. Bu çalışmalar besiyeri hazırlama konusunda bir başlangıç olmuş ve bunu takip eden yıllarda sığır kanı, pişmiş kıyma, boğa testisi, balık eti gibi ürünlerden farklı amaçla besiyeri hazırlanmış ve kullanılmıştır (Unat, 1980).

Yukarıda bahsedilen dışa bağımlılık problemi günümüzde de devam etmekte olup, ülkemizde yeni besiyeri hazırlama çalışmaları hala güncelliğini ve önemini korumaktadır. Bu nedenlerle, araştırmamızda değerlendirilmeden araziye atılan bir atık madde olan boynuzun, üniversite, hastane vb. kurumların mikrobiyoloji laboratuvarlarında, rutin olarak kullanılan vasatlar yerine besiyeri olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. MATERYAL

2.1.1. Kimyasal Maddeler

Bu araştırmada kullanılan maddeler analitik saflıkta olup, MERCK, OXOID ve DIFCO firmalarından temin edilmiştir. Mikroorganizmaların üretilmesi için kullanılan Nutrient Broth (=NB, Oxoid) ve Trypticase Soy Broth (=TSB, Oxoid) standart olarak firmalarından satın alınmış, Plate Count Broth (PCB) ise Bridson (1995) tarafından verilen formülayona göre laboratuvarımızda hazırlanmıştır. Sıvı besiyerlerinin katılaştırılmasında, yukarıda belirtilen besiyerlerine % 1,5 oranında Agar Agar (Oxoid) ilave edilmiştir (Bridson, 1995).

2.1.2. Boynuz

Çalışmada, Erzurum Et Kombinasından temin edilen yerli mor karaman koç boynuzları kullanılmıştır. Beyaz veya beyaza yakın renkteki boynuzlar tercih edilmiş ve boynuzların en fazla bir günlük olmasına dikkat edilmiştir.

2.1.3. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan bakterilerden *Bacillus cereus* NRRL-3711, *Bacillus subtilis* NRS-744, *Lactobacillus bulgaricus* NRRL B-548 ve *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496 Dr. C.P. Kurtzman' dan (1815 North University Street, Peoria, Illinois 616004, USA). *Streptococcus thermophilus* 70885 MCG-50, *Clostridium sporogenes* 413, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella sp.* Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter sp.*, *Corynebacterim sp.* ve *Proteus sp.* Dr Ayten Kadanalı' dan (Atatürk üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Erzurum), *Pseudomonas putida* 39/D, Dr Diana Cruden'den (Iowa University, USA) *Clostridium tetani* ve *Veillonella sp.* Bakteriyolog Tevfik Akman' dan

(Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı) temin edilmiştir. *Listeria monocytogenes* B₂ türü ise peynirden kendi izolatomuzdur.

2.2. METOT

2.2.1. Boynuzun Fiziksel Olarak Parçalanması

Boynuzlar önce musluk suyu ile, daha sonra deiyonize su ile iki kere yıkanmış ve pastör fırınında 120 °C' de kurutulmuştur. Kurutulmuş boynuzlar çekiç yardımı ile küçük parçalara ayrıldıktan sonra önce bir öğütücüde (Wileymill Arthur, Standart Model No: 3 U.S.A) ezilmiş ve son olarak Warring Blender ile un haline getirilmiştir. Boynuz unu (BU) hidroliz işlemlerine kadar cam kavanoz içerisinde muhafaza edilmiştir.

2.2.2. Boynuz Ununun Kimyasal Olarak Hidrolize Edilmesi

30 g boynuz unu alınarak üzerine 5 g (NH₄)₂SO₄, 5 g KH₂PO₄ ilave edilmiş ve 75 ml 6 N HCl içerisinde 80 °C' ye ayarlı etüvde 24 saat süre ile bekletildikten sonra 121 °C' de tekrar 1 saat ısıtma işlemi uygulanmıştır. Kısmen hidrolize olmuş materyalin pH' sı 10 N NaOH ile 8' e ayarlandıktan sonra 80 °C' de 24 saat süre ile bekletilmiş ve 1 N HCl kullanılarak pH' sı 7' ye ayarlanmıştır. Materyal ikinci defa 121 °C' de 1 saat süre ile bekletilmiş, soğutma ve Whatman no 1 filtre kâğıdından süzme işlemlerini müteakiben hacmi saf su ile 400 ml' ye tamamlanmıştır. Bu son çözelti «Ham Boynuz Ekstraktı (HBE) » olarak isimlendirilmiştir. Filtre kâğıdından geçemeyen materyalin kurutularak tartılması ile hidrolize olma oranı belirlenmiştir.

2.2.3. HBE' nin Zenginleştirilmesi

Yukarıda hazırlanması açıklanan 400 ml' lik HBE' ye 10 g maya ekstraktı (DIFCO) ve 20 g glikoz ilave edilerek « Stok Boynuz Çözeltisi (SBÇ) » hazırlanmıştır. SBÇ otoklavda steril edilmiş ve bu çözülden farklı konsantrasyonlarda sıvı « Boynuzlu Broth (BB) » ve katı « Boynuzlu Agar (BA) =% 1,5 agar ilaveli BB » besiyerleri hazırlanmıştır.

2.2.4. Ham Boynuz Ekstraktının (HBE) Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi

2.2.4.1. Toplam Kuru Madde ve Kül Miktarının Belirlenmesi

HBE' nin kuru madde ve kül içeriği Kurt (1984)' un belirttiği şekilde AOAC (1980) yöntemi uygulanarak saptanmıştır. Kuru madde içeriğinin belirlenmesi için 100 ml HBE 105 ± 2 °C' lik etüvde 3 saat kurutulmuş ve tartılmıştır. Kül miktarının belirlenmesi içinde belirli bir miktar HBE 600 °C' lik fırında tamamen gri renk alıncaya kadar yakılmış ve ağırlık farkları belirlenerek saptanmıştır.

2.2.4.2. HBE' de Bulunan ve Mikroorganizma Üremesinde Rolü Olan Bazı Minerallerin Miktarının Belirlenmesi

HBE' de bulunan Mg, Ca, Cu, Mn, Zn, Na ve K minerallerinin miktarı Atomik Absorbsiyon Cihazı (UV HS-360 GERMENY) ile standart çözeltilere karşı okunarak belirlenmiştir.

2.2.4.3. HBE' nin Toplam Ham Protein Miktarının Belirlenmesi

HBE' nin toplam azot miktarı Aran (1981)' ın belirttiği şekilde Makro Kjeldhal metoduna göre saptanmıştır. Hidroliz işlemi sırasında katılan (NH₄)₂ SO₄ içerisindeki azot miktarı toplam azot miktarından çıkarıldıktan sonra 6,25 faktörü ile çarpılmak suretiyle toplam ham protein miktarı bulunmuştur.

2.2.4.4. HBE' nin Toplam Şeker Miktarının Belirlenmesi

HBE' nin Toplam Şeker Miktarı standart glikoz çözeltisi kullanılarak Antrone Yöntemi ile belirlenmiştir (Scott ve Melvin, 1953).

2.2.4.5. HBE' nin Amino Asit Bileşiminin Belirlenmesi

HBE' nin amino asit analizi, Tübitak Marmara Araştırma Merkezinde (Gebze) Biotronic LC 5001 Amino Acid Analyzer (Wissenschaftliche Gerate, West Germany) kullanılarak yapılmıştır.

2.2.5. Stok Boynuz Çözeltilisinin (SBÇ) Mikroorganizmaları Optimal Üretme Konsantrasyonunun Belirlenmesi

SBÇ' nin saf su ile farklı konsantrasyonları (% 1,2,3,4,5,6,7,8,9 ve 10) hazırlanmış ve bunların 100 ml' si 250 ml' lik erlenmayer içerisine konularak test mikroorganizmalarla (*B. cereus*, *L. bulgaricus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *S. thermophilus*) aşılanmıştır. Aşılama işleminde aynı inokulum konsantrasyonunu sağlamak için, test mikroorganizmaların Nutrient Broth besiyerindeki 24 saatlik kültürlerinden, fizyolojik su içerisinde 340 nm dalga boyunda 0.05 absorbans verecek şekilde mikroorganizma süspansiyonu hazırlanmış ve bu süspansiyondan % 1 oranında inokülasyon yapılmıştır (Kuru vd., 1995). Erlenmayerler, 150 rpm' de 30-35 °C' de 72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda kültürler 5000 rpm' de 10 dk süreyle santrifüj edilmiş ve iki kere saf su ile yıkandıktan sonra 60 °C' de sabit ağırlığa kadar kurutulmuştur. Biyomas verimi g/l olarak belirlenmiştir (Karaboz ve Öner, 1988; Algur, 1990). Ayrıca optimal SBÇ konsantrasyonunun belirlenmesi için canlı aerobik bakteri sayımları da yapılmış ve bu amaçla, önce Nutrient Broth' da 24 saat süreyle üretilen test mikroorganizmaları (eşit yoğunluk ve hacimde) farklı konsantrasyonlardaki SBÇ katı vasatlarına dökme plak yöntemi ile inoküle edilmiştir. Test mikroorganizmaları için uygun sıcaklıklarda 24, 48 ve 72 saatlik sürelerin sonunda oluşan koloniler sayılmış ve sonuçlar CFU/ml olarak verilmiştir.

Gerek biyomas analizleri ve gerekse aerobik canlı bakteri sayımlarından elde edilen bulgular % 5' lik SBÇ' nin optimal konsantrasyon olduğunu göstermiş ve bundan sonraki denemeler % 5 SBÇ ile yürütülmüştür. Optimal konsantrasyon olarak belirlenen % 5' lik SBÇ, Boynuz Broth (BB) olarak isimlendirilmiştir. Boynuz Agar (BA) hazırlamak için BB' ye % 1,5 oranında agar (Oxoid) ilave edilmiştir.

2.2.6. SBC' nin Zenginleştirilmesinde Kullanılan Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Litresinde 1 g maya ekstraktı, 2 g glikoz , 0,5 g (NH₄)₂ SO₄ ve 0,5 g KH₂PO₄ bulunduran bir kontrol besiyeri hazırlanmış ve 2.2.5' de belirtilen yöntemle test mikroorganizmaları ile aşılansarak elde edilen biyomas verimleri, 2.2.5 deney sonuçlarına göre optimal konsantrasyonlu SBC olarak belirlenen besiyerinden elde edilen biyomas verimleriyle karşılaştırılmıştır.

2.2.7. BB ve BA' nın Standart Besiyerleri İle Karşılaştırılması

BB ve BA' nın mikroorganizmaları üretme potansiyelleri; Nutrient Broth (NB), Plate Count Broth (PCB) Trypticase Soy Broth (TSB) ve bunların katılaştırılmış formları ile karşılaştırılmıştır.

2.2.7.1. Test Organizmaların BB ve Standart Besiyerlerinde Biyomas Verimleri Bakımından Karşılaştırılması

Test organizmalar (*B. cereus*, *B. subtilis*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. thermophilus*, *E. aerogenes*, *P. putida*, *Citrobacter sp.*, *Proteus sp.*, *S. aureus*, *Corynebacterium sp.*) önce NB içerisinde çoğaltılmış ve 5000 rpm' de mikroorganizma peleti elde edildikten sonra pelet saf su ile yıkanmış ve fizyolojik su içerisinde 340 nm dalga boyunda 0,05 absorbans verecek şekilde süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyon inokulum materyali olarak kullanılmış, biyomas üretimi ve ölçümünde 2.2.5'de belirtilen yol izlenmiştir.

2.2.7.2. Test Organizmaların BA ve Standart Besiyerlerinde Üremelerinin Yüzey Ekimi Yöntemi İle Karşılaştırılması

Test organizmaları 50 ml NB içeren 100 ml' lik erlenmayerler içerisinde çoğaltılmış ve elde edilen mikrop süspansiyonlarından 0,1 ml alınarak 9 cm çaplı petrilerdeki katı ortamlara eküvyon yardımıyla film halinde inoküle edilmiştir. Uygun sıcaklıkta 48 saat

inkübasyon sonunda Üremenin yoğunluğu +, ++, +++ şeklinde verilmiştir (Topal, 1982; Al- Zoreky ve Sandine, 1990).

2.2.7.3. BA ve Standart Besiyerlerinin Yaralı (Injured) ve Yaralanmamış (Non-Injured) Bakterileri Üretme Potansiyellerinin Karşılaştırılması

Test mikroorganizmalar 50 ml NB içeren 100 ml' lik erlenmayerler içerisinde 24 saatlik inkübasyona tabi tutulmuş ve elde edilen kültürden 2' şer ml alınarak ayrı ayrı 5 ml' lik 2 deney tüpüne aktarılmıştır. Tüplerden birincisi 60 °C' ye ayarlanmış su banyosunda 15 dakika bekletilmiş ve buz içerisinde hızla soğutulmuştur (Sıcak şoku ile yaralama). Tüplerden ikincisi -20 °C' de 7 gün süre ile bekletilmiş ve oda sıcaklığında çözünmesi beklenmiştir (Soğuk şoku ile yaralama). Her iki yaralama işlemi sonucunda elde edilen mikroorganizma süspansiyonlarından fizyolojik suda dilisyonları hazırlanarak BA ve standart katı vasatlara dökme plak yöntemi ile ekim yapılmış, canlı bakteri sayıları (CFU/ml) belirlenmiştir. Kontrol amacıyla, yaralama işlemine maruz bırakılmamış aynı başlangıç örneklerinden ekimler yapılmıştır (Mossel et al., 1980; Feng ve Hartman, 1982; Petzel ve Hartman, 1985; Rodrigues ve Kroll, 1989; Sörqvist, 1993).

2.2.7.4. Et ve Süt örneklerinin Total Aerobik Canlı Bakteri Sayılarının BA ve Standart Besiyerlerinde Karşılaştırılması

Et ve süt örneklerinde sayımlar normal ve yaralanmış bakteriler için ayrı ayrı yapılmıştır. Bu amaçla önce et ve süt örneklerine yaralama (injuring) işlemleri uygulanmıştır. (Mossel et al., 1980; Petzel ve Hartman, 1985; Reasoner ve Geldreich, 1985; Rodrigues ve Kroll, 1989; Al- Zoreky ve Sandine, 1990). Farklı yerlerden steril şartlarda 3 et (Migros' tan , Erzurum Et Kombinasından ve Kasap' tan) ve 3 süt (Taze inek sütü, pastörize süt ve İşleme tabi tutulmamış köy sütü) örneği alınmış ve aynı gün total canlı aerobik bakteri sayımları yapılmıştır. Bu amaçla et örneklerinden steril şartlarda 11 g alınmış ve 100 ml fizyolojik su içerisinde Warring Blender' de 5 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Homojenattan 1 ml alınarak steril fizyolojik su içerisinde dilisyonları hazırlanmış ve NA, PCA, TSA ve BA besiyerlerine dökme plak yöntemiyle ekimleri yapılmıştır. Besiyerlerinde 35 °C' de 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda

oluşan bakteri kolonileri sayılmıştır (Gökten, 1990). Diğer taraftan süt örneklerinden 1' er ml alınarak uygun dilisyonları hazırlanmış ve yukarıda açıklanan yöntemle total aerobik canlı bakteri sayımları gerçekleştirilmiştir (Özdemir ve Sert, 1991). Toprak ve su örneklerindeki canlı aerobik bakteri sayımı için aşağıdaki yol izlenmiştir:

Üç adet toprak (Atatürk Üniversitesi Çamlığından temin edilen orman toprağı, bahçe toprağı ve tarla toprağı) ve üç adet su (kaynak suyu, nehir suyu ve musluk suyu) örneğı steril şartlarda laboratuara getirilmiş ve 24 saat içerisinde denemeye alınmıştır. Toprak örneklerinin 1 g' ı 10 ml su içerisinde çözülmüş ve çökmesi beklendikten sonra sudaki bakteriler için sayım yapılmıştır. Fizyolojik su içerisinde örneklerin 10^{-9} ' a kadar dilisyonları hazırlanmış ve bu örneklerin 1 ml' si steril petrilere konularak BA ve standart vasatlar ile karıştırılmıştır. Petriler 35 °C' de 48 saatlik inkübasyondan sonra sayıma alınmış ve 30-300 arasında koloni kapsayan petriler değerlendirilmiştir (Larkin, 1972; Lechevallier et al., 1980; Reasoner ve Geldreich, 1985). Su örnekleri içinde kirlilik derecesine göre seyreltme yapılarak (veya hiç seyreltmeden) yukarıdaki yol izlenmiştir.

2.2.7.5. Anaerobik Mikroorganizmaların BA ve Standart Ortamlarda Üreme Durumlarının Karşılaştırılması

Toprak, su, et ve süt örneklerinden 2.2.7.4' de anlatıldığı şekilde hazırlanan uygun dilisyonlardan steril petri kutularına 1' er ml aktarılmış ve üzerine besiyerleri ilave edilmiştir. Aşılana plaklar 35 °C' de 96 saat anaerobik jar içerisinde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayılmış ve dilisyon faktörüyle çarpılarak total anaerobik bakteri (TAB) / ml olarak verilmiştir (Temiz,1994; Çon, 1995). Saf anaerobik kültürlerin (*Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Clostridium sporogenes* ve *Veillonella sp.*) besiyerlerinde üreme durumlarının karşılaştırılmasında da besiyerlerine yüzey ekimi yöntemi uygulanmış ve anaerobik jarda 35 °C' de 96 saatlik inkübasyon sonucunda üreme « +, ++, +++ » şeklinde değerlendirilmiştir (Topal, 1982; Al- Zoreky ve Sandine, 1990).

2.2.8. Sonuçların İstatistiki Olarak Değerlendirilmesi

Bütün sayım ve ekim işlemleri üç paralel yürütölmüş ve aritmetik ortalamaları alınmıştır. Koloni oluşmayan (Üreme Yok=ÜY) besiyerlerindeki değerler sıfır kabul edilmiş olup sonuçlar arasındaki farkın önem derecesini belirlemek için « Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi » uygulanmıştır (Yıldız, 1986).



3. BULGULAR

3.1. Ham Boynuz Ekstraktının (HBE) Kimyasal Bileşimi

HBE' nin kimyasal yapısı ve amino asit bileşimi ile ilgili analiz sonuçları Tablo 3.1 ve 3.2' de verilmiştir.

Tablo 3.1. HBE' nin Kimyasal Yapısı

Bileşenler	g / 100 ml
Kuru madde	8,8
Kül	1,98
Azot	0,881
Ham protein (N x 6,25)	5,50
Toplam şeker	0,500
Mg	0,16
Ca	0,164
Cu	0,017
Mn	0,036
Zn	0,064
Fe	0,123
Na	1,023
K	0,113

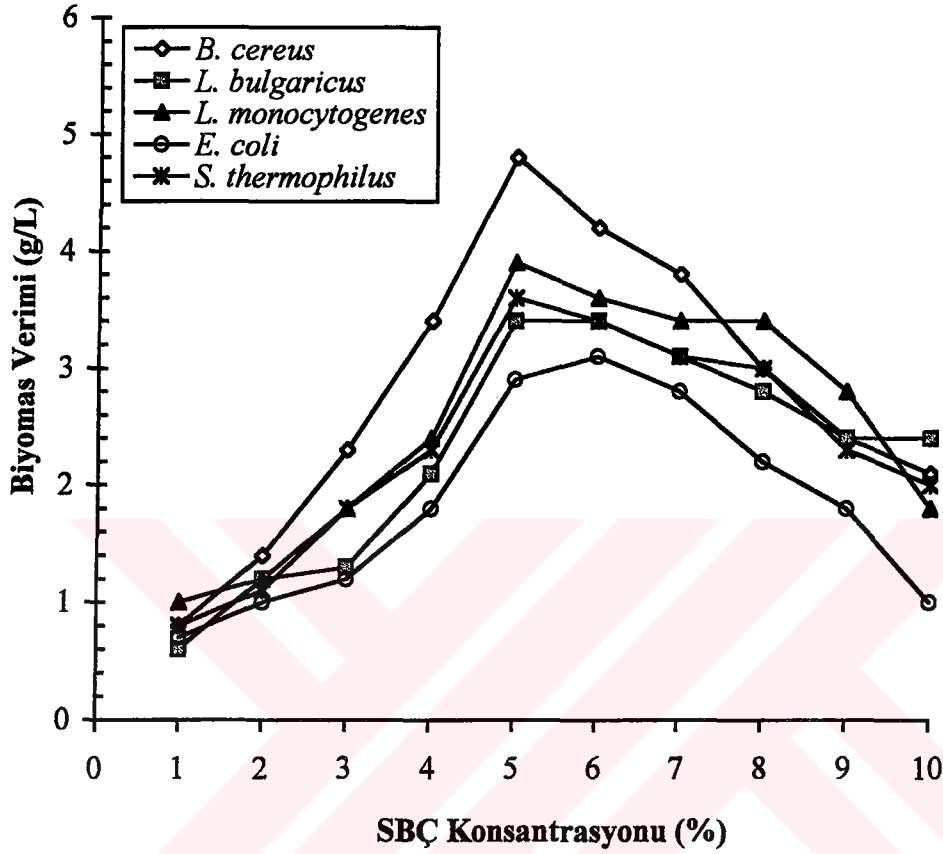
Şekil 3.1' de de görüldüğü gibi HBE hem organik hem de inorganik maddeler bakımından oldukça zengindir. Özellikle mikroorganizmaların üremeleri için gerekli olan mineral maddeler ile azot ve karbon kaynaklarını yeterince içeriyor olması dikkat çekici bulunmuştur. Diğer taraftan HBE nin amino asit içeriği bakımından da oldukça zengin olduğu görülmektedir. Kükürtlü amino asitlerden sistin ve metyoninin HBE içerisindeki miktarları sırasıyla 21 mg/100 g ve 41 mg/100 g dır. Amino asitlerden glutamik asit en yüksek oranda (817 mg/100g) bulunmakta, bunu sırasıyla glisin, arginin ve lösin amino asitleri izlemektedir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. HBE' nin Amino Asit İçeriği

Amino asitler	mg/100g (HBE)
Aspartik Asit	390
Treonin	200
Serin	287
Glutamik Asit	817
Glisin	519
Alanin	319
Sistin	21
Valin	256
Metionin	41
İzolöysin	163
Löysin	402
Trozin	161
Fenilalanin	167
Histidin	72
Lisin	221
Arjinin	466

3.2. SBC' nin Mikroorganizma Üretimi İçin En Uygun Konsantrasyonunun Belirlenmesine İlişkin Araştırma Sonuçları

SBC' nin farklı konsantrasyonlarının (% 1,2,3,4,5,6,7,8,9 ve 10) test mikroorganizmalar üzerindeki etkileri Şekil 3.1' de verilmiştir.



Şekil 3.1. SBÇ' nin farklı konsantrasyonlarının test mikroorganizmalar üzerindeki etkileri

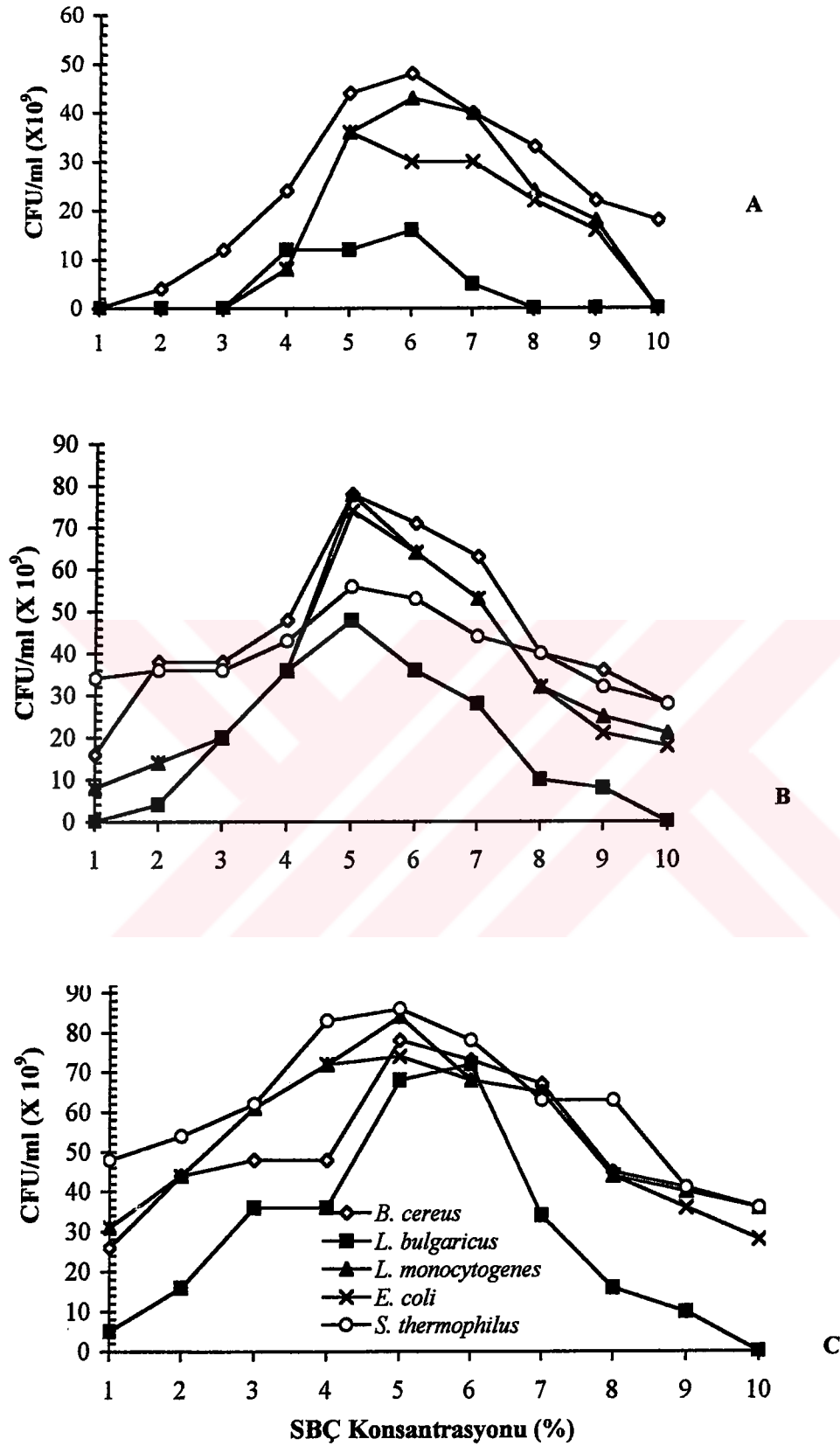
Şekil 3.1' de de görüldüğü gibi *E. coli* dışındaki test mikroorganizmalar için en yüksek biyomas verimleri % 5' lik SBÇ uygulamalarından elde edilmiştir. *E. coli*' de ise % 6' lık SBÇ en yüksek biyomas verimini sağlamıştır. Belirlenen optimal konsantrasyonlarda, maksimum biyomas verimi 4,8 g/l ile *B. cereus* şuşundan, minimum biyomas verimi ise 3,1 g/l ile *E. coli* şuşundan elde edilmiştir. SBÇ' nin %5 ve %6' lık konsantrasyonlarından daha yüksek değerlerde, biyomas verimlerinde önemli düşüşler gözlenmiştir.

3.3. SBC' nin Farklı Konsantrasyonlarının Test Mikroorganizmaların Üreme Hızına (Jenerasyon Süresine) Etkileri

Test mikroorganizmaların 24 saatlik sıvı kültüründen 1 er ml alınarak 10^{-9} luk dilisyonu hazırlanmış, bu dilisyonlardan farklı konsantrasyonlardaki SBC plaklarına ekim yapılarak 24, 48 ve 72 saatlik süreler sonunda koloni sayımları yapılmış ve sonuçlar Tablo 3.3 ve Şekil 3.2' de verilmiştir.

Tablo 3.3. Farklı Konsantrasyonlardaki SBC' nin Test Mikroorganizmaların Üreme Hızına Etkileri

Bakteriler	Süre	SBC Konsantrasyonu (%) / CFU/ml ($\times 10^9$)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>B. cereus</i>	24	-	4	12	24	44	48	40	33	22	18
	48	16	38	38	48	78	71	63	40	36	28
	72	26	44	48	48	78	73	67	45	41	36
<i>L. bulgaricus</i>	24	-	-	-	12	12	16	5	-	-	-
	48	-	4	20	36	48	36	28	10	8	-
	72	5	16	36	36	68	72	34	16	10	-
<i>L. monocytogenes</i>	24	-	-	-	8	36	43	40	24	18	-
	48	8	14	20	36	78	64	53	32	25	21
	72	31	44	61	72	84	68	65	44	40	36
<i>E. coli</i>	24	-	-	-	8	36	30	30	22	16	-
	48	8	14	20	36	74	64	53	32	21	18
	72	31	44	61	72	74	68	65	44	36	28
<i>S. thermophilus</i>	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48	34	36	36	43	56	53	44	40	32	28
	72	48	54	62	83	86	78	63	63	41	36



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki SBC' nin test mikroorganizmaların üreme hızına etkileri. A : 24 saatlik inkübasyon B : 48 saatlik inkübasyon C : 72 saatlik inkübasyon

Tablo 3.3 ve Şekil 3.2' de de görüldüğü gibi 24 saatlik inkübasyon sonucunda *S. thermophilus* suşunda koloni oluşmamıştır. Bu inkübasyon süresi sonucunda, diğer dört tür bakteriden üçünde (*B. cereus*, *L. bulgaricus*, *L. monocytogenes*) en yüksek koloni sayımları % 6' lık SBC uygulaması sonucunda elde edilmiştir. Ancak 48 saatlik inkübasyon sonucunda, bütün test organizmaları için % 5' lik SBC' nin en yüksek koloni oluşumu sağladığı görülmüştür. 72 saatlik süre sonunda da sadece *L. bulgaricus* türünde % 6' lık SBC uygulamasında en yüksek koloni sayılmış, diğer türler için en yüksek CFU değerleri % 5' lik SBC' den elde edilmiştir. Bütün türler için % 5-6' lık SBC' den daha yüksek konsantrasyonlarda CFU değerlerinde önemli düşüşler görülmüştür. Hatta % 10' luk SBC uygulamalarında, *L. bulgaricus* türünde denenen inkübasyon sürelerinin hiçbirinde koloni oluşmamıştır. Şekil 3.1, Tablo 3.3 ve Şekil 3.2' deki bulgular dikkate alınarak % 5' lik SBC' nin optimal konsantrasyon olduğu kabul edilmiş ve bundan sonraki denemeler % 5' lik SBC (BB veya BA) ile yürütülmüştür.

3.4. SBC' nin Zenginleştirilmesinde Kullanılan Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesine İlişkin Araştırma Sonuçları

Katkı maddelerinden (Litrede g olarak 0,5 (NH₄)₂SO₄; 0,5 KH₂PO₄; 1 maya ekstraktı; 2 glikoz) hazırlanan besiyerinin kullanılmasıyla test mikroorganizmalardan elde edilen biyomas verimleri Tablo 3.4' de gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi katkı maddelerinin üretme potansiyelleri oldukça zayıf bulunmuştur. Katkı maddeleri ile hazırlanan besiyerinden elde edilen en yüksek biyomas verimi *B. cereus* suşundan (0,9 g/l), en düşük biyomas verimi ise *S. thermophilus* suşundan (0,5 g/l) elde edilmiştir. *Lactobacillus bulgaricus* ise bu besiyerinde ürememiştir.

Tablo 3.4 SBC' nin Zenginleştirilmesinde Kullanılan Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyelleri

Bakteriler	Biyomas Miktarı g/L
<i>B. cereus</i>	0,9
<i>L. bulgaricus</i>	00
<i>L. monocytogenes</i>	0,7
<i>E. coli</i>	0,8
<i>S. thermophilus</i>	0,5

3.5. BA ve Standart Agarların Test Organizmaları Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

3.5.1. Yüzey Ekimleri Bakımından Karşılaştırılması

Test mikroorganizmalar, hem BA hem de standart agarlara yüzey ekimi yöntemiyle inoküle edilmiş ve inkübasyondan sonraki üreme durumları Tablo 3.5' de verilmiştir.

Tablo 3.5. Test organizmaların BA ve Standart Vasatlarda Yüzey Ekimi Sonucu Üreme Durumlarının Karşılaştırılması

Bakteriler	Besiyerleri			
	NA	PCA	TSA	BA
<i>B. cereus</i>	+++	+++	+++	+++
<i>B. subtilis</i>	+++	++	+++	+++
<i>L. bulgaricus</i>	++	+	++	++
<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	+++	+++	+++	+++
<i>L. monocytogenes</i>	++	++	+++	+++
<i>S. thermophilus</i>	++	++	+++	+++
<i>E. aerogenes</i>	+++	+++	+++	+++
<i>P. putida</i>	++	+++	+++	+++
<i>S. aureus</i>	++	++	+++	+++
<i>Citrobacter sp.</i>	++	++	+++	+++
<i>Proteus sp.</i>	++	+++	+++	+++
<i>Corynebacterium sp.</i>	++	+++	+++	+++
<i>Salmonella sp.</i>	+	++	+++	+++

+ : Zayıf üreme
 ++ : İyi üreme
 +++ : Çok iyi üreme

Tablo 3.5' de de görüldüğü gibi *B. cereus*, *L. plantarum*, *E. coli* ve *E. aerogenes* suşları kullanılan 4 vasatta bir birlerine oldukça yakın bir üreme göstermiştir. Denenen 14 test organizmasından 12' si TSA ve BA besiyerlerinde, 4' ü NA besiyerinde, 6' sısı ise PCA besiyerinde diğerlerine nazaran daha iyi bir üreme göstermiştir. Genelde BA' nın TSA' ya yakın bir üreme potansiyeline sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Diğer taraftan BA besiyerinde üreyen test mikroorganizmalardan hazırlanan preparatlar mikroskopik incelemeye tabi tutulmuş ve standart vasatlarda üreyenlerden morfolojik ve hacimsel bakımlardan farklı olmadığı anlaşılmıştır.

3.5.2. Bazı Zorunlu Anaerobik Bakteriler İle Toprak, Su, Süt ve Et Örneklerindeki Anaerobik Bakterilerin BA ve Standart Agarlardaki Yüzey Ekimi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Et, süt, toprak ve su örnekleri ile bazı zorunlu anaerobik bakterilerin (*Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Clostridium sporogenes*, *Veillonella sp.*) yüzey ekimlerinin BA ve tanık agarlardaki üreme durumları Tablo 3.6' da özetlenmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi kullanılan test mikroorganizmaların üreme durumları NA, TSA ve BA da oldukça iyi ve birbirine yakın, PCA' da ise zayıf bulunmuştur. Diğer taraftan pastörize sütte hiçbir vasatta üreme gözlenmemiştir. Et ve işlenmemiş sütteki anaerobikleri NA, TSA ve BA' nın üreme potansiyelleri de iyi ve bir birine yakın bulunmuştur. Ancak toprak ve kaynak suyu örneklerindeki anaerobiklerin üretilmesinde NA ve PCA' nın daha iyi olduğu görülmüştür. Yine musluk suyu örneğinde hiçbir vasatta üreme olmayışı dikkat çekici bulunmuştur.

Tablo 3.6 Anaerobik Test Organizmalar İle Çeşitli Numunelerdeki Anaerobik Bakterilerin BA ve Standart Vasatlarda Yüzey Ekimi Sonucu Üreme Durumlarının Karşılaştırılması

Bakteri veya Numune	Besiyerleri			
	NA	PCA	TSA	BA
<i>Clostridium perfringens</i>	+++	+	+++	+++
<i>Clostridium tetani</i>	+++	++	+++	+++
<i>Clostridium sporogenes</i>	+++	++	+++	+++
<i>Veillonella sp.</i>	+++	+	+++	+++
Et	+++	++	+++	+++
İşlenmemiş süt	+++	++	+++	+++
Pastörize süt	-	-	-	-
Kaynak suyu	+++	+++	++	++
Musluk suyu	-	-	-	-

+ : Zayıf üreme +++ : Çok iyi üreme
 ++ : İyi üreme - : Üreme yok

3.6. BB ve Standart Vasatların Test Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Biyomas Verimleri Bakımından Karşılaştırılması

Dört farklı besiyerinde 72 saatlik süre sonucunda test mikroorganizmalardan elde edilen biyomas verimleri Tablo 3.7' de verilmiştir.

Tablo 3.7. BB ve Tanık Besiyerlerinin Test Mikroorganizmalardaki Biyomas Verimine Etkileri

Bakteriler	Besiyerleri / Biyomas Miktarı (g/L)			
	NB	PCB	TSB	BB
<i>B. cereus</i>	3,02 a	3,0 a	3,9 b	3,4 b
<i>B. subtilis</i>	2,3 a	2,6 a	3,1 b	2,8 a
<i>L. bulgaricus</i>	2,81 a	2,4 a	3,8 b	3,3 b
<i>L. plantarum</i>	00 a	00 a	1,2 b	0,9 b
<i>E. coli</i>	3,6 a	3,2 a	3,8 a	3,6 a
<i>L. monocytogenes</i>	3,12 a	2,61 a	3,82 b	3,4 b
<i>S. thermophilus</i>	2,8 a	3,2 a	3,6 b	3,8 b
<i>E. aerogenes</i>	3,1 a	3,4 a	3,2 a	3,3 a
<i>P. putida</i>	4,2 a	4,2 a	3,8 a	4,3 b
<i>Citrobacter sp.</i>	3,2 a	3,0 a	3,0 a	2,9 a
<i>Proteus sp.</i>	3,1 a	3,1 a	3,8 b	4,0 b
<i>S. aureus</i>	3,6 a	3,9 a	3,7 a	3,7 a
<i>Corynebacterium sp.</i>	3,1 a	3,6 a	4,0 b	4,0 b

Aynı harfle gösterilen biyomas miktarları arasındaki fark önemsizdir ($p<0,05$).

Tabloda da görüldüğü gibi test mikroorganizmalardan 8' inde, BB' den elde edilen biyomas miktarları, NB ve PCB' den elde edilenlerden istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) derecede yüksek bulunmuştur. TSB' den elde edilen biyomas verimleri, BB' den elde edilenlerle karşılaştırıldığında 13 test organizmadan birinde (*B. subtilis*) TSB' den elde edilen biyomas verimi, birinde de (*P. putida*) BB' den elde edilen biyomas verimi önemli derecede daha yüksek bulunmuş, diğer 11 türde ise biyomas verimleri birbirlerine çok yakın bulunmuştur. En yüksek biyomas verimleri 4,3 g/l ile BB

üzerinde üretilen *P. putida* suşundan elde edilmiş olup bunu sırasıyla TSB ve BB vasatlarında *Corynebacterium sp.* den elde edilen biyomas verimleri (4,0 g/l) izlemektedir. En düşük biyomas verimlerinin ise *L. plantarum* türünden elde edildiği, hatta bu türün NB ve PCB vasatlarında üremediği görülmektedir.

3.7. BA ve Standart Vasatlarda Üretilen Yaralanmış ve Yaralanmamış Bakterilerin «Canlı Aerobik Bakteri» Sayıları Bakımından Karşılaştırılması

Yaralanmış ve yaralanmamış bakterilerin BA ve standart vasatlarda oluşturdukları koloni sayıları Tablo 3.8' de verilmiştir. Tablo 3.8' de de görüldüğü gibi normal bakterilerin ısı ve soğuk şoku ile yaralanmaları, kullanılan 13 test mikroorganizmadan 12' sinin koloni sayılarında önemli düşüslere yol açmıştır. Örneğin *B. cereus*' un yaralanmamış fertleri NA, PCA, TSA ve BA besiyerlerinde 24 saatlik süre sonunda sırasıyla 104×10^9 , 116×10^9 , 94×10^9 ve 81×10^9 koloni oluştururken, aynı türün ısı ve soğuk şokuna bırakılması neticesinde elde edilen koloni sayıları yine bu besiyerleri için sırasıyla 64×10^5 , 74×10^4 ; 82×10^6 ve 76×10^6 ; 64×10^6 , 80×10^6 ; 90×10^6 , 71×10^6 olarak gerçekleşmiştir. Yine *P. putida*' nın yaralanmamış fertleri NA, PCA, TSA ve BA besiyerlerinde 24 saatlik süre sonunda sırasıyla 134×10^9 , 152×10^9 , 124×10^9 ve 134×10^9 koloni oluştururken, ısı ve soğuk şoku uygulaması neticesinde hiçbir besiyerinde üreme görülmemiştir. Ancak test mikroorganizmalardan *S. thermophilus* ısı ve soğuk şokundan etkilenmediği gibi hatta ısı şoku uygulaması neticesinde, bu türün üremesinde artış gözlenmiştir. Örneğin yaralanmamış *S. thermophilus* NA, PCA, TSA ve BA besiyerlerinde ilk 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiç üreme göstermezken, ısı şoku uygulaması sonucunda bu besiyerlerinde sadece TSA ve BA' da ürediği (22×10^9 ve 18×10^9) görülmektedir. Diğer taraftan et ve süt örneklerinde de yaralama işleminin canlı bakteri sayısında önemli düşüslere sebep olduğu görülmüştür. Nitekim et örneklerinde yaralama işlemi yapılmadan gerçekleştirilen koloni sayıları, 24 saatlik süre sonunda NA, PCA, TSA ve BA için sırasıyla 88×10^6 , 74×10^6 , 63×10^6 ve 60×10^6 olduğu halde ısı şoku ile yaralama sonucunda NA ve PCA besiyerlerinde üreme olmamış, ancak TSA ve BA besiyerlerinde 18×10^5 ve 10×10^5 lik koloni sayılarına ulaşılmıştır. Benzer durum soğuk şokuna maruz bırakılmış et ve süt örneklerine uygulanan yaralama işlemleri sonucunda da gözlenmiştir (Tablo 3.8).

Genel olarak, sıcaklık şokunun hem test mikroorganizmalar, hem de et ve sütteki mikroorganizmalar için soğuk şokundan daha çok tahrip edici (yaralayıcı) olduğu da görülmüştür (Tablo 3.8).

Yaralanmamış test mikroorganizmaların ve et ve süt örneklerinin denenen vasatlarda oluşturdukları koloni sayılarını karşılaştırdığımızda, genellikle TSA' nın diğer vasatlardan daha yüksek bir üretme potansiyeline sahip olduğunu, bunu sırasıyla BA ve PCA vasatlarının takip ettiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Nitekim gerek test mikroorganizmalar gerekse et ve süt örneklerinden ekimler sonucunda TSA 6 örnekte , BA 3 örnekte PCA ise 2 örnekte en yüksek koloni sayılarını vermiştir. Ancak TSA' da *Citrobacter sp.* ve *E. aerogenes* BA' dakinden daha fazla koloni oluşturmakla birlikte, aradaki farkın istatistiki bakımdan önemsiz olması dikkat çekici bulunmuştur.

Isı şoku ile yaralanmış test mikroorganizmaların ve et ve süt örneklerindeki bakterilerin denenen vasatlarda oluşturdukları koloni sayılarını karşılaştırdığımızda, kullanılan test mikroorganizmalardan 7' sinde (*L. bulgaricus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. putida*, *S. aureus*, *Proteus. sp.* ve *Corynebacterium sp.*) TSA besiyeri, 6' sında (*B. cereus*, *B. subtilis*, *S. thermophilus*, *E. aerogenes*, *Citrobacter sp.*, ve *Salmonella sp.*) ise BA besiyeri en fazla koloni oluşumunu sağlayan vasatlardır. Ancak TSA' nın BA' dan üstün olduğu suşlardan sadece dördünden (*E. coli*, *P. putida*, *S. aureus* ve *Corynebacterium sp.*) elde edilen koloni sayıları arasındaki fark önemli bulunmuş ($p<0,05$) diğer 3 suş arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur. Yine BA' nın TSA' dan daha üstün olduğu suşlardan elde edilen koloni sayıları arasındaki fark da BA' nın üstün olduğu bütün suşlar için istatistiki bakımdan önemsizdir. Ancak hem BA, hem de TSA' dan elde edilen koloni sayıları ile denenen diğer vasatlardan (NA, PCA) elde edilen koloni sayıları arasındaki farkın istatistiki bakımdan önemli ($p<0,05$) olması dikkat çekici bulunmuştur. Ayrıca 24 ve 48 saatlik süre sonunda TSA ve BA' dan elde edilen koloni sayıları arasındaki farkların genellikle 72 saatlik süre sonunda kapatıldığı da görülmektedir.

Isı şokuna maruz bırakılmış et ve süt örneklerindeki bakterilerin BA ve standart vasatlardaki koloni sayılarını karşılaştırdığımızda, yine TSA ve BA' dan elde edilen koloni sayılarının PCA ve NA' dan elde edilenlere göre oldukça yüksek olduğu ($p<0,05$ düzeyinde önemli) ancak, iki uygulama dışında (et ve süt için 24 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen koloni sayıları bakımından) BA ve TSA' dan elde edilen koloni sayıları arasındaki farkın önemsiz olduğu görülmüştür (Tablo 3.8)

Soğuk şoku ile yaralanmış test mikroorganizmaların ve et ve süt örneklerindeki bakterilerin denenilen vasatlarda oluşturdukları koloni sayılarını karşılaştırdığımızda kullanılan test mikroorganizmalardan tümü TSA' da diğer besiyerlerinden daha iyi üremiştir. Ancak soğuk şokuna uğratılmış bakteriyi üretme özelliği bakımından BA ikinci sırada gelmektedir. BA' nın PCA ve NA' ya göre oluşturduğu koloni sayısına baktığımızda *E. coli*, *Corynebacterium sp.* ve *P.putida* suşlarının BA' da oluşturduğu koloni sayısı PCA ve NA' da oluşturduğu koloni sayısından istatistiki bakımdan önemli derecede ($p<0,05$) yüksek olduğu görülmektedir. Diğer türler için de genellikle BA' dan elde edilen koloni sayıları NA ve PCA' dan elde edilenlere göre yüksek bulunsun da aralarındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir. Ayrıca et ve süt örneklerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle süt örneklerinde BA' nın oluşturduğu koloni sayılarının PCA ve NA' ya göre önemli derecede yüksek bulunması dikkat çekmiştir (Tablo3.8).

Tablo 3.8. Yaralanmış ve Yaralanmamış Bakterilerin BA ve Standart Vasatlarında Oluşturdıkları Koloni Sayıları

Bakteri Türleri	İnkübasyon Süresi (saat)	İşlem Türü	NA	Besiyeleri / CFU/ml		
				PCA	TSA	BA
<i>B. cereus</i>	24	N	104 X10 ⁹ a	116 X10 ⁹ a	94 X10 ⁹ a	81 X10 ⁹ a
		I	64 X10 ⁵ a	74 X10 ⁴ a	76 X10 ⁶ b	82 X10 ⁶ b
		S	64 X10 ⁶ b	80 X10 ⁶ ab	90 X10 ⁶ a	71 X10 ⁶ ab
	48	N	148 X10 ⁹ a	144 X10 ⁹ a	146 X10 ⁹ a	140 X10 ⁹ a
		I	102 X10 ⁵ a	84 X10 ⁴ ab	100 X10 ⁶ b	114 X10 ⁶ b
		S	100 X10 ⁶ ab	106 X10 ⁶ ab	128 X10 ⁶ a	104 X10 ⁶ ab
	72	N	148 X10 ⁹ a	146 X10 ⁹ a	146 X10 ⁹ a	142 X10 ⁹ a
		I	116 X10 ⁵ a	94 X10 ⁴ ab	116 X10 ⁶ b	124 X10 ⁶ b
		S	104 X10 ⁶ a	116 X10 ⁶ a	132 X10 ⁶ a	124 X10 ⁶ a
<i>B. subtilis</i>	24	N	61 X10 ⁸ b	74 X10 ⁸ a	64 X10 ⁸ b	60 X10 ⁸ b
		I	31 X10 ⁶ b	42 X10 ⁶ ab	46 X10 ⁶ a	54 X10 ⁶ a
		S	51 X10 ⁷ a	62 X10 ⁷ a	64 X10 ⁷ a	53 X10 ⁷ a
	48	N	261 X10 ⁸ a	254 X10 ⁸ a	264 X10 ⁸ a	258 X10 ⁸ a
		I	148 X10 ⁶ b	158 X10 ⁶ b	176 X10 ⁶ a	192 X10 ⁶ ab
		S	164 X10 ⁷ b	183 X10 ⁷ b	218 X10 ⁷ a	192 X10 ⁷ ab
	72	N	261 X10 ⁸ a	254 X10 ⁸ a	273 X10 ⁸ a	264 X10 ⁸ a
		I	188 X10 ⁶ a	172 X10 ⁶ a	192 X10 ⁶ a	213 X10 ⁶ a
		S	211 X10 ⁷ a	218 X10 ⁷ a	234 X10 ⁷ a	218 X10 ⁷ a
<i>L. bulgaricus</i>	24	N	ÜY b	ÜY b	24 X10 ⁹ a	16 X10 ⁹ a
		I	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		S	ÜY b	ÜY b	18 X10 ⁶ a	ÜY b
	48	N	48 X10 ⁹ b	66 X10 ⁹ ab	72 X10 ⁹ a	62 X10 ⁹ ab
		I	33 X10 ⁵ b	24 X10 ⁴ b	48 X10 ⁶ a	36 X10 ⁵ ab
		S	44 X10 ⁵ b	52 X10 ⁵ b	63 X10 ⁶ a	52 X10 ⁵ b
	72	N	78 X10 ⁹ a	68 X10 ⁹ a	76 X10 ⁹ a	72 X10 ⁹ a
		I	54 X10 ⁵ bc	44 X10 ⁴ c	98 X10 ⁶ a	71 X10 ⁵ b
		S	64 X10 ⁵ b	61 X10 ⁵ b	68 X10 ⁶ a	66 X10 ⁵ b

Aynı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemsizdir (p<0,05) YÜ : Yaygın Üreme ÜY : Üreme Yok
N : Yaralanmamış Normal Bakteri I : Sıcaklık Şoku ile Yaralanmış Bakteri S : Soğuk Şoku ile Yaralanmış Bakteri

Tablo 3.8 (Devam)

Bakteri Türleri	İnkübasyon Süresi (saat)	İşlem Türü	Kullanılan Besiyerleri / CFU/ml			
			NA	PCA	TSA	BA
<i>E. coli</i>	24	N	78 X10 ⁹ a	106 X10 ⁹ a	64 X10 ⁹ a	44 X10 ⁹ a
		I	ÜY c	ÜY c	18 X10 ⁷ a	10 X10 ⁶ b
		S	ÜY d	18 X10 ⁶ c	46 X10 ⁸ a	34 X10 ⁷ b
	48	N	124 X10 ⁹ a	112 X10 ⁹ a	106 X10 ⁹ a	120 X10 ⁹ a
		I	64 X10 ⁵ c	52 X10 ⁵ c	98 X10 ⁷ a	61 X10 ⁶ b
		S	96 X10 ⁶ c	78 X10 ⁶ c	136 X10 ⁸ a	83 X10 ⁷ b
	72	N	124 X10 ⁹ a	112 X10 ⁹ a	120 X10 ⁹ a	118 X10 ⁹ a
		I	108 X10 ⁵ c	96 X10 ⁵ c	124 X10 ⁷ a	114 X10 ⁶ b
		S	128 X10 ⁶ c	105 X10 ⁶ c	168 X10 ⁸ a	146 X10 ⁷ b
<i>L. monocytogenes</i>	24	N	96 X10 ¹⁰ ab	63 X10 ¹⁰ c	112 X10 ¹⁰ a	82 X10 ¹⁰ bc
		I	62 X10 ⁶ bc	48 X10 ⁶ c	96 X10 ⁸ a	73 X10 ⁷ ab
		S	66 X10 ⁸ b	48 X10 ⁸ b	96 X10 ⁹ a	60 X10 ⁸ b
	48	N	146 X10 ¹⁰ a	138 X10 ¹⁰ a	144 X10 ¹⁰ a	136 X10 ¹⁰ a
		I	93 X10 ⁶ c	88 X10 ⁶ c	124 X10 ⁸ a	104 X10 ⁷ b
		S	104 X10 ⁸ b	96 X10 ⁸ b	120 X10 ⁹ a	108 X10 ⁸ b
	72	N	146 X10 ¹⁰ a	138 X10 ¹⁰ a	158 X10 ¹⁰ a	144 X10 ¹⁰ a
		I	136 X10 ⁶ c	118 X10 ⁶ c	158 X10 ⁸ a	175 X10 ⁷ a
		S	126 X10 ⁸ ab	104 X10 ⁸ b	133 X10 ⁹ a	138 X10 ⁸ ab
<i>S. thermophilus</i>	24	N	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		I	ÜY b	ÜY b	22 X10 ⁹ a	18 X10 ⁹ a
		S	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	48	N	28 X10 ⁹ b	36 X10 ⁹ b	66 X10 ⁹ a	67 X10 ⁹ a
		I	15 X10 ⁹ b	17 X10 ⁹ b	64 X10 ⁹ a	60 X10 ⁹ a
		S	7 X10 ⁹ c	11 X10 ⁹ cb	51 X10 ⁹ a	58 X10 ⁹ a
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	23 X10 ⁹ a	21 X10 ⁹ a	YÜ	YÜ
		S	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ

Tablo 3.8 (Devam)

Bakteri Türleri	İnkübasyon Süresi (saat)	İşlem Türü	Kullanılan Besiyerleri / CFU/ml			
			NA	PCA	TSA	BA
<i>Citrobacter sp.</i>	24	N	158 X10 ⁹ b	131 X10 ⁹ b	248 X10 ⁹ a	180 X10 ⁹ ab
		I	ÜY b	ÜY b	18 X10 ⁶ a	21 X10 ⁶ a
		S	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	48	N	211 X10 ⁹ a	220 X10 ⁹ a	248 X10 ⁹ a	233 X10 ⁹ a
		I	66 X10 ⁵ b	51 X10 ⁵ b	92 X10 ⁶ a	98 X10 ⁶ a
		S	48 X10 ⁷ b	56 X10 ⁷ b	73 X10 ⁸ a	64 X10 ⁷ b
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	71 X10 ⁵ b	62 X10 ⁵ b	92 X10 ⁶ a	104 X10 ⁶ a
		S	94 X10 ⁷ b	90 X10 ⁷ b	144 X10 ⁸ a	90 X10 ⁷ b
<i>Proteus sp.</i>	24	N	136 X10 ⁹ a	145 X10 ⁹ a	140 X10 ⁹ a	134 X10 ⁹ a
		I	ÜY c	ÜY c	102 X10 ⁷ a	81 X10 ⁷ b
		S	78 X10 ⁸ b	96 X10 ⁸ ab	120 X10 ⁸ a	108 X10 ⁸ a
	48	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	64 X10 ⁶ b	51 X10 ⁶ b	120 X10 ⁷ a	102 X10 ⁷ a
		S	120 X10 ⁸ a	115 X10 ⁸ a	138 X10 ⁸ a	126 X10 ⁸ a
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	74 X10 ⁶ a	63 X10 ⁶ a	YÜ	YÜ
		S	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
<i>Corynebacterium sp.</i>	24	N	61 X10 ⁸ a	82 X10 ⁸ a	68 X10 ⁸ a	74 X10 ⁸ a
		I	ÜY c	ÜY c	63 X10 ⁷ a	28 X10 ⁷ b
		S	78 X10 ⁸ b	96 X10 ⁸ ab	120 X10 ⁸ a	108 X10 ⁸ a
	48	N	148 X10 ⁸ b	167 X10 ⁸ ab	160 X10 ⁸ ab	187 X10 ⁸ a
		I	61 X10 ⁶ c	81 X10 ⁶ bc	123 X10 ⁷ a	96 X10 ⁷ b
		S	120 X10 ⁸ a	115 X10 ⁸ a	138 X10 ⁸ a	126 X10 ⁸ a
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		S	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ

Tablo 3.8 (Devam)

Bakteri Türleri	İnkübasyon Süresi (saat)	İşlem Türü	Kullanılan Besiyerleri / CFU/ml			
			NA	PCA	TSA	BA
<i>E. aerogenes</i>	24	N	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		I	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		S	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	48	N	104 X10 ⁹ b	138 X10 ⁹ a	128 X10 ⁹ a	120 X10 ⁹ a
		I	ÜY b	ÜY b	34 X10 ⁷ a	48 X10 ⁷ a
		S	26 X10 ⁶ b	34 X10 ⁶ b	64 X10 ⁷ a	50 X10 ⁶ a
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	38 X10 ⁶ b	44 X10 ⁶ b	63 X10 ⁷ a	54 X10 ⁷ a
		S	38 X10 ⁶ b	38 X10 ⁶ b	88 X10 ⁷ a	56 X10 ⁶ b
<i>P. putida</i>	24	N	134 X10 ⁹ a	152 X10 ⁹ a	124 X10 ⁹ a	134 X10 ⁹ a
		I	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		S	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	48	N	260 X10 ⁹ a	248 X10 ⁹ a	280 X10 ⁹ a	263 X10 ⁹ a
		I	ÜY c	ÜY c	48 X10 ⁷ a	36 X10 ⁶ b
		S	ÜY X10 ⁶ b	ÜY b	31 X10 ⁷ a	ÜY b
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	34 X10 ⁵ c	23 X10 ⁵ c	73 X10 ⁷ a	51 X10 ⁶ b
		S	56 X10 ⁶ c	61 X10 ⁶ c	84 X10 ⁷ a	62 X10 ⁷ b
<i>S. aureus</i>	24	N	51 X10 ⁹ b	76 X10 ⁹ a	43 X10 ⁹ b	51 X10 ⁹ b
		I	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		S	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	48	N	163 X10 ⁹ a	188 X10 ⁹ a	174 X10 ⁹ a	171 X10 ⁹ a
		I	ÜY c	ÜY c	44 X10 ⁸ a	14 X10 ⁷ b
		S	48 X10 ⁷ b	56 X10 ⁷ b	73 X10 ⁸ a	64 X10 ⁷ b
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	28 X10 ⁷ b	33 X10 ⁷ b	74 X10 ⁸ a	28 X10 ⁷ b
		S	90 X10 ⁷ b	88 X10 ⁷ b	144 X10 ⁸ a	94 X10 ⁷ b

Tablo 3.8 (Devam)

Bakteri Türleri	İnkübasyon Süresi (saat)	İşlem Türü	Kullanılan Besiyerleri / CFU/ml			
			NA	PCA	TSA	BA
<i>Salmonella sp.</i>	24	N	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		I	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
		S	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	48	N	118 X10 ⁹ a	100 X10 ⁹ a	111 X10 ⁹ a	91 X10 ⁹ a
		I	69 X10 ⁷ b	51 X10 ⁷ b	32 X10 ⁸ a	23 X10 ⁸ a
		S	64 X10 ⁸ b	48 X10 ⁸ b	153 X10 ⁸ a	98 X10 ⁸ ab
	72	N	118 X10 ⁹ a	103 X10 ⁹ a	111 X10 ⁹ a	94 X10 ⁹ a
		I	123 X10 ⁷ b	110 X10 ⁷ b	43 X10 ⁸ a	48 X10 ⁸ a
		S	124 X10 ⁸ a	130 X10 ⁸ a	155 X10 ⁸ a	124 X10 ⁸ a
Et	24	N	88 X10 ⁶ a	74 X10 ⁶ a	63 X10 ⁶ a	60 X10 ⁶ a
		I	ÜY c	ÜY c	18 X10 ⁵ a	10 X10 ⁵ b
		S	34 X10 ⁵ c	48 X10 ⁴ b	61 X10 ⁵ a	26 X10 ⁵ c
	48	N	94 X10 ⁶ a	82 X10 ⁶ a	88 X10 ⁶ a	91 X10 ⁶ a
		I	64 X10 ⁴ c	42 X10 ³ b	93 X10 ⁵ a	81 X10 ⁵ a
		S	68 X10 ⁵ c	54 X10 ⁴ b	112 X10 ⁵ a	54 X10 ⁵ c
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	110 X10 ⁴ c	88 X10 ³ b	118 X10 ⁵ a	102 X10 ⁵ a
		S	111 X10 ⁵ a	96 X10 ⁴ b	112 X10 ⁵ a	97 X10 ⁵ a
Süt	24	N	104 X10 ⁶ b	128 X10 ⁶ ab	168 X10 ⁶ a	96 X10 ⁶ b
		I	41 X10 ⁴ c	48 X10 ⁴ c	94 X10 ⁵ a	66 X10 ⁵ b
		S	82 X10 ⁴ c	104 X10 ⁴ c	148 X10 ⁵ a	82 X10 ⁵ b
	48	N	196 X10 ⁶ a	178 X10 ⁶ a	196 X10 ⁶ a	188 X10 ⁶ a
		I	83 X10 ⁴ b	74 X10 ⁴ b	102 X10 ⁵ a	94 X10 ⁵ a
		S	164 X10 ⁴ b	143 X10 ⁴ b	168 X10 ⁵ a	160 X10 ⁵ a
	72	N	YÜ	YÜ	YÜ	YÜ
		I	96 X10 ⁴ b	84 X10 ⁴ b	116 X10 ⁵ a	114 X10 ⁵ a
		S	172 X10 ⁴ b	160 X10 ⁴ b	188 X10 ⁵ a	194 X10 ⁵ a

Farklı et, süt, toprak ve su örneklerinin BA ve tanık vasatlarda oluşturduğu koloni sayıları ise Tablo 3.9' da verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi et örneklerinde 72 saatlik inkübasyon sonunda maksimum koloni sayısı 136×10^5 ile 3 no' lu et örneğinden ve TSA besiyerinden elde edilmiştir. Bu örnekte BA, NA ve PCA' da oluşan koloni sayıları ise sırasıyla 128×10^5 , 110×10^5 ve 104×10^5 dir. Et örneklerinde görülen minimum koloni sayısı ise 92×10^4 olup TSA' daki 1 no' lu örnekten elde edilmiştir. Bu örnekte BA, NA ve PCA' da oluşan koloni sayıları ise sırasıyla 104×10^4 , 98×10^4 ve 93×10^4 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 3.9).

Denemeye alınan 3 farklı süt örneğindeki koloni sayılarına bakıldığında, 72 saatlik inkübasyon sonucunda maksimum koloni sayısının 193×10^6 ile BA besiyerinden 1 no'lu örnekten elde edildiği, aynı örneğin NA, PCA ve TSA besiyerlerinde oluşturduğu koloni sayılarının ise sırasıyla 148×10^6 , 128×10^6 ve 163×10^6 olduğu bulunmuştur. Süt örneklerinde minimum koloni sayısının ise $1 \text{ ÜY} \times 10^3/\text{ml}$ ile 2 no' lu örnekten elde edildiği görülmektedir.

Denemeye alınan 3 farklı toprak örneğindeki koloni sayılarına bakıldığında 72 saatlik inkübasyon sonunda maksimum koloni sayısının 143×10^5 ile TSA besiyerinden (3 no' lu örnekten) elde edildiği bunu sırasıyla NA (131×10^5), PCA ve BA (108×10^5) besiyerlerinin izlediği görülmüştür. Total aerobik canlı bakteri sayısı bakımından en kirlili su örneği ise 2 nolu örnek olup bu örnekteki maksimum koloni sayısı 108×10^2 olarak NA besiyerinden elde edilmiştir (Tablo 3.9).

Genel olarak değerlendirildiğinde toprak, su ve et örneklerinde farklı besiyerinde oluşan koloni sayılarının birbirlerine yakın olduğu ve aralarındaki farkın istatistiki bakımdan önemsiz olduğu ancak süt örneklerinde BA ve TSA besiyerlerinden elde edilen koloni sayılarının PCA ve NA' dan elde edilenlere oranla daha yüksek olduğu, hatta bazı örneklerde (1 no' lu Örnek 24 saatlik inkübasyon ve BA besiyeri) koloni sayıları arasındaki farkın istatistiki bakımdan önemli ($p < 0,05$) bulunduğu görülmektedir.

Tablo 3.9. Farklı Toprak, Su, Et ve Süt Örneklerinin BA ve Tanık Vasatlarda Oluşturdukları Koloni Sayıları

Örnekler	İS(s)	ÖN	SF	Besiyerleri / CFU/ml			
				NA	PCA	TSA	BA
Toprak*	24	1	$\times 10^5$	44 a	35 a	52 a	32 a
		2	$\times 10^4$	51 a	36 a	68 a	41 a
		3	$\times 10^5$	67 a	47 a	74 a	54 a
	48	1	$\times 10^5$	92 a	88 a	112 a	90 a
		2	$\times 10^4$	74 a	60 a	91 a	67 a
		3	$\times 10^5$	104 a	91 a	118 a	88 a
	72	1	$\times 10^5$	122 a	112 a	126 a	118 a
		2	$\times 10^4$	101 a	91 a	120 a	81 a
		3	$\times 10^5$	131 a	108 a	143 a	108 a
Su**	24	1	$\times 10$	ÜY b	ÜY b	28 a	ÜY b
		2	$\times 10^2$	58 a	36 a	61 a	50 a
		3	$\times 10$	ÜY b	ÜY b	8 a	ÜY b
	48	1	$\times 10$	64 a	66 a	58 a	52 a
		2	$\times 10^2$	93 a	81 a	104 a	84 a
		3	$\times 10$	ÜY b	ÜY b	14 a	7 a
	72	1	$\times 10$	68 a	70 a	74 a	61 a
		2	$\times 10^2$	108 a	93 a	105 a	96 a
		3	$\times 10$	11 a	13 a	17 a	14 a
Et***	24	1	$\times 10^4$	82 a	62 a	52 a	74 a
		2	$\times 10^5$	54 a	61 a	44 a	66 a
		3	$\times 10^5$	51 a	61 a	74 a	63 a
	48	1	$\times 10^4$	98 a	90 a	78 a	95 a
		2	$\times 10^5$	104 a	93 a	108 a	98 a
		3	$\times 10^5$	110 a	104 a	121 a	118 a
	72	1	$\times 10^4$	98 a	93 a	92 a	104 a
		2	$\times 10^5$	104 a	96 a	108 a	113 a
		3	$\times 10^5$	110 a	104 a	136 a	128 a
Süt****	24	1	$\times 10^6$	73 b	98 a	48 c	82 ab
		2	$\times 10^3$	38 a	46 a	61 ab	58 ab
		3	$\times 10^4$	46 a	34 a	31 a	29 a
	48	1	$\times 10^6$	105 b	116 ab	116 ab	112 a
		2	$\times 10^3$	94 a	104 a	128 a	120 a
		3	$\times 10^4$	97 a	81 a	89 a	86 a
	72	1	$\times 10^6$	148 bc	128 c	163 b	193 a
		2	$\times 10^3$	100 a	104 a	138 b	128 b
		3	$\times 10^4$	97 a	94 a	90 a	88 a

Aynı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemsizdir ($p < 0.05$)

İS : İnkübasyon Süresi; ÖN : Örnek Numarası; SF : Seyreltme Faktörü; ÜY : Üreme Yok

* : 1. Tarla Toprağı; 2. Bahçe Toprağı; 3. Orman Toprağı.

** : 1. Kaynak Suyu; 2. Aras Nehrinin Suyu; 3. Musluk Suyu.

*** : 1. Market; 2. Kasap; 3. Kombina.

**** : 1. Köy Sütü; 2. Pastörize Süt; 3. Taze İnek Sütü.

Farklı toprak, su, et ve süt rneklerinin BA ve tanık vasatlarda oluşturdukları anaerobik bakteri sayıları Tablo 3.10' da verilmiştir. Tablo da da görüldüğü gibi anaerobik mikroorganizmaları üretme potansiyeli bakımından BA ve TSA vasatları NA ve PCA' dan daha güçlü bulunmuştur. PCA vasatında her dört numuneden yapılan ekimler sonucunda anaerobiklerin zayıf bir üreme göstermesi dikkat çekici bulunmuştur. Toprak, su, et ve süt örneklerinden elde edilen maksimum anaerobik bakteri sayıları sırasıyla 84×10^3 (BA, 3 no' lu rnek), 94×10 (BA, 2 no' lu rnek), 120×10^3 (BA, 3 no' lu örnek) ve 86×10^3 (TSA, 1 no' lu örnek)' tür. BA ve TSA vasatlarından elde edilen anaerobik bakteri sayılarını karşılaştırdığımızda genellikle aradaki farkların istatistiki bakımdan önemsiz olduğu (Sadece 2 no' lu et rneğinde BA' dan elde edilen anaerobik bakteri sayısı daha yüksek ve aradaki fark istatistiki bakımdan önemli ($p < 0,05$)) görülmektedir. Ancak BA ve TSA' dan elde edilen bakteri sayılarının genellikle NA ve PCA' dan elde edilenlere göre yüksek olduğu ve özellikle PCA' dan elde edilenlerden farklarının istatistiki bakımdan önemli olduğu da bulunmuştur (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Farklı Toprak, Su, Et ve Süt Örneklerinin BA ve Tanık Vasatlarda Oluşturdukları Anaerobik Bakteri Sayıları

Örnekler	Örnek No	Seyreltme Faktörü	Besiyerleri / CFU/ml			
			NA	PCA	TSA	BA
Toprak*	1	$\times 10^3$	64 a ^K	46 b	70 a	81 a
	2	$\times 10^2$	48 a	32 a	56 a	60 a
	3	$\times 10^3$	63 a	42 b	84 a	80 a
Su**	1	ON	20 a	8 a	18 a	16 a
	2	$\times 10$	67 c	20 b	86 a	94 a
	3	ON	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
Et***	1	$\times 10^2$	64 a	24 b	71 a	85 a
	2	$\times 10^3$	66 c	31 b	73 c	104 a
	3	$\times 10^3$	78 c	42 b	93 ac	120 a
Süt****	1	$\times 10^3$	57 c	22 b	86 a	78 a
	2	ON	ÜY a	ÜY a	ÜY a	ÜY a
	3	$\times 10$	46 c	ÜY b	67 a	51 ac

ON : Seyreltme Yapılmamış Orjinal Numune

ÜY : Üreme Yok

* : 1: Tarla Toprağı; 2: Bahçe Toprağı; 3: Orman Toprağı.

** : 1: Kaynak Suyu; 2: Aras Nehrinin Suyu; 3: Musluk Suyu.

*** : 1: Market; 2: Kasap; 3: Kombina.

**** : 1: Köy Sütü; 2: Pastörize Süt; 3: Taze İnek Sütü

4. TARTIŞMA

Bu araştırmada, kombina yan ürünlerinden boynuzun bakteriler için besiyeri olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Daha önce çeşitli atık maddelerden besiyeri hazırlama çalışmalarında giriş bölümünde ifade edildiği gibi genellikle gıda ve tarım sanayii atıkları kullanılmıştır (Aran,1977; Öcal vd.,1977; Yazıcıoğlu vd., 1980; Aran, 1981; Tauk, 1982; Pujol, ve Bahar, 1983; Molina, et al, 1984; Kekos, ve Kouklos, 1985; Aran, vd 1985; Michel et al, 1987; Malathi, ve Laddha, 1989; Algur, 1990). Bu araştırma, boynuz ve benzeri fibröz proteinlerin mikrobiyal besiyeri üretimi amacıyla kullanılabilirliğinin incelenmesi bakımından bir ilki oluşturmaktadır.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarının en önemli ihtiyaçlarından biri mikroorganizma besiyerleridir. Mikroorganizmalar için daha kapsamlı ve güçlü besiyerleri hazırlama çalışmalarını 1860 yılında Pasteur tarafından başlatılmış olup, günümüzdeki araştırmalar daha çok selektif besiyerleri üzerinde yoğunlaşmıştır. (Hao et al., 1987; Al-Zoreky ve Sandine, 1990; Rambach, 1990; Brenner et al., 1993; Gunasinghe et al., 1994; Jawad et al., 1994; Lim et al., 1995; Bridson, 1995; Dave ve Shah, 1996). Ülkemizde ise mikroorganizmaları üretmek için kullanılan besiyerleri ithal edilmekte olup, önemli döviz kaybına yol açmaktadır. Üstelik boynuz ve benzeri (kıl, tırnak ve tüy) fibröz proteinlerin dünya çapında atık madde olarak çevrede bol bulunduğu belirtilmektedir (Atalo ve Gashe, 1993).

Yaptığımız bir ön araştırma sonucunda Erzurum Kombinasında yan ürün olarak yılda ortalama 18 ton boynuz birikimi olduğu, bunun çoğunlukla değerlendirilemediği ortaya çıkmıştır. Bu yan madde, bazen aracı firmalar tarafından alınarak yurt dışına ihraç edilse de (düğme, tarak, bıçak sapı ve tutkal yapımı amacıyla) ülkemizde söz konusu malzemenin yapımında sentetik maddeler tercih edildiğinden, boynuz bu amaçla kullanılmamakta ve eğer ihraç edilmezse çevreye atılarak çevre kirlenmesine yol açmaktadır. Üstelik boynuz ve benzeri fibröz proteinlerin hidrolize ürünlerinin çeşitli nutrientler bakımından oldukça zengin olduğu ve değerlendirilmesi gerektiği konusunda çeşitli yayınlar vardır (Lehninger, 1975; Baden ve Kubilus, 1983 a ve b; Katsuumi et al., 1989; Dalev, 1990; Voet ve Voet, 1990; Atalo ve Gashe, 1993). İşte bu nedenlerle,

araştırmamızda boynuz hidrolizatının genel bir bakteri besiyeri olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu yolla boynuz materyali hem faydalı bir ürüne dönüştürülecek, hem de onun çevre kirletici etkisi azaltılmış olacaktır.

4.1. Boynuz Materyalinin Hidrolize Edilmesinde İzlenen Yol

Fibröz proteinler bakımından zengin olan boynuz ve benzeri materyaller, normal çevre şartlarında kolay çürümedikleri gibi, su, seyreltik asit ve alkalilerde de çözünmezler (Tekman, ve Öner, 1981). Yaş, taze boynuzun fiziksel olarak parçalanması da oldukça zordur. Araştırmamızda boynuzun kolay öğütülebilmesini sağlamak için 120 °C' de kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutma sırasında boynuz materyali içerisindeki yağların erimesi ve uzaklaştırılması da sağlanmıştır. Çünkü, mikroorganizmaların üretiminde kullanılan protein (azot) kaynaklarının yağ içeriğinin az olması önerilmektedir (Bridson, 1995).

Gerek bitkisel, gerekse hayvansal maddelerin hidroliz işlemi asit ve baz uygulaması veya enzimatik olarak gerçekleştirilmektedir (Tekman ve Öner, 1981; Pujol ve Bahar, 1983; Baden ve Kubilus, 1983 a ve b; Molina et al., 1984; Malathi ve Laddha, 1989; Dalev, 1990; Atalo ve Gashe, 1993). Ancak fibröz proteinler dayanıklı yapısal proteinler olduklarından, bu uygulamalar tek başlarına onların hidrolizi için yeterli olmamaktadır. Nitekim yaptığımız ön denemeler sonucunda sadece asit veya baz hidrolizi işlemleri sonunda materyal süzülürken, filtrata çok az materyalin geçtiği görülmüştür. Bu nedenle, hidroliz işlemi asit ve baz kombinasyonu şeklinde uygulanmış, ayrıca ısı uygulanmak suretiyle hidroliz etkinliği artırılmıştır. Benzer hidroliz işlemleri şeker kamışı özü (Molina et al., 1984) muz kabuğu (Pujol ve Bahar, 1983) ve tütün (Dalev, 1990) hidrolizi için kullanılmıştır. Araştırmacılar (Voet ve Voet, 1990; Lehninger, 1975; Baden ve Kubilus, 1983 b), yapısal proteinlerin asit hidrolizi ile amino asitlerine ayrıştığını, alkali ortamlarda proteinlerin (-S-S-) bağlarının parçalandığını ve ısı işleminin bu olayları hızlandırdığını belirtmektedirler.

2.2.2. de belirtildiği gibi hidroliz işlemi sırasında boynuz materyaline 5 g (NH₄)₂ SO₄, 5 g KH₂PO₄ ilave edilmiştir. Araştırmacılar bu tuzların hem proteinlerin çözünürlüğünü

artırdıklarını hem de çözünen protein yapıtaşlarının (amino asit ve polipeptitler) stabilizasyonunu sağladığını belirtmektedirler (Lehninger, 1975; Anon., 1988; Voet ve Voet, 1990). Ayrıca bu tuzlar, mikroorganizmaların üremesi için gerekli azot, kükürt, potasyum ve fosfor gibi önemli maddeleri de içermekte ve tampon özelliği göstermektedir (Hasenekoğlu, 1985; Fraizer ve Westhof, 1989; Jay, 1992; Temiz, 1994; Bridson, 1995). Hidroliz sırasında bu tuzlar, yukarıdaki nedenlerle tercih edilerek kullanılmıştır.

4.2. Ham Boynuz Ekstraktının (HBE) Kimyasal İçeriği

Bu çalışmada 30 g boynuzunun 2.2.2 ve 4.1' de izlenen yol ile hidrolizi neticesinde elde edilen ürün saf su ile 400 ml' ye tamamlanmış ve HBE olarak isimlendirilmiştir. İşlem sonucunda 30 g boynuzun toplam 27 g' ı parçalanabilmiştir (% 90) Tablo 3.1 ve 3.2' de de görüldüğü gibi HBE, kuru madde, kül, bazı mineraller, protein, azot, toplam şeker ve amino asit bileşimi bakımından analiz edilmiştir. Bu maddeler, mikroorganizmaların üretilmeleri için gerekli olan karbon, azot ve mineral kaynakları olup, bu nedenle tercih edilmiştir. Nitekim, çeşitli atık maddelerden besiyeri hazırlamak amacıyla yapılan çalışmalarda da, kullanılacak maddeler aynı analizlere tabi tutulmuştur (Pujol ve Bahar, 1983; Molina et al., 1984; Kjaergaard, 1984; Malathi ve Laddha, 1989; Algur, 1990).

Tablo 3.1 ve 3.2 incelendiğinde HBE' nin gerek inorganik gerekse organik maddeler bakımından oldukça zengin bir yapıda olduğu görülmektedir. Özellikle azot ve karbon kaynakları ile hücre zarı katyonları ve hücrede hayati öneme sahip olan çeşitli enzimlerin kofaktörleri olarak görev yapan, Na, K, Ca ve Mg iyonlarını içermesi dikkat çekici bulunmuştur. Genel bir besiyeri olarak en fazla kullanılan Nutrient Broth' daki değerlerle karşılaştığımızda nutrient broth' da kuru madde, protein ve kül miktarları g/ litre olarak sırasıyla 11,589, 4,87 ve 0,986' dır (Topal, 1982) HBE' de ise bu değerler kuru madde için 88 g/l, protein için 46 g/l ve kül içinde 18 g/l olarak bulunmuştur. (Tablo 3.1). Görüldüğü gibi HBE nutrient broth' a göre protein bakımından yaklaşık 9,5 kat, kuru madde bakımından 7,5 kat ve kül bakımından 18 kat daha zengindir. Yine aynı maddeler bakımından, genel bir seyreltme ortamı olarak kullanılan peptonlu su da HBE'

ye göre içerik bakımından çok zayıf kalmaktadır. Nitekim peptonlu suyun kuru madde, protein, ve kül içerikleri g/ litre olarak sırasıyla 1,38, 0,83 ve 0,11' dir (Topal, 1982). Bu durumda HBE peptonlu suya göre kuru madde bakımından 63,7 kat, protein bakımından 55,4 kat ve kül bakımından da 163 kat daha zengindir. Bu durumda özellikle protein ve azot olmak üzere içeriğinin zengin olduğunu, hatta genel bir vasatta bulunması gerekenden çok daha fazlasını içerdiğini söyleyebiliriz. Bu nedenle HBE' nin optimal konsantrasyonunu saptamak amacıyla, denemeler saf suyla seyreltilmiş BA ve BB üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Ayrıca HBE' nin 0,50 g/100ml oranında toplam şeker içeriği bulunmuştur (Tablo 3.1). Bu değer çoğu besiyerlerine ilave edilen karbon kaynaklarına oldukça yakındır. Ancak bilindiği gibi mikroorganizmalar farklı karbon kaynaklarını kullanabilme yetenekleri bakımından farklılık arz etse de genelde çoğu mikroorganizmaların tercih ettiği karbon kaynakları vardır. Bir ortamda karbon kaynağının çok olması mikroorganizma üremesi için elverişli ve kullanılabilir olduğunu göstermez.

Tablo 3.1 incelendiğinde HBE' nin mineral maddelerden Na bakımından (1,023 g/100ml) çok zengin olduğu görülmektedir. Oysa, daha önce keratinize protein üzerinde yapılan araştırmalarda, bu tip proteinlerin Na' da dahil olmak üzere birçok mineral maddeği içermekle birlikte, Na miktarının fazlalığını gösteren bir kayda rastlanmamıştır (Vellar, 1970; Alexiou et al., 1980; Bank et al., 1981). 2.2.2' de de belirtildiği gibi asit hidroliz işleminden sonra sonra pH' yı nötralize etmek için 10N NaOH kullanılmaktadır. HBE' de Na miktarının fazla olması bu işlemde kaynaklanabilir.

Ülkemizde çeşitli atıklardan besiyeri hazırlama çalışmaları yoğun bir şekilde devam etmektedir (Öcal vd., 1977; Yazıcıoğlu vd., 1980; Topal, 1982; Dizdar ve Develi, 1987; Algur, 1990). Bu atıklardan bazılarının kuru madde, protein, azot ve kül içerikleri Tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Besiyeri Olarak Kullanılması Teklif Edilen Bazı Atık Maddelerin Kimyasal İçerikleri

Atık Madde	Bileşenler g/100ml					Kaynak
	Kuru Mad.	Azot	Protein	T. Şeker	Kül	
Peynir altı suyu	6,31	0,058	0,99	5,0	0,50	(Topal, 1882)
Zeytin kara suyu	6,20	0,128	0,80	KV	1,40	(Yazıcıoğlu vd., 1980)
*Melas	5,10	0,096	0,59	5,0	0,45	(Topal, 1882)
Vinas	8,43	0,640	4,00	0,95	3,30	(Algur, 1990)
*Yeşil muz kabuğu	13,0	1,230	7,70	3,30	9,80	(Pujol ve Bahar, 1983)
*Hint kirazı çekirdeği	KV	0,67	4,19	KV	4,00	(Malathi ve Laddha, 1989)

KV : Kaynakta Verilmiyor

*Bu değerler kuru madde üzerinden verilmiştir

Tablo 4.1' deki atık maddelerden Yeşil Muz Kabuğu, Hint Kirazı Çekirdeği ve Melas için verilen değerler, kuru madde üzerinden verilmiş olduğundan, HBE içeriği ile karşılaştırmamızın uygun olmadığı kanaatindeyiz. Diğer üç atık madde ile HBE' nin bileşimi karşılaştırıldığında, HBE peynir altı suyuna göre protein, azot, kül ve kuru madde bakımından daha zengin, toplam şeker bakımından daha fakirdir. Zeytin kara suyuna göre HBE bütün parametreler bakımından daha zengin bulunmuştur. Vinasın ise sadece kül ve toplam şeker içeriği HBE' den biraz fazla bulunmuştur. Yukarıdaki atık maddelerin tümü gerek Tek Hücre Proteini üretiminde bir substrat olarak, gerekse çeşitli mikroorganizmaların üretiminde besiyeri olarak kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu nedenle HBE' nin de aynı amaçlarla kullanılması için yeterli olduğu ve hatta fazlasının bulunduğu söylenebilir.

Diğer taraftan Tablo 3.2' de HBE' nin asparagin, glutamin, ve prolin dışındaki amino asitleri içerdiği görülmektedir. Bu amino asitlerden glutamik asit, glisin, arginin ve lösin amino asitlerinin diğerlerine nazaran daha fazla oldukları görülmüştür. Bu durum fibröz proteinlerin genel bir özelliğidir. Nitekim, sığır tırnağı (Baden ve Kubilus, 1983, a)

proteinlerinde de bu amino asitlerin yüksek oranda bulunduğu belirtilmiştir. Araştırmamızda HBE' nin prolin amino asitini içermediği görülmüştür. Oysa, farklı fibröz proteinlerde az da olsa prolin bulunduğu kaydedilmektedir. (Said et al., 1987; Katsuumi et al., 1989; Baden ve Kubilus, 1983, a ve b). Araştırmamız sırasında hidroliz için uygulanan yol oldukça ağır şartlar içermektedir. Özellikle asit ve alkali ortamlarda yüksek ısı uygulamalarının protein ve amino asit bozulmasına yol açtığı belirtilmektedir. Örneğin proteinlerin asit hidrolizasyonu için 6N HCl içerisinde 100-120 °C' de 10-100 saatlik inkübasyonun gerekli olduğu ve bu uygulamanın triptofan amino asitini bozduğu ifade edilmektedir. (Lehninger, 1975; Voet ve Voet, 1990; Tekman ve Öner, 1981; Gökalp, vd., 1992). Araştırmamızda ise 130 °C' de 1 saat süreyle hidroliz işlemi uygulanmıştır. Prolin ve bazı amino asitlerin az oluşları yukarıdaki uygulamalardan kaynaklanabilir. Diğer taraftan keratinize proteinlerin ve özellikle boynuzun sistein amino asiti bakımından zengin olduğu ifade edilmektedir (Lehninger, 1975; Baden ve Kubilus, 1983 a ve b; Katsuumi et al., 1989; Voet ve Voet, 1990 Atalo ve Gashe, 1993). Tablo 3.2' de sistein amino asitinin azlığı (21 mg/100g) dikkat çekici bulunmuştur. Diğer bir kükürtlü amino asit olan metyonin için de aynı durum söz konusudur. Ancak, bazik hidroliz işleminin, sistein, serin treonin ve arginin amino asitlerinin bozulmasına yol açtığı bilinmektedir (Lehninger, 1975; Voet ve Voet, 1990). Dolayısıyla BA' da sistein ve metyonin amino asitlerinin azlığını, çalışmamızda yüksek sıcaklıkta asit ve baz hidrolizinin birlikte uygulanışına bağlayabiliriz.

Mikroorganizmaların protein istekleri gibi amino asit istekleri de farklıdır (Öner, 1980; Çetin, 1983). Hatta, amino asitlerin, bazı bakteriler için üreme faktörü olarak görev yaptığı belirtilmektedir (Gottschalk, 1985). Bu nedenle besiyerlerinde, amino asitlerin bulunması, besiyerinin üretici potansiyelini artıran bir unsurdur. Örneğin üremek için amino asitlerin çoğuna ihtiyaç duyan *Leuconostoc mesenteroides* türü ve *Lactobacillus* cinsi bakteriler için teklif edilen vasatlar ile HBE' nin amino asit bileşimini gösteren Tablo 4.2 incelendiğinde, HBE' nin her iki vasattan da bu bakımdan zengin olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2. *Leuconostoc mesenteroides* ve *Lactobacillus* Türleri İçin Teklif Edilen Besiyerleri İle HBE' nin Amino Asit İçerikleri (mg/l)

Amino Asitler	<i>L. mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus</i>	HBE
Asparagin	400	250	AE
Triptofan	40	50	AE
Sistin	50	100	210
Metyonin	100	2000	410
Sistein	BG	100	AE
Alanin	200	BG	3190
Arginin	240	BG	4660
Tirozin	100	BG	1610
Aspartik asit	100	BG	3900
Glutamik asit	300	BG	8170
Glisin	100	BG	5190
Histidin	62	BG	720
İzolösin	250	BG	1630
Lösin	250	BG	4020
Lizin	250	BG	2210
Fenilalanin	100	BG	1670
Prolin	100	BG	AE
Serin	50	BG	2870
Treonin	200	BG	2000
Valin	250	BG	2560

AE :Analiz Edilmedi

BG : Besiyeri İçin Gerekmiyor

Koç boynuzunun ülkemizdeki üretimi ve kullanımı yıllara göre değişmekte, alıcı firmaların talebi olmadığında araziye atılmaktadır. Et ve Balık Ürünleri A.Ş. Genel Müdürlüğü Tedarik ve Pazarlama Daire Başkanlığı (Ankara) ve Erzurum Et Kombinası gibi kuruluşların yetkilileri ile yaptığımız yazışma ve görüşmeler neticesinde, boynuzun üretim ve kullanımı konusunda kesin bilgiler ne yazık ki alınamamıştır. Ancak Erzurum Et Kombinasında yılda yaklaşık 18 ton civarında boynuzun üretildiği ifade edilmiştir. Ülkemiz genelinde ise kamu sektörüne ait kombinalardaki boynuz üretiminin yaklaşık olarak 200 ton olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca özel sektöre ait bir çok et işletmesinin de bulunduğu dikkate alındığında, bu rakamın çok daha artacağı açıktır. Kamu sektörüne ait tahmini miktarı (200 ton) ve Tablo 3.1' deki verileri göz önüne aldığımızda, boynuzun değerlendirilmemesi neticesinde yılda yaklaşık olarak 23 ton azot, 147 ton protein, 14 ton şeker, 4,2 ton magnezyum, 4,3 ton kalsiyum, 0,4 ton bakır, 0,9 ton mangan, 3 ton demir, 3 ton potasyum ve 1,7 ton çinkonun araziye zayi olduğunu söyleyebiliriz. Bu durum önemli bir hammadde kaybına yol açmasının yanı sıra çevre kirlenici etkisiyle de zararlı olmakta, atıldığı toprak ve karıştığı sularda BOİ (Biyolojik Oksijen İhtiyacı) yükselmesiyle anaerobik şartların gelişmesine yol açtığı gibi, aynı zamanda toksik ve kanserojenik özellik gösteren ağır metallerin su ve topraktaki birikimi de tehlike arz etmektedir. Bu nedenle boynuzun besiyeri olarak değerlendirilmesi sayesinde, hem onun faydalı bir ürüne dönüştürülmesi sağlanacak, hem de çevre kirlenici etkisi azaltılacaktır.

4.3. SBC' nin Optimum Konsantrasyonunun Belirlenmesine İlişkin Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi

2.2.3' de de belirtildiği gibi 400 ml' lik HBE' ye 10 g maya ekstraktı (DIFCO) ve 20 g glikoz ilave edilerek Stok Boynuz Çözeltilisi (SBC) hazırlanmıştır. Bu maddeler HBE' nin üretici potansiyelini artırmak, bir başka ifadeyle HBE' yi zenginleştirmek amacıyla ilave edilmiştir. Bilindiği gibi maya ekstraktı besiyerlerine vitamin kaynağı olarak ve genellikle %1 oranında katılmaktadır (Leloğlu ve Erdoğan, 1979). Diğer taraftan glikoz, çoğu mikroorganizmanın karbon kaynağı olarak öncelikle tercih ettiği bir

monosakkarittir (Mckane ve Kandel, 1986;Schlegel, 1986). Her ne kadar HBE' de %0.50 oranında şeker varsa da bu şekerin tercih edilen ve kullanılabilir şeker olduğunu söylemek güçtür. Çeşitli hammaddelerden besiyeri veya uygun substrat hazırlama çalışmalarında da benzer katkıların yapıldığı görülmektedir (Pujol ve Bahar, 1983; Molina et al., 1984; Kekos ve Kouklos, 1985; Michel et al., 1987).

Şekil 3.1 incelendiğinde *E. coli* dışındaki test mikroorganizmalar için en yüksek biyomas verimlerinin %5' lik SBC' den elde edildiği görülmektedir. *E. coli* için ise %6' lık SBC en yüksek biyomas verimini sağlamıştır. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise üremede (bütün denenen suşlar için) inhibisyon görülmüştür. Hatta, zamana bağlı olarak, test mikroorganizmalarındaki koloni sayısını gösteren Tablo 3.3 ve Şekil 3.2' de de görüldüğü gibi %10' luk SBC' de *Lactobacillus bulgaricus* türü hiç ürememiş *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *S. thermophilus* suşlarının üremeleri ise gecikmiştir. Böylece koloni sayılarından elde edilen veriler Şekil 3.1' de biyomas analizinden elde edilen sonuçları destekler nitelikte bulunmuştur. Yüksek konsantrasyonda inhibisyon olayı beklenen bir sonuçtur. Çünkü HBE organik ve inorganik maddeler bakımından çok zengindir ve özellikle protein ve mineral madde konsantrasyonlarının aşırı yüksekliği mikroorganizma üremesini iki yolla etkileyebilir. Bunlardan birincisi organik ve inorganik maddelerin osmotik basıncı neticesinde zar permeabilitesinin bozulmasıdır. İkincisi ise HBE' de bulunan ağır metal iyonlarının toksik etkileridir. Yüksek organik madde ve mineral madde içerikli atıklarla yapılan denemeler sonucunda da yüksek konsantrasyonlarda önemli inhibisyonlar gözlenmiş ve bu nedenle materyallerin seyreltilmesi yoluna gidilmiştir (Aran vd., 1985; Algur, 1990). Her ne kadar *E. coli* için %6' lık SBC optimum olarak bulunmuşsa da bu değer %5' lik değere çok yakındır ve bu farkın *E. coli*' nin özel isteklerinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Tablo 3.1 ve 3.2' deki verilerden yola çıkılarak %5' lik SBC' nin (BB) kimyasal içeriği hesaplanmış ve Nutrient Broth' un kimyasal içeriği ile karşılaştırmalı olarak Tablo 4.3' de verilmiştir.

Tablo 4.3. Nutrient Broth ve %5' lik SBÇ (BB)' nin Kimyasal İçeriği

Bileşenler	NB (g/L)**	BB (g/L)
Azot	0,780	0,490*
Protein	4,877	3,06*
Toplam şeker	KV	2,250*
Mg	0,002	0,080
Ca	0,0012	0,082
Mn	KV	0,018
Zn	KV	0,032
Fe	0,004	0,061
Na	0,172	0,511
K	0,0615	0,199*
P	KV	0,113
Maya ekstraktı	2,00	0,500
(NH ₄) ₂ SO ₄	KV	0,500

* Katkı maddeleriyle birlikte

KV : Kaynakta Verilmedi

** Topal, 1982

Tablo 4.3' te de görüldüğü gibi %5' lik SBÇ bile mineral maddeler bakımından NB' den daha zengindir. Azot ve protein içeriği NB' ye göre biraz zayıf bulunsa da besiyeri için yetersiz olduğu söylenemez. Çünkü NB' deki azotun kaynağı 5 g/l oranında katılan peptondur. Oysa bazı besiyerlerine (*Bacillus cereus* selektif agar, R₂A agar) sadece %0,3 – 0,4 oranında pepton katılmaktadır (Bridson, 1995). Bu nedenle BB' deki azot ve protein miktarlarının yeterli olduğunu söyleyebiliriz.

4.4. Katkı Maddelerinin Mikroorganizmaları Üretme Potansiyellerinin Araştırılması Amacıyla Yapılan Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3.4' de de belirtildiği gibi BB içerisinde katkı maddesi olarak litrede 0,5 g (NH₄)₂ SO₄, 0,5 g KH₂PO₄, 1 g maya ekstraktı ve 2 g glikoz bulunmaktadır. Acaba BB' nin mikroorganizmayı üretici gücü bu katkı maddelerinden mi kaynaklanmaktadır? Bu sorunun cevabını bulabilmek için sadece bu katkı maddelerinden oluşan bir besiyeri (kontrol olarak) hazırlanmış ve test mikroorganizmaların bu besiyerinde oluşturdukları biyomas miktarları araştırılmıştır. Tablo 3.4' te verilen bulgular ile Şekil 3.1' de sunulan %5' lik SBC' den (BB) elde edilen biyomas miktarları karşılaştırıldığında BB' den elde edilenlerin çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Nitekim kontrol besiyeri ve BB' den elde edilen biyomas değerleri, *B. cereus*, *L. bulgaricus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *S. thermophilus* suşları için sırasıyla 0,9 g/l, 4,8 g/l; 0,0 g/l, 3,4 g/l; 0,7 g/l, 3,9 g/l; 0,8 g/l, 2,9 g/l ve 0,5 g/l, 3,6 g/l olarak belirlenmiştir. Bu durumda katkı maddelerinin tek başlarına mikroorganizmaları üretme kapasitelerinin çok zayıf olduğunu ve BB ile birlikte kullanıldıklarında sinerjik bir etki göstererek BB' nin üretici potansiyelini artırdığını söyleyebiliriz. Diğer taraftan katkı maddelerinden oluşan kontrol besiyerinde *L. bulgaricus* suşunun hiç ürememesi beklenen bir sonuçtur. Çünkü *Lactobacillus* türleri hayatsal faaliyetleri için yeterli bazı enzimlere sahip değildirler ve bu bakımdan onların kendileri için lüzumlu bir çok maddeleri buldukları ortamdan almaları gerekir. Bir başka ifadeyle bu cinse ait türler, üreme için çeşitli gelişme faktörlerine ihtiyaç gösterirler (Öner, 1980; Gottschalk, 1985). *L. bulgaricus* ise katkı maddelerinden oluşan kontrol besiyerinde üremediği halde, BB ortamında ürediğine göre, BB' nin çeşitli gelişme faktörlerini içerdiği de söylenebilir.

4.5. BB' nin Standart Vasatlarla Karşılaştırılması

4.5.1. Boynuz Agarın (BA) Standart Besiyerlerine Karşı Yüzey Ekimi Bakımından Kullanılabilirliği

Besiyerinin üretme potansiyelinin araştırılmasında, yüzey ekimi sonuçlarının değerlendirilmesi sıklıkla başvurulan bir yöntemdir (Topal, 1982; Al-Zoreky ve Sandine, 1990).

Tablo 3.5' de 14 farklı bakterinin, dört ayrı besiyerinde üreme durumları verilmiştir. Bu tablodaki bulgular incelendiğinde BA' nın standart besiyerleri olan PCA, NA ve TSA besiyerlerini aratmayacak nitelikte olduğu görülmektedir. Mikrobiyoloji çalışan her şahıs, çalıştığı mikroorganizmayı sıvı ve katı vasatlarda üretmek ve muhafaza etmek ihtiyacındadır. O halde BA ile BB vasatları mikroorganizmaları üretme ve muhafaza etmek amacıyla, NA ve TSA gibi vasatlar yerine kullanılabilir. Çünkü çalışmamız sırasında BA' ya yüzey ekimi yapılan bakteriler mikroskop altında da incelenmiş gerek morfolojik özellikleri ve gerekse büyüklükleri bakımından standart vasatlarda üretilenlerden farklı olmadıkları görülmüştür. Bu da BA' nın mikroorganizmalar için toksik maddeleri aşırı konsantrasyonlarda bulundurmadığının bir göstergesidir. Çünkü ozmotik basıncı yüksek ve hücre zarı permeabilitesini bozan toksik maddeler içeren besiyerlerinde üreyen bakterilerin gerek koloni morfolojilerinin gerekse hücresel yapılarının bozulduğu ve değişik şekiller kazandıkları (L formları gibi) bilinmektedir (Mckane ve Kandel, 1986; Schlegel, 1986). Ayrıca test mikroorganizmalarının BA içerisindeki pasaj kültürleri 2-3 ay süreyle buzdolabında muhafaza edildiğinde, üremelerinde ve morfolojilerinde bir bozulmaya rastlanmamıştır. Hatta liyofilize haldeki kültürler BB içerisinde aktiveleştirilmiş ve herhangi bir olumsuz sonuçla karşılaşmamıştır.

4.5.2. Boynuz Agarın Standart Besiyerlerine Karşı Anaerobik Bakterileri Üretmesi Bakımından Yüzey Ekimleri Yöntemi İle Karşılaştırılması

3.5.2' de de belirtildiği gibi et, süt, toprak ve su örnekleri ile bazı zorunlu anaerobik bakterilerin (*Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Clostridium sporogenes* ve *Veillonella sp.*) yüzey ekimlerinin BA ve tanık agarlardaki üreme durumları araştırılmış ve sonuçlar Tablo 3.6' da özetlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, BA' nın anaerobik bakterileri inhibe ettiğini gösteren herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Ayrıca BA' nın et ve sütteki anaerobikleri, toprak ve sudaki anaerobiklerden daha iyi ürettiği gözlenmiştir. Bilindiği üzere BA hayvansal orjinli bir üründür. Muhtemelen, et ve sütteki bakteriler hayvan orjinli maddelerde gelişen ve oradaki nutrientlere adaptasyon sağlamış bakteriler olduklarından, su ve topraktakilere oranla BA' da daha iyi gelişmiş olabilirler. Nitekim et ve sütteki bakteriler TSA vasatında da iyi üreme göstermektedirler. Zira bu vasat et ve süt örneklerindeki bakterilerin üremesi için özel olarak hazırlanmış ve zenginleştirilmiş (kazein ile zenginleştirilmiş) bir vasattır. Diğer taraftan Tablo 3.6' da pastörize süt ve musluk suyu örneklerinde anaerobik bakterilerin üremediği görülmüştür. Bu durum beklenen bir sonuçtur ve deneysel bir hatanın olmadığını göstermektedir. Çünkü hem su hem de süt gerek çözünmüş halde oksijen bulundurduğu için ve gerekse pastörizasyon (süt için) ve dezenfeksiyon (klorlu su) işlemlerinin öldürücü etkisi nedeniyle anaerobik mikroorganizmaları ya çok az içerirler veya hiç bulundurmazlar (Fraizer ve Westhoff, 1989; Jay, 1992 Topal, 1996).

4.5.3. BB ve Standart Vasatların Test Mikroorganizmaların Üretim Potansiyelinin Biyomas Verimleri Bakımından Karşılaştırılması

3.6' da da görüldüğü gibi dört farklı besiyerinde 72 saatlik süre sonunda test mikroorganizmalardan (aerobik, fakültatif anaerobik ve mikroaerofilik) elde edilen biyomas verimleri Tablo 3.7' de özetlenmiştir. Bu sonuçlara göre TSB ve BB' den elde edilen biyomas verimleri birbirlerine oldukça yakındır ve genellikle aralarındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir. Ancak hem BB hem de TSB' den elde edilen değerler PCB ve NB' den elde edilenlere oranla istatistiki bakımdan önemli ($p < 0,05$) derecede

fazladır. Genel bir sıralama yapılacak olunursa, mikroorganizmaları üretme gücü bakımından $TSB \geq BB > NB > PCB$ şeklinde yazılabilir. Diğer taraftan *L. plantarum* türü NB ve PCB' de hiç üremediği halde azda olsa TSB ve BB' de üremiştir. Bu durum iki sebebe bağlı olabilir. Birinci sebep *L. plantarum* diğer *Lactobacillus* türlerinde olduğu gibi çeşitli gelişme faktörlerine ihtiyaç göstermekte ve bu faktörler kısmen de olsa BB ve TSB' de bulunduğundan bu iki vasatta üreyebilmektedir. İkinci sebep ise *L. plantarum* türü fakültatif anaerob bir tür olduğundan BB ve TSB bu tür için daha uygun olabilir. Çünkü besiyerlerinin organik madde bakımından zengin olması onların aerobik şartlardan anaerobik şartlara dönüşmesinde etkili olmaktadır. Nitekim organ parçaları, kan, kalp, kıyım, balık eti, beyin gibi maddeler ve amino asitler besiyerinin oksidasyon redüksiyon potansiyelini düşürdüğünden anaeroplara oksijen varlığında bile üremelerini sağlamaktadır (Bilgehan, 1992; Temiz, 1994). Ancak sulu kültürde, BB ve TSB' nin bu özelliğinden faydalanarak üreyebilen *L. plantarum* suşu, yine de oksijenin yeterince baskılanamaması neticesinde az bir üreme göstermiştir.

4.5.4. BA' nın Yaralanmış ve Yaralanmamış Bakterilerin Üretilmesinde Standart Vasatlarla Karşılaştırılması

Son yıllarda, besiyeri geliştirme çalışmaları içerisinde yaralanmış bakterilerin yeniden canlandırılmasını sağlayan besi ortamlarının geliştirilmesi ve formüle edilmesi giderek önem kazanmaktadır. Besi ortamlarından bazıları sadece sağlıklı olan mikroorganizmaları üretmekte, yaralanmış bakteriler ise bu besiyerlerinde ürememektedir. Dolayısıyla böyle besiyerleri ile yapılan bakteri sayımları, yanlış sonuçlar vermektedir. Bu durum ise halk sağlığı bakımından tehlike arz etmektedir. Çünkü, işleme tabi tutulmuş (Pastörize edilmiş, soğuk depolarda muhafaza edilmiş veya tuzlanmış vb.) çeşitli gıda maddelerindeki bu yaralı bakteriler gıda ile vücuda girdiklerinde yeniden aktivite kazanmaktadır. Oysa bu ürünlerin mikrobiyolojik muayeneleri genel veya zayıf denilebilecek vasatlar kullanılarak yapıldığında gerçekte canlı mikroorganizma içeren bu ürünlere yanlışlıkla temiz rapor verilebilmektedir. İşte bu nedenle yaralı bakterileri de üretebilen daha güçlü (zengin) vasatlar geliştirilmiş olup bunların başında TSA gelmektedir. Ayrıca Nutrient Agar'a glikoz ilave edildiğinde yaralanmış bakterilerin onarılmasını 2000 kat artırdığı belirtilmiştir (Hurst, 1977; Ray et

al., 1978; Mossel et al., 1980; Zaske et al., 1980; Petzel ve Hartman, 1985; Rodrigues ve Kroll, 1989; Al-Zoreky ve Sandine, 1990; Jay, 1992; Sörqvist, 1993; Jermini et al., 1994; Wyber et al., 1994). İşte bu nedenle, BA yaralı ve normal bakterileri üretme potansiyeli bakımından araştırılmış ve bu konuda tavsiye edilen TSA ve genel üretme ve sayım vasatları (NA ve PCA) ile mukayese edilmiştir. Nitekim çeşitli araştırmacılar da, geliştirdikleri yeni besiyerlerinin kalitesini belirlemede onları TSA ile mukayese yöntemini seçmişlerdir (Ray et al., 1978; Pin et al., 1994).

Zayıf veya minimal vasatlarda, koloniler geç oluşmakta ve küçük kalmaktadır. Dolayısıyla bir besiyerinde 24 saatlik inkübasyon sonucunda koloni sayılmaz iken, başka bir besiyerinde (üretim potansiyeli yüksek veya zenginleştirilmiş) koloniler sayılabilecek sayı ve büyüklükte olabilmektedir. Bir başka ifade ile aynı inkübasyon süresi içerisinde bir besiyerinde koloniler sayılabilecek büyüklüğe ulaşmaz iken diğerinde sayılabilecek büyüklüğe ulaşmaktadır. Bu durum ikinci besiyerinin üretici potansiyelinin yüksekliğini gösterir. Zira ortam şartları ve besiyeri azlığı ve zayıflığı bakterilerin ikilenme zamanını (generation time) uzatmakta ve dolayısıyla üreme hızlarını azaltmaktadır (Mckane ve Kandel, 1986; Schlegel, 1986; Jay, 1992). Ayrıca yaralanmış bakterilerin ikilenme süreleri de normallere oranla çok uzamakta ve dolayısıyla sayılabilecek koloni sayısı için gerekli inkübasyon süresi artmaktadır.

Tablo 3.8 incelendiğinde BA besiyerinden, yüzey ekimi ve biyomas verimi sonuçlarında olduğu gibi, standart besiyerleriyle karşılaştırıldığında, yaralı bakterilerin üretilmesinde de oldukça elverişli sonuçlar elde edilmiştir. Şöyle ki yaralanmamış (normal) 13 suştan çoğu 48 saatlik inkübasyon sonucunda kullanılan besiyerlerinde birbirlerine yakın sayıda koloni oluşturmuştur. Diğer bir ifade ile aralarındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir. İnkübasyon süresi 72 saat olduğunda ise, bütün suşlardan elde edilen sayılar birbirlerine yaklaşmıştır.

İlk 24 saatlik inkübasyon süresi sonucunda, yaralanmış olan *E. coli*, *S. thermophilus*, *Citrobacter sp.*, *Proteus sp.* ve *Corynebacterium sp.* türlerinde NA ve PCA besiyerlerinde koloni oluşturamazken TSA ve BA besiyerlerinde, dilisyon oranının yüksek olmasına rağmen koloni oluşumu gerçekleşmiş ve sayım yapılabilmektedir. Bu süre

içerisinde *B. cereus*, *B. subtilis* ve *L. monocytogenes* suşları bütün besiyerlerinde koloni oluşturdukları halde koloni sayıları bakımından TSA ve BA' nın NA ve PCA' dan daha iyi olduğu görülmüştür. *L. bulgaricus* ise 24 saatin sonucunda sadece TSA' da sayılabilecek koloni oluşturmuştur. *P. putida*, *Salmonella sp.* *E. aerogenes* ve *S. aureus* ise hiçbir besiyerinde 24 saat sonucunda koloni oluşturmamıştır. Bu durum yaralı da olsa farklı türlerin farklı sınırlayıcı besinlere ve üreme faktörlerine ihtiyaç göstermesinden ve kötü ekolojik şartlara karşı farklı toleransa sahip olmalarından kaynaklanmaktadır.

Soğuk şoku ile yaralanmış test mikroorganizmaların ve et ve süt örneklerindeki bakterilerin denenen vasatlarda oluşturdukları koloni sayılarını karşılaştırdığımızda, kullanılan test mikroorganizmalardan tümü TSA' da diğer besiyerlerinden daha iyi üremiştir. Ancak soğuk şokuna uğratılmış bakterileri üretme özelliği bakımından BA ikinci sırada gelmektedir. BA' nın PCA ve NA' ya göre oluşturduğu koloniler incelendiğinde *E. coli*, *Corynebacterium sp.* ve *P. putida* suşlarının BA' da oluşturduğu koloni sayısı PCA ve NA' da oluşturduğu koloni sayısından istatistiki bakımdan önemli derecede ($p < 0,05$) yüksek olduğu görülmektedir. Diğer suşlar için de genellikle BA' dan elde edilen koloni sayıları NA ve PCA' dan elde edilenlere göre yüksek bulursa da aralarındaki fark istatistiki bakımdan önemsizdir. Ayrıca et ve süt örneklerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle süt örneklerinde BA' nın oluşturduğu koloni sayılarının PCA ve NA' ya göre önemli derecede yüksek bulunması dikkat çekmiştir.

Genel olarak soğuk şokunun bakterileri yaralama etkisinin sıcak şokuna göre daha az olduğu görülmüştür. Nitekim *S. thermophilus* dışındaki bütün test mikroorganizmaların soğuk ve sıcak şokuna maruz bırakıldıktan sonra yapılan sayımlar tüm vasatlar için karşılaştırıldığında, soğuk şokuna maruz bırakılanlarda elde edilen koloni sayılarının yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum beklenen bir sonuçtur. Çünkü, bakterilerin sığa karşı toleranslarının soğuğa karşı toleranslarından daha az olduğu bilinmektedir. Nitekim bakteriler yüksek sıcaklıkta steril edildikleri halde, düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmektedir (Mckane ve Kandel, 1986; Schlegel, 1986; Jay, 1992). *S. thermophilus* türünün sıcaktan az etkilenmesi (hatta etkilenmemesi) ise bu türün

spesifik özelliğine dayanmaktadır. Bilindiği gibi bu tür termofilik bir türdür ve araştırmamızda muhtemelen bu nedenle sıcak şokundan en az etkilenen tür olmuştur.

4.5.5. Farklı Toprak, Su, Et ve Süt Örneklerinin BA ve Tanık Vasatlarda Oluşturdukları Aerobik ve Anaerobik Bakteri Sayılarının Karşılaştırılması

Genel olarak değerlendirdiğimizde, toprak, su ve et örneklerinde, farklı besiyerlerinde oluşan toplam aerobik bakteri koloni sayılarının birbirlerine yakın olduğu ve aralarındaki farkın istatistiki bakımdan önemsiz olduğu, ancak süt örneklerinde BA ve TSA besiyerlerinden elde edilen koloni sayılarının PCA ve NA' dan elde edilenlere oranla daha yüksek olduğu, hatta bazı örneklerde sayılar arasındaki farkın istatistiki bakımdan önemli ($p < 0,05$) bulunduğu görülmüştür (Tablo 3.9). Ayrıca bu örneklerdeki zorunlu anaerobik mikroorganizmaları üretme potansiyeli bakımından da BA ve TSA' nın NA ve PCA' dan üstün olduğunu söyleyebiliriz (Tablo 3.10).

4.6. Araştırmada Kullanılan Test Mikroorganizmaların Çeşitli Özellikleri İle İlgili Değerlendirmeler

Araştırmamızda kullanılan 18 test mikroorganizmadan 11 adedi gram pozitif (*B. cereus*, *B. subtilis*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. thermophilus*, *C. perfiringens*, *C. tetani*, *C. sporogenes*, ve *Corynebacterium sp.*), 7' si Gram negatif (*Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *E. coli*, *P. putida*, *Proteus sp.*, *Salmonella sp.* ve *Veillonella sp.*) özelliktedir. Yine bu türler içerisinde aerobik (*B. cereus*, *B. subtilis*, *P. putida*, *Proteus sp.*), fakültatif anaerobik (*Citrobacter sp.*, *Enterobacte sp.*, *E. coli*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *S. aureus*, *S. thermophilus*, ve *Corynebacterium sp.*) ve zorunlu anaerobik (*C. pefiringens*, *C. tetani*, *C. sporogenes* ve *Veillonella sp.*) türler mevcuttur. Ayrıca 18 türden 1 adedi termofilik (*S. thermophilus*) 17 adedi ise mezofilik gruba dahildir. Ancak mezofilik bakteriler içerisinde soğukluğa ve sıcaklıklara toleranslı olanlar bulunmaktadır. Diğer taraftan test mikroorganizmalar, spor oluşturan türleri (*B. cereus*, *B. subtilis*, *C. tetani*, *C. perfiringens*, ve *C. sporogenes*) de içermektedir (Öner, 1980; Öner, 1986; Buchanon et al., 1987; Fraizer ve Westhoff, 1989; Anđ, 1990; Göktan, 1990; Jay, 1992; Bilgehan,

1992; Kaya, 1992; Anon, 1993; Bilgehan, 1995; Çon, 1995; Kara, 1996). Bütün bu özellikler dikkate alındığında, test mikroorganizmalarımızın rast gele seçilmediği, farklı fizyolojik grupları temsil eden ve farklı habitatlarda yaşayan (gıda maddeleri, toprak, su, hava, sindirim ve solunum sistemleri gibi) türlerin kullanıldığı ortaya çıkmaktadır. BB vasatı (veya BA vasatı) bu mikroorganizmaların hiçbirisi üzerinde standart vasatlardakinden daha kötü bir etki göstermemiştir.

4.7. BB (BA) Besiyerinin Fizyolojik ve Kimyasal Özellikleri

BB besiyeri, şeffaf, sarımsı kahvemsı renkte, süspanse madde içermeyen (çökelti oluşturmayan) bir yapıdadır. BB' nin pH' sı 6,8-7,2 civarındadır ve içerdiği tampon maddeler nedeniyle, pH değişimlerinden fazla etkilenmemektedir. Steril edildikten sonra uzun süre bozulmadan muhafaza edilebilmektedir. Bu özellikler besiyerinde aranan özelliklerdir. Zira süspanse maddeler içeren besiyerlerinin kullanım için uygun olmadığı, besiyerlerinin en küçük kolonileri bile görebileceğimiz şeffaflıkta olmaları, koyu renkli olmamaları ve tampon maddeleri bulundurmaları önerilmektedir (Larkin, 1972; Bridson, 1995).

4.8. BB' nin Maliyetinin Standart Vasatlarla Karşılaştırılması

Standart vasatlar ile BB vasatından 50 litre hazırlamak için yapılan harcamalar Tablo 4.4' te verilmiştir.

Tablo 4.4. 50 litre BB ve Standart besiyerleri Hazırlamak İçin Yapılan Harcamalar

Harcama Kalemleri	Tutarı (TL)
Hammadde (Boynuz)	525
Katkı maddeleri	6000 000
Enerji ve işçilik	15000 000
Toplam BB	≅ 22 000 000
TSB	≅ 156 000 000
NB	≅ 65 000 000
PCB	≅ 89 000 000

Tablo 4.4' te de görüldüğü gibi BB' nin 50 litresi yaklaşık olarak 22 000 000 TL' ye mal edilmektedir. Piyasada farklı firmalardan aldığımız fiyatlara göre kuru (dehidrate) NB, TSB ve PCB' nin 500 g' lık miktarları sırasıyla 50 000 000, 53 000 000 ve 45 000 000 TL civarındadır. NB' nin 500 g' ından 38 litre, TSB' nin 500 g' ından 16 litre, PCB' nin 500 g' ından ise 28 litre besiyeri hazırlanmaktadır. Bu durumda BB' nin NB' den 3 kat, TSB' den 7,5 kat ve PCB' den de yaklaşık 3,6 kat daha ucuza mal edildiğini söyleyebiliriz. Üstelik BB fabrikasyon olarak üretildiği takdirde daha ucuza mal edileceği de şüphesizdir.

KAYNAKLAR

- Alexiou, D., Koutselinis, A., Manolidis, C., 1980. The content of trace elements (Cu, Zn, Fe, Mg) in fingernails of children. *Dermatologica*, 160, 380-382.
- Algur, Ö. F. and Kadioğlu, A., 1992. The Effects of vinasse on the growth, biomass and primary productivity in pea (*Pisum sativum*) and sunflower (*Helianthus annuus*). *Agr. Ecosyst. Environ.*, 39, 139-144.
- Algur, Ö.F., 1990. Vinasın çevre kirliliği üzerine etkisi, mikrobiyal besiyeri ve tek hücre proteini üretiminde substrat olarak kullanım imkânlarının araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, s 85 (Yayınlanmamış).
- Algur, Ö.F., 1992. Temel Biyoteknoloji Ders Notları. Atatürk Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Yayınları, Erzurum, Yayın no 149, s 185.
- Al-Zoreky, N. and Sandine, W. E., 1990. Highly selective medium for isolation of *Listeria monocytogenes* from food. *Environ. Microbiol.*, 56, 3154-3157.
- Anđ, Ö., 1990. Ağız Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, Çapa- İstanbul, (3. Baskı) s 582.
- Anonymous., 1988. Preklinik Biyokimya Ders Notları, Ankara Tıp Temel Serisi, Vio Yayınları, Ankara, s. 322.
- Anonymous.,1993. Mikrobiyoloji Ders Notları. Hacettepe Metay Medikal Yayınları, . Bornova-İzmir, s 472
- AOAC., 1980. Official Methods of Analysis, 13 th ed. Association of Official Agri. Chemist., Washington D.C.
- Aran, N., 1977. Kuru üzüm ispirotoculuğu küspesinden (Vinas) tek hücre proteini üretimi üzerinde çalışmalar. TÜBİTAK-MBEAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, Gebze, Yayın no 25.
- Aran, N., 1978. Endüstriyel artıkların mikrobiyolojik yolla değerlendirilmesi. *Gıda*, 4 (5), 156.
- Aran, N., 1981. Tarım ürünleri atıklarından yağca zengin biyomas elde edilmesi üzerine araştırmalar. TÜBİTAK MBEAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, Gebze, Yayın no 53.

- Aran, N., Karakuş, M., Karaca, Z., Nas, S. ve Saygı, G., 1985. Melastan yem mayası üretimi. TÜBİTAK-MBEAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, Gebze, Yayın no 102.
- Atalo, K. and Gashe, B.A., 1993. Protease production by a thermophilic *Bacillus* species (P-001 A) which degrades various kinds of fibrous proteins. *Biotechnol. Lett.*, 15, 1151-1156.
- Aysan, İ., 1977. Evcil Hayvanların Anatomi ve Fizyolojileri. Atatürk Üniv. Yayınları, 479, Ziraat Fak. Yayınları, 225, Ders Kitapları Serisi, 34, Erzurum s. 775.
- Baden H.P. and Kubilus, J., 1983 a. Fibrous proteins of bovine hoof. *J. Inves. Dermatol.* 81, 220-224.
- Baden H.P. and Kubilus, J., 1983 b. The fibrous protein of fish epidermis. *J. Inves. Dermatology*, 80, 36-38.
- Bank, H. L., Robson, J.B., Bigelow, J.B., Morrison, J., Spell, L.H. and Kantor, R., 1981. Preparation of fingernails for trace element analysis. *Clin. Chim. Acta.*, 116, 179-190.
- Bilgehan, H., 1992. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları, (5. Baskı), İzmir, s 567.
- Bilgehan, H., 1995. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları, İzmir, (9. Baskı) s 629.
- Brenner, K.P., Rankin, C.C., Roybal, Y. R., Stelma, G.N., Scorpino, P.V. and Dufour, A.B., 1993. New medium for the simultaneous detection of total *coliforms* and *Escherichia coli* in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 3534-3544.
- Bridson, E. Y., 1995. The Oxoid Manual. Unipath Limited, Wade Rood, Basingstoke Hampshire, England.
- Buchanon, R.L., Stahl, H.G. and Archer, D.L., 1987. Improved plating media for simplified, quantitative detection of *Listera monocytogenes* in foods. *Food Microbiol.*, 4, 269-275.
- Çetin, E.T., 1983. « Endüstriyel Mikrobiyoloji » İstanbul Üniv. İstanbul Tıp Fak., Yayın no 2, İstanbul, (1. Baskı).
- Çon, H., 1995. Sucuktan bakteriosin benzeri antimikrobiyal metabolit üreten laktik asit bakterilerinin izolasyon ve identifikasyonu ve çeşitli gıda zararlısı ve / veya gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı antagonistik aktivite araştırılması

- Doktora Tezi. Atatürk Üniv. Fen Bil. Enst. Gıda Bil. ve Tek. Anabilim Dalı, Erzurum, s 78 (yayınlanmamış).
- Dalev, P., 1990. An enzyme-alkaline hydrolysis of feather keratin for obtaining a protein concentrate for fodder. *Biotechnol. Lett.*, 12, 71-72.
- Dave, R.I. and Shah, P., 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacteria*. *J. Dairy Sci.*, 79, 1529-1536.
- Dekio, S and Jidoi, J., 1989. Amino acid compositions of human hair fibrous protein components purified with two-dimensional electrophoresis. *J. Dermatol.*, 16, 453-457.
- Dizdar, G. ve Develi, N., 1987. Yerli materyalden mikrobiyolojik besiyeri hazırlanması üzerine araştırmalar. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü, Yayın no 5, Ankara.
- Feng, P.C.S. and Hartman, P.A., 1982. Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 1320-1329.
- Fraizer, W.C. and Westhoff, D.C., 1989. *Food Microbiology*. New York, p 540
- Gottschalk, G., 1985. *Bacterial Metabolism*. Institut für Mikrobiologie der Universität Göttingen 34 Göttingen, Federal Republic of Germany, (second edition), p 359.
- Gökalp, H. Y., Nas, S. ve Certel, M., 1992. *Biyokimya – 1 Temel Yapılar ve Kavramlar*. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Yayın no, 722, Erzurum, s 466.
- Göktan, D., 1990. *Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi*. Ege Üniv., Basımevi, Mühendislik Fak., yayın no 21, Bornova-İzmir.
- Gunasinghe, C.P.G.L., Henderson, C. and Rutter, N.A., 1994. Comparative study of two plating media (PALCAM and OXFORD) for detection of *Listeria* species in a range of meat products following a variety of enrichment procedures. *Lett. Appl. Microbiol.*, 18, 156-158.
- Halkman, A. K., 1995. *Mikrobiyolojide Kullanılan Besiyerleri*. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü, Ulus-Ankara, s 72.
- Hao, D.Y.Y., Beuchat, L.R., and Brackett, R.E., 1987. Comparison of media and methods for detecting and enumerating *Listera monocytogenes* in refrigerated cabbage. *Appl Environ. Microbiol.*, 53, 955-957.

- Hasenekoğlu, İ., 1983. Biyologlar İçin Laboratuar Deney Tekniği. Kazım Karabekir Eğitim Fak. Yayınları,Erzurum, s 262.
- Hasenekoğlu, İ., 1985. Genel Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakóltesi Yayınları, Erzurum s 154.
- Heinis, J.J., Beuchat, L.R. and Boswell F.C., 1978. Antimetabolite sensitivity and magnesium uptake by thermally stressed *Vibrio parahaemolyticus*. Appl. Environ. Microbiol., 35, 1035-1040.
- Hurst, A., 1997. Bacterial injury: A review. Can. J. Microbiol., 23, 935-944.
- Hutton, M.T., Koskinen, M.A. and Hanlin, J.H., 1991. Interacting effects of pH and NaCl on heat resistance of bacterial spores. J. of Food Sci., 56, 821-822.
- Jawad, A., Hawkey, P.M., Heritage, J. and Sinelling A.M., 1994. Description of leeds *Acinetobacter* medium , a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter spp.*, and comparison with Herellea agar and Holton's agar. J. Clin Microbiol., 32, 2353-2358.
- Jay, J.M., 1992. Modern Food Microbiology. 4 th ed. Wayne State Univesity. Van Nostrand Reinhold, New York, (4th) p 701.
- Jermi, M., Domenico, F. and Jögli, M., 1994. Evaluation of C-EC agar, a modified mFC-agar for the simultaneous detection of total *Coliforms* and *Escherichia coli* in water samples. Lett.Appl. Environ. Microbiol., 19, 332-335.
- Kadıoğlu, A. and Algur, Ö.F., 1992. Tests of media with vinasse for *Chlamydomonas reinhardii* for possible reduction in vinasse pollution. Bioresource Technol., 42, 1-5.
- Kadıoğlu, A. ve Algur, Ö.F., 1990. The Effect of vinasse on the growth of *Helianthus annuus* and *Pisum sativum* : Part I- The effects on some enzymes and chlorophyll and protein content. Environ. Pollut., 67, 223-232
- Kara, A., 1996. Erzurum piyasasından temin edilen beyaz ve civil peynirlerden *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, s 32 (yayınlanmamış).
- Karaboz, İ. ve Öner, M., 1988. Batık kültürde *Morchella conica* var *costata* miselyumunun kimyasal yapısı ve THP olarak değerlendirilmesi. DOĞA TU Biyol. D., 12 (3), 190.

- Katsuumi, K., Ito, M., Kazama, T. and Sato, Y., 1989. Two-dimensional electrophoretic analysis of human hair keratins, especially hair matrix proteins. Arch. Dermatol. Res., 281, 495-501.
- Kaya, M., 1992. Sucuk üretim teknolojisinde değişik nitrit dozlarının ve farklı starter kültür kullanımının *Listeria monocytogenes*' in çoğalımı üzerine etkisi ve sucuğun diğer bazı kalitatif kriterleri. Doktora Tezi, Atatürk Üniv. Fen Bil. Enst. Gıda Bil. ve Tek. Anabilim Dalı, Erzurum, s 127 (yayınlanmamış).
- Kekos, D. and Kouklos, E.G., 1985. Acid hydrolysates of accorn polysaccharides as substrates for *Candida utilis* growth. Biotechnol Lett., 7, 345-348.
- Kjaergaard, L., 1984. Examples of biotechnological utilization of beet pulp and bagasse. Sugar Technol. Reviews, 10, 183-237.
- Knochel, S., 1989. The suitability of four media for enumerating *Aeromonas spp.* from environmental samples. Lett. Appl. Microbiol., 9, 67-69.
- Kosaric, B.N. and Miyata, N., 1981. Growth of morel mushroom mycelium in cheese whey. J. Dairy Res., 48, 149-162.
- Kurt, A., 1984. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları. Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın no 18, Erzurum, s 44, 46.
- Kuru, E., Keskinler, B., ve Algur, Ö. F., 1995. *Pseudomonas putida* ile toluenden diol üretiminin kinetiği. Tr. J. Eng. Environ. Sci., 19, 119-125.
- Larkin, J.M., 1972. Peptonized milk as an enumeration medium for soil bacteria. Appl. Microbiol., 23, 1031-1032.
- Lechevallier, M.W., Cameron, S.C. and McFetters, G.A., 1983. New medium for improved recovery of *Coliform* bacteria from drinking water. Appl. Environ. Microbiol., 45, 484-492.
- Lechevallier, M.W., Seidler, R.J. and Evans, T.M., 1980. Enumeration and characterization of standard plate count bacteria in chlorinated and raw water supplies. Appl. Environ. Microbiol., 40, 922-930.
- Leeson, S., Summers, J. D., and Lee, B. D., 1984. Nutritive value of single-cell protein produced by *Chaetomium cellulolyticum* grown on maize stover and pulp-mill sludge. Anim. Feed Sci. and Tech., 11, 211-219.
- Lehninger, A.L., 1975. Biochemistry, second edition, Worth Publishers, Inc., New York, p 1104.

- Leloğlu, N. ve Erdoğan, N., 1979. Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri. Ziraat Fak., Yayın no 247, Erzurum, s, 168.
- Lim, K.S., Huh, S. and Baek, Y.J., 1995. A selective enumeration medium for *Bifidobacteria* in fermented dairy products. J. Dairy Sci., 78, 2108-2112.
- Malathi, S. and Laddha, G.S., 1989. Single cell protein from defatted mango (*Mangifera indica*) kernels. Indian Journal of Exp. Biology, 27, 792-794.
- Mcfeters, G.A., Cameron, S.C. and Lechevallier M.W., 1982. Influence of diluents, media, and membrane filters on detection of injured waterborne *Coliform* bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 43, 97-103.
- Mckane, L. and Kandel, J., 1986. Microbiology Essentials and Applications. McGraw-Hill BookCompany, New York, p 777.
- Michel, A., Simone, P., François J. and Joseph P., 1987. Biomass composition of a *Candida pseudotropicalis* new strain grown on crude sweet whey. J. Sci. Food Agric., 39, 277-287.
- Molina, O.E., Perotti de Galvez, N.I., Firigerio, C.I. and Cordoba, P.R., 1984. Single cell protein production from baggase pith pretreated with sodium hydroxide at room temperature. Appl. Microbiol. Biotechnol., 20, 335-339.
- Mossel, D.A.A., Veldman, A. and Eeelderink, I., 1980. Comparison of the effects of liquid medium repair and the incorporation of catalase in Mac-Conkey type media on the recovery of *Enterobacteriaceae* sublethally stressed by freezing. J. Appl. Bacteriol., 49, 405-419.
- Öcal, Ş., Aran, N. ve Çelikkol, E., 1977. Zeytin kara suyu ve peynir suyundan mikrobiyal protein elde olunması. TUBİTAK MBEAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, Gebze, Yayın no 26.
- Öner, M., 1980. Bakteriyolojiye Giriş. Ege Üniv. Fen Fak., Bornova – İzmir, s 139.
- Öner, M., 1986. « Genel Mikrobiyoloji » Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi, No : 94 Ege Üniv. Basımevi, Bornova- İzmir, s 127-365.
- Özdemir, S. ve Sert, S., 1996. Gıda Mikrobiyolojisi Tatbikat Notları. Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Yayın no 128, Erzurum.
- Pekin, B., 1980. Biyokimya Mühendisliği, Birinci kitap: kısım:2 Ege Üniv. Matbaası, Bornova- İzmir, s.771.

- Petzel, J.P. and Hartman, P.A., 1989. Monensin-based medium for determination of total Gram negative bacteria and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 925-933.
- Pin, C. Maria, L.M., Maria, L.G., Tormo, J. and Carmen, C., 1994. Comparison of different media for the isolation and enumeration of *Aeromonas spp.* in foods. *Lett. Appl. Microbiol.*, 18, 190-192.
- Pujol, F. and Bahar, S., 1983. Production of single cell protein from green plantain skin. *Eur. J. Microbiol. Biotechnol.*, 18, 361-368.
- Rale BR, (1984). SCP from pineapple (*Ananas sativa* schut). *Appl Microbiol Biotechnol.*, 19, 106-109
- Rambach, A., 1990. New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella spp.* from *Proteus spp.* and other enteric bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 301-303.
- Ray, B., Hawkins, S.M. and Hackney, C.R., 1978. Method for the detection of injured *Vibrio parahemolyticus* in seafoods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 1121-1127.
- Reasoner, D.J. and Geldreich, E.E., 1985. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1-7.
- Robbins, J.E., Domek, M.J., Anderson, E. and Mcfeters, G.A., 1987. Metabolism of *Escherichia coli* injured by copper. *Can. J. Microbiol.*, 33, 57-62.
- Rodrigues, U.M. and Kroll, R.G., 1989. Microcolony epifluorescence microscopy for selective enumeration of injured bacteria in frozen and heat-treated foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 778-787.
- Said, H.M., Feige, A.J., Newsom, A.E., Lauren, S.L. and Mathews, R.A., 1987. The microfibrillar proteins of human hair : Separation by high-performance liquid chromatography and isolation of some proteins enriched in glycine and tyrosine. *Anal. Biochem.*, 165, 161-166.
- Schlegel, H. G., 1986. *General Microbiology*. Cambridge University Press, New York p 587.
- Scott, J.A. and Melvin, E.H., 1953. Determination of dextran with anthrone, *Anal. Chem.* 25, 1656-1661.
- Sörqvist, S., 1993. Heat resistance of *Listeria monocytogenes* by to recovery media used with and without cold preincubation. *J. Appl. Bacteriol.*, 74, 428-432.

- Srivastava, N. and Shai, R., 1987. Effects of distillery waste on the performance of *Cicer arietinum* Lett. Environ. Pollut., 43, 91.
- Tauk, S.M., 1982. Culture of *Candida* in vinasse and molasses: Effect of acid and salt addition on biomass and raw protein production. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 16, 223-227.
- Tekman, Ş. ve Öner, N., 1981. Genel Biyokimya Dersleri. İstanbul Üniv. Yayınları, Yayın no 2810, İstanbul, s 360.
- Temiz, A., 1994. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hacettepe Üniv. Mühendislik Fak., Ankara, s 266.
- Topal, S., 1982. Çeşitli tarımsal ve gıda sanayii atıklarının mikrobiyolojide besiyeri olarak kullanılabilme olanaklarının araştırılması. TÜBİTAK MBEAE Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, Gebze, Yayın no 58.
- Topal, Ş., 1996. Gıda Güvenliği ve Kalite Yöntem Sistemleri TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Matbaası, Kocaeli s 225.
- Unat, E. K., 1980. Türkiye bakteriyolojisinde besiyeri sorunu. XIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara s 10-24.
- Vellar, O. D., 1970. Composition of human nail substance. Am. J. Clin. Nutr., 23, 1272-1274.
- Voet, D. and Voet, J.G., 1990. Biochemistry. Wiley, New York, USA.
- Wright, R.C., 1984. A new selective and differential agar medium for *Escherichia coli* and *Coliform* organism. J. Appl. Bacteriol., 56, 381-388.
- Wyber, J.A., Andrews J. and Gilbert, P., 1994. Loss of salt-tolerance and transformation efficiency in *Escherichia coli* associated with sublethal injury by centrifugation. Lett. Appl. Microbiol., 19, 312-316.
- Yazıcıoğlu, T., Çelikol, E., Öcal, Ş., Aran, N. ve Ömeroğlu, S., 1980. Some trials on the utilization of whey, black water of olive and vinasse for production of SCP in Turkey. TÜBİTAK Marmara Scientific and food Technology Unit., Publication no 42, Gebze.
- Yıldız, N., 1986. «Araştırma ve Deneme Metotları Ders Notları» Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Bölümü, Erzurum.
- Zaske, S.K., Dockins, W.S., Schilinger, J.E. and Mcfeters, G.A., 1980. New methods to assess bacterial injury in water. Appl. Environ. Microbiol., 39, 656-658.

Zuniga, M., Ferrer, S. and Pardo, I., 1994. A selective medium for the isolation of malactic mutants of *Leuconostoc oenos*. Lett. Appl. Microbiol., 19, 451- 453.

