



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



GIDA TUZLARINDA TUZA TOLERANSLI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ

ŞEYMA HELVA

520117024

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Biyoloji Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL, 2021

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde önemli ve değerli bilgilerini benimle paylaşan, her adımda bana yol gösteren, hiçbir zaman desteğini benden esirgemeyen, samimiyetini bana her zaman hissettiren, akademik gelişimimde önemli katkıları olan, tez çalışmalarım için tüm imkânlarıyla bana laboratuvarını açan, yoğun akademik çalışmalarına rağmen sabırla emeğini, ilgisini ve cömertliğini benden hiç eksik etmeyen ve hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım Saygıdeğer Danışman Hocam Sayın Prof.Dr. Meral BİRBİR' e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Lisans ve Yüksek Lisans Eğitimimde büyük emekleri olan ve önemli bilgilerinden istifade ettiğim Kıymetli Bölüm Hocalarıma çok teşekkür ederim.

Lisans ve Yüksek Lisans Eğitimim boyunca yardım, bilgisi ve tecrübeleriyle bana sürekli destek olan Sayın Doç.Dr. Pınar ÇAĞLAYAN Hocama, çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen ve sürekli motive eden değerli arkadaşım Kübra KIZILKAYA'ya, lipaz deneyleri esnasında laboratuvara gelip değerli deneyimlerini benimle paylaşan Burçin GÜÇLÜ'ye ve her daim desteklerini hissettiğim sevgili eşime ve kıymetli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER	<u>SAYFA NO</u>
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SEMBOLLER	vi
KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ	viii
BÖLÜM 1.GİRİŞ	1
1.1. Tuz Hakkında Genel Bilgi	2
1.2. Tuz Çeşitleri	6
1.3. Gıdalarda Tuzun Önemi	7
1.4. Tuzda Bulunan Mikroorganizmalar	9
BÖLÜM 2.MATERYAL VE YÖNTEM	16
2.1. Materyal	16
2.1.1. Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar	16
2.1.1.1 %0.85 NaCl İçeren Steril Fizyolojik Tuzlu Su	16
2.1.1.2. 0.1 M HCl Çözeltisi	16
2.1.1.3. 0.1 M NaOH Çözeltisi	16
2.1.1.4. Amonyum Sülfat çözeltisi	17
2.1.1.5. Kristal Viyole Çözeltisi	17
2.1.1.6. Gram'ın İyot Çözeltisi	17
2.1.1.7. Safranin Çözeltisi	17
2.1.1.8. Oksidaz Test Ajanı	18
2.1.1.9. Katalaz TestAjanı	18
2.1.1.10. Malaşit Yeşili	18
2.1.1.11. Nessler Ayracı	18
2.1.2. Kullanılan Besiyerleri	19

2.1.2.1. Modifiye Edilmiş Nutrient Agar	19
2.1.2.2. Jelatin Agar Besiyeri	19
2.1.2.3. Lipaz Besiyeri	19
2.1.2.4. Nutrient Broth	20
2.1.2.5. Nişasta Besiyeri	21
2.1.2.6. Nutrient Agar	21
2.1.2.7. %10 NaCl İçeren Nutrient Agar	21
2.1.2.8. %20 NaCl İçeren Nutrient Agar	21
2.1.2.9. Kazein Besiyeri	22
2.1.2.10. Peptone Broth	23
2.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	23
2.2. Yöntem (Çalışma Basamakları)	23
2.2.1. Farklı Ülkelerden Tuz Örneklerinin Toplanması	24
2.2.2. Toplanan Tuz Örneklerinin Nem Tayinin Yapılması	24
2.2.3. Toplanan Tuz Örneklerinin Kül Tayinin Yapılması	24
2.2.4. Toplanan Tuz Örneklerinin pH Tayinin Yapılması	24
2.2.5. Toplanan Tuz Örneklerindeki Toplam Bakteri Sayısının Belirlenmesi	24
2.2.6. Tuz Örneklerindeki Toplam Tuza Toleranslı Bakteri Sayısının Belirlenmesi ve Tuza Toleranslı Bakterilerin Saf Kültürlerinin Elde Edilmesi	24
2.2.7. Toplanan Tuz Örneklerindeki Tuza Toleranslı Saf Bakterilerin Morfolojilerinin İncelenmesi	26
2.2.8. Tuza Toleranslı Bakterilerin Hareket Muayeneleri	26
2.2.9. Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Gram Boyamasının Yapılması	26
2.2.10. Toplanan Tuz Örneklerindeki Tuza Toleranslı Saf Bakterilerin Optimum Gelişme Koşullarının İncelenmesi	26
2.2.11. Toplanan Tuz Örneklerindeki Tuza Toleranslı Saf Bakterilerin Koloni Özelliklerinin İncelenmesi	27

2.2.12. Tuza Toleranslı Bakterilerin Endospor Yapılarının Araştırılması	27
2.2.13. Tuza Toleranslı Bakterilerin Oksidaz ve Katalaz Testlerinin Yapılması	27
2.2.13.1. Oksidaz Testi	27
2.2.13.2. Katalaz Testi	28
2.2.14. Tuza Toleranslı Bakterilerin Biyokimyasal Testlerinin Yapılması	28
2.2.14.1. Proteaz Aktivitesi	28
2.2.14.2. Lipaz Aktivitesi	28
2.2.14.3. Kazeinaz Aktivitesi	28
2.2.14.4. Peptondan Amonyak Oluşumunun İncelenmesi	28
2.2.14.5. Amilaz Aktivitesi	29
BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
BÖLÜM 4. SONUÇLAR	48
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	61

ÖZET

GIDA TUZLARINDA TUZA TOLERANSLI BAKTERİLERİN İNCELENMESİ

Bu çalışmada, yedi ülkeden (Fransa, Almanya, İngiltere, Pakistan, Türkiye, İsviçre, Avusturya) toplanan yirmi beş tuz örneğinin nem içeriği, kül içeriği, pH değerleri, toplam bakteri sayısı ve toplam tuza toleranslı bakteri sayısı incelenmiştir. Bu tuzlardaki tuza toleranslı saf bakteriler izole edilmiştir ve bu izolatların Gram reaksiyonu, hücre morfolojileri incelenmiştir. Tuza toleranslı bu izolatların geliştikleri sıcaklık değerleri, pH değerleri, NaCl konsantrasyonları, koloni özellikleri ve biyokimyasal aktiviteleri incelenmiştir. Tuzların nem içeriği, kül içeriği, pH değerleri sırasıyla %2.3-3.7, %95-97, 6.37-9.94 olarak bulunmuştur. Bakteriler (1-58 kob/g) ve tuza toleranslı bakteriler (1-40 kob/g) sırasıyla 20 ve 17 adet tuz örneğinde saptanmıştır. On yedi tuz örneğinden 138 tuza toleranslı bakteri izole edilmiştir. 118 izolat Gram-pozitif ve 20 izolat Gram-negatif olarak bulunmuştur. Tüm izolatların çomak şeklinde olduğu gözlenmiştir. Tüm izolatlar, 24°C ve 37°C'de, pH 5, 7, 9'da; hem NaCl yokluğunda hem de %10 NaCl varlığında gelişmiştir. Sekiz izolat 4°C'de, 22 izolat %20 NaCl varlığında gelişmiştir. Endospor yapısı 78 izolat tarafından oluşturulmuştur. İzolatların kolonilerinin turuncu (2 izolat), krem (62 izolat), koyu krem (7 izolat), beyaz (47 izolat), sarı (14 izolat), koyu sarı (1 izolat) veya renksiz (5 izolat) olduğu gözlenmiştir. Tüm izolatlar katalaz pozitif olarak bulunmuştur. İzolatların 83'ü, 84'ü, 48'i, 92'si, 100'ü sırasıyla oksidaz, proteaz, lipaz, amilaz, kazeinaz pozitif olarak saptanmıştır. Altmış izolat peptondan amonyak üretmiştir. Sonuç olarak, gıda bozulmalarını ve insanlarda gıda zehirlenmelerini önlemek için gıda tuzlarındaki tuza toleranslı bakteriler pişmemiş gıdalarda kullanılmadan önce tuzdan uzaklaştırılmalıdır.

ABSTRACT

EXAMINATION OF HALOTOLERANT BACTERIA IN FOOD SALTS

In this study, 25 salt samples collected from seven countries (France, Germany, England, Pakistan, Turkey, Switzerland, Austria) were examined for moisture contents, ash contents, pH values, total numbers of bacteria and total numbers of halotolerant bacteria. Pure halotolerant bacteria in salts were isolated and Gram reaction, cell morphologies of isolates were examined. Temperature values, pH values, NaCl concentrations at which these halotolerant bacteria grew were investigated. Colony characteristics and biochemical activities of isolates were examined. Moisture and ash contents, pH values of salts were respectively found as 2.3-3.7%, 95-97%, 6.37-9.94. Bacteria (1-58 CFU/g) and halotolerant bacteria (1-40 CFU/g) were detected at 20 and 17 salt samples, respectively. One hundred-thirty eight halotolerant bacteria were isolated from seventeen salt samples. A total of 118 and 20 isolates were found as Gram-positive and Gram-negative, respectively. All isolates were rod-shaped. Endospore structure was formed by 78 isolates. Colonies of isolates were orange (2 isolates), cream (62 isolates), dark cream (7 isolates), white (47 isolates), yellow (14 isolates), dark yellow (1 isolate) or nonpigmented (5 isolates). All isolates grew at 24°C and 37°C; pH 5, 7 and 9; both absence of salt and presence of 10% NaCl. Eight, twenty-two isolates grew at 4°C, 20% NaCl, respectively. All isolates were catalase positive. Eighty-three, 84, 48, 92, 100 of isolates were oxidase, protease, lipase, amylase, caseinase positive, respectively. Sixty isolates produced ammonia from peptone. In conclusion, halotolerant bacteria found in food salt should be removed before using in uncooked foods to prevent food spoilage and foodborne diseases in humans.

SEMBOLLER

NaCl	:	Sodyum klorür
°C	:	Santigrat derece
Na	:	Sodyum
Cl	:	Klor
MgCl₂ .6H₂O	:	Magnezyum klorür hegzahidrat
MgSO₄.7H₂O	:	Magnezyum sülfat heptahidrat
CaCl₂	:	Kalsiyum klorür
KCl	:	Potasyum klorür
NaHCO₃	:	Sodyum bikarbonat
NaBr	:	Sodyum bromür
HCl	:	Hidroklorik asit
NaOH	:	Sodyum hidroksit
O₂	:	Oksijen
HgCl₂	:	Civa (II) klorür
H₂O₂	:	Hidrojen peroksit
KOH	:	Potasyum hidroksit

KISALTMALAR

pH	:	Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması.
kob	:	Koloni oluřturma birimi
g	:	Gram
cm³	:	Santimetreküp
M	:	Molar
ml	:	Mililitre
rpm	:	1 dakikadaki dönüş sayısı
µm	:	Mikrometre
UV	:	Ultraviyole ışın
TS	:	Tuzlu Su
GTÖ	:	Gıda Tuzu Örneği

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Tuz örneklerinin orjinleri, çeşitleri, renkleri ve kodları

Tablo 2. Tuz örneklerine ait görseller

Tablo3. Tuz örneklerinin nem ve kül içerikleri, pH değerleri, içerdikleri toplam bakteri sayıları ve toplam tuza toleranslı bakteri sayıları

Tablo 4. İzolatların farklı sıcaklık, farklı pH değerleri ve farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme aralıkları

Tablo 5. Tuza toleranslı saf bakteri kolonilerinin fenotipik özellikleri

Tablo 6. Tuza toleranslı izolatların biyokimyasal test sonuçları

1. GİRİŞ

Tuz, yaşamsal değerinden dolayı tarih boyunca insanlar tarafından kullanılan bir mineraldir (Koday, 1999). Tuz deniz, göl ve kaya gibi farklı yerlerde üretilmektedir. Yalçın ve Ertem, 1997). Tuz, göllerde, yer altı sularında, denizlerde ve yer altında kaya tuzu formlarında bulunmaktadır (Koday, 1999). Tuz, oldukça geniş alana sahip katkı maddesidir (Lawrence ve ark., 2003).

Tuz hem düşük maliyeti hem de birtakım özellikleri nedeniyle gıda sanayisinde çokça kullanılan bir katkı maddesidir. Tuz içerdiği yüksek sodyum klorürün konsantrasyonundan dolayı gıdalarda antimikrobiyal, koruyucu ve su aktivitesini azaltıcı özelliğe sahiptir. Yaygın olarak kullanılan en önemli gıda koruma tekniği, tuz kullanım tekniğidir. Bu koruma tekniği gıdalarda mikroorganizmaların büyümelerini engellemektir (Albarracín ve ark., 2011).

Kimya endüstrisi gelişinceye dek sadece koruma ve besin katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Koday, 1999). Ancak bugün özellikle kimya endüstrisinde meydana gelen gelişmelerle tuzun kullanım alanları fazlaca artmıştır (Türkiye Tuz Envanteri, 1977).

Tuz, gıda, dericilik, baca temizleme, hayvan yemleri, boru lehimleme, çömlek sırlama, yemeklere katkı maddesi, yabancı otların imhası, ağaç bakımı, diş ağrısı, tıp alanında enjeksiyon, kozmetik sanayi, su yumuşatma, çeliğe sertlik verme, demiryollarının ve karayollarının buzla mücadelesi gibi dolaylı ya da doğrudan yaklaşık 14.000 farklı sektörde kullanılmaktadır (Adshead, 1992; İltter, 2000; Aquaron, 2000).

Tuzlama işlemi temel olarak et ve balık endüstrilerinde muhafaza ve koruma için önemlidir. Tuz difüzyonu yoluyla gıdanın su aktivitesi düşürerek gıdanın tazelik ve doku stabilizasyonu sağlanmakta ve lezzetin gelişmesi kolaylaştırılmaktadır (Albarracín ve ark., 2011).

İşlenmemiş yani ham tuzlar besinlerin korunmasında kullanıldığında, gıdayı içinde bulunan muhtemel mikroorganizmalarla kontamine edebilmekte ve gıdaların bozulmasına neden olmaktadır. Önceki çalışmalarda araştırmacılar, özellikle tuz gölünden, deniz tuzlarından, çok tuzlu topraklardan, tuzlanmış derilerden, tuzlanmış et ürünlerinden, tuzlanmış balıklardan, tuzlanmış peynirlerden, turşulardan ve salamura zeytinler gibi çeşitli tuzlanmış ürünlerden ılımlı halofil bakteri ve aşırı halofil arkelerin elde edilmesi ve tanımlanmasına odaklanmışlardır (Lück ve Pager, 2000). Bu sebeple bu çalışmada gıdalarda kullanılan tuzlarda tuza toleranslı bakteriler üzerinde araştırma yapılmıştır.

Araştırma kapsamında tuz örneklerinin toplanması, örneklerin nem, pH, kül değerlerinin belirlenmesi, toplam bakteri sayısının ve toplam tuza toleranslı bakteri sayısının saptanması, tuza toleranslı bakterilerin izole edilerek saflaştırılması, izolatların koloni özelliklerinin incelenmesi, Gram reaksiyonlarının belirlenmesi, hücre şeklinin incelenmesi, geliştikleri sıcaklık, pH ve tuz aralıklarının saptanması, endospor oluşumunun araştırılması ve biyokimyasal testler ile enzim aktivitelerinin incelenmesi üzerinde çalışmış ve tuza toleranslı bakterilerin özelliklerinin açıklanması amaçlanmıştır.

1.1.Tuz Hakkında Genel Bilgi

Asıl adı “Sodyum klorür” olan Na ve Cl oluşan tuz, insan kullanımına uygun özellikte üretilen katkı maddesidir. Gıda endüstrisinde kullanılan tuzlar ve sofr tuzu olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 2013; Ayaz, 2008).

Gıda Endüstri Tuzu: Gıda endüstrisinde kullanılan yemeklik tuzlardır. İyot ilavesi zorunlu değildir.

Sofra tuzu, direkt tüketiciye takdim edilen, toz haline getirilmiş, iyot ilave edilmiş, rafine edilmiş ya da edilmemiş yemeklik tuzlardır. 25-40 mg/kg potasyum iyodat eklenmesi zorunludur (Türk Gıda Kodeksi, 2013).

Tuz, tarihte değerini korumuş önemli bir maddedir. Özellikle Antik Roma, Mısır ve Ortadoğu’da besinleri muhafaza edebilme özelliğinden dolayı yerleşik hayat tuz yataklarına çok yakın olmuştur (Netolitzky, 1913; Forbes, 1965).

Eski Mısır’da tuza ‘natron’, yani ‘ilahi tuz’ adı verilmiştir. Roma’da şehir merkezi, tuzun taşınması için bir rota olarak belirlenmiştir. Latince ‘salarium’ yani ‘maaş’ kelimesi, ‘salt (tuz)’ dan türemiştir ve çalışanlara yada Romen lejyonerlere (askeri topluluklara) işleri için ödenen tuz miktarı anlamına gelmektedir (Albarracín, 2010).

İlk çağlarda tuz, su kaynaklarından üretilmiştir. Kaynaktan çıkan kaynak suları, ısıtılmış taşların üzerine dökülerek buharlaştırma yöntemiyle tuz üretilmiştir. Sonraki dönemlerde teknolojiye meydana gelen gelişmeler neticesinde, farklı yöntemlerle farklı şekillerde oluşmuş tuz yataklarından faydalanılmıştır (Koday, 1999). Yaygın olarak doğada bulunan tat verici ve koruyucu madde olarak kullanılmaktadır (Ergin, 1988; Birbir ve Erdoğan, 2002). Yapısında bulunan sodyum vücutta sıvı ve elektrolit dengesini sağlarken, kan basıncını düzenlemede de önemli rol oynamaktadır (Akgün ve ark., 2018). Dünyada tüketilen besin kaynakları içerisinde tuz büyük bir öneme sahiptir. Son zamanlarda tuz, günlük hayatta kullanımının dışında besinlerin saklanması, konserve

üretimi, dondurma ve soğuk taşımacılık için de kullanılmaktadır (Yalçın ve Ertem, 1997). Tuz, suda çok kolay eriyebilmesinin yanında havadaki ve ortamdaki nemi de tutmaktadır. Bu sebeple kullanıldığı gıdalarda su oranını düşürmek için konservasyon aşamasında kullanılmaktadır (Birbir ve Erdoğan, 2002, Madigan ve ark., 2009). Bu yöntemlerin ilerlemesi tuzun endüstride kullanılmasını dünya genelinde yaygınlaştırmaktadır (Yalçın ve Ertem, 1997).

Tuz ilk çağdan bu yana besinlerin dayanıklılığını ve lezzetini artırmak amacıyla kullanılmaktadır (Akgün ve ark., 2018). 1700'lü yıllara dek yalnızca besinlerde kullanılan tuz, 1800'lü yıllara gelindiğinde lezzet anlayışının değişmesiyle insanlar tarafından daha az tercih edilmeye ve bu yüzyılda besin saklama, konserve yapma, buzdolabında saklama ve dondurma gibi yöntemlerde de kullanılmaya başlanmıştır (Ayaz, 2008).

Tuz barındığı ortamda su moleküllerini yoğunlaştırıp difüze etme özelliği ile suda kolayca çözünebilmektedir (Ersoy ve Yünsel, 2001). Tuz, koruyucu, lezzet artırıcı ve su adsorpsiyonunu iyileştirmek için en çok kullanılan gıda katkı maddelerinden biridir (Lawrence ve ark., 2003). Sofra tuzu pek çok kültürün mutfağında lezzet verici, tat artırıcı olarak kullanılmaktadır. Bu gıdaları tüketen insanlar tuz seviyesi yetersiz olan ürünleri lezzetsiz ve tatsız olarak nitelendirmektedir. Bunun sebebi, tuzun istenmeyen, hoşlanılmayan tatları (metalik, acı veya kimyasal) bastırması ve bazı tatların (tatlılık gibi) yoğunluğunu ise arttırmasından kaynaklanmaktadır (McMahon, 1999).

Tuz, tuz göllerinden, tuz madenlerinden, tuz gölü ve deniz tuzlarından elde edilmekte, tuz gölleri ve deniz tuzlarından elde edilen ham tuzlar tuza toleranslı bakteri, ılımlı halofil bakteri ve aşırı halofil arke içerebilmektedir (Birbir ve ark.,2007)

Tuz, genellikle beyaza yakın, gri, koyu gri, siyaha yakın renge sahiptir ve tuzun barındırdığı yabancı bazı maddeler tuza farklı renkler verebilmektedir. Doğadan işlenmeden elde edilen ham tuzun içerdiği maddelere ve bakterilere de bağlı olarak renksiz, saydam veya yarı saydam olmaktadır (Birbir ve Erdoğan, 2002). Aşırı halofil arkelerin, ılımlı halofil bakterilerin ve halofil olmayan tuza toleranslı bakterilerin bulunduğu tuz, kırmızı, pembe, sarı, kirli beyaz renkler taşıyabilmektedir (Birbir ve ark., 2007). Tuzun suda erime özelliği sıcaklıkla orantılı olarak değişmektedir. 0°C de 100 g su içinde 36 g tuz ile doymuş çözelti olurken, 100°C de 40 g tuz ile doymuş tuzlu çözelti oluşmaktadır (Ersoy ve Yünsel, 2001).

Antimikrobiyal etki oluşturmayan ancak su aktivitesini azaltma kabiliyetine sahip olan tuz, besinlerde tuza toleranslı olmayan mikroorganizmaların üremesini

yavaşlatmaktadır. Yoğun tuz konsantrasyonu, ozmotik etkiden dolayı halofil olmayan mikroorganizmaların hücresel metabolizmasını yavaşlatarak bakterilerin gelişmesini engelleyebilmektedir. Fakat muhafaza edilmiş yiyeceklerin besin değerini azaltabilmektedir çünkü vitamin ve mineral gibi suda çözünebilir içeriklerin elenmesine neden olabilmektedir (Lück ve Pager, 2000).

Bitkisel ürünlerde tuz, başlıca muhafaza etmek için ve kuru tuzlama ya da fermentasyon aşamalarında başarıyla kullanılmaktadır. Bazı bitkisel ürünlerde, tuz doğrudan koruyucu olarak yer almamaktadır çünkü az miktarda eklenen tuz, rekabetçi ve tuzlu ortamda üreyen mikroorganizmaların gelişmesine neden olmaktadır (Lück ve Pager, 2000; Van Buren, 2006; Panagou, 2006; Bautista-Gallego ve ark., 2009).

Geleneksel tuzlama, kullanılacak malzemenin katı tuzla örtülmesi veya ovulması şeklindedir. İşlem sırasında gıdadan çözülerek veya süzülerek çıkan sıvı, ozmotik ve difüzyon mekanizmalarının sonucudur. Tuzlama aşamasının amacı, oda sıcaklığında yeterli kür malzemesi (esas olarak NaCl) ve gerçekleştirilen farklı işlemlerin (kurutma, tütsüleme, kütleme, pişirme) ve nihayetinde gıda muhafazasını mümkün kılmaktır. Tuzlama işlemi yüzyıllardır kullanılan eski bir teknik olduğu için sürecin devamında yer alan farklı koşullar deneysel olarak araştırılarak saptanmıştır (Albarracín ve ark., 2011).

Tuz, morina balığı, çipura, uskumru ve somon füme gibi çeşitli balık ürünlerinde kullanılmaktadır (Thorarinsdottir ve ark., 2002; Barat ve ark., 2003; Chouliara ve ark., 2004; Goulas ve Kontominas, 2005; Goulas ve Kontominas, 2007; Gallart-Jornet ve ark., 2007).

Araştırma ve sanayileşmenin de katkısıyla salamura tuzlama gibi yeni tekniklerin gelişimi teşvik edilmiştir. Salamurada ham madde doymuş tuzlu suya yerleştirilmektedir ve tuzlu suların önceden çözündürülmesinden dolayı tuzlama süresi azaltılmıştır ve kolaylaştırılmıştır (Albarracín ve ark., 2011).

Tuzlu su tuzlaması (basınç ile tuzlu suyun gıda matrisine nüfuz etmesi zorlanır) ve enjeksiyon-tuzlama (gıda dokularına iğne sokulması esasıyla, sodyum klorür, nitritler ve diğer olası kütleme içindeki şekerler, baharatlar, polifosfatlar gibi ajanlar daha hızlı ve daha düzgün dağıtılır) şeklinde kullanılan teknikler de bulunmaktadır (Fito ve Pastor, 1994; Barat ve ark., 2005, 2006; Bellagha ve ark., 2007; Gallart-Jornet ve ark., 2007; Casiraghi ve ark., 2007).

Aşırı tuzlu ortamlar genellikle tuz konsantrasyonlarını içeren ortamlar olarak tanımlanmaktadır. Bu tür ortamların çoğu dünyanın sıcak ve kuru iklim bölgeleri, %15'ten

fazla NaCl içeren yerleridir (Zahran, 1997). NaCl, aşırı tuzlu suların çoğunda ana tuz olmasına rağmen, tuzlu su göllerinin iyonik bileşimi, çevreleyen topografyadan, jeolojiden ve genel iklim koşullarından etkilenmektedir. Aşırı tuzlu ekosistemler, iyonik bileşimde toplam tuz konsantrasyonu ve pH, büyük bir değişkenliğe sahiptir. Birçok aşırı tuzlu ortam yüksek sıcaklıkların neden olduğu deniz suyunun buharlaşmasından, düşük yağış ve düşük nem oranından kaynaklanmaktadır ve talassohaline ortamları olarak adlandırılmaktadır (Oren, 2002). Sucul ortamlar, genellikle yaklaşık %4-30 (0.7 ila 5.1 M aralığında) NaCl yoğunlukta olup ek olarak bu ekosistemlerdeki kirliliğin hafifletilmesinde, besin döngülerinde ve besin ağlarında önemli bir rol oynayabilen doğal bir bakteri florasına sahip olmaktadır (Zahran, 1997).

Doğal iç bölgelerde Utah'daki (ABD) Büyük Tuz Gölü gibi tuz göllerinde (talassohaline tuzlu su) litre başına yaklaşık 332.5 g toplam çözünmüş tuz gibi yüksek konsantrasyonlarda tuz bulunmaktadır. Sodyum, Büyük Tuz Gölü'nde 4.6 M konsantrasyon ile baskın katyon, klorür ise 5.1M konsantrasyona sahip baskın anyondur. Bu ortamda önemli seviyelerde sülfat da mevcuttur ve pH nötr veya hafif alkalidir (pH 7-8). Buna karşılık, bir başka aşırı tuzlu göl olan Ölü Deniz, athalassohaline gölünün en önemli örneğini oluşturmaktadır (iyonik bileşim, deniz suyundan büyük ölçüde farklıdır). Ölü Deniz, litre başına yaklaşık 322.6 g çözünmüş tuz içermekte ancak sodyum da nispeten düşük olmaktadır (1.7 M) ve çevreleyen kayalardaki magnezyum mineralleri bolluğu nedeniyle yüksek seviyede magnezyum (1.7 M) içermektedir. Ayrıca Ölü Deniz'de nispeten pH düşüktür (hafif asidik) (Ollivier ve ark., 1994; Zahran, 1997; Yoon ve ark., 2005).

Tuz, çoğunlukla denizden elde edilen tuzlarda üretilmektedir. Genellikle denizler %3.5 oranında tuz ihtiva etmektedir. Deniz suyunda bulunan bazı iyonlar Ca^{+2} , Cl^{-} , Na^{+} , Mg^{+2} , F^{-} , SO_4^{-2} , Br^{-} , K^{+} , H_3BO_3 , HCO_3 ve Sr^{+2} dir ve bu iyonlardan baskın olan anyonlar Cl^{-} ve SO_4^{-2} iken, baskın olan katyonlar Na^{+} ve Mg^{+2} dur (Macintyre, 1970).

Tuz gölleri, Karbonat-klor gölleri ve Klor-sülfat gölleri olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Önemli olan bu göllerde Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonlarının varlığıdır. pH'ı bazik olan Karbonat-klor göllerinde bu iyonlar çok az miktarda bulunmaktadır ve pH'ın yüksekliğinden dolayı iyonlar az miktarda çökmektedir. pH'ı nötral olan Klor-sülfat gölleri de katyonların fazlaca bulunması halinde karbonatın çökmesiyle meydana gelmektedir (Oren, 2000).

Ülkemizde deniz göl tuzlarında, kaya ve kaynak sularından tuz üretilmektedir.

Tuzlalarda tuz üretimi güneş ısı ile suyun buharlaştırılması esasına dayanmaktadır. Deniz tuzlalarında deniz suyu ilk olarak soğuk su havuzuna alınarak tuzluluğu artırılmakta ve yabancı maddelerin çökmesi sağlanmakta, sonrasında ise sıcak su havuzuna alınarak yoğunluk %25' e ulaşıncaya kadar tuz kristalleştirilmektedir. Tuz tabakasının kalınlığı 15-16 cm olduğunda tuz havuzdan toplanmaktadır. Göl tuzlalarında tuz, sıcak yaz aylarında suyun buharlaşmasıyla çökmüş haldeki tuzun toplanması ile kaya tuzlalarında ise yeraltındaki tuz kayalarının patlatılması akabinde oluşan tuzların toplanması ile üretilmektedir. Kaynak tuzları en kaliteli tuzun bulunduğu yerdir (Tekel Tuz Sanayii Müessesesi Müdürlüğü Dergisi, 2000).

Tuzlu su yatağı, tuzun yer altı suları içinde eriyerek yeryüzüne çıkmasıyla oluşmaktadır. Sonrasında bu sulardan deniz tuzlasında olduğu gibi kristalize tuz havuzunda buharlaştırma yöntemiyle tuz üretilmektedir (Tekel Tuz Sanayii Müessesesi Müdürlüğü Dergisi, 2000).

Tuz, patojenlerin ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gıdada gelişmesi için gereken su aktivitesi (aw) seviyesini düşürerek koruyucu olarak görev yapmaktadır. Aw değeri suda mikrobiyal gelişme, enzimatik reaksiyon, metabolik faaliyet gibi olaylar için kullanılabilirliği ifade etmektedir. Mikroorganizmalar, suyun aw değeri 0.5'in altına düştüğünde gelişmemektedir (Durack ve ark., 2008).

Tuz her ne kadar tüm bakterileri ortadan kaldırırsa da nemi kayda değer miktarda azalttığı ve bozulma yaratan bakterileri denetim altında tuttuğu için doğal bir antiseptik olarak kullanılabilir (Türk Gıda Kodeksi, 2013).

1.2. Tuz Çeşitleri

Sofra tuzu

Tuz denildiğinde akla ilk gelen en çok satın alınan kaya madenciliği, deniz ve gölden buharlaştırma ile elde edilen çok ince tanelere sahip tuz çeşididir. Tercihe göre iyot ve topaklanmayı önleyici katkıları eklenmektedir.

Deniz tuzu

Deniz tuzu kullanımı tarih öncesi çağlara dayanmaktadır. Deniz suyunun buharlaştırılmasıyla üretilmekte ve pek çok sektörde kullanılmaktadır. İçerisinde barındırdığı mineral ve kullanılan buharlaştırma yöntemi üretildiği alana göre farklılık göstermektedir.

Himalaya tuzu

Dünya üzerinde farklı tuz çeşitlerinden olan pembe tuzun en çok bilineni tuz madeni Pakistan'da bulunan ve buradan çıkarılan Himalaya tuzudur. Pembe tuz, sofraya tuzuna kimyasal olarak oldukça benzemektedir ancak görünüş açısından oldukça farklılık göstermektedir. Sofra tuzuna kıyasla çok daha keskin bir tadı olmakla birlikte %98 NaCl içermektedir. Tuzun geri kalanında ise potasyum, magnezyum ve kalsiyum gibi mineraller bulunmaktadır. Yemek pişirme ve baharatlamada kullanımı yaygındır.

Kıbrıs siyah lav tuzu

Oldukça farklı tuz çeşitlerinden olan Siyah Lav tuzu, Hawaii kara tuzuna benzemektedir ancak Akdeniz'deki Kıbrıs adasında üretilmektedir. Siyah renkte olup aktif kömür ile birleştirilen bir çeşit deniz tuzudur.

Nepal Kırmızı Tuzu (Alaea Tuzu)

Hasatının ardından demir oksit açısından zengin kırmızı volkanik kil ile karıştırılması ile üretilen Nepal tuzu karakteristik tuğla kırmızısı rengine sahip olmakta ve Hawaii yemeklerinde de çokça kullanılmaktadır. Tarihte de dini törenler için kullanılmıştır (<https://koyuncutuz.com/kutuphane/kac-cesit-tuz-varidir>).

Kaya Tuzu

Deniz suyu veya tuzlu göl suyunun buharlaşması sonucu oluşan tortul kayalarda oluşmaktadır. NaCl'nin mineral formudur. Tipik rengi renksiz ya da sarı olmakla birlikte yabancı maddeler ile rengi farklılık gösterebilir. İçerisinde sülfat, halojen tuzu ve boraks asidi içerebilmektedir (https://tr.wikipedia.org/wiki/Kaya_tuzu).

1.3. Gıdalarda Tuzun Önemi

Günümüzde "güvenli gıda" tüketiciye ulaşmak amacıyla en sık kullanılan reklam sloganıdır. Tüketici için gıdanın dayanıklılığı önemli faktörlerin başında gelmektedir. Bu sebeple üretilen gıdaların daha uzun süreyle kullanımı sağlanmakta olup besleyiciliği yüksek gıda geliştirilmesi ve üretimi, tüketiciye cazip gelmesiyle beraber bu durum gıda endüstrisinin diğer bir görevi olmuştur. Gıdaların korunmasında genel anlamıyla yapılması gereken temel iki uygulama bulunmaktadır. Bunların birincisi mikrobiyolojik aktiviteyi durdurmaktır ve ikincisi ise dokulardaki enzimatik reaksiyon, su aktivitesi gibi kimyasal olayları kontrol altına almaktır. Bu kimyasal olaylar hem gıdayı kontamine eden mikroorganizmalardan hem de gıdada bulunan enzimlerden ileri gelmektedir (Arıcı, 2006).

Tuz suda çok kolay eriyebilmesinin yanında havadaki ve ortamdaki nemi de

tutmaktadır. Bu sebeple kullanıldığı gıdalarda ve derilerdeki su oranını düşürmek için konservasyon aşamasında kullanılmakta ve bunun sonucunda düşük nem ile bakterilerin çoğalması engellenmektedir (Birbir ve Erdoğan, 2002, Madigan ve ark., 2009).

Etkili koruma yöntemleri geliştirmede yıllardır çalışılmakta ve tarihsel gelişim içinde fermente etme (salamura, tuzlama, turşu), konserve, güneşte kurutma ve mayalama gibi teknikler de gıdayı uzun sürede tüketilebilir forma getirmede kullanılmaktadır (Jay, 1992).

Zamana bağlı olarak beslenme alışkanlıklarının değişmesi ve kişilerin çalışmasının artması ile tüketime hazır gıdaya ihtiyaç artmış ve hazır gıdanın geliştirilmesi gerekmiştir. Gıdaların işlenmesinde meydana gelen gelişmelerle elde edilen yeni ürünlerin yanında bu ürünlerin raf ömrünün uzatılması ve bu işlemlerle birlikte kalitesinin de korunması amaçlanmaktadır (Erdem ve Bilgin, 2004).

Tuz, kurutucu etkisiyle, tuzlanmış ve kurutulmuş et ve balıklarda, bakterilerin enzimatik reaksiyonlarını durdurmaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 2013). Ayrıca, gıdalarda aroma oluşmasına yardımcı bazı mikroorganizmaların gelişimini ve enzim aktivitesini düzenleyerek gıdanın tadını etkilemektedir (Man, 2007). Günümüzde sucuk ve konserve et gibi kürlenmiş besinlerde (tuz, nitrat, nitrit, şeker, baharat ve lezzet verici çeşitli katkı maddelerinin ürünün her tarafına dağıtılması işlemi) koruyucu olarak tuz ile birlikte sodyum içerikli bileşikler de kullanılmaktadır (Türk Gıda Kodeksi, 2013).

Su ürünlerinin yeterli ve dengeli beslenmede hayvansal protein eksikliğini tamamlamada önemli bir konumu vardır. Ülkemiz sahip olduğu coğrafi yapı ve iklim koşulları ile deniz ve iç sularımızda çeşitli su ürünlerinin yetiştirilmesi ve geliştirilmesi için oldukça uygundur (Gökoğlu ve ark., 1994). Marinasyon Kuzey Amerika'da yıllardır bilinen bir yöntemdir. Çin, Japonya, Kore, İspanya gibi ülkelerde marine kabuklu deniz ürünleri ve balık oldukça fazla tüketilen besinlerdir (Ghanbari ve Jami, 2013). Fermente edilerek muhafaza edilen ve tüketilen besinlerin fermentasyon işlemi sırasında aktif olması gereken lipaz enzimleri hakkında oldukça sınırlı araştırma yapılmıştır (Schreck ve Grunden, 2014).

Sütün peynire dönüştükten sonraki hali %16'lık; salatalık, lahana, yeşil fasulye, yeşilbiber, domates, karnabahar gibi sebzeler %15'lik tuzlu salamurada saklanmaktadır. Bu yoğunlukta olan tuz çözeltisinde çok az mayalanma gerçekleşmekte

ve koruma da sağlanmaktadır. Sebzelerin bu şekilde hazırlanmış haline “turşu” adı verilmektedir (Türk Gıda Kodeksi, 2013).

Bitkisel ürünlerde, tuz başlıca muhafaza etmek için kuru tuzlama yada fermantasyon aşamalarında başarıyla kullanılmaktadır. Bazı bitkisel ürünlerde, tuz doğrudan koruyucu olarak yer almamaktadır çünkü az miktarda eklenen tuz, rekabetçi ve tuzlu ortamda üreyen mikroorganizmaların gelişmesine neden olmaktadır (Lück ve Pagar, 2000; Bautista-Gallego ark., 2009).

Et ve et ürünlerinin üretiminde tuzun birçok fonksiyonel özelliği vardır. Bu özellikler, proteinlerin hidrasyon ve su bağlama kapasitesini geliştirmekte, bağlanmayı arttırarak proteinin doku özelliklerini iyileştirmekte ve etin kararlılık viskozitesini arttırarak kararlı olmasını sağlamaktadır. Tuz da diğer maddeler gibi belirli bir nem oranına sahiptir. Bu nemin oranı oldukça önemlidir. Bu oran hem canlılık hem de ağırlık olarak önem arz etmektedir (Desmond, 2006).

Tuz ile mikrobiyal gelişme inhibisyonunun mekanizması plazmoliz hücreden su kaybı ile ortaya çıkmaktadır. Yiyeceklerin su aktivitesi tuz ilavesiyle azaldığında, bakteriyel hücreler ozmotik şoka, plazmolize ve turgor kaybına uğrayarak büyümenin durmasına, ölüm yada bakterinin uyku haline girmesine yol açmaktadır (Davidson, 1997). Tuz, başlangıç kültürlerinin aktivitesini kontrol etmekte ve çeşitli olgunlaşma enzimlerinin aktivitesini etkilemektedir (Guine, 2004).

Koruyucu özelliğinin yanı sıra tuz, birçok üründe, özellikle işlenmiş gıdalarda, lezzet ve doku sağlar. Yiyeceklerle ilişkili dört ana aromadan biridir. Yiyeceklere eklendiğinde kendine ait spesifik bir aroma, üründeki diğer içerikleri yada acılıkları indirgemektedir (Hutton, 2002).

Sodyumun potasyum, kalsiyum yada magnezyumla kısmi yer değiştirmesi patojen mikroorganizmalarda antimikrobiyal etkiye sahiptir ancak NaCl'nin indirgenmesi mantar ve patojen mikroorganizmaların büyümesini doğrudan etkilemektedir (Taorimina, 2010). Tuz, sebzelerde yararlı kültürlerin büyümesine izin vererek mikrobiyal gelişmeyi kontrol eder ve böylece güvenli fermantasyon için ihtiyaç duyulan koşulları sağlar. Tuzun mikroorganizma üzerindeki etkisi hem içsel hem de dışsal faktörlerin sayısına bağlıdır. Aslında, her organizmanın tuza cevabı farklıdır (Man, 2007).

1.4. Tuzda Bulunan Mikroorganizmalar

Canlılar, rRNA'larında bulunan nükleotid dizilişlerine göre, *Bacteria*,

Archaea ve *Eukarya* olmak üzere üç domainde toplanmaktadırlar (Woese ve ark., 1990). Prokaryot olan *Archaea*'ya ait 10 şube ve *Bacteria*'ya ait 60 şube olmak üzere toplam 70 şube (filum) bulunmaktadır (<http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2021).

Archaea, *Bacteria* ve *Eukarya* alemlerinin her birinde de tuz varlığında yaşayabilen mikroorganizmalar bulunmaktadır (Grant ve ark., 2001; Madigan ve ark., 2009; Margesin ve Schinner, 2001). Halofilizm ve dereceleri birçok çalışmada farklı terimler ve kavramlar kullanılarak tanımlanmış ve sınıflandırılmıştır ve bu tanımlardan en yaygın olarak kabul edilene Kushner ve Kamekura'ya (1988) aittir. Halofil olarak isimlendirilen mikroorganizmalar gelişmek için tuza gereksinim duymaktadır. Tuza duydukları bu gereksinime göre, halofil bakteriler; zayıf halofiller, ılımlı halofiller ve aşırı halofiller olmak üzere gruplandırılmaktadır (Kushner, 1978; Almohsen, 2014).

Aşırı ortamlarda kirlenme, biyolojik bozulma gibi olaylar oldukça az ilgi görmüş, ancak pek çok kirlenmiş ekosistem yüksek ya da düşük sıcaklıklar, aşırı asidik ya da aşırı bazik, yüksek basınç ya da yüksek tuzluluk içermektedir (Margesin ve Schinner, 2001; Paniagua ve Vazquez-Duhalt, 2008). Çeşitli aşırı koşullarda mikrobiyal yaşam bulunabilmektedir. Hipersalin, diğer bir deyişle yüksek tuz içeren ortamlar, yüksek tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklıklara maruz kalma, düşük oksijen koşulları ve uç pH değerleri nedeniyle aşırı koşullara sahip ortamların tipik örneklerini oluşturmaktadır. Halofil bakteriler ve Arkeler, bu ortamlarda yaygın olan organizmalardır (Ventosa, 2006).

Halofil mikroorganizmalar, dünya çapında yaygın olarak dağılmış olan aşırı tuzlu ekosistemlerin doğal mikrobiyal topluluklarını oluşturmaktadırlar (Corral ve ark., 2020; Oren, 2008).

İlımlı halofil bakteriler taksonomik ve morfolojik açıdan aşırı halofil mikroorganizmalardan ayrı bir gruptur. Bu mikroorganizmalar aşırı halofil mikroorganizmalara nazaran daha düşük ısıda ve tuz konsantrasyonunda hızlıca üremektedirler (Birbir, 1991). Bu organizmalar genellikle 0.5-2.5 M NaCl aralığındaki konsantrasyonlarda optimum büyüme gösteren mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Kushner, 1978; Ventosa ve ark., 1982).

Arkeler (*Halobacteriaceae*) bir litrede 250-300 gramı aşan tuz konsantrasyonlarında dominant olarak bulunan kırmızı pigmentasyon oluşturan mikroorganizmalardır (Birbir ve Erdoğan, 2002). Terim olarak aşırı halofil, mikroorganizmanın tuzlu ortamda geliştiğini ve tuza çok fazla gereksinim duyduğunu

belirtmek için kullanılmaktadır. Bazen bu tuz gereksinimi tuzun doygunluk noktasına kadar olabilmektedir (Değirmenci, 2006). Aşırı halofiller arkelerin gelişmesi için minimum 1.5 M NaCl (%9) ve çoğu tür optimal gelişme için ise 2-4 M NaCl (%12-23)'a gereksinim duymaktadır. Buna rağmen bazı türler bu tuzlulukta çok yavaş gelişmektedirler (Gonzales ve ark., 1978; Madigan ve Martingo, 2006).

Tuza toleranslı bakteriler tuz yokluğunda gelişebilen ve nispeten yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere edebilen halofil olmayan mikroorganizmalardır (Gilmour, 1990; Ventosa ve ark., 1998; Echigo ve ark., 2005; Arahal ve Ventosa, 2006; Bowers ve ark., 2009). Tuza toleranslı bakteriler için rutin kullanılan ortam onları zorunlu halofil bakterilerden ayırt etmek amacıyla %8 NaCl içermektedir. Bu tuz konsantrasyonu ortamın cinsinden veya büyüme için gerekli olan sıcaklıktan bağımsız olarak, bu bakterilerin gelişimi için en uygun ortam olarak bildirilmiştir (Vreeland ve ark., 1980). Halofil bakterilerin tuzsuz ortamda gelişmemesi, tuza toleranslı bakterilerle arasındaki en önemli farktır (Birbir ve Ilgaz, 1996). Tuza toleranslı bakteri suşları, birbirleriyle yakından ilişkili olmalarına rağmen, halofil kültürlerle çok az benzerlik göstermiştir. Bu yüzden tuza toleranslı bakteri grubu daha detaylı incelenmek istenmiştir (Vreeland ve ark., 1980).

Tuza toleranslı olarak karakterize edilmiş bakteriyel gruplar sulu ve kuru ortamlarda yüksek tuzlulukta fermente edilmiş deniz yiyeceklerinde bulunmuştur. Çalışılan fermente edilmiş deniz yiyeceklerinde tuzluluk oranlarına göre bakteriyel gelişimler ve baskınlıkları da fark göstermiştir (Chowdhury ve ark., 1993; Yoon ve ark., 2003; Yoon ve ark., 2005; Arahal ve Ventosa, 2006; Kim ve ark., 2010).

Tuz toleransı ile NaCl arasındaki fark tuz gereksinimini ifade etmektedir. Bazı tuza toleranslı bakteri grupları sadece küçük bir tuz konsantrasyonunu (yaklaşık %1 NaCl) tolere edebilen, hafif toleranslı (%6-8 NaCl) olanlar, orta derecede toleranslı (%18-20 NaCl) olanlar ve son derece toleranslı (sıfırdan doygunluğa kadar tüm tuz konsantrasyonları aralığında büyüeyebilen) olanlar olmak üzere gruplandırılmaktadır (Larsen, 1986). Tuza toleranslı mikroorganizmaların 1-45°C'de ve %0-10 NaCl'de koşullarında gelişebildikleri açıklanmıştır (Seeliger ve Jones, 1986).

Tuza toleranslı mikroorganizmaların sahip olduğu adaptasyon mekanizmaları ile tuz göllerinde, tuzlu topraklarda, sıcak su kaynaklarında ve tuzlanmış gıdalarda gelişebilmektedirler (Manaiia ve Da Costa, 1991; Tenreiro ve ark., 1997; Rahman ve

ark., 2017). Konsantre turşular, işlenmemiş solar tuzlar ve tuzlanmış ürünler potansiyel tuza toleranslı bakteri kaynağıdır (Grant ve Larsen, 1989).

Çeşitli tuz varlığında meydana gelen fermantasyon işlemlerinde tuza toleranslı bakteriler önemli role sahiptir. Bu bakteriler fermentasyonu katalizler ve sonuç olarak meydana gelen üründe karakteristik tat, aroma ve lezzet veren farklı bileşikler üretmektedir (Margesin ve Schinner, 2001).

Fazla miktarda tuz geleneksel olarak gıdaları korumanın bir yolu olarak kullanıldığından beri, tuza toleranslı mikroorganizmalar tuzlanmış gıdaların (tuzla korunan gıdaların) bozulmasına neden olabilmektedir (Oren, 2008). Kuru tuzlama işlemi uygulanmış yada salamura edilmiş balık gibi yüksek tuz konsantrasyonu içeren ürünlerin bozulmalarına halofil bakteriler, osmotolerant mayalar, Gram-negatif halofil aerobik ve anaerobik bakteriler neden olmaktadır. Isıl işlem sonrasında da bozulma olabilmekte ve bunun nedeni de Gram-pozitif endosporlu bakterilerdir (Çaklı, 2003). Bu ürünlerdeki mikroorganizmaların kontrol altına alınması sterilize yada pastörize edilmesi işlemi iyonize radyasyon uygulanarak yapılmaktadır. Yengeç, balık filetoları ve karides iyonize radyasyon uygulanan ürünlere örnek olarak verilebilmektedir (Abad ve ark., 1997).

Muhafaza amaçlı kullanılırken tuz direkt olarak uygulanmadan önce halofil bakteri miktarı ve bunların lipolitik ve proteolitik aktiviteleri yönünden kontrol edilmelidir (Birbir, 2004). Tuza toleranslı enzimler herhangi bir özel tuz bağımlılığı olmaksızın geniş bir NaCl konsantrasyonu aralığında aktif kalmaktadır (Schreck ve Grunden, 2014).

Su ürünleri (balık türleri, karides, istakoz, yengeç, kerevit, istiridyeye, kalamar, tarak, midye), asma yaprağı, zeytin, peynir, yoğurt, kuruyemişler, turşular tuzlama işlemi uygulanan ve çokça tüketilen bazı gıdalardır. Tuzlanmış balıklarda son ürünün yüksek tuz içeriği göz önüne alındığında, fazla sayıda tuza toleranslı mikroorganizma bulunması muhtemeldir. Tuzlanmış morina balığında halofil mikroorganizmaların aksine stafilokokları içeren aşırı tuza toleranslı mikroflorası bulunmuştur (Rodrigues, 2005). Vilhelmsson ve arkadaşlarına (1997) göre tamamen kurutulmuş tuzlanmış morina balığındaki ana bakteri türleri aşırı tuza toleranslı bakterilerdir. Araştırmacılar, morina balığından elde edilen oldukça yüksek bakteri sayılarının Akdeniz tuzu ile ilişkili olabileceğini açıklamıştır.

Yapılan bir çalışmada tuzlanmış ve kurutulmuş morina balığında yüksek

oranda tuza toleranslı bakteri olan *Staphylococcus xylosus* bulunmuştur. Bu bakteri sayısının sonraki basamaklarda artmasının nedeninin ise tuzlama ve kurutma işlemlerinden dolayı olduğu araştırmacılar tarafından açıklanmıştır. Bu mikroorganizmaların morina balığında tat ve doku gelişimini etkilediği bildirilmiştir (Vilhelmsson,1997).

Deniz ürünlerinde *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* ve *Staphylococcus aureus* gibi patojenlerin yaygın olarak bulunduğu ancak *Clostridium botulinum*, *Vibrio* ve *Aeromonas* Cinsine ait türlerin daha yaygın olarak deniz ürünlerinde görüldüğü açıklanmıştır (Lampila, 2012).

Şekerlenmiş ve tuzlanarak salamura edilen ringa balığında bir bakteri karakterize edilmiştir. Karakterize edilen bakteri Gram-negatif, hareketsiz, tuza toleranslı, oksidaz pozitif ve çubuk şeklinde özelliklere sahip olan *Achromobacter sp.*'dir. Bu mikroorganizmanın optimal büyüme koşulları %10 NaCl, nötr pH ve 22°C olarak bildirilmiştir. Salamuraya edilen bu balığın yapısında bozulma meydana gelmiştir (Magnusson ve Moller, 1985).

Staphylococcus aureus, gıda yüzeylerinde biyofilm oluşturabilen, üzüm benzeri kümelerde büyüyen patojenik Gram-pozitif, fakültatif anaerobik olup katalaz pozitif kok şeklinde bir bakteridir. Büyüme sıcaklığı 7-48°C olup optimum sıcaklık ise 37°C'dir. Büyüme 4-10 pH aralığında, optimum 6-7 olarak açıklanmıştır. *Staphylococcus aureus*'un 0.83 kadar düşük bir a_w değerinde bile gelişebileceği açıklanmıştır. *Staphylococcus aureus* hücreleri ayrıca yüksek (%20) sodyum klorür konsantrasyonlarını tolere edebilir (Medvedová ve ark., 2009). Dahası, dünya çapında gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olan ısıya dayanıklı enterotoksinleri kolayca üretmektedirler (Le Loir ve ark., 2003).

Bacillaceae familyasına giren bakteri üyeleri tatlı suda, deniz ekosistemlerinde, aktif çamurda, insan ve hayvan sistemlerinde ve çeşitli yiyeceklerde (fermente edilmiş olanlar dahil) ve son zamanlarda aşırı ortamlarda da sıcak katı ve sıvı sistemler gibi (kompost ve sırasıyla kaplıcalar), tuz gölleri ve tuzlu sularda da tespit edilmiştir (Marquez ve ark., 2011).Yüksek ısıda üreyen *Bacillus* cinsine ait türler, kompostlamanın yüksek sıcaklık aşamalarında, kaplıcalarda ve hidrotermallerde yaygın olarak bulunmuştur. Halofil cinslerin temsilcileri çoğunlukla tuzlu göllerden, tuzlu su habitatlarından ve az sıklıkla tuzlu topraklardan izole edilmiştir (Carrasco ve ark., 2006; Chen ve ark., 2008). Özellikle çeşitli aşırı habitatlardan elde edilen izolatlar,

termostabil olanlar dahil, değerli hücre dışı enzim yelpazesi ile geniş bir ticari değere sahiptir (Margesin ve Schinner, 2001; Bischoff ve ark., 2006). *Bacillus* cinsinin halofil veya tuza toleranslı üyeleri balık sosu ve kril salçası gibi tuzlu balık ürünlerinin fermentasyon işleminin sonuna kadar varlığını sürdüren en yaygın türlerdendir (Crisan ve Sands, 1975; Yoon ve ark., 2005).

Lahana turşusunun fermentasyonunun olduğu salamurada da 5 tür bakteri izole edilmiştir. *Lactobacillus plantarum* her konsantrasyonda da önemli bir türdür. Konsantre tuz ile balık fermentasyonunun yapıldığı bir Asya (Thai) balık sosu (nam pla) üretiminde de tuza toleranslı bakteri türleri kullanılmaktadır (Thongthai ve Suntinanalert, 1991). Homo-fermentatif laktik asit bakterisi *Tetragenococcus halophila*, Endonezya soya sosu (kecap) fermentasyonunun salamura aşamasında %18'lik tuz konsantrasyonunda baskın olan bir bakteridir (Röling ve Van Verseveld, 1996). Soya ezmesi sırasında ortaya çıkan mayaları, bakteri üremesi esnasında oluşan asetat inhibe edip tadı artırmaktadır.

Thai balık sosu ile tuzlu gıdalarda, salamura turşularda ve tuzlanmış domuz pastırmasında esasen halofil ve tuza toleranslı bakteriler bulunmaktadır (Margesin ve Schinner, 2001).

Laktik asit bakterileri arasında *Lactobacillus plantarum* ekşi hamurlar, zeytinler, fermente sebzeler gibi fermente gıdalar, fermente sosisler, süt veya et fermentasyonları ve üzerinde yüksek tuz konsantrasyonunun bulunduğu peynir gibi pek çok endüstriyel alanda önemli bir türdür (Kleerebezem ve ark., 2003; Ammor ve Mayo, 2007; Johnson ve ark., 2009; Bautista-Gallego ve ark., 2013). *L. plantarum* halofil olmayan bir bakteri olduğundan, genellikle %20'yi bulan NaCl konsantrasyonlarında gıda fermentasyonlarında bulunmaktadır (Schreck ve Grunden, 2014).

Tuzlanmış *Valamugil seheli* (Minikbenekli kefal) ile yapılan bir araştırmada, 16S rRNA gen dizi analizi ile 10 farklı tür Gram-pozitif bakteri izole edilmiştir. Tuzlu kefalardan izole edilen en baskın bakteri türleri *Psychobacter* sp. (%32.26), *Rothia endophytica* (% 26.88), *Vagococcus carniphilus* (% 11.82), *Micrococcus flavus* (% 10.75) ve *Streptococcus* sp. (%7.53) olarak açıklanmıştır (Al-Harbi ve Al-Asous, 2019). Birbirinden farklı 8 cinse ait bakteri türleri daha önce tuzlanmış kefalardan izole edilmiştir (Ahmed ve El-Kazzaz, 2005; Basti ve ark., 2006). Bu yüzden baskın bakteri topluluğunun önemli bir güvenlik parametresi olabileceği ve gelecekteki çalışmalarda izole edilmiş bakteri türleri ile bozulma potansiyeli arasındaki ilişki temel olarak

kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Balık ve balıkçılık ürünleri biyolojik bileşimlerinden dolayı oldukça çabuk bozulur ve hızlı bozulma ve patojen mikroorganizmaların büyümesi etlere göre daha hızlıdır. Balık ve balıkçılık ürünlerinde bozulma ve patojenik mikroorganizmaların büyümesini önlemek, raf ömrünü uzatmak için tuzlama, kurutma, tütsüleme, soğutma, dondurma, fermentasyon ve konserve evrensel olarak kullanılmaktadır (Al-Harbi ve Al-Asous, 2019).

Bir çalışmada, bakteri popülasyonlarının yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere ettiği saptanmıştır. Bu çalışmada, izolatlarda Gram-pozitif bakterilerin hakim olduğu bulunmuştur. Yeşil tuzlu ve kurutulmuş morinada da benzer bulgular bildirilmiştir (Rodrigues ve ark., 2003). Diğer bir çalışmada *Rothia* cinsi, tuzlanmış kefalde en baskın ikinci bakteri olarak tespit edilmiştir. *Rothia* cinsinin üyeleri de Kore'de geleneksel tuzlanmış ve fermente edilmiş deniz ürünlerinden izole edilmiştir (Guan ve ark., 2011). *Vagococcus* cinsi de daha önce Kore'de geleneksel tuzlanmış ve fermente edilmiş deniz ürünlerinde (Jeong ve ark., 2016), bozulmadan pişirilmiş ve soyulmuş tropikal karideslerin mikrobiyotasında saptanmıştır (Calliau ve ark., 2016).

Danimarka peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada daha yüksek sayıda tuza toleranslı bakteri saptanmıştır. Baskın bir tür olmamasına rağmen *Staphylococcus* spp.'nin tuzlu su mikrobiyotası ve peynir yüzeyinde olduğu açıklanmıştır. *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus hominis* ve diğer *Staphylococcus* spp. deniz tuzundan ve kuru kürlenmiş jambondan izole edilmiştir (Cordero ve Zumalacárregui, 2000) ve *Staphylococcus hominis* rafine tuzlu gıdalarda devamlı bulunan bir mikroorganizmadır (Henriet ve ark., 2014).

Peynir salamuralarından da baskın Proteobakteriler izole edilmiştir. *C. beijerinckii* tuzlu ringa balığı ve tuzlanmış fasulye gibi yiyeceklerden izole edilmiş tuza toleranslı ve enzimatik olarak aktif bir mikroorganizmadır (Beutling ve ark., 2009).

Acinetobacter türleri daha önce süt ürünleri işlemede ekipman ve peynirlerin yüzeyinden ve peynir salamurasından izole edilerek tanımlanmıştır (Calasso ve ark., 2016).

Chryseobacterium spp. ve *Flavobacterium* spp., peynir salamuralarında, çiğ sütte, süt ürünlerinde tespit edilmiştir (Schirmer ve ark., 2013). Gram-pozitif koklar, basiller ve Gram-negatif tuza toleranslı bakteriler tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunan kısımlarından izole edilmiştir (Aslan, 2009)

Pigmentsiz tuza toleranslı bakteriler ilk olarak LeFevre ve Round (1919)

tarafından tuzlu salatalık fermantasyon sularının mikrobiyolojisi çalışmalarında saptanmıştır. İzole edilen bakteri gruplarından biri tuzsuz ortamda ve %15 NaCl içeren ortamda büyürken incelenen diğer bakteriler %5-25 aralığında büyüme göstermiştir.

Tayland balık sosunun (Güneydoğu Asya'da yaygın olarak kullanılan bir gıda çeşnişi olan nam pla) hazırlanmasında, ılımlı halofiller ve tuza toleranslı bakteriler kullanılmıştır (*Bacillus* ve *Corynebacterium* türler ve daha nadiren, bunların çoğu %20 den %30'a kadar tuza tolere eden *Pseudomonas* türleri) (Thongthai ve Suntinanalert, 1991).

Deniz kumları ve yosunlarından çeşitli halofil bakteriler izole edilmiştir. Dolayısıyla deniz suyu birçok ılımlı halofil ya da tuza toleranslı bakteri içermektedir. Gelgit bölgelerinden izole edilen büyük oranda bakteri, deniz suyunda bulunandan daha yüksek tuz konsantrasyonlarında, neredeyse doymuş tuzlu sularda büyüeyebilen bakterilerdir. Bakterilerin yarısı izole edilmiş ortamda çok düşük NaCl'de (%0.06) gelişebilen Gram-pozitif organizmalardır (Forsythd ve ark., 1970).

Tuza toleranslı mikroorganizmaların 1-45°C'de ve %0-10 NaCl'de koşullarında gelişebildikleri açıklanmıştır (Seeliger ve Jones, 1986).

BÖLÜM 2

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Farklı ülkelere ait paketli olarak temin edilmiş tuzlar kullanılmıştır. Fransa'dan 6 tuz örneği, Türkiye'den 8 tuz örneği, Pakistan'dan 4 tuz örneği, Almanya'dan 3 tuz örneği, İngiltere'den, 2 tuz örneği, İsviçre'den ve Avusturya'dan birer tuz örneği olmak üzere toplam 25 tuz örneği toplanmıştır.

Çalışmamızda Fransa'dan Kıbrıs siyah lav tuzu (1GTÖ), iki çeşit Himalaya tuzu (2GTÖ, 3GTÖ), kaya tuzu (4GTÖ), sofr tuzu (5GTÖ) ve Nepal tuzu (6GTÖ); Türkiye'den iki çeşit Himalaya tuzu (7GTÖ, 13GTÖ), iki çeşit deniz tuzu (8GTÖ, 9GTÖ), kaya tuzu (10GTÖ) ve üç çeşit sofr tuzu (11GTÖ, 12GTÖ, 14GTÖ); Pakistan'dan Himalaya tuzu (15GTÖ), kaya tuzu (16GTÖ) ve sofr tuzu (17GTÖ); Almanya'dan iki çeşit kaya tuzu (19GTÖ, 20GTÖ) ve deniz tuzu (21GTÖ); İngiltere'den sofr tuzu (22GTÖ) ve kaya tuzu (23GTÖ); İsviçre'den sofr tuzu (24GTÖ); Avusturya'dan kaya tuzu (25GTÖ) alınmıştır.

2.1.1. Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar:

2.1.1.1. %0.85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su:

NaCl.....: 8.5 g

Distile su.....: 1000 ml

Tuzlu su çözeltisi hazırlanıp 121 °C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.1.2. 0.1 M HCl Çözeltisi

HCl.....: 36.5 ml

Steril distile su.....: 1000 ml

Steril distile su içerisinde 36.5 g HCl iyice karıştırılmıştır (Birbir ve ark., 2015).

2.1.1.3. 0.1 M NaOH Çözeltisi

NaOH.....: 4.0 g

Steril distile su.....: 1000 ml

Distile su içine, NaOH eklenerek çözülmüştür (Birbir ve ark., 2015).

2.1.1.4. Amonyum Sülfat Çözeltisi

Amonyum sülfat: 6.607 g

Distile su.....:1000 ml

Distile su ile kimyasal maddeler karıştırılmıştır (Barnett ve Venghaus, 1988).

2.1.1.5. Kristal Viyole Çözeltisi

Çözelti A

Kristal viyole (%85): 2.0 g

Etil alkol (%95): 20 ml

Yukarıdaki maddeler birbiriyle karıştırılmıştır.

Çözelti B

Amonyum okzalat: 0.8 g

Steril distile su: 80 ml

A çözeltisinin üzerine B çözeltisi eklenmiştir ve karıştırılmıştır. Karışım 1 gün bekletilerek filtre kağıdından geçirilmiştir. (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.1.6. Gram'ın İyot Çözeltisi

Potasyum iyodür.....: 2.0 g

İyot kristalleri: 1.0 g

Steril distile su.....: 300 ml

İyot ve potasyum iyodür bir havanda iyice ezilip, azar azar steril distile suya eklenerek eritilmiştir. Tamamen eridikten sonra steril distile su ile 300 ml'ye tamamlanmıştır.

Çözelti kahverengi şişede muhafaza edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.1.7. Safranin Çözeltisi

% 95'lik etil alkol: 100 ml

Safranin: 2.5 g

Steril distile su:90 ml

Etil alkol ile safranin karıştırılarak stok safranin çözeltisi hazırlanmıştır. 10 ml stok çözelti, 90 ml distile su ile seyreltilerek kullanılmıştır (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.1.8. Oksidaz Test Ajanı

Tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorid.....: 1.0 g

Steril distile su.....: 100 ml

100 ml steril distile su içerisinde 1 g tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorid çözülmüştür. Çözelti, koyu renkli şişe içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.1.9. Katalaz Test Ajanı

H₂O₂.....:3.0 ml

Steril distile su.....: 100 ml

100 ml distile su içerisine, 3 ml H₂O₂ (hidrojen peroksit) ilave edilip karıştırılmıştır (McLeod ve Gordon, 1923).

2.1.1.10. Malaşit Yeşili

Malaşit yeşili (oksalat).....: 5.0 mg

Steril distile su: 100 ml

Yukarıdaki malzemeler karıştırılarak filtreden geçirilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir (Norrell ve Messley, 1997).

2.1.1.11. Nessler Ayracı

A Solüsyonu

Civa klorür.....: 1.0 g

Distile su.....: 6.0 ml

B Solüsyonu

Potasyum iyodür.....: 2.5 g

Distile su.....: 6.0 ml

C Solüsyonu

KOH.....: 6.0 g

Distile su.....: 6.0 ml

Solüsyonlardaki kimyasal maddeler distile su içinde çözülmüştür. İlk olarak A solüsyonu B solüsyonu ile daha sonra C solüsyonu, A ve B solüsyonları karışımı ile karıştırılarak karışım oluşturulmuştur. Üzerine 13 ml distile su eklenerek tekrar karıştırıldıktan sonra 1

No'lu Whatman filtre kağıdından süzölmüştür. Kahverengi şişede saklanmıştır (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.2.Kullanılan besiyerleri

2.1.2.1. Modifiye Edilmiş Nutrient Agar

Sığır eti özütü.....: 3.0 g
Pepton.....: 5.0 g
Glikoz.....: 10.0 g
Agar.....: 20.0 g
Distile su.....:1000 ml
pH:7.0

121°C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Daha sonra aseptik koşullarda steril petri kutularına dökölmüştür (Logan ve De Vos, 2015).

2.1.2.2. Jelatin Agar Besiyeri

Tripton: 15.0 g
Soyton.....: 5.0 g
Jelatin.....: 20.0 g
Agar.....: 20.0 g
Distile su.....: 1000 ml
pH.....: 7.0

121°C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Daha sonra aseptik koşullarda steril petri kutularına dökölmüştür (Barnett ve Venghaus, 1988).

2.1.2.3. Lipaz Besiyeri (Zeytinyağı İçeren Besiyeri)

Maya özütü.....: 4.0g
Triptikaz pepton.....: 4.0 g
Zeytinyağı.....: 30 ml
Rodamin B.....: 0.2 g
Agar.....: 20g
Tween 80.....: 0.33 ml
TS0.85+TW80.....: 30 ml
TS0.85.....:1000 ml

[TS0.85+T80= 133 ml TS0.85, 0.33 ml TW80 (1000 ml için)]

pH.....: 7.0

Yukarıdaki maddelerden zeytinyağı, Rodamin B ve Tween 80 dışında diğer kimyasal maddeler distile su içerisine eklenerek bir ısıtıcıda agar eriyene dek ısıtılmıştır. Besiyerinin pH'ının 7 olarak ayarlanmasının ardından besiyeri, 20 dakika boyunca 121°C'de otoklavlanmıştır. Ek olarak steril bir tüpte Rodamin B konulmuş ve pH'ı 7 olarak ayarlandıktan sonra 20 dakika boyunca 121°C'de otoklavlanmıştır. pH'ı 7 olan 30 ml zeytinyağı da ayrı tüpe konulmuş ve 0.20 µm'lik por çapına sahip membran filtreden (Sartorius Stedim Biotech GmbH Microsart Cellulose Nitrate Filter, Goettingen, Germany) geçirilerek sterilizasyonu sağlanmıştır. Diğer bir tüpte pH'ı 7 olarak ayarlanan Tween 80 (1000 ml besiyeri için 0.33 ml) ve distile su karışımı da 0.20 µm'lik por çapına sahip membran filtreden (Sartorius Stedim Biotech GmbH Microsart Cellulose Nitrate Filter, Goettingen, Germany) geçirilerek steril edilmiştir. Bu karışımdan 30 ml, steril 30 ml zeytinyağı ile birleştirilerek steril başka bir tüpe konulmuştur. Ardından karışımın olduğu bu tüp sıcak su banyosunda bekletilmiş ve vorteksenerek tamamiyle karıştırılmıştır. Steril agarlı besiyerine aseptik koşullar altında zeytinyağlı karışım ve Rodamin B içeren karışım eklenerek petri kutularına dökülmüştür (Zimbardo ve ark., 2009; Gutiérrez-Arnillas ve ark., 2016).

2.1.2.4. Nutrient Broth

Glikoz.....: 10.0 g
Pepton.....: 5.0 g
Sığır eti özütü.....: 3.0 g
Distile Su.....: 1000 ml
pH.....: 7.0

121 °C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Yılmaz, 2010).

2.1.2.5. Nişasta Besiyeri

Nişasta:10.0 g
Sığır eti özütü.....:3.0 g
Agar.....:20.0 g
Distile su.....: 1000 ml

pH.....: 7.5

Tüm malzemeler distile su içerisinde çözülüp otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark., 2015).

2.1.2.6. Nutrient Agar

Glikoz.....: 10.0 g
Pepton.....: 5.0 g
Sığır eti özütü.....: 3.0 g
Distile Su.....: 1000 ml
Agar.....: 15.0 g
pH.....: 7.0

Kimyasallar karıştırılmış ve otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir (Yılmaz ve Birbir, 2019).

2.1.2.7. %10 NaCl içeren Nutrient Agar

NaCl.....:100.0 g
Glikoz.....: 10.0 g
Pepton.....: 5.0 g
Sığır eti özütü.....: 3.0 g
Distile Su.....: 1000 ml
Agar.....: 15.0 g
pH.....: 7.0

Kimyasallar karıştırılmış ve otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir (Yılmaz ve Birbir, 2019).

2.1.2.8. %20 NaCl içeren Nutrient Agar

NaCl.....: 200 g
Glikoz.....: 10.0 g
Pepton.....: 5.0 g
Sığır eti özütü.....: 3.0 g
Distile Su.....: 1000 ml
Agar.....: 15.0 g
pH.....: 7.0

Kimyasallar karıştırılmış ve otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir (Yılmaz ve Birbir, 2019).

2.1.2.9. Kazein Besiyeri

Tripton.....: 5.0 g
Maya özütü.....: 2.5 g
Glikoz.....: 1.0 g
Yağsız süt.....: 20 ml
Agar.....: 20 g
Distile su.....: 1000 ml
pH.....: 7.0

Yağsız süt içeren Plate Count Agar Besiyeri kazeinaz testi için kullanılmıştır. 20 dakika 121 °C’de steril edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.1.2.10. Pepton Broth

Pepton: 10 g
NaCl.....: 5.0 g
Distile su.....: 1000 ml
pH.....: 7.0

Yukarıdaki maddeler 121 °C’de steril edilmiştir (Birbir ve ark., 2004).

2.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler:

Fen Edebiyat Fakültesi Bitki Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan Distile Su Cihazı (GFL), Terazı (Sartorius Analytic), Etüv (Nüve EN500), Otoklav (Web MLW), Pasteur Fırını (Kermanlar), Tüp Karıştırıcısı (Nüve), Buzdolabı (Arçelik), Çalkalamalı Etüv (Edmund Bühler), pH Metre (WTW), Biyogüvenlik Kabini, Desikatör ve Çeker Ocak’tan faydalanılmıştır.

2.2. Yöntem (Çalışma Programı):

- 1.Farklı Ülkelerden Sofra ve Himalaya Tuzu Örneklerinin Toplanması,
- 2.Toplanan Tuz Örneklerinin Nem Tayininin Yapılması,
3. Toplanan Tuz Örneklerinin Kül Tayininin Yapılması,
4. Toplanan Tuz Örneklerinin pH Tayininin Yapılması,

5. Toplanan Tuz Örneklerindeki Toplam Bakteri Sayısının Belirlenmesi,
6. Tuz Örneklerindeki Toplam Tuza Toleranslı Bakteri Sayısının Belirlenmesi ve Tuza Toleranslı Bakterilerin Saf Kültürlerinin Elde Edilmesi,
7. Toplanan Tuz Örneklerindeki Tuza Toleranslı Saf Bakterilerin Morfolojilerinin İncelenmesi,
8. Tuza Toleranslı Bakterilerin Hareket Muayeneleri,
9. Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Gram Boyamasının Yapılması,
10. Toplanan Tuz Örneklerindeki Tuza Toleranslı Saf Bakterilerin Optimum Gelişme Koşullarının İncelenmesi,
11. Toplanan Tuz Örneklerindeki Tuza Toleranslı Saf Bakterilerin Koloni Özelliklerinin İncelenmesi
12. Tuza Toleranslı Bakterilerin Endospor Yapılarının Araştırılması
13. Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Oksidaz ve Katalaz Testlerinin Yapılması,
14. Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Proteaz, Lipaz, Kazeinaz, Amilaz ve Peptondan Amonyak Oluşumu Testlerinin Yapılması.

2.2.1. Farklı Ülkelerden Tuz Örneklerinin Toplanması

Çalışmamızda farklı ülkelere (Fransa, Almanya, İngiltere, Pakistan, Türkiye, İsviçre, Avusturya) ait paketlenmiş olarak temin edilen sofr tuzu, Himalaya tuzu, Nepal tuzu, siyah lav tuzu, kaya tuzu, deniz tuzu kullanılmıştır. Tuz örneklerinin satın alınma tarihi ve tuzun menşei Tablo 1’de belirtilmiştir.

2.2.2. Toplanan Tuz Örneklerinin Nem Tayininin Yapılması

Önce vezin kabı boş halde tartılmış ve tuz örneklerinden 5’er gram alınıp vezin kabına koyulmuştur. Tuz örnekleri, 102°C’de 6 saat Pasteur fırınında kurutulmuştur. Ardından 30 dakika desikatörde soğuması için bırakılmış ve sonrasında tartılmıştır. Sonra tuz örnekleri Pasteur fırınında tekrar 102°C’de 1 saatlik kurutmaya bırakıldıktan sonra ikinci kez tartılmıştır. Kurutma işlemine ikinci tartım ile birinci tartım arasındaki fark 3 miligramdan az oluncaya kadar devam edilmiştir. Bu sürenin 8 saati geçmemesine özen gösterilmiştir. Bu işlemler sonucunda uçucu madde miktarları aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Uçucu madde} = (M_1 - M_2) / M_1 \times 100$$

M_1 = Kurutmadan önce ölçülen tuz ağırlığı (g)

M_2 = Kurutmadan sonra ölçülen tuz ağırlığı (g)

(Türk Standartları, 1985; Birbir, 1991; Birbir ve Ilgaz, 1996; Bailey, 2003).

2.2.3.Toplanan Tuz Örneklerinin Kül Tayininin Yapılması

Toplanan tuz örneklerinden 5'er gram tartılmış, porselen kroze içine konulmuş 600°C'de kül fırınında 8 saat boyunca bekletilmiştir. Soğumanın ardından tuz örnekleri tekrar tartılarak tuz örneklerindeki kül miktarı aşağıdaki verilen formül ile hesaplanmıştır (Birbir ve Ilgaz, 1996; Bailey, 2003).

$$\%Kül = M_1/M_2 \times 100$$

M_1 = Deney öncesi tuz örneği ağırlığı (g)

M_2 = Kül fırınında 8 saat yakılan tuzun kül ağırlığı (g)

2.2.4.Toplanan Tuz Örneklerinin pH Tayininin Yapılması

Tuz örneklerinin her birinden 5 gram alınarak beherlere konulmuş ve üzerine 100 ml distile su eklenerek 1 saat çalkalayıcıda 24°C'de ve 150 rpm'de çalkalanmıştır. Ardından pH metre ile pH'ları ölçülmüştür (Türk Standartları, 1984; Birbir, 1991; Birbir ve Ilgaz, 1996).

2.2.5.Toplanan Tuz Örneklerindeki Toplam Bakteri Sayısının Belirlenmesi

Toplam bakteri sayısı için toplanan tuzlar ayrı ayrı 1'er gram tartılmıştır ve 9 ml steril fizyolojik tuzlu su solüsyonu içerisine konularak 30 dk boyunca 24°C'de 100 rpm'de çalkalayıcı etüvde çalkalanmıştır. Bu çözelti 0.20 µm por çapına sahip selüloz nitrat membran filtreden geçirilmiştir. Sonra bu filtre Modifiye Edilmiş Nutrient Agar Besiyeri'nin üzerine yerleştirilerek 7 gün süreyle 37°C'lik etüvde bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda filtre kağıdı üzerinde üreyen koloniler sayılarak tuz örneklerindeki toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır (Logan ve De Vos, 2015; Yılmaz ve Birbir, 2019).

2.2.6.Tuz Örneklerindeki Toplam Tuza Toleranslı Bakteri Sayısının Belirlenmesi ve Tuza Toleranslı Bakterilerin Saf Kültürlerinin Elde Edilmesi

Modifiye Edilmiş Nutrient Agar Besiyerindeki filtre üzerinde üremiş kolonilerden ayrı ayrı alınarak çizgi plak yöntemiyle Modifiye Edilmiş Nutrient Agar Besiyerine ekilmiştir. Ekim yapılan besiyerleri 37°C'de 7 gün etüvde bekletilmiştir. Bu ekim işlemi her izolatin saf kültürünü elde edilinceye kadar birkaç kez tekrarlanmıştır. Sonra bu saf izolatların tuza toleranslı olup olmadıklarını saptamak için hem tuz içermeyen hem de farklı tuz değerlerine sahip (%10, %20 NaCl) Modifiye Edilmiş Nutrient Agar

Besiyerine ekimleri yapılarak 37°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Hem tuzsuz hem de tuzlu besiyerinde üreyen izolatlar tuza toleranslı bakteriler olarak kabul edilmiştir. Bu işlemlerden sonra tuz örneklerindeki toplam tuza toleranslı bakterilerin sayısı saptanmıştır (Gonzales ve ark., 1978; Rodríguez ve ark., 1998, Harley ve Prescott 2002).

2.2.7. Tuza Toleranslı Bakterilerin Morfolojilerinin İncelenmesi

Tuza toleranslı saf bakteri izolatlarının her biri, Modifiye Nutrient Broth besiyerine ekilip 37°C’de 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. Asılı damla yöntemi ile tüm tuza toleranslı izolatların her birinin preparatları hazırlanarak ışık mikroskopunda izolatların morfolojileri ve hareketleri incelenmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.2.8. Tuza Toleranslı Bakterilerin Hareket Muayeneleri

İzolatlara ait saf kolonilerin her biri, Modifiye Nutrient Broth besiyerine ekilip 37°C’de 24 saat etüvde bekletilmiştir. Sonra Asılı damla yöntemi ile her bir tuza toleranslı izolatın preparatları hazırlanarak ışık mikroskopunda izolatların hareketleri incelenmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.2.9. Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Gram Boyamasının Yapılması

24 saatlik saf bakteri kolonilerinden steril özel ile alınarak, steril fizyolojik tuzlu su solüsyonu ile sulandırılmış, temiz bir lam üzerine yayılarak havada kurutmaya bırakılmıştır. Bakterilerin fiksasyonu için kuruyan lam ateşten üç kez geçirilmiştir. Sonra lam üzerine kristal viyole boyası damlatılıp 30 saniye beklenmiş, distile su ile 5 saniye boyunca yıkanarak tüm kristal viyole temizlenmiştir. Preparat üzerine Gram’ın iyot çözeltisi damlatılmış, 1 dakika bekletilmiş ve tekrar 5 saniye distile su ile yıkanmıştır. %95’lik etil alkol ile 20 saniye süreyle muamele edildikten sonra distile su 5 saniye yıkanmıştır. Lam üzerine zıt boya olarak safranin damlatılmış, 60 saniye beklenmiş ve distile su ile yıkanıp havada kurumaya bırakılmıştır. Preparat boyama sonrası mikroskopta immersiyon objektifle (10x100) incelenmiştir. İnceleme sonucu mor bakteriler Gram-pozitif, pembe bakteriler Gram-negatif olarak belirlenmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.2.10. Tuza Toleranslı Bakterilerin Optimum Gelişme Koşullarının İncelenmesi

Tuza toleranslı saf bakteri izolatlarının her biri hem tuz içermeyen Modifiye Nutrient Agar Besiyerine hem de farklı tuz değerlerine (%10 NaCl, %20 NaCl) sahip Modifiye Nutrient Agar Besiyerine çizgi plak metodu ile ekilerek ve 37°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Farklı pH değerlerinde bu bakterilerin gelişiminin incelenmesi için pH 5.0, 7.0 ve 9.0 değerlerine ayarlanan tuzsuz Modifiye Nutrient Agar Besiyerine tuza toleranslı

izolatlar ayrı ayrı çizgi plak metodu ile ekilmiştir. İzolatlar 37°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. Tuza toleranslı izolatların optimum olarak geliştikleri tuz ve pH değerleri saptandıktan sonra bu izolatların her biri farklı sıcaklık derecelerine (4°C, 24°C, 37°C) göre ayarlanmış etüvlerde tuz içermeyen Modifiye Nutrient Agar Besiyerinde (pH 7.0) 7 gün boyunca inkübe edilerek bu bakterilerin gelişimleri incelenmiştir. Tuza toleranslı saf bakteri izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarında, farklı pH ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişmeleri inkübasyon süresince her gün incelenmiş ve izolatların geliştikleri optimum tuz konsantrasyonu, optimum pH ve optimum sıcaklık değerleri belirlenmiştir (Birbir ve ark., 2015; Çağlayan, 2015).

2.2.11. Tuza Toleranslı Bakterilerin Koloni Özelliklerinin İncelenmesi

Tuza toleranslı saf izolatların kolonilerinin şekli, yüksekliği, kenarı, görünümü, rengi, yapısı ve ışık geçirme özellikleri tuzsuz Modifiye Edilmiş Nutrient Agarda (pH 7) 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildikten sonra detaylıca incelenmiştir (Gonzales ve ark., 1978; Arahal ve ark., 1996; Oren ve ark., 1998; Rodríguez ve ark., 1998, Harley ve Prescott 2002).

2.2.12. Tuza Toleranslı Bakterilerin Endospor Yapılarının Araştırılması

Her tuza toleranslı bakteri izolatu Modifiye Edilmiş Nutrient Agar besiyerine ekilmiş ve izolatlar 37°C'de 72 saat etüvde üremeye bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından izolatlar, lam üzerine steril öze ile ince tabaka halinde yayılmıştır. Kurumanın ardından lamlar ısıtılarak fikse edilip izolat preparatları hazırlanmıştır. Ardından Schaeffer-Fulton (1933) metodu esas alınarak her bir izolatın endospor boyamaları yapılmıştır. Lam üzeri bir parça havlu kağıt ile kapatılmış ve lam üzerine %5'lik malaşit yeşili solüsyonu damlatılmıştır. 5 dakika boyunca lam sıcak plakada bekletilmiştir. Sonra havlu kağıt lamın üzerinden dikkatlice alınmış ve soğumuş lam 30 saniye distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra safranin çözeltisi damlatılarak 1 dakika bekletilmiş ve tekrar lam distile su ile 30 saniye yıkanmıştır. Hazırlanan preparatlar immersiyon yağı ile mikroskopta incelenmiştir. Mikroskop görüntüsünde endosporlar yeşil renkte, vejetatif hücreler ise kırmızı renkte görünmüştür (Schaeffer ve Fulton, 1933; Harley ve Prescott, 2002; Yılmaz ve Birbir, 2019).

2.2.13. Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Oksidaz ve Katalaz Testlerinin Yapılması

2.2.13.1. Oksidaz Testi

24 saat süreyle Modifiye Edilmiş Nutrient Agar üzerinde geliştirilen izolatlar a ait saf kolonilerden steril öze ile alınmış, oksidaz test ajanı (%1'lik tetrametil-p-fenildiamin dihidroklorid) damlatılmış olan filtre kağıdı üzerine sürülmüştür. 5-10 saniye içinde mavimor renk oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Gonzalez ve ark., 1978; Quesada ve ark., 1982; Johnson ve Case, 2010).

2.2.13.2.Katalaz Testi

24 saat süreyle geliştirilen izolatlar a ait saf koloni üzerine ayrı ayrı 3 damla %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) damlatılmış ve gaz kabarcıkları gözlemlenmiştir. Kolonilerin üzerinde oksijen kabarcıkları oluşması pozitif katalaz reaksiyonu olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.2.14.Tuza Toleranslı Bakteri İzolatlarının Proteaz, Lipaz, Kazeinaz, Pepton ve Amilaz Biyokimyasal Testlerinin Yapılması

2.2.14.1.Proteaz Aktivitesi

Saf tuza toleranslı bakteri izolatlarının proteaz aktiviteleri, Jelatin Agar Besiyeri'ne ekilerek incelenmiştir. Daha sonra petriyerler 37°C'lik etüvde 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerinde gelişen koloni üzerine doymuş amonyum sülfat solüsyonu dökülmüştür. Koloniler etrafında şeffaf zon görülmesi pozitif proteaz sonucu olarak değerlendirilmiştir (Barnett ve Venghaus, 1988).

2.2.14.2.Lipaz Aktivitesi

Saf tuza toleranslı bakterilerin lipaz aktiviteleri Lipaz Besiyeri'ne ekilerek ve 5 gün inkübasyona bırakılarak yapılmıştır. İnkübasyon sonunda petriyerler UV ışık altında incelenmiştir. Turuncu ışığa gösteren koloniler lipaz pozitif olarak kabul edilmiştir (Gutierrez-Arnillas ve ark., 2016).

2.2.14.3.Kazeinaz Aktivitesi

Besiyerinde üreyen saf tuza toleranslı izolatları steril öze yardımıyla alınıp Kazein Besiyeri'ne (Yağsız süt içeren Plate Count Agar Besiyeri) çizgi plak metodu ile ekim yapılmış ve 2 gün 37°C'de etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda koloni etrafında görünen şeffaf zonlar pozitif kazeinaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

2.2.14.4. Peptondan Amonyak Oluşumunun İncelenmesi

Saf tuza toleranslı izolatları %1'lik pepton içeren tüplere ekildikten sonra 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda tüplerin içine 1-2 damla Nessler Ayırıcı damlatılmıştır. Tüpte meydana gelen kahverengi çökelti peptondan amonyak oluştuğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Çağlayan, 2015; Birbir ve ark., 2004).

2.2.14.5. Amilaz Aktivitesi

Besiyerinde üreyen izolatlardan steril öze yardımıyla alınıp Nişasta Besiyeri'ne çizgi plak metodu ile ekim yapılmış ve 2 gün 37°C'de etüvde inkübasyona bırakılmıştır (Cowan, 1991). İnkübasyon süresi sonunda koloniler üzerine Gram'ın iyot çözeltisinden dökülmüştür. Koloni etrafında şeffaf zon oluşması pozitif nişasta hidrolizi olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Çağlayan ve ark., 2015).

BÖLÜM 3


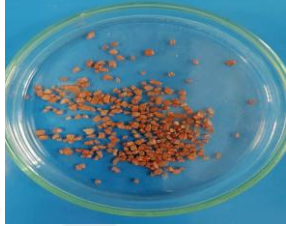




BULGULAR VE TARTIŞMA







Kullanılan tuz örnekleri farklı ülkelerden paketlenmiş halde marketlerden temin edilmiştir. Örnek alınan ülkeler-tuz tipleri sırasıyla Fransa-Kıbrıs siyah lav tuzu, Fransa-Himalaya, Fransa-Himalaya, Fransa-kaya, Fransa-sofra, Fransa-Nepal, Türkiye-Himalaya, Türkiye-deniz, Türkiye-deniz, Türkiye-kaya, Türkiye-sofra, Türkiye-sofra, Türkiye-Himalaya, Türkiye-sofra, Pakistan-Himalaya, Pakistan-kaya, Pakistan-sofra, Almanya-kaya, Almanya-kaya, Almanya-deniz, İngiltere-sofra, İngiltere-kaya, İsviçre-sofra, Avusturya-kaya tuzlarıdır.



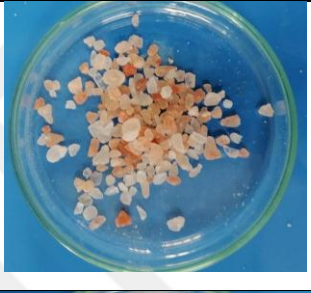

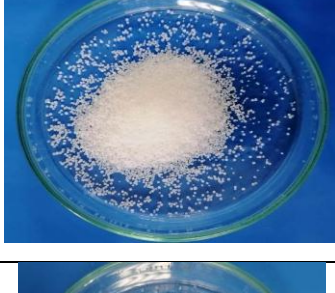

Tablo1. Tuz örneklerinin orjinleri, çeşitleri, renkleri ve kodları



Tuz örneği orjini	Tuz örneği çeşidi	Tuz örneği rengi	Tuz kodu
Fransa	Kıbrıs siyah lav tuzu	Siyah	1GTÖ
Fransa	Himalaya tuzu	Kırmızı	2GTÖ
Fransa	Himalaya tuzu	Beyaz	3GTÖ
Fransa	Kaya tuzu	Beyaz	4GTÖ
Fransa	Sofra tuzu	Beyaz	5GTÖ
Fransa	Nepal tuzu	Pembe	6GTÖ
Türkiye	Himalaya tuzu	Beyaz	7GTÖ
Türkiye	Deniz tuzu	Beyaz	8GTÖ
Türkiye	Deniz tuzu	Beyaz	9GTÖ
Türkiye	Kaya tuzu	Beyaz	10GTÖ
Türkiye	Sofra tuzu	Beyaz	11GTÖ
Türkiye	Sofra tuzu	Beyaz	12GTÖ
Türkiye	Himalaya tuzu	Pembe	13GTÖ
Türkiye	Sofra tuzu	Beyaz	14GTÖ
Pakistan	Himalaya tuzu	Pembe	15GTÖ
Pakistan	Kaya tuzu	Beyaz	16GTÖ
Pakistan	Sofra tuzu	Beyaz	17GTÖ
Pakistan	Sofra tuzu	Beyaz	18GTÖ
Almanya	Kaya tuzu	Beyaz	19GTÖ
Almanya	Kaya tuzu	Beyaz	20GTÖ
Almanya	Deniz tuzu	Beyaz	21GTÖ
İngiltere	Sofra tuzu	Beyaz	22GTÖ
İngiltere	Kaya tuzu	Beyaz	23GTÖ
İsviçre	Sofra tuzu	Beyaz	24GTÖ
Avusturya	Kaya tuzu	Beyaz	25GTÖ


Tablo 2. Tuz örneklerine ait görseller

Tuz örneği orjini	Tuz kodu	Tuz görseli
Fransa	1GTÖ	
Fransa	2GTÖ	
Fransa	3GTÖ	
Fransa	4GTÖ	
Fransa	5GTÖ	
Fransa	6GTÖ	

Türkiye	7GTÖ	
Türkiye	8GTÖ	
Türkiye	9GTÖ	
Türkiye	10GTÖ	
Türkiye	11GTÖ	
Türkiye	12GTÖ	

Türkiye	13GTÖ	
Türkiye	14GTÖ	
Pakistan	15GTÖ	
Pakistan	16GTÖ	
Pakistan	17GTÖ	
Pakistan	18GTÖ	

Almanya	19GTÖ	
Almanya	20GTÖ	
Almanya	21GTÖ	
İngiltere	22GTÖ	
İngiltere	23GTÖ	
İsviçre	24GTÖ	

Avusturya	25GTÖ	
-----------	-------	---

Tablo3. Tuz örneklerinin nem ve kül içerikleri, pH değerleri, içerdikleri toplam bakteri sayıları ve tuza toleranslı bakteri sayıları

Tuz Kodları	Nem (%)	Kül (%)	pH	Toplam Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Tuza Toleranslı Bakteri Sayısı (kob/g)
*1GTÖ	3.3	96.0	7.38	35	34
2GTÖ	3.3	96.6	7.5	22	22
3GTÖ	3.5	95.2	7.21	2	0
4GTÖ	3.3	96.6	7.33	0	0
5GTÖ	3.4	95.0	9.94	0	0
6GTÖ	3.0	97.0	8.0	10	10
7GTÖ	3.3	97.0	6.54	17	14
8GTÖ	3.0	97.0	7.04	0	0
9GTÖ	3.0	96.6	6.95	40	40
10GTÖ	3.2	96.0	6.83	10	8
11GTÖ	3.3	95.0	7.43	12	11
12GTÖ	3.3	95.2	6.37	0	0
13GTÖ	3.7	96.0	7.4	30	12
14GTÖ	3.0	95.7	6.57	1	1
15GTÖ	2.5	96.3	6.82	30	30
16GTÖ	3.3	95.5	6.51	9	9
17GTÖ	3.0	97.0	6.59	0	0
18GTÖ	3.0	96.6	6.60	58	16
19GTÖ	3.4	95.0	6.96	1	1
20GTÖ	2.8	96.0	8.55	8	0
21GTÖ	3.0	97.0	7.1	12	10
22GTÖ	2.3	95.5	7.15	21	20
23GTÖ	2.5	96.0	7.9	2	0
24GTÖ	3.0	96.3	7.04	40	40
25GTÖ	3.0	97.0	7.7	9	7

*1GTÖ: Gıda Tuz Örneği koddan önceki numara tuz örneği sayısını göstermektedir.

Örneklerimizin nem, kül ve pH değerleri sonucu Tablo 3'te gösterilmektedir. Üzerinde çalışılan tuzların içerdikleri nem değerleri 2.3-3.7 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Kül tayini sonuçları %95-97 aralığında bulunmuştur. Örnek olarak toplanan tuz örneklerinin pH değerleri ise 6.37-9.94 aralığında çıkmıştır (Tablo 3).

Önceki bir çalışmada deri ve postlarda kullanılan 40 tuz örneğinin nem değerleri %0.90- 4.97 aralığında saptanmıştır (Birbir ve ark., 2008). Bir diğer çalışmada, derilerin korunmasında kullanılan tuzların nem içeriği ve pH değerleri sırasıyla %0.90-5.02 ve 6.23-7.22 arasında bulunmuştur (Yılmaz ve Birbir, 2019).

Toplanan tuz örnekleri ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen toplam bakteri sayısı, toplam tuza toleranslı bakteri sayısına ait sonuçlar Tablo 3'te gösterilmiştir.

4GTÖ, 5GTÖ, 8GTÖ, 12GTÖ, 17GTÖ kodlu örnekler olmak üzere 5 adet tuz örneğinde üreme görülmemiştir. 9 adet tuz örneğindeki toplam bakteri sayısı 1-10 kob/g, 5 adet tuz örneğinde 12-22 kob/g, 6 adet tuz örneğinde ise 30-58 kob/g olarak bulunmuştur (Tablo 1). Tuz örneklerinden 3GTÖ, 4GTÖ, 5GTÖ, 8GTÖ, 12GTÖ, 17GTÖ, 20GTÖ, 23GTÖ kodlu örnekler olmak üzere 8 örnekte tuza toleranslı bakteri üremesi görülmemiştir. 7 adet tuz örneğindeki toplam tuza toleranslı bakteri sayısı 1-10 kob/g, 6 adet tuz örneğinde 11-22 kob/g, 4 adet tuz örneğinde 30-40 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 3).

Yılmaz ve Birbir (2019)' e ait bir çalışmada 30 adet deri kütleme tuz örneğinde toplam tuza toleranslı bakteri sayısı 10^4 - 10^6 kob/g arasında tespit edilmiştir. Huss ve Valdimarsson (1990), arıtılmış Akdeniz tuzunun bir gramında 6×10^3 ile 1.85×10^5 kob/g bakteri saptamışlardır.

Tablo 4. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonları, pH ve sıcaklıklarda gelişim aralığı

Sıra No	İzolat Kodu	NaCl konsantrasyonu			pH Değeri			Sıcaklık		
		0%	10%	20%	pH 5	pH 7	pH 9	4°C	24°C	37°C
1	*1GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
2	1GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
3	2GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
4	2GTÖ 2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
5	6GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
6	6GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
7	6GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
8	6GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
9	6GTÖ5	++	+	+	+	++	+	-	+	++
10	6GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
11	6GTÖ7	++	+	-	+	++	+	-	+	++
12	6GTÖ8	++	+	+	+	++	+	-	+	++
13	6GTÖ9	++	+	-	+	++	+	-	+	++
14	6GTÖ10	++	+	-	+	++	+	-	+	++
15	7GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
16	9GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
17	9GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
18	9GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
19	9GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
20	9GTÖ5	++	+	-	+	++	+	-	+	++
21	9GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
22	9GTÖ7	++	+	+	+	++	+	-	+	++
23	9GTÖ8	++	+	-	+	++	+	-	+	++
24	9GTÖ9	++	+	-	+	++	+	-	+	++
25	9GTÖ13	++	+	-	+	++	+	-	+	++
26	9GTÖ14	++	+	-	+	++	+	-	+	++
27	9GTÖ15	++	+	+	+	++	+	-	+	++

28	9GTÖ16	++	+	+	+	++	+	-	+	++
29	9GTÖ17	++	+	-	+	++	+	-	+	++
30	9GTÖ18	++	+	-	+	++	+	-	+	++
31	9GTÖ19	++	+	-	+	++	+	-	+	++
32	9GTÖ20	++	+	-	+	++	+	-	+	++
33	9GTÖ21	++	+	-	+	++	+	-	+	++
34	9GTÖ22	++	+	-	+	++	+	-	+	++
35	9GTÖ23	++	+	-	+	++	+	-	+	++
36	9GTÖ24	++	+	+	+	++	+	-	+	++
37	9GTÖ26	++	+	-	+	++	+	-	+	++
38	9GTÖ27	++	+	-	+	++	+	-	+	++
39	9GTÖ28	++	+	-	+	++	+	-	+	++
40	9GTÖ29	++	+	-	+	++	+	-	+	++
41	9GTÖ30	++	+	-	+	++	+	-	+	++
42	9GTÖ31	++	+	+	+	++	+	-	+	++
43	9GTÖ32	++	+	-	+	++	+	-	+	++
44	9GTÖ33	++	+	-	+	++	+	-	+	++
45	9GTÖ34	++	+	-	+	++	+	-	+	++
46	9GTÖ35	++	+	-	+	++	+	-	+	++
47	9GTÖ36	++	+	-	+	++	+	-	+	++
48	9GTÖ37	++	+	-	+	++	+	-	+	++
49	9GTÖ38	++	+	-	+	++	+	-	+	++
50	9GTÖ39	++	+	-	+	++	+	-	+	++
51	9GTÖ40	++	+	-	+	++	+	-	+	++
52	10GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
53	10GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
54	10GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
55	10GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
56	10GTÖ5	++	+	-	+	++	+	-	+	++
57	10GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
58	10GTÖ7	++	+	-	+	++	+	-	+	++
59	10GTÖ8	++	+	-	+	++	+	-	+	++
60	11GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
61	11GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
62	11GTÖ3	++	+	+	+	++	+	-	+	++
63	11GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
64	11GTÖ5	++	+	-	+	++	+	-	+	++
65	11GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
66	11GTÖ7	++	+	+	+	++	+	-	+	++
67	11GTÖ8	++	+	-	+	++	+	-	+	++
68	11GTÖ9	++	+	+	+	++	+	-	+	++
69	11GTÖ10	++	+	-	+	++	+	-	+	++
70	11GTÖ11	++	+	-	+	++	+	-	+	++
71	13GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
72	13GTÖ11	++	+	-	+	++	+	-	+	++
73	13GTÖ12	++	+	+	+	++	+	-	+	++
74	13GTÖ15	++	+	-	+	++	+	-	+	++
75	13GTÖ19	++	+	-	+	++	+	-	+	++
76	13GTÖ20	++	+	-	+	++	+	-	+	++
77	13GTÖ21	++	+	-	+	++	+	-	+	++
78	13GTÖ22	++	+	-	+	++	+	+	+	++
79	13GTÖ26	++	+	-	+	++	+	-	+	++
80	13GTÖ28	++	+	-	+	++	+	-	+	++
81	13GTÖ29	++	+	-	+	++	+	-	+	++
82	13GTÖ30	++	+	-	+	++	+	+	+	++
83	14GTÖ1	++	+	+	+	++	+	-	+	++
84	15GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
85	15GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
86	16GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
87	16GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
88	16GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
89	16GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
90	16GTÖ5	++	+	-	+	++	+	-	+	++
91	16GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
92	16GTÖ7	++	+	-	+	++	+	-	+	++
93	16GTÖ8	++	+	-	+	++	+	-	+	++
94	16GTÖ9	++	+	-	+	++	+	-	+	++
95	18GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
96	18GTÖ5	++	+	-	+	++	+	+	+	++
97	18GTÖ6	++	+	-	+	++	+	+	+	++
98	18GTÖ7	++	+	+	+	++	+	+	+	++

99	18GTÖ9	++	+	-	+	++	+	+	+	++
100	18GTÖ10	++	+	-	+	++	+	-	+	++
101	18GTÖ11	++	+	-	+	++	+	-	+	++
102	18GTÖ35	++	+	+	+	++	+	-	+	++
103	18GTÖ40	++	+	-	+	++	+	-	+	++
104	18GTÖ41	++	+	-	+	++	+	-	+	++
105	18GTÖ45	++	+	-	+	++	+	-	+	++
106	18GTÖ46	++	+	-	+	++	+	-	+	++
107	18GTÖ50	++	+	+	+	++	+	-	+	++
108	18GTÖ52	++	+	-	+	++	+	-	+	++
109	18GTÖ53	++	+	-	+	++	+	-	+	++
110	18GTÖ55	++	+	-	+	++	+	-	+	++
111	19GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
112	21GTÖ1	++	+	-	+	++	+	+	+	++
113	21GTÖ2	++	+	-	+	++	+	-	+	++
114	21GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
115	21GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
116	21GTÖ5	++	+	+	+	++	+	-	+	++
117	21GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
118	21GTÖ7	++	+	-	+	++	+	-	+	++
119	21GTÖ8	++	+	-	+	++	+	-	+	++
120	21GTÖ9	++	+	+	+	++	+	-	+	++
121	21GTÖ10	++	+	-	+	++	+	-	+	++
122	22GTÖ1	++	+	-	+	++	+	-	+	++
123	22GTÖ2	++	+	+	+	++	+	-	+	++
124	22GTÖ3	++	+	-	+	++	+	-	+	++
125	22GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
126	22GTÖ5	++	+	-	+	++	+	-	+	++
127	22GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
128	22GTÖ7	++	+	-	+	++	+	-	+	++
129	24GTÖ2	++	+	+	+	++	+	-	+	++
130	24GTÖ3	++	+	+	+	++	+	-	+	++
131	25GTÖ1	++	+	+	+	++	+	-	+	++
132	25GTÖ4	++	+	-	+	++	+	-	+	++
133	25GTÖ5	++	+	-	+	++	+	-	+	++
134	25GTÖ6	++	+	-	+	++	+	-	+	++
135	25GTÖ7	++	+	-	+	++	+	-	+	++
136	25GTÖ8	++	+	-	+	++	+	+	+	++
137	25GTÖ9	++	+	-	+	++	+	-	+	++
138	25GTÖ10	++	+	+	+	++	+	-	+	++

*1GTÖ1: Gıda Tuz Örneği koddan önceki numara tuz örneği sayısını, koddan sonraki numara izolat sayısını göstermektedir.
- : Üreme yok, + : Üreme var, ++ : Optimum koşullarda üreme var.

Tuz örneklerinden izole edilen tuza toleranslı bakterilerin optimum büyüme koşulları NaCl içermeyen ve farklı NaCl konsantrasyonlarında (%10, %20), farklı pH (5, 7, 9) ve farklı sıcaklıklarda (4, 24, 37°C) incelenmiştir (Tablo 4).

İzolatların farklı NaCl, pH ve sıcaklıkta üreme deneylerinin sonucuna göre tüm izolatlar %0 ve 10 NaCl konsantrasyonlarında, pH 5, 7 ve 9'da, 24 ve 37°C sıcaklıklarında gelişme göstermiştir. %20 NaCl konsantrasyonunda 22 adet izolat (6GTÖ5, 6GTÖ8, 9GTÖ7, 9GTÖ15, 9GTÖ16, 9GTÖ24, 9GTÖ31, 11GTÖ3, 11GTÖ7, 11GTÖ9, 13GTÖ12, 14GTÖ1, 18GTÖ7, 18GTÖ35, 18GTÖ50, 21GTÖ5, 21GTÖ9, 22GTÖ2, 24GTÖ2, 24GTÖ3, 25GTÖ1, 25GTÖ10), 4°C'de ise sadece 8 adet izolat (13GTÖ22, 13GTÖ30, 18GTÖ5, 18GTÖ6, 18GTÖ7, 18GTÖ9, 21GTÖ1, 25GTÖ8) gelişme göstermiştir (Tablo 4).

Garabito ve arkadaşları (1998) %20-25'e kadar tuz içeren ortamda büyüeyebilen tuza toleranslı *Bacillus* cinsine ait izolatları elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

İlimli halofiller ve tuza toleranslılar, membran lipid bileşimlerini yüksek tuzlulukta şu şekilde uyarlamaktadırlar: Genellikle fosfatidilgliserol ve/veya glikolipidler gibi anyonik lipidlerin oranını artırarak, yüksek tuzlulukta stresi en aza indirmek için osmoregülatör yanıtı bu membran bileşikleriyle gerçekleştirirler (Larsen, 1986).

Tuza toleranslı ve halofil mikroorganizmalar yüksek konsantrasyonlarda yaşadıkları NaCl için, tek değerlikli katyonların etkilerinin dikkate alınması özellikle önemlidir (Russel, 1988). Tuzlu bir ortamla başa çıkmak için uyumlu çözünen olarak adlandırılan osmotik olarak aktif maddeler kullanmakta, halofil ya da tuza toleranslı hücreyi osmotik dengede tutmakta ve metabolizmayı uyarlamaktadır. Halofil ya da tuza toleranslılar ortam tuzluluğuna cevap olarak uyumlu çözünen maddeler sentezlemektedir (Margesin ve Schinner, 2001).

Tuza toleranslı bakterilerdeki osmolit maddelerden biri olan trehaloz, biyomoleküllerin dondurulması ve membran yapısındaki disakkarit varlığının uzun süre korunması için yararlı bir kriyoprotektandır (Galinski ve Tindall 1992). Bu mikroorganizmalar biyomolekülleri tuz stresinden koruyan ajanlara, izomeraz ve hidrolaz gibi enzimlere, biyopolimerlere, karotenlere sahiptir ve bu maddeler gıdaları fermente etmekte ve katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Rothschild ve Mancinelli, 2001; Oren, 2002; Satyanarayana ve ark., 2005).

Osmoregülasyon mekanizması, tuzlu ortamda hücrenin çalışması gereken enzimlerinin uyarlamasını sağlamaktadır. Bu sebeple halofil ya da tuza toleranslı bakteriler fazlaca metabolik çeşitlilik ile karakterize edilmektedir. Hücre içi tuz yoğunluğu düşük olup, çeşitli osmotik çözeltilerin yüksek konsantrasyonlarını biriktirmekte ve dış ortamla osmotik denge sağlamaktadır. Hücre içi enzimlerinin ayrıca bir tuz toleransı yoktur (Margesin ve Schinner, 2001).

Yapılan bir çalışmada tuza toleranslı bakteriler için optimum sıcaklık aralıkları 30°C-40°C olarak bulunmuştur (Priest ve ark., 1987). Farklı bir çalışmada, araştırmacılar bu mikroorganizmaların gelişmesini pH 7.0-8.5 ve %0-12 NaCl konsantrasyonlarında gözlemlemişlerdir (Arahal ve Ventosa, 2008). Yılmaz ve Birbir (2019), tuza toleranslı izolatların büyümesi için optimum sıcaklık ve pH'ı sırasıyla 37°C ve 7 olarak belirtmiştir. Aynı çalışmada elde edilen izolatlar hem tuzsuz hem de %2, %3, %5, %7, %10 ve %15 NaCl konsantrasyonlarında üreme göstermiştir.

Tuza toleranslı mikroorganizmaların 1-45°C, %0-10 NaCl konsantrasyonlarında gelişebildikleri açıklanmıştır (Rahman ve ark. 2017).

Tablo 5. Saf Tuza Toleranslı Bakteri Kolonilerinin Fenotipik Özellikleri

	İzolat Kodu	Hücre Morfolojisi	Hareket Muayenesi	Gram Reaksiyonu	Endospor	Koloni Özellikleri						
						Koloni Şekli	Koloni Yüksekliği	Koloni Kenarı	Koloni Rengi	Koloni Yapısı	Koloni Görünümü	Işık Geçirme Özelliği
1	*1GTÖ1	Çomak	+	-	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Turuncu	Pürüzsüz	Parlak	Opak
2	1GTÖ2	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Renksiz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
3	2GTÖ1	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
4	2GTÖ2	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Renksiz	Pürüzlü	Parlak	Saydam
5	6GTÖ1	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
6	6GTÖ2	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Filament	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
7	6GTÖ3	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Filament	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
8	6GTÖ4	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Filament	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
9	6GTÖ5	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Filament	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
10	6GTÖ6	Çomak	-	+	+	Dairesel	Düz	Filament	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
11	6GTÖ7	Çomak	+	-	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
12	6GTÖ8	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
13	6GTÖ9	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
14	6GTÖ10	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Mat	Opak
15	7GTÖ1	Çomak	+	+	+	Dairesel	Konveks	Düzgün	Turuncu	Pürüzsüz	Parlak	Opak
16	9GTÖ1	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
17	9GTÖ2	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
18	9GTÖ3	Çomak	-	+	+	Dairesel	Konveks	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Opak
19	9GTÖ4	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
20	9GTÖ5	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
21	9GTÖ6	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
22	9GTÖ7	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
23	9GTÖ8	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
24	9GTÖ9	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
25	9GTÖ13	Çomak	-	+	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
26	9GTÖ14	Çomak	+	+	+	Noktasal	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
27	9GTÖ15	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
28	9GTÖ16	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Opak
29	9GTÖ17	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
30	9GTÖ18	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
31	9GTÖ19	Çomak	-	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
32	9GTÖ20	Çomak	+	+	+	Noktasal	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
33	9GTÖ21	Çomak	+	-	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
34	9GTÖ22	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzlü	Parlak	Saydam
35	9GTÖ23	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
36	9GTÖ24	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Dalgalı	KoyuKrem	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
37	9GTÖ26	Çomak	+	-	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
38	9GTÖ27	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
39	9GTÖ28	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
40	9GTÖ29	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
41	9GTÖ3	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabark	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Yarı

	0											Saydam
42	9GTÖ3 1	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Dalgalı	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
43	9GTÖ3 2	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
44	9GTÖ3 3	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabarık	Dalgalı	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
45	9GTÖ3 4	Çomak	-	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
46	9GTÖ3 5	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
47	9GTÖ3 6	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabarık	Tırtıklı	KoyuKrem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
48	9GTÖ3 7	Çomak	+	+	-	Noktasal	Kabarık	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Opak
49	9GTÖ3 8	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
50	9GTÖ3 9	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Tırtıklı	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
51	9GTÖ4 0	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
52	10GTÖ 1	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
53	10GTÖ 2	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
54	10GTÖ 3	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
55	10GTÖ 4	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
56	10GTÖ 5	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
57	10GTÖ 6	Çomak	-	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
58	10GTÖ 7	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
59	10GTÖ 8	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
60	11GTÖ 1	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
61	11GTÖ 2	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
62	11GTÖ 3	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Saydam
63	11GTÖ 4	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
64	11GTÖ 5	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
65	11GTÖ 6	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
66	11GTÖ 7	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Opak
67	11GTÖ 8	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
68	11GTÖ 9	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
69	11GTÖ 10	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
70	11GTÖ 11	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
71	13GTÖ 3	Çomak	+	+	+	Düzensiz	Konveks	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Opak
72	13GTÖ 11	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Renksiz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
73	13GTÖ 12	Çomak	+	+	+	Düzensiz	Konveks	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Opak
74	13GTÖ 15	Çomak	+	+	+	Dairesel	Konveks	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
75	13GTÖ 19	Çomak	+	+	+	Düzensiz	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Opak
76	13GTÖ 20	Çomak	+	+	+	Rizoid	Düz	Filament	Krem	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
77	13GTÖ 21	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Opak
78	13GTÖ 22	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
79	13GTÖ 26	Çomak	+	+	+	Rizoid	Düz	Filament	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
80	13GTÖ 28	Çomak	+	+	+	Rizoid	Kabarık	Filament	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Saydam
81	13GTÖ 29	Çomak	+	+	+	Rizoid	Düz	Filament	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Saydam
82	13GTÖ 30	Çomak	+	+	+	Rizoid	Düz	Filament	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam

83	14GTÖ 1	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Düzgün	KoyuKrem	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
84	15GTÖ 1	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
85	15GTÖ 2	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
86	16GTÖ 1	Çomak	+	+	+	Noktasal	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
87	16GTÖ 2	Çomak	-	-	-	Noktasal	Düz	Düzgün	KoyuSarı	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
88	16GTÖ 3	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Mat	Yarı Saydam
89	16GTÖ 4	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
90	16GTÖ 5	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
91	16GTÖ 6	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
92	16GTÖ 7	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Dalgalı	Krem	Pürüzlü	Mat	Saydam
93	16GTÖ 8	Çomak	+	-	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
94	16GTÖ 9	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
95	18GTÖ 1	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Opak
96	18GTÖ 5	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Tırtıklı	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
97	18GTÖ 6	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	KoyuKrem	Pürüzsüz	Mat	Opak
98	18GTÖ 7	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Mat	Opak
99	18GTÖ 9	Çomak	+	+	-	Dairesel	Konveks	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
100	18GTÖ 10	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
101	18GTÖ 11	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
102	18GTÖ 35	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
103	18GTÖ 40	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Opak
104	18GTÖ 41	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
105	18GTÖ 45	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	KoyuKrem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
106	18GTÖ 46	Çomak	+	+	+	Noktasal	Konveks	Düzgün	KoyuKrem	Pürüzsüz	Parlak	Saydam
107	18GTÖ 50	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
108	18GTÖ 52	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Opak
109	18GTÖ 53	Çomak	+	+	-	Dairesel	Düz	Düzgün	KoyuKrem	Pürüzlü	Mat	Saydam
110	18GTÖ 55	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Dalgalı	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Opak
111	19GTÖ 1	Çomak	+	-	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Renksiz	Pürüzlü	Parlak	Saydam
112	21GTÖ 1	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
113	21GTÖ 2	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Opak
114	21GTÖ 3	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
115	21GTÖ 4	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzlü	Mat	Opak
116	21GTÖ 5	Çomak	+	+	+	Filament	Kabark	Filament	Krem	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
117	21GTÖ 6	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
118	21GTÖ 7	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Sarı	Pürüzlü	Mat	Opak
119	21GTÖ 8	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Dalgalı	Krem	Pürüzlü	Mat	Yarı Saydam
120	21GTÖ 9	Çomak	+	+	+	Dairesel	Kabark	Dalgalı	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam
121	21GTÖ 10	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak
122	22GTÖ 1	Çomak	+	-	-	Dairesel	Kabark	Tırtıklı	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Opak
123	22GTÖ 2	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Yarı Saydam
124	22GTÖ	Çomak	+	+	+	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Saydam

	3												
125	22GTÖ 4	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Dalgalı	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam	
126	22GTÖ 5	Çomak	+	-	-	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Opak	
127	22GTÖ 6	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Dalgalı	Beyaz	Pürüzlü	Mat	Saydam	
128	22GTÖ 7	Çomak	+	+	-	Noktasal	Düz	Düzgün	Beyaz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam	
129	24GTÖ 2	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Sarı	Pürüzlü	Parlak	Opak	
130	24GTÖ 3	Çomak	+	+	-	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam	
131	25GTÖ 1	Çomak	+	+	+	Düzensiz	Kabarık	Filamen t	Beyaz	Pürüzlü	Parlak	Opak	
132	25GTÖ 4	Çomak	+	-	-	Dairesel	Düz	Tırtıklı	Krem	Pürüzsüz	Mat	Opak	
133	25GTÖ 5	Çomak	+	+	-	Düzensiz	Kabarık	Düzgün	Krem	Pürüzlü	Parlak	Opak	
134	25GTÖ 6	Çomak	+	+	+	Dairesel	Düz	Düzgün	Renksiz	Pürüzsüz	Parlak	Saydam	
135	25GTÖ 7	Çomak	+	+	+	Düzensiz	Kabarık	Filamen t	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam	
136	25GTÖ 8	Çomak	+	+	+	Düzensiz	Kabarık	Filamen t	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam	
137	25GTÖ 9	Çomak	+	+	-	Düzensiz	Kabarık	Filamen t	Krem	Pürüzlü	Parlak	Yarı Saydam	
138	25GTÖ 10	Çomak	+	-	-	Dairesel	Kabarık	Düzgün	Sarı	Pürüzsüz	Parlak	Opak	

*1GTÖ1: Gıda Tuz Örneği koddan önceki numara tuz örneği sayısını,koddan sonraki numara izolat sayısını göstermektedir.

Elde edilen izolatlar koloni şekli, koloninin yandan görüntüsü, koloni kenar şekli, koloni yoğunluğu, koloni optik karakteri, koloni rengi ve koloni dokusu açısından incelenmiştir (Tablo 5).

Tuz örneklerinden izole edilen 138 izolatın tamamı çomak hücre şeklinde olduğu gözlenmiştir. Bu izolatların %5'i (7 izolat) hareketsiz, %95'i (131 izolat) ise hareketli olarak bulunmuştur. Gram reaksiyonlarının %86'sı (118 izolat) pozitif, %14'ü (20 izolat) negatif sonuç vermiştir. İzolatların %57'sinin endospor oluşturduğu gözlemlenmiştir (Tablo 5).

Saflaştırılan izolatların koloni şekli %66'sı (91 izolat) dairesel, %24'ü (33 izolat) noktasal, %6'sı (8 izolat) şekilsiz, %3'ü rizoid (5 izolat) %1'i (1 izolat) filament olduğu görülmüştür. İzolatların koloni yüksekliği %55'inde (76 izolat) düz, %40'ında (55 izolat) kabarık, %5'inde (7 izolat) konveks yapıda olduğu bulunmuştur. Koloni kenarı %70'inde (97 izolat) düzgün, %12'sinde (17 izolat) tırtıklı, %11'inde (15 izolat) filament, %7'sinde (9 izolat) dalgalı özellik göstermiştir. İzolatların koloni rengi %46'sında (62 izolat) krem, %34'ünde (47 izolat) beyaz, %10'unda (14 izolat) sarı, %5'inde (7 izolat) koyu krem, %3'ünde (5 izolat) renksiz, %1'inde (2 izolat) turuncu, %1'inde (1 izolat) koyu sarı renkte olduğu saptanmıştır. Koloni yapısı ise %53'ünde (73 izolat) pürüzsüz, %47'sinde (65 izolat) pürüzlü özellik göstermiştir. Koloni görünümü %52'sinde (72 izolat) parlak, %48'inde (66 izolat) mat olduğu bulunmuştur. İzolatların kolonilerinin ışık geçirme özelliği %46'sında (63 izolat) opak, %35'inde (49 izolat) yarı saydam, %19'unda (26

izolat) saydam özellik gösterdiği saptanmıştır (Tablo 5).

Magnusson ve Moller (1985)'e ait bir çalışmada Gram-negatif, hareketsiz ve çubuk şeklinde olan *Achromobacter* bakterisi saptanmıştır. Başka bir çalışmada *Staphylococcus aureus* tipik olarak hareketsiz, katalaz pozitif, Gram-pozitif bir tür olarak bulunmuştur (Adams, 2009). Diğer bir çalışmada deri tuzlamada kullanılan tuzlardan elde edilen tüm izolatlar hareketli, Gram-pozitif, endospor oluşturan çomak şeklinde bulunmuştur (Yılmaz ve Birbir, 2019). Cristopher (2016) tarafından yapılan bir çalışmada *Bacillus* çeşitliliği araştırması sırasında Gram-pozitif, hareketli, çomak şeklinde, endospor oluşturan iki bakteri izolatı tespit edilmiştir. Sumpavapol ve arkadaşlarına (2010) ait bir çalışmada izole edilen *Bacillus siamensis* türü bakteri Gram-pozitif çomak şeklinde, kremi, mukoid, yarı saydam, kabarık ve düzgün özellikte koloni yapısına sahip olarak karakterize edilmiştir.

Başka bir çalışmada ise Karak bölgesindeki tuz madenlerinden yirmi bir tuza toleranslı ve halofil bakteri suşu izole edilmiştir. Yirmi bir izolat, bu Karak tuz madenlerinden gelen tuza toleranslı/halofil çalışmalarının ön çalışması sırasında izole edilmiştir. Koloni pigmentasyonu soluk sarı, kremi ve beyaz renkte, düzensiz ve dairesel şekilde bulunmuştur. Koloni yükseklikleri yükselmiş, düz olarak saptanmıştır. Kolonilerin çoğu düz kenarlı, bazıları loblu, bazıları ise iplikli olarak gözlenmiştir. Mikroskop altında bakıldığında farklı izolatlar farklı hücre boyutları ve morfolojileri sergilemiştir. Bazıları çubuk şekilli küçük veya uzun zincirler halinde izolatlar da gözlenmiştir. Tüm suşların büyüme koşulları pH, NaCl tolerans ve sıcaklık toleransları araştırılmıştır. Halofil bakteri suşlarının en iyi pH 7-9'da geliştiği bildirilmiştir. Benzer şekilde bu suşlar için NaCl toleransı ve sıcaklık durumu da kontrol edilmiştir. Çoğu suş en iyi %5-20 NaCl konsantrasyonunda ve 28-37°C sıcaklık aralığında büyümüştür. Çeşitli tuz madenleri alanlarından alınan örneklerden izole edilen bakteriler tuza toleranslı ve halofil bakterilerinin çok çeşitli ve farklı fenotipik karakterlere sahip olduğunu göstermiştir (Roohi ve ark., 2012).

Marquez ve arkadaşları (1987) Güney İspanya'da aşırı tuzlu ortamlarda yaptığı çalışmada 150 halofil olmayan bakteri izole edildiğini ve elde edilen 10 izolattan 6 tanesinin tuza toleranslı Gram-pozitif endospor oluşturan *Bacillus* üyesi olduğunu bildirmiştir.

Tablo6. Tuza toleranslı izolatların biyokimyasal test sonuçları

	İzolat Kodu	Katalaz	Oksidaz	Proteaz	Lipaz	Amilaz	Kazeinaz	Peptondan Amonyak Oluşumu
1	*1GTÖ1	+	-	-	+	-	-	+
2	1GTÖ2	+	+	+	-	+	+	+
3	2GTÖ1	+	+	-	-	-	-	-
4	2GTÖ 2	+	-	-	+	+	-	+
5	6GTÖ1	+	-	-	+	+	+	+
6	6GTÖ2	+	-	-	+	+	+	-
7	6GTÖ3	+	-	-	+	+	+	+
8	6GTÖ4	+	-	+	+	+	+	+
9	6GTÖ5	+	+	-	+	+	+	-
10	6GTÖ6	+	+	+	+	-	+	-
11	6GTÖ7	+	-	+	-	+	+	+
12	6GTÖ8	+	-	-	-	+	+	-
13	6GTÖ9	+	+	+	-	+	+	+
14	6GTÖ10	+	+	-	-	+	+	-
15	7GTÖ1	+	-	+	+	-	+	-
16	9GTÖ1	+	+	-	-	+	+	+
17	9GTÖ2	+	+	+	-	+	+	+
18	9GTÖ3	+	+	+	-	+	+	+
19	9GTÖ4	+	+	-	-	-	+	-
20	9GTÖ5	+	+	+	+	-	+	-
21	9GTÖ6	+	+	+	-	+	-	-
22	9GTÖ7	+	+	-	-	+	+	+
23	9GTÖ8	+	+	+	-	+	+	-
24	9GTÖ9	+	+	+	-	+	-	-
25	9GTÖ13	+	-	-	-	+	+	+
26	9GTÖ14	+	+	-	-	+	+	-
27	9GTÖ15	+	-	+	+	-	+	-
28	9GTÖ16	+	+	+	+	+	+	-
29	9GTÖ17	+	+	+	+	-	+	-
30	9GTÖ18	+	+	-	-	-	+	-
31	9GTÖ19	+	-	+	-	-	+	-
32	9GTÖ20	+	+	+	-	+	+	-
33	9GTÖ21	+	-	+	-	-	-	-
34	9GTÖ22	+	-	+	-	+	-	-
35	9GTÖ23	+	+	+	-	+	+	-
36	9GTÖ24	+	+	+	+	-	-	-
37	9GTÖ26	+	+	+	-	-	-	+
38	9GTÖ27	+	+	-	-	-	+	-
39	9GTÖ28	+	+	+	-	-	+	-
40	9GTÖ29	+	+	+	-	-	+	-
41	9GTÖ30	+	+	+	-	+	+	-
42	9GTÖ31	+	+	-	-	+	+	-
43	9GTÖ32	+	-	+	+	+	+	+
44	9GTÖ33	+	+	+	+	-	-	-
45	9GTÖ34	+	+	+	-	-	+	-
46	9GTÖ35	+	+	+	+	-	+	-
47	9GTÖ36	+	-	+	-	-	+	-
48	9GTÖ37	+	-	+	-	-	+	-
49	9GTÖ38	+	-	-	-	-	-	+
50	9GTÖ39	+	+	+	-	-	-	-
51	9GTÖ40	+	-	+	-	+	+	+
52	10GTÖ1	+	-	+	-	-	-	+
53	10GTÖ2	+	+	+	-	-	-	-
54	10GTÖ3	+	-	+	-	+	+	+
55	10GTÖ4	+	+	-	+	+	+	-
56	10GTÖ5	+	-	+	-	+	+	-
57	10GTÖ6	+	-	+	-	+	-	-
58	10GTÖ7	+	-	+	-	+	-	+
59	10GTÖ8	+	+	+	-	-	+	-
60	11GTÖ1	+	+	+	+	+	+	-

61	11GTÖ2	+	+	+	+	-	+	+
62	11GTÖ3	+	+	+	+	+	+	-
63	11GTÖ4	+	-	+	-	-	-	+

Tablo 6.Devamı

	İzolat Kodu	Katalaz	Oksidaz	Proteaz	Lipaz	Amilaz	Kazeinaz	Peptondan Amonyak Oluşumu
64	11GTÖ5	+	+	+	+	+	+	-
65	11GTÖ6	+	+	+	+	-	+	+
66	11GTÖ7	+	+	+	+	+	+	-
67	11GTÖ8	+	-	-	+	+	+	-
68	11GTÖ9	+	+	+	-	+	+	+
69	11GTÖ10	+	+	+	-	-	+	-
70	11GTÖ11	+	-	-	+	+	+	-
71	13GTÖ3	+	-	-	-	+	+	-
72	13GTÖ11	+	-	-	-	+	+	-
73	13GTÖ12	+	-	-	-	+	+	+
74	13GTÖ15	+	-	-	-	+	+	-
75	13GTÖ19	+	-	-	-	+	+	-
76	13GTÖ20	+	+	+	-	+	-	+
77	13GTÖ21	+	+	-	-	-	-	-
78	13GTÖ22	+	+	-	-	+	+	+
79	13GTÖ26	+	+	+	-	+	+	-
80	13GTÖ28	+	-	-	-	-	+	+
81	13GTÖ29	+	+	-	-	+	-	+
82	13GTÖ30	+	+	+	-	+	+	+
83	14GTÖ1	+	+	-	-	-	+	+
84	15GTÖ1	+	-	-	-	-	-	-
85	15GTÖ2	+	+	-	-	+	-	-
86	16GTÖ1	+	-	-	-	+	+	-
87	16GTÖ2	+	-	-	+	+	+	+
88	16GTÖ3	+	+	+	-	-	-	-
89	16GTÖ4	+	-	+	+	+	+	+
90	16GTÖ5	+	-	+	+	+	+	-
91	16GTÖ6	+	+	+	-	+	-	+
92	16GTÖ7	+	-	+	+	+	+	-
93	16GTÖ8	+	-	+	-	-	+	+
94	16GTÖ9	+	+	-	+	+	-	-
95	18GTÖ1	+	+	-	+	+	+	-
96	18GTÖ5	+	+	+	-	-	-	-
97	18GTÖ6	+	+	+	+	+	+	-
98	18GTÖ7	+	+	+	+	+	+	-
99	18GTÖ9	+	+	+	-	+	-	-
100	18GTÖ10	+	+	+	+	+	+	+
101	18GTÖ11	+	+	-	+	+	-	-
102	18GTÖ35	+	+	+	+	-	-	+
103	18GTÖ40	+	+	+	-	-	+	+
104	18GTÖ41	+	+	+	-	+	+	+
105	18GTÖ45	+	+	+	-	+	-	-
106	18GTÖ46	+	+	+	+	+	+	-
107	18GTÖ50	+	+	+	-	+	+	-
108	18GTÖ52	+	+	+	+	+	-	+
109	18GTÖ53	+	+	+	-	+	+	-
110	18GTÖ55	+	+	+	-	+	+	+
111	19GTÖ1	+	-	+	+	-	-	+
112	21GTÖ1	+	-	-	+	+	+	+
113	21GTÖ2	+	+	-	-	+	+	-
114	21GTÖ3	+	-	+	+	+	+	+
115	21GTÖ4	+	-	+	-	+	+	+
116	21GTÖ5	+	-	-	-	+	+	+
117	21GTÖ6	+	-	-	-	+	+	-
118	21GTÖ7	+	+	+	-	+	+	+
119	21GTÖ8	+	-	-	-	+	+	+
120	21GTÖ9	+	-	-	-	+	+	+
121	21GTÖ10	+	+	+	-	+	+	+
122	22GTÖ1	+	+	+	+	-	+	+
123	22GTÖ2	+	-	-	+	-	-	-

124	22GTÖ3	+	-	-	-	-	-	-
125	22GTÖ4	+	-	-	+	+	+	+
126	22GTÖ5	+	-	+	-	-	+	-
127	22GTÖ6	+	+	+	+	+	+	+
128	22GTÖ7	+	+	+	+	+	+	-

Tablo 6.Devamı

	İzolot Kodu	Katalaz	Oksidaz	Proteaz	Lipaz	Amilaz	Kazeinaz	Peptondan Amonyak Oluşumu
129	24GTÖ2	+	+	-	-	+	-	-
130	24GTÖ3	+	+	-	-	+	-	+
131	25GTÖ1	+	+	+	-	-	-	+
132	25GTÖ4	+	-	+	-	+	+	+
133	25GTÖ5	+	+	+	-	+	+	+
134	25GTÖ6	+	-	-	-	+	+	+
135	25GTÖ7	+	+	-	-	+	+	+
136	25GTÖ8	+	+	-	-	+	+	+
137	25GTÖ9	+	+	-	-	+	+	+
138	25GTÖ10	+	-	-	+	-	-	-

*1GTÖ1: Gıda Tuz Örneği koddan önceki numara tuz örneği sayısını,koddan sonraki numara izolot sayısını göstermektedir.
- : Hidroliz yok , + : Hidroliz var

Tuz örneklerinden tuza toleranslı bakteriler izole edildikten sonra bazı biyokimyasal testler uygulanmıştır. Test sonuçları Tablo 6’da gösterilmiştir.

Yapılan test sonuçlarına göre örneklerden izole edilen 138 adet izolattan %100’ü (138 izolot) katalaz pozitif, %60’ı (83 izolot) oksidaz pozitif, %61’i (84 izolot) proteaz pozitif, %35’i (48 izolot) lipaz pozitif, %67’si (92 izolot) amilaz pozitif, %72’si (100 izolot) kazeinaz pozitif, %43’ü (60 izolot) peptondan amonyak üretmiştir. 18GTÖ10 ve 22GTÖ6 nolu izolatlarda tüm biyokimyasal testler (katalaz, oksidaz, proteaz, lipaz, amilaz, kazeinaz ve peptondan amonyak oluşumu) pozitif özellik göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada şekerli tuzlu balık salamurasından Gram-negatif, hareketsiz, tuza toleranslı, oksidaz pozitif özelliklere sahip olan bakteri izole edilmiştir (Magnusson ve Moller, 1985). Bir çalışmada *Staphylococcus aureus* tipik olarak katalaz pozitif bir tür olarak saptanmıştır (Adams, 2009). Bir diğer çalışmada *Staphylococcus aureus*, gıda işleme yüzeylerinde biyofilm oluşturabilenve patojenik Gram-pozitif, katalaz pozitif olarak bulunmuştur (Le Loir ve ark., 2003). Yılmaz ve Birbir (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, 30 tuz örneğinde tespit edilen tüm izolotların (83 adet suş) katalaz ve proteaz aktiviteleri pozitif bulunmuş ve 55 izolot pozitif oksidaz aktiviteleri göstermiştir. Aslan ve Birbir (2011) İngiltere, Türkiye ve Avustralya menşeli 10 tuz derisinden 111 *Bacillus* izole etmiş ve bu izolot %92’si postlarda proteolitik aktivite göstermiştir.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

Bu tez çalışmamızda farklı ülkelerden toplanan 25 tuz örneğinin 17 tanesinde toplam 138 adet tuza toleranslı bakteri izole edilmiştir. Tuzların çoğunluğunu beyaz renkte olmakla birlikte pembe, kırmızı, siyah renkte olduğu Tablo 2’de görülmektedir. Toplanan tuzlarda toplam tuza toleranslı bakteri sayısı 1-36 kob/g olarak saptanmıştır. Saptanan tuza toleranslı bakterilerin sahip olduğu enzimatik özellikleri sebebiyle kullanılan gıdalarda bazı bozunmalara sebep olabileceğini öngörmekteyiz. Bu nedenle tuza toleranslı bakterilerin proteaz, lipaz, amilaz, kazeinaz aktiviteleri de araştırılmıştır. İzolatların %61’i proteaz, %35’i lipaz, %67’si amilaz ve %72’si kazeinaz pozitif özellik gösterdiği gözlemlenmiştir. %43 oranında ise peptondan amonyak üretimi tespit edilmiştir. Et ve et ürünleri gibi protein barındıran, tereyağı gibi lipit içeren, nişastalı ya da süt ve süt ürünleri gibi kazein içeren gıdaların korunması, fermantasyonu ya da marinasyonu gibi işlemlerde tuz çeşitleri kullanılmaktadır. Tuzlanmış peynirde bulunan kazein proteini tuzdaki tuza toleranslı bakteriler tarafından tamamının parçalanabileceğini göstermiştir. Buna ilaveten nişastalı besinlere tuza toleranslı bakteriler içeren tuz ilave edildiğinde bakterilerin büyük kısmının nişastayı parçalayabileceği ve besinin kalitesini düşürebileceği düşünülmektedir. Buna benzer sonuçlar proteinli ve yağlı besinlerde işlem görmemiş gıda tuzu kullanıldığında protein, yağ ve zeytinyağı yapısını parçalayarak gıda kalitesini düşüreceği ve besin değerini azaltacağı öngörülmektedir. Elde ettiğimiz peptondan amonyak üretimi pozitif çıkması sonuçları da proteinli besinlerde koku oluşumuna yol açabileceği sonucunu göstermektedir. Araştırmamız sonucu elde ettiğimiz tüm sonuçlara göre gıdalarda koruma ya da tatlandırma amaçlı kullanılan tuzun içerisinde bulunan bu tuza toleranslı bakterilerin içerisinde protein, lipit, karbonhidrat ve kazein barındıran besinlerde bu besinleri sindirebileceğini ve gıdalarda bozulmaya sebep olabileceğini düşünmekteyiz. Dolayısıyla kullanılacak olan tuzun sterilizasyon ile içerisinde bulunan bakterilerin inaktive edilmesinin ardından kullanılmasını önermekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Abad, F.X., Pinto, R.M., Gajardo, R., Bosch, A. (1997) Viruses in Mussels: Public Health İmplications and Depuration. *Journal of Food Protection*. 60(6), 677-681.
- [2] Adams, M. (2009) *Staphylococcus aureus* and other Pathogenic Gram-Positive Cocci. in *Foodborne Pathogens*; de Blackburn, C.W., McClure, P.J., Eds.; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 802–819.
- [3] Adshead, S.A.M., (1992) *Salt and Civilization*. St. Martin's Press, New York.
- [4] Ahmed, A.M., Elkazzaz, W.M. (2005) Control of Halotolerant Bacteria in Salted Fish (Faseikh) Using Trisodium Phosphate Pakistan. *J. Biol. Sci.*, 8, 882-887.
- [5] Akgün, B, Genç, S, Arıcı, M. (2018) Tuz: Gıdalardaki Algısı, Fonksiyonları ve Kullanımının Azaltılmasına Yönelik Stratejiler. *Akademik Gıda*. 16 (3), 361-370.
- [6] Albarracín, W., (2011) Salt in Food Processing; Usage and Reduction: a Review. *International Journal of Food Science and Technology*. 46,128-149.
- [7] Al-Harbi, A.H., Al-Asous, A.I. (2019) Bacterial Community of Salted Bluespot Mullet (*Valamugil seheli*), *Food Science and Technology*. 107, 208-2013.
- [8] Almohsen, J.S.H., (2014) Isolation and Characterisation of Halotolerant Bacteria and Algae and their Potential for Biofuel Production. PhD Thesis, University of Sheffield.
- [9] Ammor, M.S., Mayo, B. (2007) Selection Criteria for Lactic Acid Bacteria to be Used as Functional Starter Cultures in Dry Sausage Production: An Update, *Meat Science*. 76 (1), 138-146.
- [10] Aquaron, R. (2000) Iodine Content of Non Iodinezed Salts and Iodized Salts Obtained from the Retail Markets Worldwide. 8th World Salt Symposium, (Ed. R.M. Geertman), Elsevier Science Proceeding, 2, 935-941.
- [11] Arahall, D.R., Ventosa A. (2006) The Family *Halomonadaceae*. *Prokaryotes*, 6:811–35.
- [12] Arıcı M. (2006) Gıda Muhafazasında Yüksek Hidrostatik Basıncın

Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi. 3(1),41-49.

[13] Aslan, E., Birbir, M. (2011) Examination of Gram-Positive Bacteria on Salt-Pack Cured Hides. The Journal of the American Leather Chemists Association. 12(106), 372-380.

[14] Ayaz, A. (2008) Tuz Tüketimi ve Sağlık. Ankara, Klasmat Matbacılık.

[15] Barat, J.M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A., Fito, P. (2003) Cod Salting Manufacturing Analysis. Food Research International. 36, 447–453.

[16] Barat, J.M., Grau, R., Ibánéz, J.B., Fito, P. (2005) Post-Salting Studies in Spanish Cured Ham Manufacturing. Time Reduction by Using Brine Thawing–Salting. Meat Science. 69, 201–208.

[17] Barat, J.M., Grau, R., Ibánéz, J.B. (2006) Accelerated Processing of Dry-Cured Ham. Part I. Viability of The Use of Brine Thawing/Salting Operation. Meat Science. 72, 757–765.

[18] Basti, A.A., Misaghi, A., Salehi, T.Z., Kamkar, A., (2006) Bacterial Pathogens in Fresh, Smoked and Salted Iranian Fish, Food Control. 17(3), 183-188.

[19] Bailey, D.G. (2003) The Preservation of Hides and Skins. Journal of The American Leather Chemists Association. 98, 308-319.

[20] Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F.N., Durán-Quintana, M.C., Garrido-Fernandez, (2009) A. Fermentation Profiles of Manzanillaaloren a Cracked Green Table Olives in Different Chloride Salt Mixtures, Food Microbiology. 27, 403–412.

[21] Bellagha, S., Sahli, A., Farhat, A., Kechaou, N., Glenza, A. (2007) Studies on Salting and Drying of Sardine (*Sardinella aurita*): Experimental Kinetics and Modeling. Journal of Food Engineering. 78, 947–952.

[22] Beutling, D.M., Peçonek, J. & Stan-Lotter, H. (2009). *Chromohalobacter beijerinckii*: A Psychrophilic, Extremely Halotolerant and Enzymatically Active Microbe from Salted Food With the Capacity for Biogenic Amine Production. European Food Research and Technology. 229, 725–730.

- [23] Birbir, M. (1991) Deri Endüstrisinde Kullanılan İşlenmiş ve İşlenmemiş Sığır Derilerinde Derinin Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [24] Birbir, M., Ilgaz, A. (1996) Isolation and Identification of Bacteria Adversely Affecting Hide and Leather Quality. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists.* 80, 147-153.
- [25] Birbir, M., Ogan, A., Calli, B., Mertoglu, B. (2004) Enzymatic Characteristics of Extremely Halophilic Archaeal Community in Tuzkoy Salt Mine, Turkey. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 20, 613-621.
- [26] Birbir, M., Calli, B., Mertoglu, B., Elevi Bardavid, R., Oren, A., Ogmen, M.N., Ogan, A. (2007) Extremely Halophilic Archaea from Tuz Lake, Turkey and the Adjacent Kaldirim and Kayacik Saterns. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 23, 309-316
- [27] Birbir, Y., Degirmenci, D., Birbir, M. (2008) Direct Electric Current Utilization in Destruction of Extremely Halophilic Bacteria in Salt That is Used in Brine Curing of Hides. *Journal of Electrostatics.* 66, 388-394.
- [28] Birbir, Y., Dolek, N., Birbir, M., Caglayan, P. (2015) Extermination of Bacteria in Hide-Brine Curing Liquors Using Combined Alternating and Direct Electric Current Applications Plus Bronopol. *Romanian Biotechnological Letters.* 20(1), 10123-10133.
- [29] Bowers, J. K., Mesbah, M. N. and Wiegel, J. (2009) Biodiversity of Polyextremophilic Bacteria: Does Combining the Extremes of High Salt, Alkaline pH and Elevated Temperature Approach a Physico-Chemical Boundary for Life. *Saline Systems.* 5, 9-16.
- [30] Calasso, M., Ercolini, D., Mancini, L., Stellato, G., Minervini, F., Di Cagno, R., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2016) Relationships Among House, Rind and Core Microbiotas During Manufacture of Traditional Italian Cheeses at the Same Dairy Plant. *Food Microbiology.* 54, 115–126.
- [31] Calliauw, F., De Mulder, T., Broekaert, K., Vlaemynck, G., Michiles, C.,

Heyndrickx, M. (2016) Assessment Throughout a Whole Fishing Year of The Dominant Microbiota of Peeled Brown Shrimp (*Crangon crangon*) Stored For 7 Days Under Modified Atmosphere Packaging at 4 Oc Without Preservatives. *Food Microbiology*. 54, 60-71.

[32] Carrasco, I.J., Márquez, M.C., Yanfen, X., Ma, Y., Cowan, D.A., Jones, B.E., Grant, W.D., Ventosa, A., *Gracilibacillus Orientalis* Sp. Nov., A Novel Moderately Halophilic Bacterium Isolated from a Salt Lake in Inner Mongolia, China, *International Journal of Systematic And Evolutionary Microbiology*. 56(3), 2006.

[33] Casiraghi, E., Alamprese, C., Pompei, C. (2007). Cooked Ham Classification on The Basis of Brine Injection Level and Pork Breeding Country. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 40, 164–169.

[34] Chen JQ, Meng XP, Zhang Y, Xia M, Wang XP. (2008) Over Expression of OsDREB Genes Lead to Enhanced Drought Tolerance in Rice. *Biotechnology Letters*. 30, 2191–2198.

[35] Chouliara, I., Sawaidis, L.N., Riganakos, K., Kontaminas, M.G., (2004) Preservation of Salted, Vacuum-Packaged, Refrigerated Sea Bream (*Sparus Aurata*) Fillets by Irradiation: Microbiological, Chemical and Sensory Attributes. *Food Microbiology*. 21(3), 352-359.

[36] Chowdhury, J.B., Jain, S., Jain, R.K. (1993) Biotechnological Approaches for Developing Salt Tolerant Field Crops. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 2, 1–7.

[37] Cordero, M. R., Zumalacarregui, J. M. (2000) Characterization of *Micrococcaceae* Isolated from Salt Used for Spanish Dry-Cured Ham. *Letters in Applied Microbiology*. 31, 303-306.

[38] Corral P, Amoozegar MA, Ventosa A. (2020) Halophiles and Their Biomolecules: Recent Advances and Future Applications in Biomedicine. *Marine Drugs*. 18(1),33.

[39] Crisan EV, Sands A. (1975) Microflora of Four Fermented Fish Sauces. *Applied Microbiology*. 29, 106–108.

- [40] Caglayan, P., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., Birbir, M., (2015) Characterization of Moderately Halophilic Bacteria from the Salt-Pack-Cured Hides. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 99(5), 250-254.
- [41] Çaklı, Ş., Kışla D. (2003) Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri. Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, *Su Ürünleri Dergisi*. 1(2), 239-245.
- [42] Çetin, E.T. (1973) Genel ve Pratik Mikrobiyoloji., İstanbul Üniversitesi, 3.Baskı, Sermet Matbaası, İstanbul.
- [43] Davidson, MP., (1997) Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds, In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ Eds, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Washington DC: ASM Press; 520.
- [44] Değirmenci, D. (2006) Derilerin Korunmasında Kullanılan Tuzların İçindeki Aşırı Halofil Bakteriler Üzerine Doğru Elektrik Akımının Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [45] Desmond, E., (2006) Reducing Salt: a Challenge for the Meat Industry, *Meat Science*. 74(1), 188-196.
- [46] Durack, E., Alonso-Gomez, M., Wilkinson, M.G. (2008) Salt: A Review of its Role in Food Science and Public Health. *Current Nutrition & Food Science*. 4(4), 290-297.
- [47] Echigo, A., Fukushima, T., Mizuki, T., Inoue, A., Usami, R. (2005) Organic Solvent Tolerance of Halophilic α -Amylase from *A Haloarchaeon*, *Haloarcula* sp. Strain S-1. *Extremophiles*. 9, 85–89.
- [48] Ergin, Z. (1988) Tuzun Üretim Teknolojisi ve İnsan Sağlığındaki Yeri. *Madencilik*, 27(1), 9-30.
- [49] Ersoy, A., Yünsel, T. (2001) Çözelti Madenciliği ile Tuz Üretimi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- [50] Fito, P., Pastor, R. (1994). Non-Diffusional Mechanisms Occurring During Vacuum Osmotic Dehydration. *Journal of Food Engineering*. 21, 513–519.

- [51] Forbes, R.J., (1965) *Studies in Ancient Technology*. Brill: Leiden 3, 164-181.
- [52] Galinski, E.A., Tindall B.J. (1992) Biotechnological Prospects for Halophiles and Halotolerant Microorganisms In: Herbert RH, Sharp R.J. (eds) *Molecular Biology and Biotechnology of Extremophiles*. Blackie, Glasgow, 76–114.
- [53] Gallart-Jornet, L., Barat, J.M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., Fito, P. (2007). Influence of Brine Concentration on Atlantic Salmon Fillet Salting. *Journal of Food Engineering*. 73, 9–19.
- [54] Ghanbari M, Jami M, Domig KJ, Kneifel W (2013) Seafood Biopreservation by Lactic Acid Bacteria—A Review. *Food Science and Technology*. 54,315–324
- [55] Gilmour, D. (1990) Halotolerant and Halophilic Microorganisms, in *Microbiology of Extreme Environments*. (Ed. Edwards, C.) McGraw-Hill Publishing Company, 147-177.
- [56] Gobbetti, M., Fox P.F., Macchi E, Stepaniak L., Damiani P. (1996) Purification and Characterization of a Lipase from *Lactobacillus plantarum* 2739. *Journal of Food Biochemistry*. 20, 227–246.
- [57] Gobbetti, M., Fox P.F., Stepaniak L. 1997. Isolation and Characterization of a Tributyrin Esterase from *Lactobacillus plantarum* 2739. *Journal of Dairy Science*. 80, 3099–3106.
- [58] Gonzáles, C., Gutierrez, C., Ramirez, C. (1978) *Halobacterium vallismortis* Sp. Nov. An Amyolytic and Carbohydrate-Metabolizing Extremely Halophilic Bacterium, *Canadian Journal of Microbiology*. 24, 710-715.
- [59] Goulas, A.E, Kontominas, M.G. (2005) Effect of Salting and Smoking-Method on The Keeping Quality of Chub Mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and Sensory Attributes. *Food Chemistry*. 93,511–520.
- [60] Goulas, A.E., Kontominas, M.G. (2007). Combined Effect of Light Salting, Modified Atmosphere Packaging and Oregano Essential Oil on the Shelf-Life of Sea Bream (*Sparus aurata*): Biochemical and Sensory Attributes. *Food Chemistry*, 100, 287–296.
- [61] Gökoğlu, N., Gün, H., Varlık, C. (1994) Gökkuşığı Alabalığının *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) Lakerdasının Dayanma Süresinin Belirlenmesi, İstanbul

Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi. 1-2.

[62] Grant, W.D., Gemmell R.T., McGenity T.J. (1998) Halophiles. In: Horikoshi K, Grant W.D. (eds) Extremophiles: Microbial Life in Extreme Environments, New York, 93–132

[63] Grant, W.D., Kamekura, M., McGenity, T.J., Ventosa, A. (2001) Class III *Halobacteria* Class. nov. Order I. *Halobacteriales*. Bergey's Manual Systematic Bacteriology, 2nd Edition, Springer-Verlag, New York, 294-334.

[64] Grant, W.D., Larsen, H. (1989) Extremely Halophilic Archaeobacteria, In Staley Bryant, Pfennig and Holt (Editors), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1st Ed., Vol. 3, The Williams & Wilkins Co., Baltimore. pp. 2216-2219.

[65] Guan, L., Cho, K. L., Lee, J. H. (2011) Analysis Of The Cultivable Bacterial Community in Jeotgal, A Korean Salted and Fermented Seafood and Identification of Its Dominant Bacteria. Food Microbiology. 28, 101–113.

[66] Guinee, T.P., Fox P.F., (2004) Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects In: Fox PF, McSweeney P., Cogan T., Guinee T., Eds. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: General, Aspects, Elsevier, London 207-59.

[67] Gutierrez-Arnillas, E., Rodriguez, A., Sanroman, M.A., Deive, F.J. (2016) New Sources of Halophilic Lipases: Isolation of Bacteria from Spanish and Turkish Saltworks. Biochemical Engineering Journal. 109, 170-177.

[68] Harley, J.P., Prescott, L.M. (2002) Laboratory Exercises in Microbiology. 5th Edition, The McGraw-Hill Companies, New York.

[69] Henriot, O., Fourmentin, J., Delincé, B., Mahillon, J. (2014) Exploring The Diversity of Extremely Halophilic Archaea in Food-Grade Salts, International Journal of Food Microbiology. 191, 36-44.

[70] <http://www.bacterio.net/> , Erişim Tarihi 2021

- [71] Huss, H.H., Valdimarsson G. (1990) Microbiology of Salted Fish. Food and Agriculture Organisation-Fisheries Technology News. 10(1), 190.
- [72] Hutton, T. (2002) Sodium Technological Functions Of Salt in the Manufacturing of Food and Drink Products, British Food Journal. 104, 126-52.
- [73] İltter, M. (2000) Dünyada ve Türkiye’de Tuz, 1-21.
- [74] Jay, J.M. (1992) Modern Food Microbiology, Fourth ed. Van Norstand Reinhold Co., New York.
- [75] Johnson, T.R., Case, C.L. (2010) Laboratory Experiments in Microbiology. 9th Edition, Pearson Education, Inc.
- [76] Kim, M.S., Roh S.W., Bae J.W., (2010) *Halomonas jeotgali* sp. nov., A New Moderate Halophilic Bacterium Isolated from a Traditional Fermented Seafood, Journal of Microbiology, 48(3) 404–10.
- [77] Koday, S. (1999) Tuz Gölü Tuzlaları “The Salt Pans of Salt Lake”, Marmara Coğrafya Dergisi. 2, 128-149.
- [78] Kushner, D.J., Kamekura M. (1988) Physiology Of Halophilic Eubacteria In: Rodriguez-Valera F. (Ed) Halophilic Bacteria, vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL, 87–103.
- [79] Kushner, D.J., (1978) Life in High Salt and Solute Concentrations In: Kushner DJ (Ed) Microbial Life in Extreme Environments, Academic Press, 317–368, London.
- [80] Larsen H (1986) Halophilic and Halotolerant Microorganisms-An Overview and Historical Perspective. FEMS Microbiology Reviews. 39, 3–7.
- [81] Lawrence, T.E., Dikeman, M.E., Stephens, J.W., Obuz, E., Davis, J.R., (2003) In Situ Investigation of the Calcium-Induced Proteolytic and Salting-In Mechanisms Causing Tenderization in Calcium-Enhanced Muscle, Meat Science. 66, 69–75.
- [82] Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003) *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. Genetics and Molecular Research. 2, 63–76.

- [83] Logan, N.A., De Vos, P. (2015) *Bacillus*, In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, John Wiley and Sons, Inc., Association with Bergey's Manual Trust, 1-163.
- [84] Lück, E., Páger, M. (2000) *Conservación Química de los Alimentos: Características, Usos, Efectos*, Zaragoza. 46-98.
- [85] Macintyre, F., (1970) Why The Sea is Salt, *Scientific American*. 223(5), 104-115.
- [86] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlop, P.V. (2009) *Brock Biology of Microorganisms*, 13th Edition, Pearson Education, Benjamin Cummings, USA.
- [87] Manaia, C.M., Hoste B., Gutierrez M.C., Gillis M., Ventosa A., Kersters K., Da Costa M.S. (1995) Invalidation of The Publication of New Names and New Combinations Previously Effectively Published Outside The IJSB. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 45, 619-620.
- [88] Márquez MC, Carrasco IJ, de la Haba RR, Jones BE, Grant WD, Ventosa A. (2011) *Bacillus locisalis* sp. nov., A New Haloalkaliphilic Species from Hypersaline and Alkaline Lakes of China, Kenya and Tanzania. *Systematic and Applied Microbiology*. 34, 424–428.
- [89] McLeod, J.W., Gordon, J. (1923) Catalase Production and Sensitiveness to Hydrogen Peroxide Amongst Bacteria: With a Scheme for Classification Based on These Properties. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 26, 326-331.
- [90] Medvedová, A., Le Marc, Valík I. (2009) Modelling the Effect of the Starter Culture on the Growth of *Staphylococcus aureus* in Milk. *International Journal of Food Microbiology*. 129(3), 306-311.
- [91] Magnússon, H., Möller, A. (1985) Ropiness in the Brine of Sugar-Salted Herring. *International Journal of Microbiology*. 1, 253-261.
- [92] Norrell, S.A., Messley, K.E. (1997) *Microbiology Laboratory Manual Principles and Applications*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- [93] Oren, A. (1999) Bioenergetics Aspects of Halophilism. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(2), 334-348.

- [94] Oren, A. (2000) The Order *Halobacteriales*. Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community, 3rd Edition, Springer-Verlag, New York
- [95] Oren, A. (2002) Halophilic Microorganisms and Their Environments (Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology), Springer, 1st edition, August 31, 600.
- [96] Rahman, S.S., Siddique R., Tabassum N. (2017) Isolation and Identification of Halotolerant Soil Bacteria from Coastal Patenga Area, Biotechnology Program, Department of Mathematics and Natural Sciences. BRAC University, Bangladesh.
- [97] Röling, W.F.M., Prasetyo A.B., Stouthamer A.H., van Verseveld H.W. (1999) Physiological Aspects of the Growth of the Lactic Acid Bacterium *Tetragenococcus halophila* During Indonesian Soy Sauce (Kecap) Production, Journal of Applied Microbiology. 86, 348–352.
- [98] Röling, W.F.M., van Verseveld H.W. (1996) Characterization of *Tetragenococcus halophila* Populations in Indonesian Soy Mash (Kecap) Fermentation, Applied and Environmental Microbiology. 62, 1203–1207.
- [99] Sánchez-Porro, C., Martín, S., Mellado, E., Ventosa, A. (2003) Diversity of Moderately Halophilic Bacteria Producing Extracellular Hydrolytic Enzymes. Journal of Applied Microbiology. 94, 295-300.
- [100] Satyanarayana, T., Raghukumar, C., Shivaji, S. (2005) Extremophilic Microbes: Diversity and Perspectives. Current Science. 89, 78–90.
- [101] Schaeffer, A.B., Fulton, M.D. (1933) A Simplified Method of Staining Endospores. Science. 77, 194.
- [102] Schreck SD, Grunden AM. (2014) Biotechnological Applications of Halophilic Lipases and Thioesterases. Applied Microbiology and Biotechnology. 98, 1011-1021.
- [103] Seeliger, H.P.R., Jones D. (1986) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 9th ed. Baltimore, Genus *Listeria* Pirie 1940, 383a. In: Sneath PHA, Mair SN, Sharpe, ME, Holt JG, editors. (MD): Williams and Wilkins, 1235-1245.
- [104] Taorimina, P. (2010) Implications of Salt and Sodium Reduction on Microbial Food Safety. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 50, 209-227.

- [105] Tekel Tuz Sanayii Müessesesi Müdürlüğü Dergisi. (2000).
- [106] Tenreiro, S., Nobre, M.F., Rainey, F.A., Miguel, C., da Costa, M.S. (1997) *Thermonema rossianum* sp. Nov., A New Thermophilic and Slightly Halophilic Species From Saline Hot Springs in Naples. Italy, International Journal of Systematic Bacteriology. 47,122-126.
- [107] Thongthai, C., Suntinanalert P. (1991) Halophiles in Thai Fish Sauce (nam pla). In: Rodriguez-Valera F (ed) General and Applied Aspects of Halophilic Microorganisms. Plenum Press, New York, pp 381-388.
- [108] Türk Gıda Kodeksi, (2013).
- [109] Türk Standartları 4127 (1985) Mamül Deriler, Uçucu Madde (Rutubet Tayini). UDK 675: 014.543.812, Türk Standartları Enstitüsü.
- [110] Türkiye Tuz Envanteri, (1977).
- [111] Ventosa, A., Quesada, E., Rodriguez-Valera, F., Ruiz-Berraquero, F., Ramos-Cormenzana, A. (1982) Numerical Taxonomy of Moderately Halophilic Gram-Negative Rods. The Journal of General Microbiology. 128, 1959-1968.
- [112] Ventosa, A., Nieto, J.J., Oren, A. (1998) The Biology of Aerobic Moderately Halophilic Bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62, 504-544.
- [113] Vilhelmsson, O., Hafsteinsson H., Kristjánsson J.K. (1997) Extremely Halotolerant Bacteria Characteristic of Fully Cured and Dried Cod,. Journal of Food Microbiology. 36,163–70.
- [114] Vreeland, R.H., Litchfield C.D., Martin E.L, Elliot E., (1980) *Haloromonas elongata*, A New Genus and Species of Extremely Salt-Tolerant Bacteria. International Journal of Systematic Bacteriology. 30,485-495.
- [115] Yilmaz, E., Birbir, M. (2019) Characterization of Halotolerant *Bacillus* Species Isolated from Salt Samples Collected from Leather Factories in Turkey. Journal of the American Leather Chemists Association. 114, 118-130.

[116] Yoon, J.H., Kang K.H., Park Y.H. (2003) *Psychrobacter jeotgali* sp. nov., Isolated from Jeotgal, A Traditional Korean Fermented Seafood, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 53(2), 449–54.

[117] Yoon, J.H., Yeo S.H., Oh T.K., Park Y.H. (2005) *Psychrobacter alimentarius* sp. nov., Isolated from Squid Jeotgal, A Traditional Korean Fermented Seafood., International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 55(1), 171–6.

[118] Zahran, H.H. (1997) Diversity, Adaptation and Activity of The Bacterial Flora in Saline Environments. Biology and Fertility of Soils. 25, 211-223.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Şeyma HELVA

Doğum Yeri ve Tarihi:

Yabancı Dili: İngilizce

E-posta:

Derece	Bölüm/Program	Okul Adı	Mezuniyet Yılı
Lise	Fen	Selimpaşa Lisesi	2013
Üniversite	Biyoloji	Marmara Üniversitesi	2017

