

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

***Escherichia coli*'nin YÜKSEK TUZ ORTAMINA ADAPTASYONUNUN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HAZIRLAYAN: Şehriban UĞUZ
DANIŞMAN : Prof. Dr. Fikret Nafi ÇOKSÖYLER**

VAN-2015

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

***Escherichia coli*'nin YÜKSEK TUZ ORTAMINA ADAPTASYONUNUN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Şehriban UĞUZ

VAN-2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. F. Nafi ÇOKSÖYLER danışmanlığında, Şehriban UĞUZ tarafından sunulan “*Escherichia coli*'nin Yüksek Tuz Ortamına Adaptasyonunun İncelenmesi” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 23/01/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. F. Nafi ÇOKSÖYLER

İmza:

Üye: Doç. Dr. Seval ANDIÇ

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖĞÜN

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../2015 tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza
Prof. Dr. Turgut AYGÜN
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atf yapıldığını bildiririm.

Şehriban UĞUZ

ÖZET

Escherichia coli'nin YÜKSEK TUZ ORTAMINA ADAPTASYONUNUN İNCELENMESİ

UĞUZ, Şehriban
Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fikret Nafi ÇOKSÖYLER
Ocak 2015, 125 sayfa

Mikroorganizmalar, karşılaştıkları stresin/streslerin önemine göre farklı tepkiler vermektedirler. Stres yanıt sistemi, mikroorganizmanın çeşidine, uygulanan stresin şiddetine ve mikroorganizmanın bu strese adapte edilip edilmediğine göre değişmektedir. Bu çalışmanın amacı, ozmotik stres kaynaklarından NaCl'e karşı *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 suşlarının verecekleri stres yanıtını (adaptasyon) belirlemektir. Çalışma, suşların tuza önceden adapte edilip edilmediğini ve toleransın tuz konsantrasyonları ile değişip değişmediğini ortaya koymak için her kombinasyondan 3'er paralel halinde yürütülmüştür. Kültürlerin çeşitli konsantrasyonlarda tuz içeren (% 0-10) TSB besiyerlerindeki gelişimi hem kültürel sayım hem de 600 nm'de absorpsiyon ölçümü yapılarak izlenmiştir. Tuz düzeyi arttıkça mikroorganizmaların gelişim hızı azaldığından maksimum spesifik gelişme hızı (μ_{max}) ve maksimum popülasyon yoğunluğu (A) azalmakta, lag fazı süresi (λ) ise artmaktadır. NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin ortalama μ_{max} değerleri, kültürlerin gelişme ortamlarının içerdiği artan tuz konsantrasyonu ile azalmaktadır. *E. coli* ATCC 25922'nin tuza adapte edilmiş olduğu tüm kültürlerde, adapte edilmiş kültürlerin ortalama μ_{max} değerleri hemen hemen her tuz düzeyinde adapte edilmemiş kültürlerin ortalama μ_{max} değerlerinden daha yüksek olmuştur. *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmiş kültürünün % 0-7 tuz içeren TSB besiyerinde ortalama μ_{max} değerleri, artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azalmış ve her tuz konsantrasyonundaki ortalama μ_{max} değerleri birbirinden istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) farklı bulunmuştur. *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmemiş kültürleri için de aynı durum söz konusudur.

Anahtar kelimeler: *Escherichia coli*, adaptasyon, tuz stresi, ozmotik stres.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ADAPTATION OF *Escherichia coli* TO HIGH SALT ENVIRONMENT

UĞUZ, Şehriban

Msc Thesis, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Fikret Nafi ÇOKSÖYLER

January 2015, 125 pages

Microorganisms give different responses to stresses according to importance of stress or stresses. Stress response system varies according to the type of microorganisms, stress intensity applied to microorganisms and whether they can be adapted to this stress. The aim of this study was to determine the stress response tolerance system of *E. coli* ATCC 25922 and *E. coli* O157:H7 strains against salt, which is one of the osmotic stress sources. Study was carried out in 3 parallels for each combination to determine whether strains have been adapted to salt before and how tolerance level changed with salt concentration. Growth of culture in TSB medium containing various salt levels (0-10%) was observed both by cultural counting and absorbance measuring at 600 nm. When the salt level increase the growth rate of microorganisms is reduced; while maximum specific growth rate (μ_{max}) and maximum population density (A) decreases the lag phase time (λ) increases. The average μ_{max} values of *E. coli* ATCC 25922 cultures, which were adapted and not adapted to NaCl, decrease with the increasing salt concentration of the growth medium of cultures. In all of the cultures in which *E. coli* ATCC 25922 was adapted to salt, at almost every salt level, average μ_{max} values of adapted cultures were higher than average μ_{max} values of non-adapted cultures. In its 0-7 % salt-included TSB medium, the average μ_{max} values of NaCl-adapted *E. coli* O157:H7 decreased depending on the increasing salt concentration. Differences between the average μ_{max} values in every salt concentration were found to be statistically significant ($p < 0.05$). The situation was the same for *E. coli* O157:H7 cultures that were not adapted to NaCl.

Key words: *Escherichia coli*, adaptation, salt stress, osmotic stress.

ÖN SÖZ

Mikroorganizmalar ozmotik stres, asit stresi, termal stres vb gibi çeşitli streslere maruz kalmaktadırlar. Bu streslere verilen yanıtlar mikroorganizmanın çeşidine, uygulanan stresin şiddetine ve mikroorganizmanın bu strese adapte edilip edilmediğine göre değişmektedir. Mikroorganizmalar, karşılaştıkları stresin/streslerin önemine göre farklı tepkiler vermektedirler. Çalışmada, ozmotik stres kaynağı olan NaCl'e karşı *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 suşlarının verecekleri stres yanıtının (adaptasyonun) ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmalarım süresince her türlü desteği ve imkanı benden esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve ileri ki hayatımda da her daim ihtiyaç duyacağım çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Fikret Nafi ÇOKSÖYLER'e,

Çalışmam süresince desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Kadir HALKMAN'a, Prof. Dr. Nahit AKTAŞ'a, Doç. Dr. Tekin ŞAHAN'a, Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖĞÜN'e, Yrd. Doç. Dr. Raciye MERAL'e, Arş. Gör. Tahir YÜCEL'e ve Aybek YİĞİT'e,

Her türlü sıkıntı ve sevincimde yanımda olan sevgili arkadaşlarım Sunal YÜKSEL'e, Songül ÖZÇALKAP'a ve

Bu satırları yazmama vesile olan, eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü sıkıntı ve sevincimde yanımda olan ve kızları olmaktan gurur duyduğum sevgili babam Şakir UĞUZ'a, annem Fatma UĞUZ'a, ve kardeşim Erdem UĞUZ ile diğer aile fertlerime teşekkürü bir borç bilirim.

Şehriban UĞUZ

Van, 2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
EKLER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Stres	3
2.2. Mikroorganizmaların Stres Karşısındaki Yanıtları	5
2.3. Stres, Adaptasyon ve Gıda Güvenliği	7
2.4. Gıdaların Muhafazasında Tuzun Etkisi	9
2.5. Halofilik Mikroorganizmalar	11
2.6. <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7	13
3. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	16
4. MATERYAL VE YÖNTEM	21
4.1. Materyal	21
4.2. Yöntem	21
4.2.1. Çalışmada kullanılan yöntemler	21
4.2.1.1. Standart suşların sağlanması ve aktivasyonu	21
4.2.1.2. Stok kültürlerin hazırlanması ve muhafazası	22
4.2.1.3. Kültürlerin tuzlu ortama adaptasyonu	22
4.2.1.4. Gram boyama işlemi	24
4.2.1.5. Gelişme denemeleri kültürlerinin hazırlanması	24
4.2.1.6. Tuzlu ortama adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerin değişen tuz konsantrasyonlarında gelişiminin izlenmesi	25
4.2.1.7. Kültürel sayım	25

	Sayfa
4.2.1.8. Spektrofotometrik sayım	26
4.2.1.9. Verilerin modellenmesi ve istatistiksel analizler	28
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
5.1. Maksimum Spesifik Gelişme Hızı (μ_{\max}) Üzerine Suş Farklılığının, Adaptasyonun ve Tuz Konsantrasyonlarının Etkisi	38
5.2. NaCl'e Adapte Edilmiş ve Adapte Edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması	41
5.3. NaCl'e Adapte Edilmiş ve Adapte Edilmemiş <i>E. coli</i> O157:H7 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması	43
5.4. NaCl'e Adapte Edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması	45
5.5. NaCl'e Adapte Edilmiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması	46
5.6. Suşların Maksimum Spesifik Gelişme Hızının Farklı Tuz Konsantrasyonlarına Göre İkili Olarak Karşılaştırılması	47
5.7. Suşların Kültürel Sayım Sonuçları ile Absorbans Değerleri Arasındaki İlişki	50
6. SONUÇ	53
KAYNAKLAR	56
EKLER	61
ÖZ GEÇMİŞ	125

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 2.1.	Belirli oranlarda şeker içeren bir çözeltinin su aktivitesi değerleri	10
Çizelge 2.2.	Belirli oranlarda NaCl (tuz) içeren bir çözeltinin su aktivitesi değerleri	11
Çizelge 4.1.	Mc Farland Standardının hazırlanma oranları	27
Çizelge 4.2.	Mc Farland Standartlarına karşılık gelen bakteri yoğunluğu	27
Çizelge 4.3.	Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25992 kültürünün kalibrasyon eğrisi için olan veriler	28
Çizelge 5.1.	Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922'nin % 0 tuz ortamındaki 1. paralelinin gelişim parametrelerine (A , μ , λ) ait varyans analiz tablosu	35
Çizelge 5.2.	Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922'nin % 0 tuz ortamındaki 1. paralelinin Modifiye Gompertz Modeli gelişim parametreleri (A , μ , λ), bunların standart sapmaları ve güven aralıkları	35
Çizelge 5.3.	Tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7'nin % 6 tuz ortamındaki 2. paralelinin gelişim parametrelerine (A , μ , λ) ait varyans analiz tablosu	37
Çizelge 5.4.	Tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7'nin % 6 tuz ortamındaki 2. paralelinin Modifiye Gompertz Modeli gelişim parametreleri (A , μ , λ), bunların standart sapmaları ve güven aralıkları	37
Çizelge 5.5.	Güven aralığı içine 0 (sıfır) girmeyen gelişim kurvesi parametreleri	39
Çizelge 5.6.	Maksimum spesifik gelişme hızı (μ_{max}) değerlerinin faktörlere göre değişimine ait varyans analizi	41
Çizelge 5.7.	<i>E. coli</i> ATCC 25922 suşunun % 5 NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değerlerinin karşılaştırılması	43
Çizelge 5.8.	<i>E. coli</i> O157:H7 türünün % 5 NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-7 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değerlerinin karşılaştırılması	44
Çizelge 5.9.	NaCl'e adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 kültürlerinin % 0-6 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değerlerinin karşılaştırılması	46

	Sayfa
Çizelge 5.10. NaCl'e adapte edilmiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.	Farklı streslere maruz kalan mikrobiyal hücrelerin fizyolojik durumları ile öngörülen durumu arasındaki ilişki	3
Şekil 2.2.	Mikroorganizmaların tuz konsantrasyonlarına göre gelişimi	12
Şekil 2.3.	Combase programında <i>E. coli</i> 'nin farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişim kurveleri	13
Şekil 4.1.	Çalışma planı	23
Şekil 4.2.	Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25992 kültürünün analizi öncesinde çizilen kalibrasyon eğrisi	28
Şekil 4.3.	Bir mikroorganizmanın gelişme eğrisi	29
Şekil 4.4.	<i>E. coli</i> 'nin gelişim eğrisi	30
Şekil 5.1.	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 suşlarının SMAC agarda çizim yöntemi ile gelişen kolonilerinin görüntüsü	32
Şekil 5.2.	Kültürel sayım yapılan petrilerdeki kolonilerin görüntüsü	33
Şekil 5.3.	Analiz sırasında absorbansı ölçülen örneklerin tümüne ait kültürel sayım petrilerinin görüntüsü	33
Şekil 5.4.	Analizi yapılacak örneklerin absorbans ölçümü öncesindeki görüntüsü	34
Şekil 5.5.	Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922'nin % 0 tuz ortamındaki 1. paralelinin gelişim kurvesi	36
Şekil 5.6.	Tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7'nin % 6 tuz ortamındaki 2. paralelinin gelişim kurvesi	38
Şekil 5.7.	<i>E. coli</i> ATCC 25922 suşunun adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması	48
Şekil 5.8.	<i>E. coli</i> O157:H7 suşunun adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması	48
Şekil 5.9.	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7'nin tuza adapte edilmiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarında spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması	49
Şekil 5.10.	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7'nin tuza adapte edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarında spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması	50

	Sayfa
Şekil 5.11. Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922'nin kültürel sayım absorbans ilişkisi	51
Şekil 5.12. Tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> ATCC 25922'nin kültürel sayım absorbans ilişkisi	51
Şekil 5.13. Tuza adapte edilmemiş <i>E. coli</i> O157:H7'nin kültürel sayım absorbans ilişkisi	52
Şekil 5.14. Tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7'nin kültürel sayım absorbans ilişkisi	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

A	Asimtot değer (maksimum populasyon yoğunluğu)
A_w	Su aktivitesi
°C	Santigrat derece
g	Gram
l	Litre
μ l	Mikrolitre
ml	Mililitre
μ_{max}	Maksimum spesifik gelişme hızı
nm	Nanometre
λ	Lag fazı süresi
%	Yüzde

Kısaltmalar

ATCC	American Type Culture Collection
CT	Sefiksim-Tellürit
Eh	Oksidasyon-redüksiyon potansiyeli
EHEC	Enterohemorajik <i>E. coli</i>
HC	Hemorajik kolitis
HUS	Hemolitik üremik sendrom
KCl	Potasyum klorür
NaCl	Sodyum Klorür
OD	Optik Dansite
SMAC	Sorbitol Mac Conkey Agar
TSA	Trytic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
TTP	Trombotik trombositopenik purpura
VRB	Violet Red Bile Agar

EKLER DİZİNİ

		Sayfa
Ek 1.	İki suşun 11'er tuz konsantrasyonundaki gelişim kurveleri ve gelişim paternlerine ait 132 adet grafik	61
Ek 2.	Tüm gelişim kurveleri parametreleri (güven aralığı içine 0 (sıfır) giren gelişim kurvesi parametreleri dahil)	109
Ek 3.	Deney sırasındaki ölçüm sonuçları	113
Ek 4.	<i>E. coli</i> ATTC 25922 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan ^a tablosu	121
Ek 5.	<i>E. coli</i> O157:H7 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-7 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan ^a tablosu	122
Ek 6.	NaCl'e adapte edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 kültürlerinin % 0-6 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan ^a tablosu	123
Ek 7.	NaCl'e adapte edilmiş <i>E. coli</i> ATCC 25922 ve <i>E. coli</i> O157:H7 kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan ^a tablosu	124

1.GİRİŞ

Mikroorganizmalar, canlıların temel ortak özellikleri olan gelişme, çoğalma, hareket etme, değişim ve iletişim gibi özellikleri aynen göstermektedirler (Madigan ve ark., 2010). Bu özelliklerden çoğalma özelliği, değişim ve iletişim özellikleriyle çok yakından ilişkilidir. Mikroorganizmalar, ortamdaki farklı özellikleri algılayarak (mikroorganizma-ortam iletişimi) ve/veya değişik ortam şartları ile karşılaşmış mikroorganizmalar ile iletişim kurarak (mikroorganizma-mikroorganizma iletişimi) kendilerini ortam şartlarına adapte ederler. Günümüzde mikroorganizmaların genetik ve genetik olmayan değişim güçleri ve bu güçlerin nasıl yerine getirildikleri daha net kavranmaya başlanmıştır.

Mikroorganizmalar doğada farklı çevresel stres koşullarına maruz kalmaktadırlar. Giderek farklılaşan çevre koşullarına uyum sağlayabilmek için mikroorganizmaların gösterdikleri kapasiteye adaptasyon denilmektedir. Adaptasyon bir defa da olmamakla birlikte küçük küçük değişikliklerin meydana gelmesiyle zaman içinde oluşmaktadır. Mikroorganizmalar strese maruz kaldıklarında, yaşamlarını yitirebildikleri gibi adaptasyon mekanizmalarını aktif hale getirerek canlı kalabilir ve ayrıca başarılı bir şekilde çoğalabilirler. Bunu ise strese maruz kaldıklarında çeşitli şekillerde yanıt oluşturarak yaparlar (Dikici, 2009).

Mikroorganizmaların stres yanıt sistemi, farklı stresler tarafından aktive olarak birçok strese karşı koruma sağlar. Mikroorganizmalar, hücreleri koruyan, hücrenin yıkımını önleyen ya da stres ajanlarını elimine eden proteinlerin üretimi, stres faktörlerine karşı tolerans ya da direnç artışının sağlanması, spor gibi dormant durumdaki hücre formasyonlarının oluşması, konak organizmanın savunmasından kaçma ya da adaptif mutasyonların gerçekleştirilmesi gibi strese karşı adaptif ya da koruyucu yanıt oluşturmaktadırlar. Bu yanıt, mikroorganizmaların aynı ya da farklı tipteki streslere karşı tolerans yanıtını arttırmaktadır. Bu ise, adaptif yanıt ya da tolerans olarak tanımlanmaktadır (Öztürk, 2010).

Mikroorganizmalar doğada bulunan ışık, O₂, sıcak, soğuk, kimyasal maddeler vb. streslerin dışında gıdalarda bulunan asitlik, pH, su aktivitesi (a_w), NaCl, ısı, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli (Eh), bakteriosinler ve rekabetçi flora gibi streslere

de maruz kalabilirler. Gıdalardaki streslere karşı adapte olabilen gıda patojenleri, ürünler içerisinde canlılığını yitirmeden kalabilmektedirler. Hatta strese karşı adapte olan bu bakteriler mide gibi letal ortamlara karşı da dirençli hale gelebilirler. Yapılan çalışmalarda stres adaptasyon mekanizmaları aktif hale gelen bir patojenin, infeksiyöz dozunun azalmasıyla patojenitesinin arttığı bildirilmiştir. Gıda ortamlarında bakterilerin adaptasyon mekanizmalarının aktif hale gelebileceği ve daha letal ortamlarda bakterilerin yaşayıp enfeksiyon oluşturabilecekleri düşünülürse bakteriyel adaptasyonların halk sağlığı için önemli tehlikeler oluşturabileceği açıkça görülmektedir (Dikici, 2009).

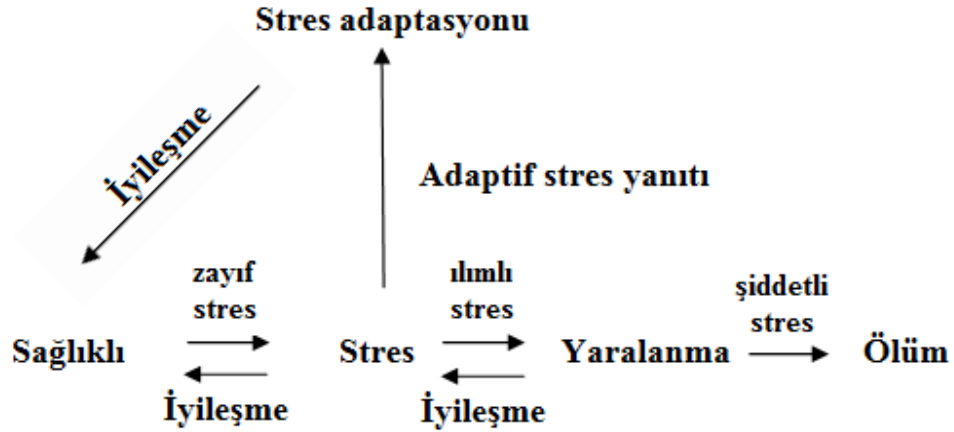
Gıda patojenleri, gıdaların hazırlanması ve işlenmesi sırasında farklı stres koşullarına maruz kalmaktadırlar. Mikroorganizmaların gelişimi ve yaşaması üzerine stres koşullarının zararlı etkileri tespit edilmiştir. Mikroorganizmaların stres yanıt sistemi farklı stresler tarafından aktive olarak birçok strese karşı koruma sağlamaktadır. Gıda üretimi sırasında mikrobiyal popülasyonun kontrol edilmesi amacıyla yaygın olarak pH, NaCl ve sıcaklık uygulaması yapılmaktadır (Lou ve Yousef, 1997).

Mikroorganizmaların birçoğu uygulanan koruma yöntemine (strese) karşı direnç kazanabilmektedir. Bu durumda gıdalarda, *Escherichia coli* (*E. coli*) ve gıda kaynaklı patojenlerin direnç kazanabileceği bir ortam olabileceği kolaylıkla düşünülebilir. Bu nedenle non-halofik olarak bildiğimiz *E. coli*'nin tuz ile muhafaza edilen gıdalarımızdaki sayısının artması veya canlılığını çok uzun süre devam ettirerek bir gıda güvenliği riski oluşturması mümkündür. Ancak *E. coli*'nin tuzlu ortamlara ne kadar dayanabileceği ve ne kadar canlı kalabileceği veya sayısının hangi boyutlara kadar yükselebileceği hakkında yeterince bilgi bulunmamaktadır.

Çalışmamızın temel amacı gıda sanayinde gıdaları muhafaza etmek amacıyla kullandığımız tuz konsantrasyonlarında *E. coli* suşunun (patojen ve patojen olmayan) ne boyutta bir risk oluşturabileceğine ait deneysel bilgileri artırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Araştırmacılar, uzun yıllar önce mikroorganizmaların sonradan meydana gelen ve letal (öldürücü) farz edilen stresli ortamlara karşı nasıl hayatta kaldıklarını fark etmişlerdir. Fay (1934), osmotik strese maruz kalan bakterilerin sıcaklığa karşı toleranslarının arttığını bildirmiştir. Hafif düzeyde strese maruz kalan mikroorganizmaların sonradan karşılaştıkları zararlı etkilere karşı gösterdikleri dirençteki artış, genellikle “*stres adaptasyonu*” olarak adlandırılmaktadır. Gıda kaynaklı mikroorganizmalardaki stres adaptasyonu geçmişte gözden kaçmış olsa da şu an bu olgunun farkına varılmıştır (Yousef ve Courtney, 2003).



Şekil 2.1. Farklı streslere maruz kalan mikrobiyal hücrelerin fizyolojik durumları ile öngörülen durumu arasındaki ilişki (Yousef ve Courtney, 2003).

2.1. Stres

Stres, kullanım içeriğine bağlı olarak farklı anlamları içermektedir. Fizik biliminde birim alana uygulanan kuvvet, biyoloji biliminde ise zararlı besinsel durumların kullanımı, zehirli kimyasallar ve uygun olmayan fiziksel şartlar stres olarak adlandırılmaktadır. Stres kısaca, mikroorganizmaların büyüme ve canlı kalmalarını olumsuz olarak etkileyen herhangi bir zararlı faktör veya duruma verilen addır. Bu

pratik tanıma göre birçok gıda işleme uygulaması stres kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Yousef ve Courtney, 2003).

Mikroorganizmalar, karşılaştıkları stresin/streslerin önemine göre farklı tepkiler vermektedirler. Subletal stres seviyelerini açıklamak için kullanılan zayıf stres "*mild*" terimi, mikroorganizmanın yaşama yeteneğini kaybettirmez fakat büyüme hızını azaltır veya durdurur. Orta düzeyde (*ılımlı-moderate*) stres, sadece mikrobiyal gelişimi durdurmak ile kalmayıp bazı hücrelerin ise yaşama yeteneğinin kaybolmasına neden olmaktadır. Aşırı stres ise (*extreme-severe*), hücreler için genellikle letal etki göstererek popülasyonun büyük bir çoğunluğunda ölümüne sebebiyet vermektedir (Aksöz, 1985; Dikici, 2009).

Gıdalarda bulunan bakteriler, ham maddenin elde edilmesi sırasında kontrol edilemeyen stres faktörleri (kuruma, radyasyon vb) ve hammaddenin işlenmesi esnasında bilinçli olarak uygulanan koruyucu faktörler ile karşılaşabilmektedirler. Gıdanın üretimi ve işlenmesi esnasında mikroorganizmaların maruz kalabilecekleri stresler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Dikici, 2009).

1. Isı, basınç, vurgulu elektrik alan, ultrasonik dalgalar, ışık/radyasyon ve osmotik şok gibi fiziksel uygulamalar,
2. Asitler, tuzlar ve oksidanlar gibi kimyasal uygulamalar,
3. Rekabetçi flora, mikrobiyal metabolitler ve antagonizm gibi biyolojik stresler.

Gıdalardaki mikroorganizmalar, yavaş yavaş artan veya aniden meydana gelen streslere maruz kalabilirler. Bu ani durumlar "*şok*" diye adlandırılmaktadır. Örneğin bir bakteri, gıda ortamından mide ortamına geçtiğinde ani bir pH değişikliği veya asit şokuna maruz kalırken gıda fermantasyonu gibi ortamlarda ise fermantasyon işlemi süresince yavaş yavaş pH düşüşüne (asitlik artışına) maruz kalır (Yousef ve Courtney, 2003).

Bakteriler gıdaların içerisinde yüksek şeker ve tuz (NaCl) gibi veya kurutulmuş ürünlerde olduğu gibi çeşitli ozmotik streslere maruz bırakılırlar. Bu durumlarda özellikle turgor basıncı (şişme) ve dehidrasyon (su kaybetme) bakteriler için çok önemlidir. Bu mekanizma bakterilerde ara sıra oluşan hiper ozmotik durumlarda veya orta şiddetli ozmotik şartlarda ortaya çıkmaktadır. Hiper ozmotik şartlar altındaki bakterilerde en iyi karakterize edilen metabolizma, hücre içi ozmolit olarak adlandırılan

maddelerin birikimidir. Bir organizma, düşük su aktivitesine sahip bir ortamda bulunuyorsa çevresinden su sağlayabilmesi için tek yol hücre-içi çözünen madde konsantrasyonunu arttırmaktır. Hücre-içi çözünen madde konsantrasyonu ya inorganik iyonların (K^+ gibi) çevreden hücre içine pompalanması ya da organik çözünen sentezi veya bu maddelerin konsantre edilmesiyle artırılabilir. Bu mekanizmalardan birini ya da diğerini kullanan pek çok organizma vardır (Gülbezer ve Ökmen, 2012; Madigan ve ark., 2010).

Sitoplazmik su aktivitesini ayarlamak için hücrenin kullandığı çözünenin hücre içindeki biyokimyasal süreçleri engellememesi gerekir. Bu tür bileşikler uyumlu çözünenler olarak adlandırılırlar. Mikroorganizmalarda çeşitli uyumlu çözünenler mevcuttur. Bu maddelerin hepsi suda çok iyi çözünen şekerler, şeker alkoller, diğer alkoller ya da amino asitler ve bunların türevleridir. Ekstrem halofilik *Archaea* ve çok az sayıdaki ekstrem halofilik *Bacteria*'daki uyumlu çözünen madde K^+ (KCl)'dur (Madigan ve ark., 2010).

Uyumlu maddelerin birikimi doğrudan doğruya mikroorganizma tarafından sentez yoluyla sağlanabileceği gibi, bazı durumlarda hücre dışından hücre içine transfer şeklinde de gerçekleşebilmektedir. Bu maddeler, çoğunlukla nötr fakat polar yapıda, çözünürlüğü yüksek olan ve yüksek konsantrasyonlarda bile normal hücre fonksiyonlarını etkilemeden ozmotik basıncın etkisini gideren bileşiklerdir. Glisin, betain, prolin, ektoin, karnitin, kolin ve trehaloz yaygın uyumlu çözünen maddelerdir. Bu bileşiklerin birikimi, gen transkripsiyonu düzeyinde veya doğrudan enzim aktivitesinin değiştirilmesi ile ayarlanmaktadır. (Gülbezer ve Ökmen, 2012; Yousef ve Courtney, 2003)

2.2. Mikroorganizmaların Stres Karşısındaki Yanıtları

Mikroorganizmalar stres ortamı ile ilk karşılaştıklarında, hücreler bu strese çeşitli şekillerde cevap verirler. Herhangi bir strese maruz bırakılmamış bir bakteri ilk maruz bırakıldığı strese karşı duyarlıdır. Duyarlı olduğu stres karşısında bakterilerde membran geçirgenliğinde değişimler (soğuk şok gibi), hücre protein yapısında değişimler, ribozomal hasarlar (ısı etkisi gibi) ve nükleik asitlerin olumsuz etkilenmesi (γ radyasyon gibi) gibi hücresel aktiviteleri olumsuz etkileyen çeşitli değişiklikler ortaya

çıkabilmektedir. Moleküler düzeyde incelendiğinde ise, bu olumsuz durumlarda hücrelerde şok düzenleyici proteinlerin sentezi meydana gelebilmektedir. Böylece bakteri sentezlenen proteinler ile maruz kaldığı stres ile baş edebilecek düzeye ulaşabilmektedir. Mikroorganizmaların strese karşı verdikleri mikrobiyal yanıtlar ise aşağıdaki gibi sonuçlanabilmektedir:

- 1) Stres nedeniyle oluşan hasarları onarabilen, hücrelerin korunmasını sağlayabilen veya stres ajanlarını yok edebilen proteinlerin üretimi,
- 2) Zararlı faktörlere karşı direncin ya da toleransın kısa süreli artması,
- 3) Hücrenin transformasyona uğrayarak spor oluşturması veya kültürü yapılamayan (Viable-But-Not-Culturable/VBNC) duruma geçmesi,
- 4) Konakçı olduğu organizmanın savunma sisteminden kaçması,
- 5) Adaptif mutasyon geçirmesi (Dikici, 2009; Yousef ve Courtney, 2003).

Adaptasyon, mikroorganizmaların strese maruz kaldıklarında verdikleri önemli bir yanıt biçimidir. Bu durumda, maruz kalınan strese verilen yanıt mikroorganizmanın aynı veya farklı türdeki stres çeşitlerine karşı olan toleransını arttırmaktadır. Bu uyum genellikle adaptif yanıt, uyarılmış tolerans ve ortama alışma gibi terimler ile de tanımlanmaktadır (Yousef ve Courtney, 2003). Mikroorganizmalar adaptif veya koruyucu yanıtlar ile kendileri için zararlı olan maddelere (tuz, antimikrobiyal maddeler gibi) ve ortamlara (asit, düşük su aktivitesi) karşı kendilerini korumaya çalışmaktadırlar (Roberts, 2005).

Mikroorganizmaların oksijen, sıcaklık, tuz, pH, basınç gibi ekstrem koşullarda yaşamaları ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için bu ortamlara yapısal ve fizyolojik olarak uyum göstermeleri gerekmektedir (Vossenberk ve ark., 2000). Her mikroorganizmanın bu tarz stres durumlarına karşı yapısında var olan bir tolerans seviyesi vardır. Ancak bu tolerans, herhangi bir stres durumu nedeni ile indüklenmiş geçici bir tolerans olabileceği gibi adaptif bir toleransta olabilmektedir. Örneğin, laktik asit bakterilerinin asit toleransı, doğası gereği diğer bakterilerden daha fazladır. Ayrıca adapte edilen bakterilerin asit toleransı daha da artmaktadır. Bu kavramların anlatımında kullanılan rezistans/direnç ve tolerans kelimeleri aynı anlamlarda kullanılmaktadır (Yousef ve Courtney, 2003).

Uygulanan strese karşılık oluşan yanıt, benzer veya farklı streslere karşılık çeşitli seviyelerde adaptasyona (çapraz direnç) neden olabilmektedir. Çapraz direnç, bakterilerin karşılaştığı strese adapte olurken aynı zamanda diğer streslere de adapte olup direnç kazanmalarındır (Tosun ve Gönül, 2003). Mikroorganizmaların bu streslere verdikleri cevaplar farklı olabilmektedir. Aynı anda uygulanan stresler mikroorganizmalar üzerine daha etkili olabilirken (arttırıcı etki) streslerden biri diğerinin etkisini arttırabilir (sinerjistik etki) veya birbirinin etkilerini nötürleyebilirler (antagonistik etki) (Lee ve Kang, 2008).

Mikroorganizmalar bir veya birden fazla zararlı faktöre karşı duyarlılık gösterebilmekte ve bu durumda hücrel yapılar zarar görebilmektedir. Bu değişikliklere yaygın olarak yaralanma adı verilmektedir. Yaralanma daha çok strese maruz bırakılmış hücrelerde özel bir ajana karşı duyarlılık şeklinde oluşabilmektedir. Yani strese uğramış hücrelerin maruz bırakıldığı ajan, sağlıklı hücelere uygulandığında kolaylıkla canlılığını sürdürürken, strese uğramış hücrelerde bu ajan yaralanmalara sebep olabilmektedir. Hücrelerdeki yaralanma ve strese adaptasyon kavramları tam olarak karakterize edilememiştir. Fakat yaralanma, bakterinin maruz bırakıldığı strese karşılık oluşan stres yanıtındaki yetersizlik, yanıtındaki bir gecikme veya adaptasyon yanıtındaki yetersizlikten kaynaklanabilir. Yaralanmış olan hücrelerin sonu ya ölüm ya da iyileşme ile sonuçlanmaktadır (Dikici, 2009).

2.3. Stres, Adaptasyon ve Gıda Güvenliği

Bakteriler, üretimden sindirime kadar olan gıda zincirinin tüm hattı boyunca strese maruz kalırlar. Gıda üretiminde çevre, ultraviyole radyasyon içeren gün ışığı bakterilerde stres, yaralanma ve ölüm etkisi yapabilmektedir. Güneş ışığı tarafından üretilen ısı, mikrobiyal strese neden olabilmektedir. Deniz suyunun tuzluluğu, çorak iklimlerin kuruluğu bakterilerin çevrede karşılaşılabileceği diğer stres örnekleridir. Ayrıca bakteriler kendi metabolitlerini taşıyan ortamda da yaşarlar. Bu metabolitlerin bazıları bakteriler üzerinde özgün stresler oluşturmaktadır. Büyüme veya canlı kalma için gerekli besinlerin eksikliği (yani açlık/besin kıtlığı), açlığın şiddeti ve süresine bağlı olarak bakterilerde strese neden olmaktadır. Özetle, ortamdaki bakteriler fiziksel,

kimyasal ve şiddeti değişen besinsel streslere sıklıkla maruz kalmaktadırlar. Gıdalardaki bakteriler, ısı dahil olmak üzere asit, dondurma, ozmotik şoklar, kuruma, oksidasyon ve açlık gibi streslere de maruz kalırlar (Yousef ve Courtney, 2003).

Stres faktörleri stresin türüne, büyüklüğüne ve uygulanma yöntemine göre değişen hücrel yanıtla neden olurlar. Birçok sonuca rağmen mikroorganizmaların strese karşı olan adaptif yanıtları, gıda güvenliği açısından en büyük önemi taşımaktadır. Strese adapte olan bakteriler, benzer (homolog) ya da farklı (heterolog) streslere direnç göstermeye yeteneklidirler ve genellikle birçok durumda, zararlı veya ölümcül koşullarda yaşayabilirler. Örneğin, bakteriler ısı şokuna maruz bırakıldıklarında hücreler öldürücü ısı işlemlerine karşı dirençlilik gösterebilirler. *Listeria monocytogenes*'e 45°C'de 60 dakikalık hafif bir ısı stresi uygulandığında, *L. monocytogenes* etanol, hidrojen peroksit ve sodyum klorürün letal dozuna karşı önemli ölçüde dirençli olmaktadır (Lou ve Yousef, 1997). Strese adapte olmuş bakteriyel patojenler, hastalıklara neden olma yeteneklerini artırarak enfeksiyonlara yol açabilirler. Strese adapte olmuş hücrelerin artan virülanslarıyla ilgili bilgiler hala sınırlıdır fakat bu ilişki gıda uygulamalarında doğrulanırsa bu sonuçlardan çok kapsamlı çıkarımlara ulaşılabilecektir (Yousef ve Courtney, 2003).

Gıda işlemleri (pastörizasyon, sterilizasyon gibi) süresince bakteriyel hücreler büyük bir olasılıkla zarar görmekten ya da strese maruz kalmaktan çok bu işlem sırasında ölmektedirler. Bununla birlikte hafif stres oluşturan üretim koşulları da vardır. Bu sayede bakterideki adaptif yanıt sistemi tetiklenmektedir.

Asit adaptasyonu, yoğurt, portakal suyu ve salata sosu gibi asitli gıdalarda *L. monocytogenes*'in varlığını sürdürebilmesini arttırmıştır. Benzer bir hipotezde bazı işleme şartlarının, pek çok gıdanın güvenliğini etkileyen stres adaptasyonuna neden olduğudur. Örneğin, sucuk fermentasyonu süresince gelişen asitlik ve bu ürünün formülasyonundaki tuzun varlığını patojenik bakterilerde adaptif asit ve ozmotik şok yanıtını tetikleyebilir. Sucuk fermentasyonu sırasında asit ve ozmotik strese adapte olan patojenler, ısıtma ve tütsüleme adımlarına direnç kazanabilir veya ürünün depolanması sırasında yaşamaya devam edebilirler. Benzer şekilde, pastörizasyon derecesinin altında ısıtılan sütteki (örneğin, çeşitli peynir türlerinin yapımı için) bakteriler, sadece hafif bir ısı şoku (ısı stresi) yaşayabilirler. Bu bakteriler daha sonra meydana gelen pek çok şiddetli işleme (işlenmiş peynirde ürünün pişirilmesi gibi) karşı dirençli olabilirler.

Hafif işlemler kullanılarak üretilen minimal işlenmiş gıdalar, patojenleri de kapsayan mikrobiyal kontaminasyonlarda stres adaptasyon yanıtına neden olabilirler. Alternatif işleme teknolojilerinin (aynı zamanda ısıl işlem olmayan, yeni çıkmış ya da yeni geliştirilen teknolojiler olarak adlandırılan) kullanımının artması, gıda kaynaklı patojenlerin potansiyel stres adaptasyonu hakkında merak uyandırmaktadır (Yousef ve Courtney, 2003). Bununla birlikte strese adapte olmuş gıda kaynaklı bakterilerin bazı olumlu yönleri de vardır. Probiyotik bakteriler (örneğin, *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus acidophilus*) yoğurt gibi bazı fermente ürünlerde arzu edilen katkılardır. Oysaki bu bakterilerin yaşama kabiliyeti, bu tarz asidik bir gıdanın depolanması sırasında hızla azalabilmektedir. Bu nedenle, fermantasyon starter kültürleri, gıda işlemlerinde kullanılmadan önce dondurma ya da dondurarak kurutma yöntemi ile strese karşı dayanıklı hale getirilmelidir (Shah, 2000).

Sonuç olarak, mikroorganizmalar gıda ve çevre ortamında çeşitli subletal stresler ile karşılaşmaktadırlar. Bu stresler, letal koruyucu faktörlerinden sonra direnç kazanan gıda kaynaklı patojenlerin adaptif stres yanıtlarını arttırabilmektedir. Dolayısıyla patojenlerin bu streslere adaptasyonu, tüketiciler için potansiyel sağlık tehlikeleri oluşturmaktadır (Yousef ve Courtney, 2003).

2.4. Gıdaların Muhafazasında Tuzun Etkisi

Gıdaların muhafazası temel bir ihtiyaçtır. Muhafazadaki en önemli kriter, raf ömrü süresi içinde patojen mikroorganizma gelişimi olmaması ve gıdanın mikrobiyal bozulmaya maruz kalmamasıdır. Gıdaları muhafaza etmek için kullanılan koruyucu katkı maddeleri, tek başına kullanılabileceği gibi diğer koruyucu metotlarla birarada da kullanılabilmektedir. Bu koruyucular, bakteri ve fungusların gelişimini durduran anti-mikrobiyal koruyucular olabileceği gibi gıda bileşenlerindeki oksidasyonu durduran antioksidanlarda olabilirler. Yaygın olarak kullanılan anti-mikrobiyaller; kalsiyum propiyonat, sodyum nitrat, sodyum nitrit, sülfür dioksit, sodyum bisülfid, potasyum hidrojen sülfid ve disodyum EDTA gibi maddeleri içermektedir. NaCl (tuz), şeker ve sirke gibi doğal maddeler ise geleneksel koruyucular olarak kullanılmaktadırlar (Gould, 1996).

Tuzun koruyucu olarak kullanılması çok eski zamanlara kadar gitmektedir. Birçok gıda ya tuzlanarak ya da tuzlu salamura içerisinde muhafaza edilerek korunmuştur. Geleneksel teknolojilerimizde tuzlama fermantasyonla birlikte daha etkili olarak kullanılmaktadır. Peynir salamurasında tuz oranı % 14-20 arasında iken turşu salamurasında bu oran % 4-6'dır. Olgunlaştırılmış beyaz peynirdeki tuz oranı % 3, kaşar peynirinde % 3.5, tulum peynirinde % 4, pastırmadaki tuz oranı kuru maddede kütlece en fazla % 7, kavurmada en çok % 5, jambonda en çok % 3, kavurmada en çok % 5, ayranda en fazla % 1, zeytinde ışıl işlemsizde en az % 7, hermetikli kapta ise en az % 4'tür (Anonim, 2014 (a)).

Tuz temel tatlardan biridir ve en çok tercih edilen gıda lezzetlendiricisidir. Aynı zamanda önemli bir gıda koruyucusudur. Tuz, birçok gıda maddesinde bakteri gelişimini önemli ölçüde sınırladığı için anti-bakteriyel olarak nitelendirilmektedir (Shee ve ark., 2010).

Tuzun koruyucu etkisi ise esas olarak tuzun su aktivitesini düşürmesi ile ilgilidir. İkincil olarak da, tuzun iyonik etkisinin anti-mikrobiyal bir özellik göstermesidir (Gould, 1996). Başka bir deyişle, gıdadaki su aktivitesini aynı orana düşürecek şekilde ürünün tuz ve şeker konsantrasyonları ayarlansa dahi anti-mikrobiyal etki nedeniyle tuz ortamındaki mikroorganizma gelişimi daha yavaş olmaktadır. Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2'de belirli oranlarda şeker ve tuz içeren çözeltilerin su aktivitesi değerleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Belirli oranlarda şeker içeren bir çözeltinin su aktivitesi değerleri (Anonim, 2014 (b))

Şeker (g)	Su (g)	% Şeker	A _w
0	100	0.0	1.000
20	100	16.7	0.998
40	100	28.6	0.969
60	100	37.5	0.955
80	100	44.4	0.941
100	100	50.0	0.927
120	100	54.5	0.913
140	100	58.3	0.900
160	100	61.5	0.888
180	100	64.3	0.876
200	100	66.7	0.860

Çizelge 2.2. Belirli oranlarda NaCl (tuz) içeren bir çözeltinin su aktivitesi değerleri (Anonim, 2014 (b))

NaCl (g)	Su(g)	% NaCl	A _w
0.9	99.1	0.9	0.995
1.7	98.3	1.7	0.990
3.5	96.5	3.5	0.980
7.0	93.0	7.0	0.960
10.0	90.0	10.0	0.940
13.0	87.0	13.0	0.920
16.0	84.0	16.0	0.900
22.0	78.0	22.0	0.860

2.5. Halofilik Mikroorganizmalar

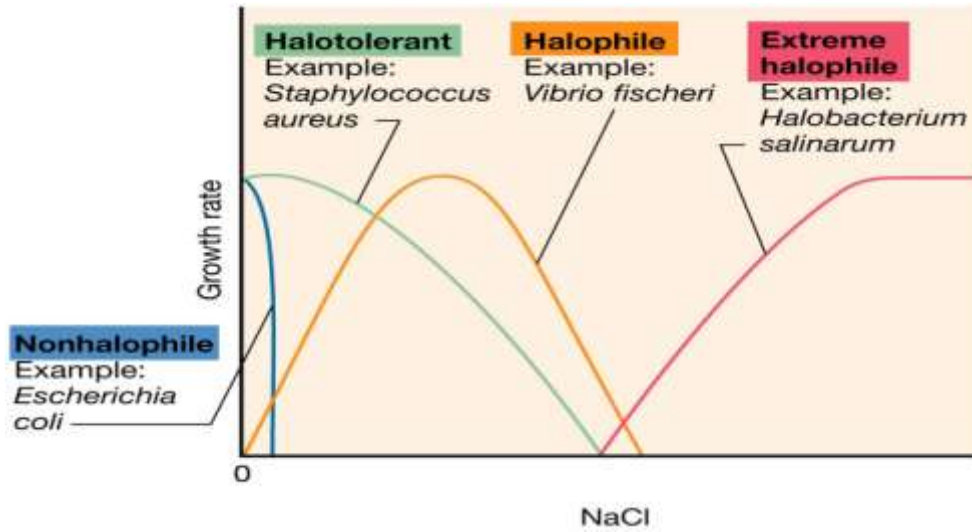
Tuza dayanıklı mikroorganizmalar halofilik mikroorganizmalar, yüksek şeker konsantrasyonuna dayanıklı mikroorganizmalar ise ozmofilik mikroorganizmalar olarak adlandırılmaktadır (Ray ve Bhunia, 2008). Tuz, tüm yaşam şekilleri için gerekli olmakla birlikte halofilikler mikroorganizmalar, büyümeleri için yüksek tuzluluk koşullarına olan gereksinimleri ile ayırt edilirler. Halofiliklik yönünden mikroorganizmalar 4 gruba ayrılmaktadır (Aksöz, 1985).

1. Halofilik olmayan mikroorganizmalar (Non-halophiles)
2. Az halofilik mikroorganizmalar (Slightly halophiles)
3. Orta düzeyde (ılımlı) halofilik mikroorganizmalar (Moderate halophiles)
4. Aşırı (ekstrem) halofilik mikroorganizmalar (Extreme halophiles)

Halofilik olmayan mikroorganizmalar 0.2 M'dan (% 1'den) daha az tuz (NaCl) içeren ortamlarda iyi üreyebilen mikroorganizmalardır. Ortamda tuz konsantrasyonunun artması ile bu mikroorganizmaların gelişimi yavaşlamaya başlar ve maksimum tuz konsantrasyonu 0.3-1.0 M'a (% 1.5-6.0) ulaşıldığında ise mikroorganizmaların gelişimleri tamamen durur. Az halofilik mikroorganizmaların optimum gelişebilmeleri için ortamda 0.2-0.85 M (% 1-5) tuz bulunmalıdır. Bu mikroorganizmalar için ortama % 1 civarında bir tuz ilavesi gelişim hızını az miktarda arttırmaktadır. Bazı *Vibrio* türleri bu gruba örnek olarak verilebilmektedir. Bunların optimum gelişmeleri için % 2-3 oranında tuza ihtiyaçları vardır. İlımlı halofilik mikroorganizmalar 0.85-3.4 M

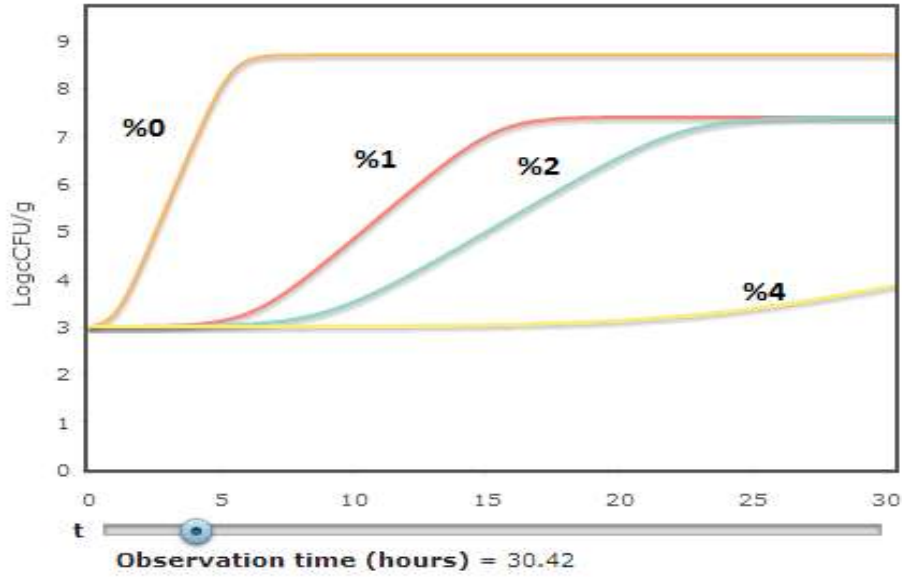
(% 5-20) tuz konsantrasyonunda optimum olarak ürerken aşırı (ekstrem) halofiller ise 3.4-5.1 M (% 20-30) tuz konsantrasyonunda da üreyebilmektedirler. Ekstrem halofilikler genellikle Arkebakterlerin üyeleri olup gıda ile ilgili ortamlarda bunlara rastlanmamaktadır. Ayrıca ekstrem halofilik mikroorganizmaların hücre duvarı ve hücre membranlarının stabilizasyonu için ortamda mutlaka belirli miktarda tuza ihtiyaç vardır. Halotolerant mikroorganizmalar ise gelişimleri için tuza gereksinim duymayan fakat tuzu tolere edebilen mikroorganizmalardır (Aksöz, 1985; Shivanand ve Mugeraya 2011).

Mikroorganizmaların tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak gelişimleri Şekil 2.2' de verilmiştir. *E. coli*, non-halofilik bir mikroorganizma olarak kabul edilmektedir (Madigan ve ark., 2010; How ve ark., 2013). Bir prediktif mikrobiyoloji sitesi olan Combase'de (<http://www.combase.cc>) % 0'dan itibaren artan tuz değerlerine bağlı gelişim kurveleri üretildiğinde gelişim hızının Şekil 2.3'deki gibi tuz konsantrasyonuna paralel olarak azaldığı görülecektir.



Şekil 2.2. Mikroorganizmaların tuz konsantrasyonlarına göre gelişimi (Madigan ve ark., 2010).

Şekil 2.3.'deki gelişim kurveleri incelendiğinde tuz konsantrasyonu arttıkça *E. coli*'nin maksimum spesifik gelişme hızının (μ_{max}) ve maksimum populasyon yoğunluğunun (A) azaldığı, lag fazı süresinin (λ) ise arttığı gözlemlenmektedir.



Şekil 2.3. Combase programında *E. coli*'nin farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişim kurveleri (T:37°C, pH:7, initial level:3 log CFU/g, tuz oranı sırasıyla %0, %1, %2 ve %4).

2.6. *E. coli* ve *E.coli* O157:H7

Escherichia coli, pediatrist ve bakteriyolog olan Theodor Escherich tarafından bebek dışkılarında keşfedilmiştir. *E. coli* insan sindirim sisteminde bulunan fakültatif anaerob bir bakteridir ve *Enterobacteriaceae* familyasında yer almaktadır. Biyolojik sınıflandırmada da bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer almaktadır. *E. coli*, genel olarak bakteri biyolojisinin anlaşılması amacıyla üzerinde sıkça çalışılmış bir model organizma olmuştur. Canlılar arasında hakkında en fazla bilgiye sahip olunan bir organizma olduğu söylenebilir (Tutak, 2010).

E. coli gram negatif, 1.1-1.5 x 2.0-6.0 µm boyutlarında, çubuk şeklinde, sporsuz, hareketli, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Hareketsiz suşları da vardır. Nutrient agar, kanlı agar ve enterobakterilerin diferensiyel ve selektif besiyerlerinde (MacConkey, EMB agar, vs) 37°C'de 24 saatte gözle görülebilir S tipli koloniler oluştururlar. MacConkey agarda pembe, EMB agarda metalik renkler veren koloniler oluştururlar. Nutrient Broth'ta ise 37°C de 24 saatte bulanıklık meydana getirerek ürerler. *E. coli* gram-negatif bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz ve pastörizasyon veya kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte oldukları için

en iyi vücut sıcaklığında çoğalmaktadırlar. *E. coli* birçok karbonhidratı (laktoz, mannitol, glukoz) asit ve gaz oluşturarak fermente eder. İndol ve metil red (MR) testleri pozitifdir. Sitrat ve oksidaz testleri negatifdir. Nitratları nitrite indirger. *E. coli*'lerin somatik O, flagellar H, kapsüler K ve fimbria (Pilus) antijenleri bulunur (Halkman ve ark., 2001).

E. coli bağırsak kökenli bir bakteri olduğu için çevresel sularda bulunması fekal kirlenmenin bir belirtisidir. İnsanın bir günde dışkı yoluyla vücudundan attığı *E. coli* sayısı 100 milyar ile 10 trilyon arasında değişmektedir. Başka hayvanlarda etkisiz olan bazı *E. coli* tipleri insana bulaştıklarında hastalık yapabilirler. Bunların en başlıcası olan *E. coli* O157:H7 adlı serotip, kanlı ishale ve ölüme yol açabilmektedir (Halkman ve ark., 2001).

E. coli O157:H7, son yıllarda farkına varılan en önemli bağırsak kökenli patojen mikroorganizmalardan birisidir. İlk kez 1975'de ağır kanamalı diyare geçiren Kaliforniyalı bir kadın hastadan izole edildiği bildirilmiştir. Bakterinin önemli bir patojen olarak tanımlanması ise 1982 yılının başlarında olmuştur (Ayhan ve Coşansu, 2000).

E. coli O157:H7'nin başlıca kaynağı sığırlar olmakla birlikte koyun, geyik, domuz, kedi, köpek ve kuşlar gibi diğer sıcak kanlı hayvanlarda da bulunabilmektedir. İnsanlara, taşıyıcı veya hasta hayvanla temas sonucu, kişiden kişiye bulaşma veya kontamine gıdanın tüketilmesi sonucu bulaşmaktadır. Suyun veya toprağın fekal yollarla kirlenmesi ise ekili alanlarda bu bakterinin ürünlere kontaminasyonuna neden olur (Halkman ve ark., 1998).

E. coli O157: H7 gram negatif basil, fakültatif anaerob, 37 °C'de pH 7,2'de optimum üreyen, hareketli, % 6,5 NaCl içeren ortamda gelişebilen, donma sıcaklığına dirençli, ışınlamaya ve ısısal uygulamalara dirençsiz bir bakteridir. Sorbitolü 24 saatte fermente edememesi, β -glukuronidaz enzim aktivitesine sahip olmaması ve 44-45 °C'de gelişememesi veya çok zor gelişebilmesi özellikleri ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılır (Tosun ve Gönül, 2003).

E. coli O157:H7, *E. coli*'nin özel bir serotipi olup, bugün için en tehlikeli gıda kaynaklı patojen olarak kabul edilmektedir. Enfeksiyon dozu 1 hücre / 1 porsiyon kadar düşük olabilmektedir. Özellikle çocuklarda ve yaşlılarda ölüme kadar giden çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. *E. coli* O157:H7 serotipi *E. coli* O26:H11 serotipi ile

birlikte patolojik *E. coli* suşlarının en tehlikelisi olan Enterehemorajik *E. coli* (EHEC) grubu içinde yer almaktadır. Her iki bakteri de aynı hastalıkları yapmakla beraber *E. coli* O26:H11 serotipine gıdalarda rastlanmıştır (Halkman ve ark., 2001).

Dünya çapındaki enfeksiyonların çok büyük bir bölümü başta yetersiz pişirilmiş et ve pastörize edilmemiş süt olmak üzere sığır kaynaklı gıdalar ile olmuştur. Minimal işlenmiş gıda tüketimi de enfeksiyon riskini arttırmıştır. *E. coli* O157:H7'nin insan patojeni olarak ortaya çıkmasında son 15-20 yıldır insanların yaşam şekli ve davranışlarındaki değişikliklerin etkili olduğu düşünülmektedir (Chapman ve ark., 1993).

Ülkemizde de fast-food beslenme alışkanlığı yaygın olup önceki yıllara göre önemli bir artış olduğu gözlenmektedir. Fast-food tüketiminin yaygınlaşması ile birlikte günümüze kadar sık karşılaşmadığımız ve sorun oluşturmayan bu enfeksiyonlar ülkemiz için de potansiyel olarak risk oluşturmaktadır (Yeniiz, 2005).

E. coli O157:H7 tehlikesi hem ülkemizde hem de dünyada giderek artmaktadır. Bu nedenle de gelişmiş ve gelişmekte olan devletlerin gıda mevzuatlarında önemli bir yer edinmeye başlamıştır. Mevzuatımızda ise *Salmonella* da olduğu gibi 25 g/ml örneklerin 5 adetinin birinde dahi pozitif bulgu olmamalıdır (Anonim, 2013).

Enterohemorajik *E. coli* grubu (EHEC) içerisinde yer alan *E. coli* O157:H7, hemolitik üremik sendrom (HUS), hemorajik kolitis (HC), trombotik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere üç farklı klinik tabloya neden olmaktadır (Sarımehmetoğlu ve ark., 1998). İlk kez 1955 yılında tanımlanmış olan *hemolitik üremik sendrom (HUS)* en fazla ölüme neden olan hastalıktır. Sulu ve çok kanlı bir dışkı görülürken ateş yoktur. Enfektif doz ise kayda değer ölçüde düşüktür (Halkman ve ark., 2001). *Hemorajik kolit* ise aniden ortaya çıkan kramplı karın ağrıları ile başlamakta ve 24 saat içinde sulu diyare ile devam etmektedir. Diyare sırasında görülen kan artar ve dışkı zamanla tümüyle kan olur. Hastalığın ortaya çıkması genellikle 3-9 gün, hastalık süresi ise 2-9 gündür (Halkman ve ark., 1998). Enfeksiyonun yayılmasında, gıdalar önemli bir araç olmakla birlikte, kişiden kişiye bulaşmanın da söz konusu olduğu bildirilmektedir. Bu durum, özellikle başta gıda işletmelerinde çalışan personel olmak üzere aile içi enfeksiyonlar açısından da ayrı bir önem taşımaktadır (Sarımehmetoğlu ve ark., 1998).

3. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Farber ve Brown (1990), yaptıkları bir çalışmada, et ürününde *Listeria monocytogenes*'in termal direnci üzerine ısı şokun etkisini araştırmışlardır. Bunun için sosis hamuruna yaklaşık 10^7 kob/g olacak şekilde önceden 48 °C'de ısı şoka uğratılmış (adapte edilmiş) *Listeria monocytogenes*'i inoküle etmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda 48 °C'de 30 veya 60 dk ısı şoka maruz kalan hücrelerin ısı toleransı, şoka maruz kalmayan hücrelerin ısı toleransından önemli bir fark göstermemiştir. Fakat 48 °C'de 120 dakika ısı şokuna maruz kalan hücrelerin, $D_{64^{\circ}\text{C}}$ değerinde ortalama 2.4 kat artış gözlenmiş yani hücrelerin ısı toleransı yükselmiştir.

Bunning ve ark. (1990), *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium* suşlarını subletal olarak 35, 42, 48 ve 52 °C'de geliştirmiş ve 52 ile 57.8 °C'de inaktivasyonlarını incelemişlerdir. Isı şoku ile termal toleransın artması, *Listeria monocytogenes* için önemli olmamışken *Salmonella typhimurium* için önemli olmuştur. Uygulanan ısı şoku süresinin, *Listeria monocytogenes* için daha uzun olması gerektiği bildirilmiştir.

Kim ve Dunn (1997), yaptıkları bir araştırmada laktik asit bakteri kültürlerini -20 °C'de 24 saat süre ile dondurduklarında kültürlerin yaşama yeteneğinde şiddetli bir azalma olduğunu belirlemişlerdir. Fakat aynı kültürler, 10 °C'de 2 saat soğuk şokuna maruz bırakıldıktan sonra aynı şartlarda tekrar dondurulduğunda *Lactococcus lactis* subsp. suşlarının canlılığında % 25-37 arasında bir artış gözlenmiştir. Bu sonuca göre bakterilerin önemli ölçüde kriyotolerans (soğuk toleransı) geliştirdiği bildirilmiştir.

Leyer ve Johnson (1992), *Salmonella typhimurium* asit stresine karşı (pH=5.8, hidroklorik asit ile) adaptasyonu, peynirde yaygın olarak bulunan ve inaktivasyon etkisi olan laktik asit, propiyonik asit ve asetik asit gibi organik asitlerin varlığında bu patojenin canlı kalma şansını artırmıştır. Sütün fermantasyonu sırasında aside adapte edilmiş *Salmonella typhimurium* hücreleri adapte olmamış hücrelere göre daha uzun süre yaşamışlardır.

Tosun ve Gönül (2003), yaptıkları bir çalışmada, adaptasyon süresi ve pH düzeylerinin tolerans üzerindeki etkisini belirleyebilmek için *E. coli* O157:H7'yi 2 saat

boyunca pH 4.5'e maruz bırakmış ve bu şusun pH 3.0'daki asit toleransında maksimum düzeyde artış sağladığını bildirmişlerdir.

Lou ve Yousef (1997), *Listeria monocytogenes* kültürünü subletal düzeyde etil alkol (% 5'lik), asit (HCl ile pH 4.5-5 arası), H₂O₂ (500 ppm), NaCl (% 7'lik) ve ısı şokuna (45 °C'de 1 saat) maruz bırakmışlardır. Yapılan çalışmada etil alkol ve pH adaptasyonunun *Listeria monocytogenes*'in pH, H₂O₂ ve etanole olan direnci, ısıl şokun ise sadece tuza ve etanole olan direnci artırdığı görülmüştür.

Cheng ve ark. (2002), çalışmalarında *E. coli* O157:H7'nin üç suşunu (ATCC 43889, ATCC 43895 ve 933 dahil olmak üzere) 4 saat süre ile pH 5.0'te aside adapte etmişlerdir. *E. coli* O157:H7'nin adapte edilmiş kültürlerinin yanı sıra adapte edilmemiş kültürlerinin de % 10 sodyum klorür, % 0.85 safra tuzu ve % 15 etanol varlığındaki canlılıkları araştırılmıştır. Sıcaklık olarak 52 °C kullanılmıştır. Asit adaptasyonunun canlı kalan *E. coli* O157:H7 üzerine etkisi, suş farklılığı ve stres çeşitine göre değişmektedir. Asit adaptasyonu, *E. coli* O157:H7 ATCC 43889 ve ATCC 43895'nin termal toleransını artırmış fakat *E. coli* O157:H7 933'ün adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinde anlamlı bir fark yaratmamıştır. Asit adaptasyonu genel olarak *E. coli* O157:H7'nin tuza olan toleransında bir artışa neden olmuştur ve bu artış çalışmada kullanılan suşlara göre değişmektedir. Safra tuzu kullanıldığında ise tüm suşların aside adapte edilmiş hücrelerinin duyarlılıkları, aside adapte edilmemişlerinkinden önemli bir farklılık göstermemiştir. *E. coli* O157:H7 ATCC 43889 ve ATCC 43895 suşlarının aside adapte edilmiş kültürlerinin, adapte edilmemiş kültürlerine göre etanole karşı daha az tolerans göstermesine rağmen *E. coli* O157:H7 933 suşunun adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin etanole toleransında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Lee ve Kang (2008), *E. coli* O157:H7 üzerine ısı (55 °C), asetik asit (% 0.25 v/v) ve tuzun (% 3) kombine etkisini laboratuvar ortamında incelemişlerdir. Çalışmada bu üç faktörün tüm kombinasyonlarının etkileri ile faktörlerin tek başlarına kullanımlarının etkileri karşılaştırılmıştır. Tuz ısı ile kombine edildiğinde (30 dk kadar 55 °C ısı uygulanmış) *E. coli* O157:H7 miktarındaki azalmada önemli bir fark görülmemiştir (arttırıcı etki). Fakat asit ısı ile kombine edildiğinde *E. coli* O157:H7'nin azalışı sadece asit etkisine göre daha fazla olmuştur (sinerjistik etki). Tuz asit ile kombine edildiğinde ise tuz asit uygulamasına karşı koruyucu etki göstermiş yani sadece asit uygulamasına göre *E. coli* O157:H7'nin azalmasında daha az bir etki göstermiştir (antagonistik etki).

Glass ve ark. (1992), *E. coli* O157:H7'nin canlı kalma oranı üzerinde, asit ve NaCl'nin etkisi araştırılmıştır. *E. coli* O157:H7'nin % 6.5 gibi yüksek NaCl konsantrasyonunda gelişebildiği görülmüştür. Fakat % 6.5 NaCl varlığında lag fazın normalden daha uzun olduğu, bunun ise tuz tolerant popülasyonunun seçimi için önemli olabileceğini belirtilmişlerdir.

Reitsma ve Henning (1996), standart cheddar peynirin üretim süresi ve sonrasındaki tuzlama işleminde enterohemorajik *E. coli* O157:H7'nin (EHEC) canlı kalma yeteneğini belirlemeye çalışmışlardır. İki uygulama ile eklenen *E. coli* O157:H7, peynir yapılacak sütteki hedef seviyeleri 1×10^3 kob/ml ve 1 kob/ml olacak şekilde planlamıştır. Peynir örneklerine, üretim süresince 14., 28., 42., 60. ve 74. günlerde *E. coli* O157:H7 analizi yapılmış ve sonrasında 28 günlük aralıklarla yayma plak veya zenginleştirme yöntemi kullanılarak ard arda iki örnekte gelişim olmayıncaya kadar analize devam edilmiştir. 3M Petrifilm® *E. coli* Count Plates'deki tipik koloniler, muhtemel *E. coli* O157:H7'ler olarak sayılmış ve enterohemorajik *E. coli* O157:H7 için olan 3M Petrifilm® Test Kit—HEC'te de de teyitleri yapılmıştır. Alınan 25 g peynir örneğinde canlı *E. coli* O157:H7'yi belirleyebilmek için Modifiye Novobiosinli EC Broth'da zenginleştirme yapılmış ve petrifilm tabakasında hiçbir *E. coli* O157:H7 belirlenmemiştir. 10^3 kob/ml *E. coli* O157:H7 içeren sülle yapılan peynir, 60 günlük olgunlaşmadan sonra 2 logaritmik birim azalma göstermiştir. 158 gün sonra alınan 25 g peynir örneğinde ise hala canlı *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir. 1 kob/ml *E. coli* O157:H7 içeren sülle yapılan peynir, 60 günlük olgunlaşmadan sonra 1 veya <1 kob/ml azalma göstermiş ve 158 gün sonra alınan 25 g peynir örneğinde ise *E. coli* O157:H7 tespit edilememiştir. Bununla birlikte, her iki uygulama üretim süresince *E. coli* O157:H7'nin canlı kalması ile sonuçlanmıştır. Yapılan peynir ise 60 günden daha fazla bir sürede % 2.75-3.76 tuz içeren sıvı fazda olgunlaştırılmıştır. Benzer inaktivasyon çalışmaları Arıcan ve Andiç (2008) ve Özhan ve Çoksöyler (2005) tarafından da yapılmış fakat bu çalışmalarda direnç kazanma incelenmemiştir.

Casey ve Condon (2002), tarafından fermente et modelinde pH 4,2'nin *E. coli* O157:H7'ye bakterisidal etkisi üzerine NaCl'in (% 4) etkisi araştırılmıştır. Hücrelerin NaCl ve asit varlığında, yalnızca asit olan ortama göre daha iyi yaşama oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu kombine etki, ortamın su aktivitesinin azalmasından kaynaklanmıştır.

Faleiro ve ark. (2003), farklı kaynaklardan izole edilen *L. monocytogenes* suşlarını, % 3.5 NaCl içeren besiyerinde 2 saat boyunca inkübe etmiş ve suşların tuza tolerans kazanmasını sağlamışlardır. Tolerans kazanan suşların, % 20 NaCl içeren ortamdaki yaşama düzeyleri belirlenmiştir. Tuz toleransı, suşlar arasında farklılık göstermiş olup, 9 suştan ikisinin tuz direncinde artış sağlanamamıştır.

Lee ve ark. (2009), çalışmalarında salatalık turşusu püresindeki *E. coli* O157:H7 üzerine asetik asitin tek başına ve asidin tuz ile birlikte kullanımının etkisini araştırmışlardır. Artan asetik asit miktarı *E. coli* O157:H7 miktarında azalmaya neden olurken asidin % 3 tuz ile birlikte kullanımında ise asetik asidin tek başına gösterdiği etkiden daha az etki gösterdiği görülmüştür. Bunun durumun, tuzun eklenmesi ile ortamdaki iyonik gücün değişmesine bağlı olabileceği belirtilmiştir.

Abdulkarim ve ark. (2009), ısıl strese uğratılmış ve uğratılmamış *E. coli*'nin gelişimi üzerine tuz konsantrasyonunun etkisini araştırmışlardır. Bunun için 37 °C ve 44 °C'de kültüre edilmiş *E. coli* hücrelerinin gelişimi üzerine sodyum klorür (NaCl) ve potasyum klorürün (KCl) etkisini incelemişlerdir. 24 saatlik inkübasyon sonrasında ise *E. coli* gelişimi türbidimetrik yöntem (600 nm) ile ölçülmüştür. Bunun için iki tuzunda % 0, % 0.5, % 1, % 1.5'lük konsantrasyon setleri hazırlanmıştır. Ortamdaki NaCl eksikliği (% 0 NaCl), 37°C'deki *E. coli* gelişimini biraz düşürmüştür. İçerisinde % 0.5 NaCl bulunan besiyerinde ise optimum gelişme sağlanmıştır. Buna ilaveten % 0.5 KCl'nin, % 0.5 NaCl'deki hücre gelişimine göre daha az yararlı etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Her iki tuz konsantrasyonu % 0.5'in üzerine çıkarıldığında ise 37°C'deki gelişim azalmıştır. Gelişim, tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak doğrudan baskılanmıştır. 44 °C'de, % 0 tuz içeren her iki besiyerinde de gelişim çok az olmuştur. Bu sıcaklıkta her iki tuz konsantrasyonunun % 0.5'ten % 1.5'e yükseltilmesi ise gelişimin artması ile sonuçlanmıştır.

Öztürk (2010), *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in asit ve tuz adaptasyonlarını sağlayarak, asit ve tuza olan dirençlerini incelemiştir. Ayrıca asit ve tuz adaptasyonunun *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in Türk sucuklarında yaşama düzeyleri üzerindeki etkileri de belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* pH 4.5, 5.0 ve 5.5'te 1, 2, 3 ve 4 saat süreyle aside adapte edilmiştir. Aside adapte edilen *E. coli* O157:H7'nin pH 3.0 ve 3.5'ta, *L. monocytogenes*'in pH 2.5, 3.0 ve 3.5'daki yaşama düzeyleri saptanmıştır. Asit adaptasyonu üzerinde organik (asetik, laktik ve

sitrik asit) ve inorganik (hidroklorik asit-HCl) asitlerin etkisi de tespit edilmiştir. Tuz adaptasyon denemelerinde, % 3.5 NaCl'de 1 saat süreyle tuza adapte edilen kültürler % 8 NaCl içeren çözeltide 4°C ve 25°C'da 25 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu denemeler sonunda *L. monocytogenes*'in tuza direnç kazanmadığı görülmüş, *E. coli* O157:H7'nin ise 25°C'da muhafaza edilen kültürde tuz direnci artmış ($p<0.01$), 4°C'da muhafaza edilen kültürde ise direnç artışı olmamıştır. Asit adaptasyonu, *E. coli* O157:H7'nin Türk sucuğunda yaşama düzeyinde artışa neden olurken ($p<0.01$), *L. monocytogenes*'in yaşama düzeyi üzerinde önemli bir fark oluşturmamıştır. Ayrıca tuz adaptasyonu *E. coli* O157:H7'nin Türk sucuğunda yaşama düzeyini arttırmamıştır.

Arense ve ark. (2010), yaptıkları bir araştırmada merkezi karbon mekanizmasının, *E. coli*'nin tuz stresi adaptasyonundaki ilişkisini anlamaya amaçlamışlardır. Hücreler, anaerobik ortamda bir yığın halinde ve farklı tuz konsantrasyonlarındaki kemostat reaktörlerde geliştirilmiştir. Karbon kaynağı olarak ise gliserol kullanılmıştır. Çalışmada yabancı *E. coli* O44K74 suşunun farklı üç tuz konsantrasyonundaki (0.085 M (% 0.5) (kontrol), 0.5 M (% 2.9) ve 0.8 M (% 4.7) NaCl) gelişimi ve dış metabolitleri belirlenmiş ve çeşitli değişiklikler gözlenmiştir. Spesifik fümarat tüketim hızı ortamdaki tuz konsantrasyonu ile artmıştır. Süksinat, fümarat tüketimine paralel olarak salgılanmış ve tuz konsantrasyonu ile spesifik üretimi azalmıştır (Fümarat hücrelerin gıdalardan gelen enerjiyi, adenozin trifosfat (ATP) formunda depolamak için kullandığı sitrik asit döngüsünün ara ürünlerinde birisidir. Burada süksinatın süksinat dehidrogenaz enzimi yardımıyla oksidasyonu sonucu oluşur).

Goh ve ark. (2012), *E. coli* ATTC 8739 suşu ile yaptıkları çalışmada, ardışık 80 pasajlama yaparak (pasaj 1-15 % 3, pasaj 16-31 % 4, pasaj 32-39 % 4.5, pasaj 40-50 % 5, pasaj 51-62 % 6, pasaj 63-74 % 7 ve pasaj 75-80 % 8 tuz (NaCl) konsantrasyonu) kültürü tuza adapte etmişlerdir. Pasajlama sırasında ise en iyi gelişimin % 4 tuz içeren besiyerinde (pasaj-19) olduğu görülmüştür. Çalışmanın devamında ise adapte edilen kültür, % 0, % 1, % 3, % 5, % 7, % 9 ve % 11 tuz içeren sıvı besiyerlerine inokule edilmiş ve spektrofotometrik yöntem ile 600 nm'de kültürün gelişimi izlenmiştir. Sonuç olarak, yüksek tuz konsantrasyonuna adapte edilen suşun % 11 tuz ortamında dahi gelişebildiği görülmüştür.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak *Escherichia coli* türüne ait ATCC 25922 suşu, *E. coli* O157:H7 suşu, NaCl, Tryptic Soy Broth (TSB, Merck), Tryptic Soy Agar (TSA, Merck), Sorbitol Mac Conkey Agar (SMAC, Merck), Sorbitol Mac Conkey Agar (SMAC) Sefiksim-Tellürit (CT) katkısı, Gliserol (Merck) ve bakteri boyamada kullanılan çeşitli boyalar kullanılmıştır.

Çalışmamız için 1 adet *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu ve 1 adette *E. coli* O157:H7 suşu temin edilmiştir. Bunlardan birisi ATCC koleksiyonundan alınmış olup referans suştur (*E. coli* ATCC 25922). Microbiologics firmasına ait KWIK-STIK™ *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu liyofilize olarak temin edilmiştir. Kültür, çubuk bir tüp içinde pelet şeklinde bulunmaktadır. *E. coli* O157:H7 suşu ise Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kadir HALKMAN'ın kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

4.2. Yöntem

Bu çalışmanın uygulanması sırasında kullanılan metotlar, tezin aşamalarına göre aşağıda verilmiştir.

4.2.1. Çalışmada kullanılan yöntemler

4.2.1.1. Standart suşların sağlanması ve aktivasyonu

E. coli ATCC 25922 suşu, çubuk bir tüp içinde pelet şeklinde bulunmaktadır. Çubuk tüpte bulunan swap yardımı ile uygun besiyerine (VRB, SMAC vb.) çizim yöntemiyle ekim işlemi yapılmıştır. Petriler 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve istenilen kolonilerden öze yardımı ile 9 ml steril TSB içeren deney tüplerine geçiş

yapılmıştır. TSB'ye aktarılan kültür, 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve iki kez pasajlanmıştır.

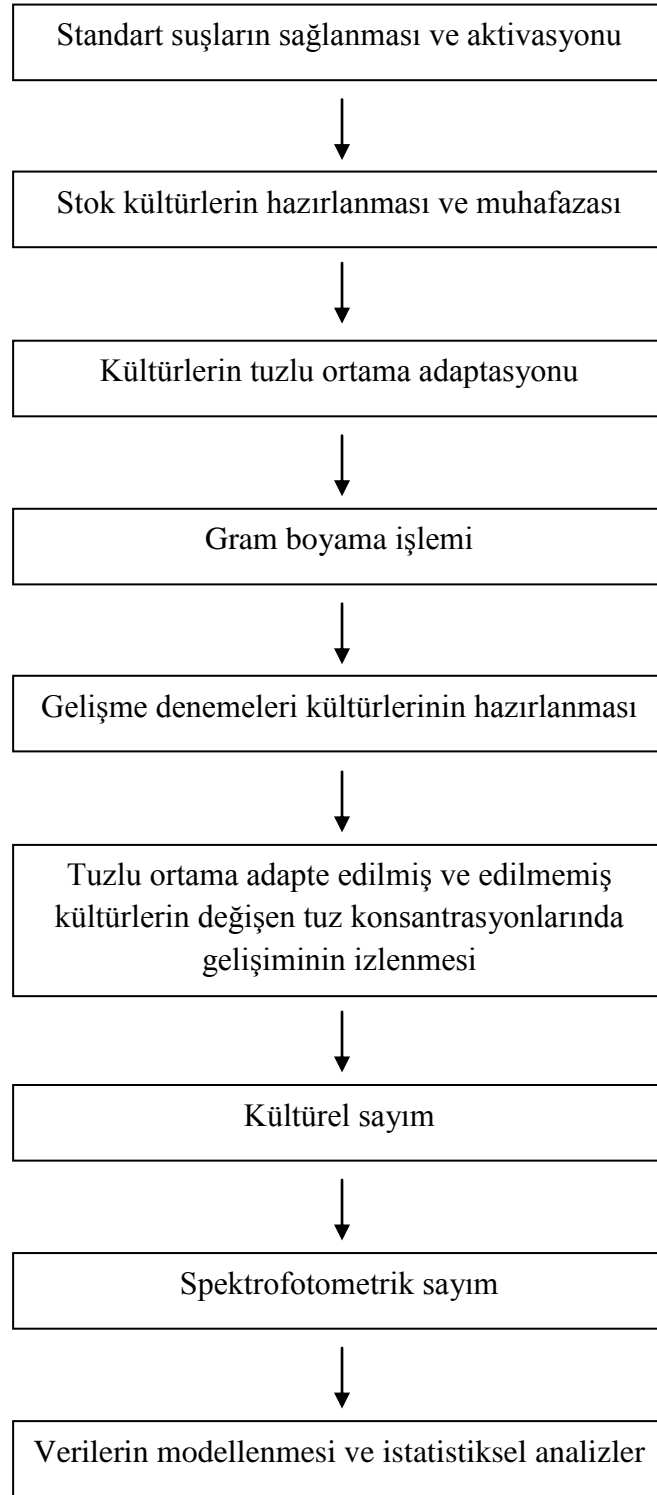
4.2.1.2. Stok kültürlerinin hazırlanması ve muhafazası

Kültür koruma yöntemlerinden olan dondurma yöntemi, basit laboratuvarlardan en gelişmiş kültür koleksiyonlarına kadar uygulanabilen bir yöntemidir. Bu yöntemlerden biri olan basit dondurma işlemi, Nutrient Broth gibi basit bir sıvı besiyerinde geliştirilen kültür üzerine son konsantrasyon % 15-20 (v/v) olacak şekilde steril gliserol ilave edilip kültürün buzdolabı buzuğunda dondurulması işlemidir. Tercihen sterilize edilebilir vida kapaklı cam tüplerin bu amaçla kullanılması gerekir (Halkman ve Doğan, 2000).

Stok kültürleri hazırlamak için 2. pasaj tüpünden 4 ml kültür alınmış ve içerisinde 1 ml steril gliserol bulunan (son konsantrasyon % 20 v/v olan) vida kapaklı deney tüplerine aktarılmıştır. Deney tüpleri, tüp karıştırıcıda 5-10 sn karıştırıldıktan sonra tüpler tüp sportuna yerleştirilmiş ve -18 °C'de depolanmıştır.

4.2.1.3. Kültürlerin tuzlu ortama adaptasyonu

Kültürlerin tuzlu ortama adaptasyonu % 5 NaCl içeren TSB besiyerinde yapılmıştır. Tuza adapte edilecek bakteriler, stok kültürler kullanılarak çoğaltılmıştır. Bunun için -18°C'de depolanan stok kültürlerden aseptik koşullar altında alınan 100 µl kültür, 9 ml steril TSB içeren deney tüpüne aktarılmış ve 37 °C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlem için 2 defa pasajlama yapılmış ve 2. pasajdan alınan kültürler, % 5 konsantrasyonda tuz içeren TSB besiyerine aktarılmıştır. Bu tuz konsantrasyonu yapılan ön denemeler sonucu belirlenmiştir. Adaptasyon için her gün yeni bir pasajlama yapılarak toplamda 10 pasaj yapılmış ve kültürler 10 gün süresince tuza adapte edilmişlerdir. Her pasajlamada gelişen kültürden gerek gram boyama yapılarak gerekse de selektif (SMAC) ve genel amaçlı (TSA) besiyerine çizim yapılarak kültüre bulaşı olup olmadığı kontrol edilmiştir.



Şekil 4.1. Çalışma planı.

4.2.1.4. Gram boyama işlemi

Bu işlem zaman zaman kültürlerin kontamine olup olmadığını, *Staphylococcus aureus* gibi halotolerant bir bakterinin kültüre bulaşıp bulaşmadığını kontrol için kullanılmıştır.

Boyamanın esası, kristal viyole ile boyanan bakterilerin alkolle deklorize edildiklerinde bu boyayı bırakıp bırakmadıklarına dayanmaktadır. Boyayı bırakmayan bakteriler içlerine ikinci boyayı da alamazlar ve kristal viyolenin mor rengi halinde görünmeye devam ederler. Bunlar Gram Pozitif (G(+)) bakterilerdir. Boyayı bırakanlar ise renksiz hale gelir ve ikinci boya olan safranini/sulu fuksini hücre içine alırlar. Bu bakteriler ise pembe görünürler ve Gram Negatif (G(-)) bakterilerdir (Temiz, 2010).

Pasajlama işlemi ve kültürlerin gelişiminin izlenmesi sırasında kültürümüze bulaşının olup olmadığı anlamak için kültürden alınan 1 ml'lik örnek steril deney tüpüne aktarılmıştır. Bir öze yardımı ile aseptik şartlar altında yaklaşık 5 µl örnek alınmış ve örnek lam üzerine yayılmıştır. Hava ortamında kuruyan lama yöntemin gerektirdiği işlemler sırası ile uygulanmış ve preparat mikroskop (Olympus CX22) altında incelenmiştir.

4.2.1.5. Gelişme denemeleri kültürlerinin hazırlanması

E. coli ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 suşlarının gelişim denemeleri, TSB besiyeri kullanılarak yapılmıştır. Besiyeri 30 g/litre olacak şekilde hazırlanmış ve 250 ml'lik erlenmayerlere 100'er ml olarak dağıtılmıştır. Hazırlanan erlenmayerler otoklavda (Uniterm) 121 °C'de 15 dk süre ile steril edilmiştir. Steril TSB besiyerine 18 saatlik kültürden 1 ml aktarılmış ve 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kültürün genel düzeyi kültürel sayım ile belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için 18 saatlik kültürünün önce absorbansı ölçülmüş sonrasında ise bu örnekten yayma plak yöntemi ile kültürel sayımı yapılmıştır. Petriler 37 °C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Petrilerde yapılan kültürel sayım sonucunda 10⁸ ile 10⁹ kob/ml düzeyinde canlı hücre oluşmuştur.

4.2.1.6. Tuzlu ortama adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerin değişen tuz konsantrasyonlarında gelişiminin izlenmesi

Yapılan çalışmada, 1 adet *E. coli* ATCC 25922 ve 1 adet *E. coli* O157:H7 suşlarının adapte edilmemiş kültürleri ve % 5 tuzlu ortama adapte edilmiş kültürleri kullanılmıştır. Her kültür, 3 paralel şeklinde çalışılmıştır. 100 ml steril TSB içeren besiyerine 18 saatlik kültürden aseptik şartlar altında 1 ml kültür aktarılmış ve 25 °C'de kültürün 0., 1., 2., 3., 4., 6., 8., 10., 12. ve 24. saatlerdeki gelişimleri spektrofotometrik ölçümle kayda alınmıştır. Yapılan çalışma ile tuzun *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7'nin gelişimi üzerine etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

4.2.1.7. Kültürel sayım

Kültürel sayım için yayma plak yöntemi kullanılmıştır. Bunun için TSA besiyeri üzerindeki açıklamaya uyularak hazırlanmış ve otoklavda steril edilmiştir. Yaklaşık 45-50°C'ye soğutulmuş olan steril besiyeri aseptik şartlar altında steril petri kaplarına 12-15 ml olacak şekilde dökülmüştür. Kültürün seri dilüsyonları hazırlanarak kültürün başlangıç mikrobiyal yükü seyreltilmiştir. Sonrasında ise belirli dilüsyon tüplerinden alınan 0.1 ml örnek steril besiyeri içeren petri kaplarına aktarılmış ve örnek drigalski spatülü ile besiyerinin yüzeyine yayılmıştır. Petriler, inkübatöre (Nüve, EN 500) ters olarak konulmuş ve 37°C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda ise 30-300 arası koloninin geliştiği petriler değerlendirmeye alınmıştır. Sayım sonucu,

$$\text{Sayım (kob/ml)} = \frac{(N1 + N2)}{2} * D.O * 10 \quad (4.1)$$

"Eşitlik 4.1" kullanılarak hesaplanmıştır (Temiz, 2010). Eşitlikteki N1 ve N2 petride gelişen koloni sayılarını, D.O ise dilüsyon oranını ifade etmektedir. Yayma plak yönteminde petriye aktarılan örnek 0.1 ml olduğu için bulunan sonuç 10 ile çarpılarak kültürün ml'sindeki (kob/ml) sayı hesaplanmıştır.

Kültürel sayım işlemi hem kültürümüzün genel düzeyi hakkında bilgi sahibi olmak için hem de çalışma kültürüne kontaminasyon olup olmadığını kontrol etmek için zaman zaman tekrarlanmıştır.

4.2.1.8. Spektrofotometrik sayım

Türbidimetrik metot olarak adlandırılan spektrofotometrik yöntem, incelenecek olan sıvı örnekteki bulanıklılığın (türbiditesinin) zaman içinde artıp artmamasına dayanmaktadır. Meydana gelen bulanıklılık sayesinde mikrobiyal üremenin meydana gelip gelmediği ve üremenin derecesi öğrenilebilmektedir. İncelenen kültürde bulanıklık arttıkça spektrofotometreden gelen ışınlar, ortamda daha fazla tutulacaktır (absorbe edilecektir). Bu yöntemle, mikroorganizma üremesinin derecesi optik dansite (OD) cinsinden ölçülebilmektedir (Temiz, 2010; Arda, 2000). Saf bir mikroorganizma kültüründeki mikroorganizma sayısının belirlenebilmesi için ilk aşamada bu mikroorganizmanın farklı konsantrasyonlarındaki süspansiyonları kullanılarak standart bir eğri (kalibrasyon kurvesi) hazırlanmaktadır. Daha sonra mikroorganizma sayısı belirlenecek sıvı kültürün absorbansı belirlenir ve standart eğride bu değere karşılık gelen mikroorganizma konsantrasyonu (sayısı) bulunur. Spektrofotometrik ölçüm için hem steril sıvı besiyerinin bulanıklık içermemesi hem de mikroorganizmanın homojen bulanıklık yapması gerekmektedir (Temiz, 2010; Madigan ve ark., 2010).

Bu çalışmada, bulanıklığı ölçmek için inkübasyonun 0. saatinden itibaren kültürlerden belirlenen zaman aralıklarında (kabaca lag fazda 2-3, logaritmik gelişme fazında 3-4 ve sabit fazda 2-3 örnek olacak şekilde) 3'er ml kültür tek kullanımlık küvetlere aktarılarak kültürlerin, spektrofotometre cihazında 600 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunmuştur. Bulanıklığı ölçmek için tek kullanımlık spektrofotometre küvetlerine 3'er ml'lik kültür aktarılmış ve steril besiyeri körüne karşı kültürün absorbansı ölçülmüştür. Ölçüm için 600 nm dalga boyu kullanılmıştır (Myers ve ark., 2013). Kültürde meydana gelen bulanıklılık sayesinde üremenin meydana gelip gelmediği ve bulanıklık derecesi öğrenilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi için McFarland Standardından faydalanılmıştır. Standardın hazırlanması sırasında %1'lik sülfirik asit (H_2SO_4) ve % 1.175'lik baryum klorürden

(BaCl₂) kullanılmıştır. Oluşan baryum sülfat'ın (BaSO₄) miktarı bulanıklığın yoğunluğunu belirlemektedir. Çizelge 4.1'de McFarland Standardının hazırlanma oranları, Çizelge 4.2'de ise McFarland Standartlarına karşılık gelen bakteri yoğunluğu verilmiştir (Halkman ve Gürgün, 1990; Anonim, 2014 (c)). Her analizden önce, analizin ortasında ve analizden sonra McFarland Standardı tüplerinden makro küvetlere 3'er ml'lik örnek alınmış ve örneklerin saf su körüne karşı absorbansı ölçülmüştür. Şekil 4.2'de tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25992 kültürünün analizi öncesinde çizilen kalibrasyon eğrisi verilmiştir. Çizelge 4.3'te ise bu eğrinin çiziminde kullanılan absorbans ölçümleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Mc Farland Standardının hazırlanma oranları

Mc Farland Standart No	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
%1'lik H ₂ SO ₄	99.5	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0
%1.175'lik BaCl ₂	0.5	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0

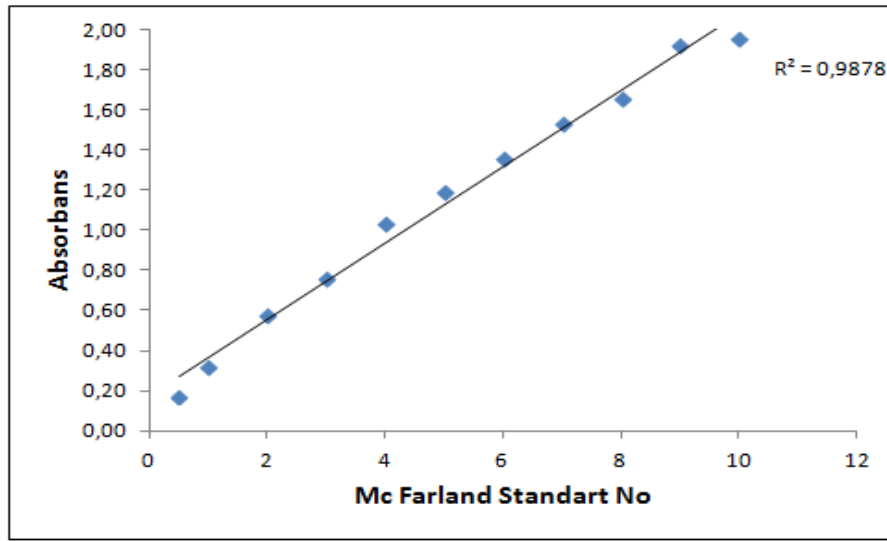
Çizelge 4.2. McFarland Standartlarına karşılık gelen bakteri yoğunluğu

Mc Farland Standard No	Bulanıklığa karşılık gelen bakteri sayısı (x 10 ⁶ / ml)*
1	300
2	600
3	900
4	1200
5	1500
6	1800
7	2100
8	2400
9	2700
10	3000

* Bakteri türlerine göre değerler değişmekle beraber *E. coli* için değerler tabloda sunulmuştur (Anonim, 2014 (c)).

Çizelge 4.3. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25992 kültürünün kalibrasyon eğrisi için kullanılan veriler

Mc Farland Standard No	Absorbans Değeri
0.5	0.175
1	0.321
2	0.580
3	0.762
4	1.039
5	1.195
6	1.363
7	1.538
8	1.662
9	1.928
10	1.960



Şekil 4.2. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25992 kültürünün analizi öncesinde çizilen kalibrasyon eğrisi.

4.2.1.9. Verilerin modellenmesi ve istatistiksel analizler

Her iki suşun tuza adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin gelişim süresince (24 saat) alınan absorbans değerleri Modifiye Gompertz Modeli kullanılarak

modellenmiştir. Model orijinal olarak bir nüfus bilimci olan Benjamin Gompertz (1779-1865) tarafından geliştirilmiştir. Kullanılan model (Modifiye Gompertz Modeli);

$$\ln\left(\frac{X}{X_0}\right) = A * e^{-e^{\left(\mu * e^{\left(\frac{t-t_0}{A}\right)+1\right)}} \quad (4.2)$$

şeklindedir (Çoksöyler, 2013).

λ = Lag fazı süresini (saat (h))

μ = Maksimum gelişme hızını (saat⁻¹ (h⁻¹))

A = Asimtot değer (Maksimum populasyon yoğunluğu)

X_0 = Mikroorganizmanın başlangıç yoğunluğu (kob/ml)

X = t anındaki mikroorganizma yoğunluğu (kob/ml)

Bu modelin çok çeşitli modifikasyonları türetilmiştir. Zwietering ve ark. (1991), modeli doğrudan mikroorganizma gelişim kurvesi parametrelerini verecek şekilde modifiye etmişlerdir. Bu parametreler Şekil 4.3'de görüldüğü gibi *maksimum spesifik gelişme hızı* (μ_{max} ; saat⁻¹) eğrinin dönme noktasındaki teğetin eğimidir.

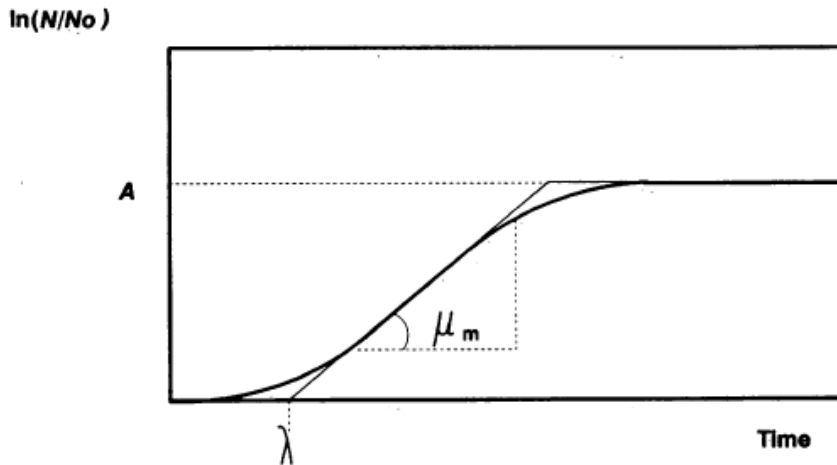
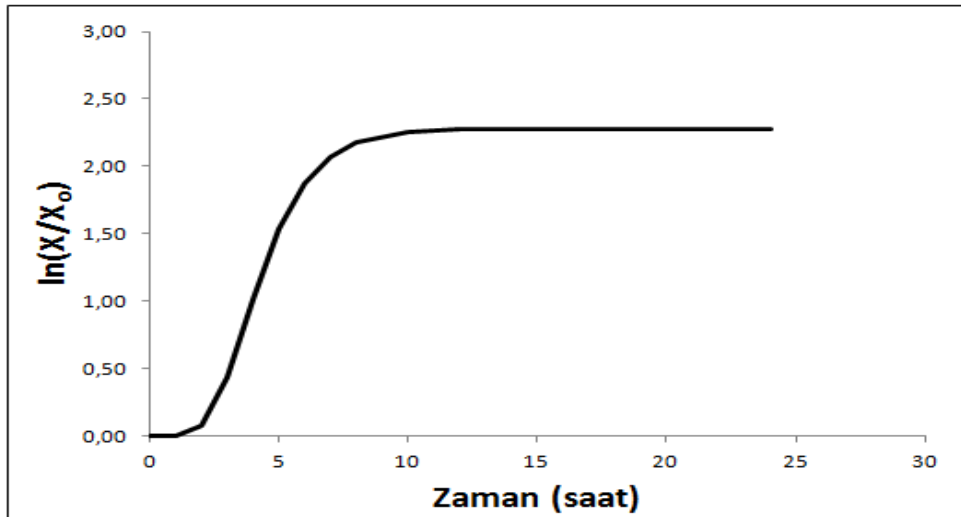


FIG. 1. A growth curve.

Şekil 4.3. Bir mikroorganizmanın gelişme eğrisi (Zwietering, 1991).

Lag fazı süresi (λ , saat), dönme noktasındaki teğetin x- eksenini kestiği noktanın orijine olan mesafesidir. *Maksimum populasyon yoğunluğu* (asimtot değer, A), populasyonun kaç kat arttığına (çoğaldığına) "ln"i şeklindedir. Grafiğin x- eksenini inkübasyon süresi (saat) olup y eksenini ise populasyon artış oranına başka bir ifade ile $\ln\left(\frac{X}{X_0}\right)$ şeklindedir. Bu nedenle elde edilen absorbans değerleri (A_b) kullanılmadan önce o gelişim eğrisi için başlangıç absorbansına bölünmüş $\left(\frac{A_b}{A_{b_0}}\right)$ ve sonra ln'i alınarak transforme edilmiştir. Eğrinin genel görüntüsü Şekil 4.4'te verilmiştir. Şekilde görüleceği gibi gelişim eğrisinin başlangıç anı için $A_b=A_0$ olduğunda $y = \ln\left(\frac{A_b}{A_{b_0}}\right) = 0$ olacaktır. Yani gelişim eğrisi orijinden başlar, dönme noktası tam ortasındadır ve simetrik bir şekilde asimtot değere ulaşır.

Verilerin modellenmesinde En Küçük Kareler prensibine dayanarak çalışan doğrusal olmayan regresyon hesaplama biçimi kullanılmıştır. Hesaplama SPSS 11.5 paket programının doğrusal olmayan regresyon modülünden yararlanılmıştır. Bu modelleme işlemi (2 suş) x (2 adaptasyon) x (11 tuz konsantrasyonu) x (3 paralel) olmak üzere toplam 132 adet gelişme denemesi için yapılmıştır. Gelişimi en iyi ifade eden μ_{\max} değerleridir. Bu nedenle sadece μ_{\max} değerlerinin çalışma faktörleri ile nasıl değiştiği ortaya konulmaya çalışılmıştır.



Şekil 4.4. *E. coli*'nin gelişim eğrisi.

Suş farklılığı, adaptasyon ve tuz konsantrasyonlarının μ_{\max} değerlerini etkileyip etkilemediğini ortaya koymada varyans analizinden yararlanılmıştır. Varyans analizinde de SPSS 11.5 paket programı kullanılmıştır.

Bunların dışında deney faktörlerinin (suş farklılığı, adaptasyon ve tuz konsantrasyonlarının) μ_{\max} değerini nasıl etkilediğini ortaya koymak üzere ikili karşılaştırmalar yapılmış olup Microsoft Office 2007 Excel Programı'ndan yararlanılmıştır.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma, patojen ve patojen olmayan iki *E. coli* suşunun tuza toleransının suş farklılığı, önceden tuza adapte edilip edilmediği ve tuz konsantrasyonları ile değişip değişmediğini ortaya koymak için yapılmıştır. Çalışma, her kombinasyonda 3'er paralel halinde yürütülmüştür. Şekil 5.1'de *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 suşunun SMAC agarda çizim yöntemi ile gelişen kolonilerinin görüntüsü verilmiştir.

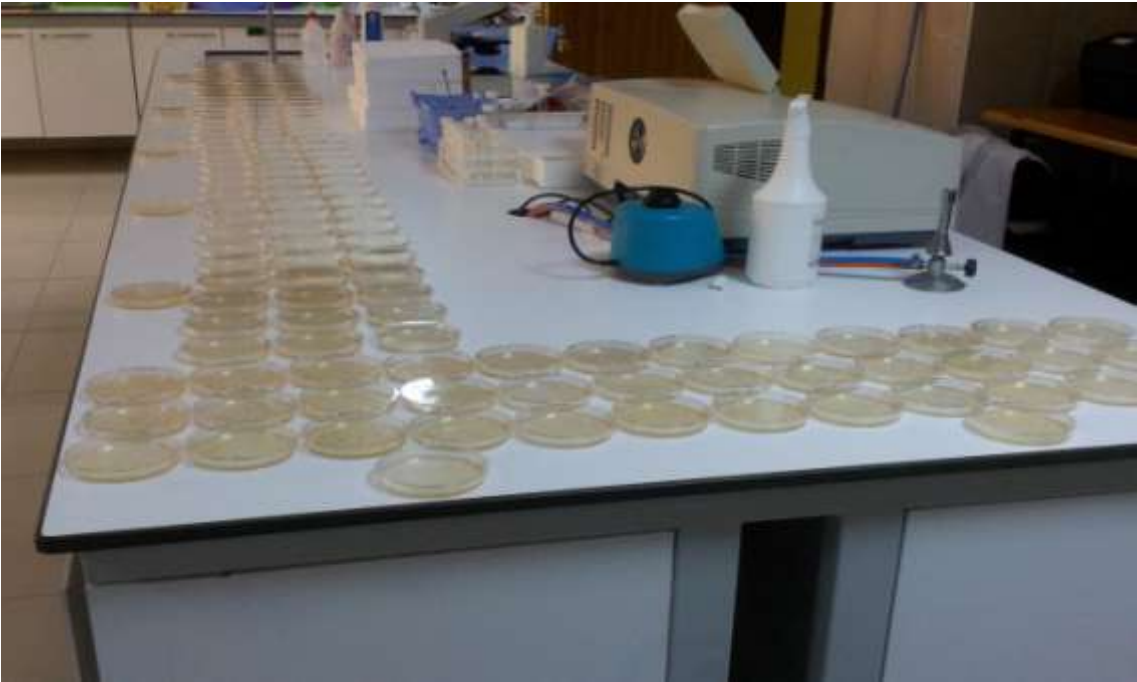


Şekil 5.1. *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 suşlarının SMAC agarda çizim yöntemi ile gelişen kolonilerinin görüntüsü.

Kültürlerin adaptasyonu metot 4.2.1.3'te belirtildiği gibi yapılmış ve kültüre bulaşının olup olmadığı her pasajda kültürel sayım ve gram boyama ile kontrol edilmiştir. Bulaşı gözlenen çalışmalar tamamen iptal edilerek yeniden başlatılmıştır. Kültürlerin çeşitli konsantrasyonlarda tuz içeren (% 0-10) TSB besiyerlerinde gelişimi hem kültürel sayım hemde absorbans ölçümü ile izlenmiştir. Kültürel sayım esas olarak kontrol amaçlı kullanılmış, şüphelenilen her koloniden hem gram boyama yapılarak hem de selektif agara (SMAC) ve genel amaçlı agara (TSA) çizim yapılarak koloniler kontrol edilmiştir. Şekil 5.2'de çalışmada yapılan kültürel sayım petrilerindeki kolonilerin görüntüsü, Şekil 5.3'te analiz sırasında absorbansı ölçülen örneklerin tümüne ait kültürel sayım petrilerinin görüntüsü, Şekil 5.4'te ise analizi yapılacak örneklerin absorbans ölçümü öncesindeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 5.2. Kültürel sayım yapılan petrilerdeki kolonilerin görüntüsü



Şekil 5.3. Analiz sırasında absorbanısı ölçülen örneklerin tümüne ait kültürel sayım petrilerinin görüntüsü.



Şekil 5.4. Analizi yapılacak örneklerin absorban ölçümü öncesindeki görüntüsü.

Gelişimin izlenmesinde kültürden periyodik olarak alınan örneklerdeki absorban değişiminden yararlanılmıştır. Absorbansların zamana karşı değişimi Modifiye Gompertz Modeli ile modellenmiş olup model parametrelerinin hesaplanmasında SPSS 11.5 programı kullanılmıştır.

Tüm suş, tuz konsantrasyonu ve adaptasyon kombinasyonlarında bu işlem yapılmış, gelişim paterni (kalıbı) grafik halinde çıkartılmış ve hesaplanan model parametrelerine karşı çizilen model eğrisi aynı kalıp üzerinde gösterilerek görsel olarakta gelişim verilerinin modele uygunluğu incelenmiştir. Bu şekilde, adapte edilmiş ve adapte edilmemiş olarak iki suşun 11'er tuz konsantrasyonundaki gelişim kurveleri ve gelişim paternlerine ait [(2 suş) x (2 adaptasyon) x (11 tuz konsantrasyonu) x (3 paralel)] 132 grafik Ek-1'de yer almaktadır.

Model parametrelerinin doğrusal olmayan regresyonla hesaplanmasına ait 2 örnek aşağıda verilmiştir. Bunlardan ilki gelişimin çok güçlü olduğu ve metot parametrelerinin çok iyi hesaplanabildiği bir örneğe aittir (Çizelge 5.1 ve 5.2). Örnekte;

tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin % 0 tuz konsantrasyonundaki 3 paralelden 1'inin gelişimine ait olan nonlinear varyans regresyon tablosu Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin % 0 tuz ortamındaki 1. paralelinin gelişim parametrelerine (A , μ , λ) ait varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması
Regrasyon	3	31.5246	10.5082
Hata	9	0.0288	0.0032
Düzeltilmemiş toplam	12	31.5534	
(Düzeltilmiş toplam)	11	10.2356	

$$R^2 = (1 - \text{hatanın kareler toplamı} / \text{düzeltilmiş kareler toplamı}) = 0.99718$$

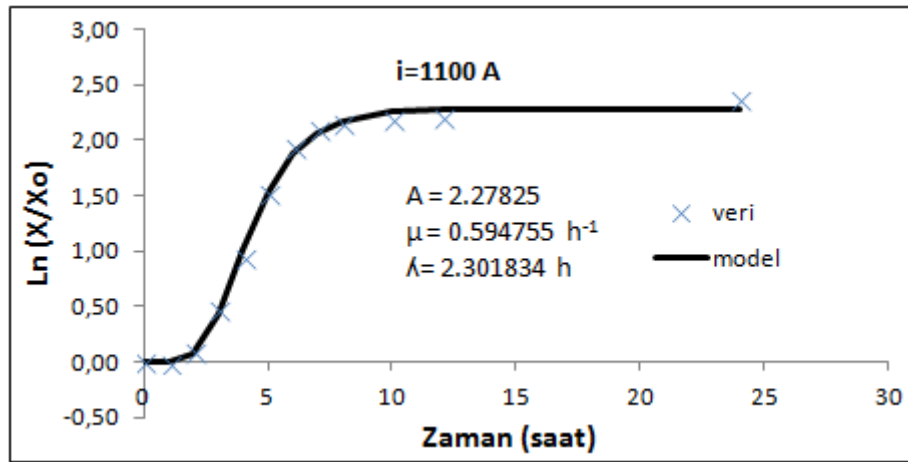
Çizelgede de görüldüğü üzere bu varyans analizine ait varyasyon katsayısı 0.99718'dir. Başka bir deyişle verilerdeki değişimin % 99.718'i model ile açıklanmaktadır.

Aynı gelişim kurvesine ait nonlinear regresyon ile hesaplanan parametrelerin değerleri, standart sapmaları ve güven aralıkları Çizelge 5.2'de verilmiştir. Bu parametreler kullanılarak çizilen gelişim kurvesi ise Şekil 5.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin % 0 tuz ortamındaki 1. paralelinin Modifiye Gompertz Modeli gelişim parametreleri (A , μ , λ), bunların standart sapmaları ve güven aralıkları

Parametreler	Hesaplanan Değer	Asimptotik Standart Hata	Asimtotik %95'lik Güven aralığı	
			En Düşük	En Yüksek
A	2.2782	0.0315	2.2070	2.3494
μ	0.5947	0.0344	0.5169	0.6725
λ	2.3018	0.1146	2.0426	2.5611

Çizelge 5.2'de A değeri bize kültür yoğunluğunun en fazla kaç "ln" birim anlattığını göstermektedir. İkinci parametre olan μ_{\max} ile model eğrisinin dönüm noktasındaki eğimi olup birim zamanda (saatte) kültürün gelişme oranını vermektedir. 3. parametre olan lag fazı süresi (λ) gelişmenin başladığı anı vermektedir. Bu üç parametrenin değerleri kullanılarak çizilen model eğri ve hesaplamada kullanılan verilere ait grafik şekil 5.5'te görülmektedir.



Şekil 5.5. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin %0 tuz ortamındaki 1. paralelinin gelişim kurvesi.

Çizelgenin bir sonraki sütununda her bir parametrenin standart sapması ve son iki sütununda güven aralığı görülmektedir. Tuz konsantrasyonları arttıkça mikroorganizmanın maksimum spesifik gelişme hızı ve maksimum populasyon yoğunluğu (asimtot değeri) azalmakta ve lag fazı süresi artmaktadır. Benzer bulgular Glass ve ark. (1992), tarafından da elde edilmiştir. Bu araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada *E. coli* O157:H7'nin canlı kalma oranı üzerinde, asit ve NaCl'nin etkisi araştırılmışlardır. Bu araştırmacılar, *E. coli* O157:H7'nin % 6.5 gibi yüksek NaCl konsantrasyonunda gelişebildiğini ve bu tuz konsantrasyonunda lag fazı süresinin normalden daha uzun sürdüğünü ortaya koymuşlardır.

Son üç sütunda yer alan değerler (standart sapma, en küçük ve en büyük) ise tuz konsantrasyonundan değil, devamlı sabit kalan absorbans ölçümünün standart hatasından etkilenmektedir. Bu durum özellikle % 5 ve % 10 tuz konsantrasyonlarında görülmektedir. Bu tuz konsantrasyonlarında çoğu kurvede % 0'a yaklaşmış olan A ve

μ_{\max} değerlerine ait güven aralığının içine 0 (sıfır) girmektedir. Bu durum aslında modelin başarısız olması ile ilgili değil, hatanın küçülen parametreler karşısında daha önemli hale gelmesi ile ilgilidir. Çalışmamızda yine de güven aralığı içine 0 (sıfır) giren parametrelerin değerleri daha sonraki istatistiki hesaplamalarda kullanılmamıştır. Böyle bir gelişim kurvesine ait varyans analiz tablosu, verilerin tablosu ve grafiği Çizelge 5.3 ve Çizelge 5.4 ile Şekil 5.6'da görülmektedir.

Çizelge 5.3. Tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin % 6 tuz ortamındaki 2. paralelinin gelişim parametrelerine (A, μ , Λ) ait varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması
Regrasyon	3	1.8718	0.6239
Hata	7	0.0268	0.0038
Düzeltilmemiş toplam	10	1.8986	
(Düzeltilmiş toplam)	9	1.2947	

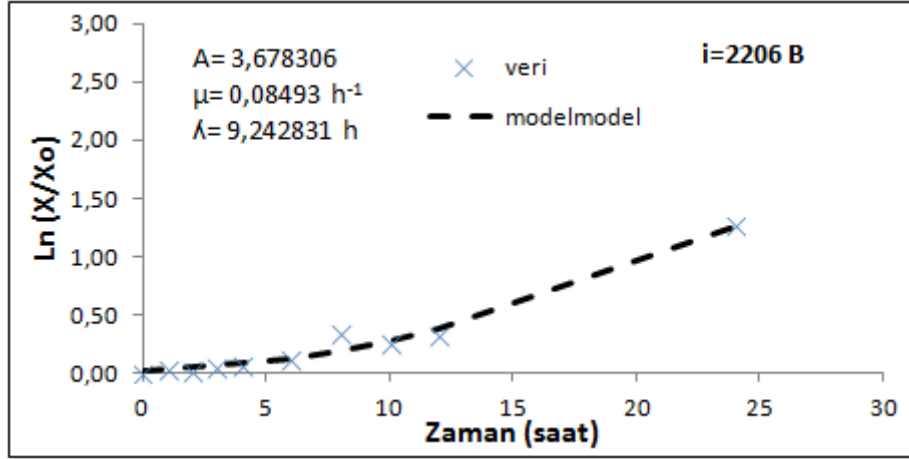
$$R^2 = (1 - \text{hatanın kareler toplamı} / \text{düzeltilmiş kareler toplamı}) = 0.97932$$

Çizelge 5.4. Tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin % 6 tuz ortamındaki 2. paralelinin Modifiye Gompertz Modeli gelişim parametreleri (A, μ , Λ), bunların standart sapmaları ve güven aralıkları

Parametreler	Hesaplanan Değer	Asimptotik Standart Hata	Asimtotik % 95'lik Güven aralığı	
			En Düşük	En Yüksek
A	3.6783	3.1920	-3.8695	11.2261
μ	0.0849	0.0318	0.0097	0.1601
L	9.2428	5.3667	-3.4474	21.9331

Şekil 5.6'da kesikli çizgi ile gösterilen başka bir deyişle parametrelerin bir veya bir kaçının güven aralığının içine sıfırın girdiği bu gelişim kurveleri, parametreler

üzerine faktörlerin (suş farkı, adaptasyon ve tuz konsantrasyonu) etkilerini gösteren istatistiki değerlendirmeye alınmamıştır. Bu nedenle 132 adet kurvenin sadece 86 adeti, parametrelerin üzerine faktörlerin etkisini değerlendirmede kullanılmıştır. Çizelge 5.5'de % 5 - % 95 güven aralığı içine 0 (sıfır) girmeyen gelişim kurvesi parametreleri verilmiştir.



Şekil 5.6. Tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin % 6 tuz ortamındaki 2. paralelinin gelişim kurvesi.

5.1. Maksimum Spesifik Gelişme Hızı (μ_{max}) Üzerine Suş Farklılığının, Adaptasyonun ve Tuz Konsantrasyonlarının Etkisi

Çizelgelerde yer alan üç parametre içinden gelişimi en iyi ifade eden parametre μ_{max} 'tır. Bu nedenle deney parametrelerinin (suş farklılığı, adaptasyon, tuz konsantrasyonu) gelişim üzerine etkisi, sadece μ_{max} ile açıklanmaya çalışılmıştır. Diğer iki parametre ve üç parametreyi birlikte yorumlayan (eğri altında kalan alan gibi) farklı değerlendirme biçimlerine ihtiyaç duyulmamıştır. Ancak daha sonra veriler üzerinden bu tarz çalışmalara imkan verilebilmesi için tüm absorbans değerleri Ek-3 verilmiştir.

Deney parametrelerinin spesifik gelişme hızı üzerine etkileri varyans analizi ile incelenmiştir. Bu incelemede parametrelerinin güven aralığı içine 0 (sıfır)'ın girmediği 86 adet kurvenin μ_{max} değerleri kullanılmıştır. μ_{max} 'lara ait varyans analiz tablosu çizelge 5.6 de verilmiştir.

Çizelge 5.5. Güven aralığı içine 0 (sıfır) girmeyen gelişim kurvesi parametreleri

PARALEL NO	SUŞ NO	ADAP TASYON	TUZ	A	μ	L	R^2
1	1	1	0	2.2782	0.5948	2.3018	0.9972
2	1	1	0	2.3158	0.5467	1.4748	0.9971
3	1	1	0	2.3456	0.5696	1.4798	0.9977
1	1	1	1	2.1527	0.4379	2.1107	0.9971
2	1	1	1	2.1404	0.4223	1.4881	0.9922
3	1	1	1	2.3515	0.5519	1.6874	0.9985
1	1	1	2	2.0778	0.3426	3.4149	0.9974
2	1	1	2	2.1308	0.3866	2.7107	0.9952
3	1	1	2	2.3101	0.4827	2.3429	0.9977
1	1	1	3	2.1695	0.3861	4.3140	0.9986
2	1	1	3	2.1422	0.3216	3.9434	0.9983
3	1	1	3	2.1979	0.3891	3.6518	0.9971
1	1	1	4	1.9154	0.1601	9.3994	0.9915
2	1	1	4	2.0720	0.1648	6.3118	0.9996
3	1	1	4	2.0575	0.2305	5.8830	0.9911
2	1	1	5	0.7376	0.0391	9.5683	0.9873
1	1	2	0	2.6512	0.5719	1.8362	0.9972
2	1	2	0	2.6312	0.5838	1.8253	0.9975
3	1	2	0	2.6529	0.5690	1.6077	0.9962
1	1	2	1	2.5335	0.4947	1.9246	0.9976
2	1	2	1	2.4785	0.4889	1.9596	0.9976
3	1	2	1	2.5185	0.4995	1.8425	0.9983
1	1	2	2	2.5253	0.4130	2.2704	0.9972
2	1	2	2	2.5532	0.4368	2.2673	0.9973
3	1	2	2	2.5462	0.4269	2.2512	0.9970
1	1	2	3	2.4893	0.3331	2.8340	0.9965
2	1	2	3	2.4725	0.3295	2.8374	0.9966
3	1	2	3	2.5490	0.3406	2.6814	0.9961
1	1	2	4	2.3945	0.2457	3.6110	0.9975
2	1	2	4	2.4298	0.2547	3.3220	0.9962
3	1	2	4	2.5550	0.2956	3.3193	0.9947
1	1	2	5	2.5622	0.1313	3.7332	0.9996
2	1	2	5	2.5722	0.1556	3.5408	0.9996
3	1	2	5	2.4756	0.1824	4.0253	0.9987
1	1	2	6	1.5075	0.0674	3.9352	0.9964
2	1	2	6	2.1523	0.0854	4.2610	0.9971
3	1	2	6	1.8659	0.0769	3.6997	0.9983
1	1	2	7	0.3913	0.0298	2.9251	0.9985
2	1	2	7	0.5479	0.0373	2.6076	0.9981
3	1	2	7	0.7279	0.0439	3.1013	0.9947
1	1	2	8	0.3836	0.0234	3.3319	0.9886
2	1	2	8	0.2767	0.0149	2.6003	0.9535
3	1	2	8	0.1643	0.0216	1.5779	0.9686

Çizelge 5.5. Güven aralığı içine 0 (sıfır) girmeyen gelişim kurvesi parametreleri
(Devamı)

PARALEL NO	SUŞ NO	ADAP TASYON	TUZ	A	μ	L	R^2
1	2	1	0	2.2511	0.4585	1.9782	0.9981
2	2	1	0	2.2876	0.4778	1.8078	0.9982
3	2	1	0	2.2386	0.4789	1.7547	0.9977
1	2	1	1	2.3523	0.4452	2.0483	0.9990
2	2	1	1	2.4011	0.4787	1.9650	0.9987
3	2	1	1	2.3671	0.4736	1.8969	0.9985
1	2	1	2	2.3152	0.3765	2.6026	0.9981
2	2	1	2	2.3109	0.3790	2.5185	0.9985
3	2	1	2	2.4232	0.3949	2.3448	0.9989
1	2	1	3	2.3418	0.2984	3.7807	0.9977
2	2	1	3	2.2945	0.2920	3.4980	0.9964
3	2	1	3	2.3907	0.3014	3.3433	0.9961
1	2	1	4	2.3641	0.1804	5.8009	0.9992
2	2	1	4	2.2341	0.2009	5.4033	0.9987
3	2	1	4	2.3277	0.2112	4.9498	0.9984
1	2	1	5	2.8160	0.1414	9.3154	0.9993
2	2	1	5	3.1207	0.1404	8.1175	1.0000
3	2	1	5	3.2419	0.1366	8.3511	0.9999
1	2	1	6	3.3918	0.0876	13.5169	0.9995
2	2	1	6	2.4152	0.0696	11.2207	0.9994
3	2	1	6	2.2231	0.0748	11.2553	0.9992
1	2	2	0	2.5691	0.4855	2.5076	0.9978
2	2	2	0	2.5272	0.4812	2.4720	0.9970
3	2	2	0	2.5716	0.4981	2.2825	0.9974
1	2	2	1	2.6027	0.4364	2.7514	0.9959
2	2	2	1	2.6117	0.4336	2.5422	0.9950
3	2	2	1	2.6039	0.4663	2.5438	0.9973
1	2	2	2	2.5571	0.3755	3.3593	0.9975
2	2	2	2	2.5748	0.3796	3.1576	0.9959
3	2	2	2	2.6177	0.3885	2.9410	0.9969
1	2	2	3	2.4553	0.3115	4.6666	0.9957
2	2	2	3	2.5385	0.2985	3.8988	0.9964
3	2	2	3	2.5825	0.3302	3.5950	0.9953
1	2	2	4	2.6447	0.1895	4.6439	0.9992
2	2	2	4	2.6134	0.1908	4.6796	0.9994
3	2	2	4	2.6330	0.1881	4.6051	0.9995
1	2	2	5	3.5239	0.1321	6.6638	0.9996
2	2	2	5	4.0979	0.1355	7.2299	0.9998
3	2	2	5	3.7394	0.1343	7.0788	0.9995
1	2	2	6	3.0234	0.0744	8.8219	0.9980
3	2	2	6	1.8879	0.0703	8.4318	0.9988
2	2	2	7	0.7474	0.0210	2.6091	0.9899
3	2	2	7	0.4376	0.0202	3.6557	0.9972

Çizelge 5.6. Maksimum spesifik gelişme hızı (μ_{\max}) değerlerinin faktörlere göre değişimine ait varyans analizi

Varyans Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F-Değeri	Önemlilik
Düzeltilmiş Model	2.525(a)	29	0.087	142.352	0.000
Kesim Noktası	5.006	1	5.006	8185.208	0.000
Suş No	0.011	1	0.011	17.253	0.000
Adaptasyon	0.005	1	0.005	7.995	0.006
Tuz	2.297	8	0.287	469.413	0.000
Suş No * Adaptasy	0.006	1	0.006	9.113	0.004
Suş No * Tuz	0.024	7	0.003	5.719	0.000
Adaptasyon * Tuz	0.007	6	0.001	1.881	0.100
Suş No * Adaptasyon * Tuz	0.013	5	0.003	4.195	0.003
Hata	0.034	56	0.001		
Toplam	10.013	86			
Düzeltilmiş Toplam	2.559	85			

Çizelge 5.6'de görüldüğü üzere esas faktör olarak *suş no* ($p < 0.001$), *adaptasyon* ($p = 0.006$), *tuz konsantrasyonu* ($p < 0.001$), *suş no x adaptasyon interaksyonu* ($p = 0.004$), *suş no x tuz konsantrasyonu interaksyonu* ($p < 0.001$), *suş no x adaptasyon x tuz konsantrasyonu interaksyonu* (3'lü interaksyon) önemli bulunmuş ve *adaptasyon x tuz konsantrasyonu* önemli bulunmamıştır. Önemli bulunan faktörlerin ve kombinasyonlarının μ_{\max} değerlerini nasıl değiştirdikleri aşağıda tablolar ve grafikler şeklinde izah edilmiştir.

Çizelge 5.6'da görüleceği üzere en büyük varyasyon kaynağı tuz konsantrasyonu olmuştur. Örneğin; suşa ait kareler toplamı 0.011, adaptasyona ait kareler toplamı 0.005 iken tuz konsantrasyonlarının etkisine ait kareler toplamı 2.297 ($F = 469.413$)'dir. Bu nedenle ilk olarak tuz konsantrasyonunun spesifik gelişme hızı üzerine etkisi ele alınmıştır.

5.2. NaCl'e Adapte Edilmiş ve Adapte Edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması

Suş no x adaptasyon x tuz konsantrasyonu interaksyonu önemli olduğu için tuz konsantrasyonlarının μ_{\max} üzerine etkisi her suş ve adaptasyon kombinasyonlarında ayrı

ayrı değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme her tuz x adaptasyon x suş no kombinasyonda yer alan paralellerin ortalamalarının ve standart sapmalarının karşılaştırılması halinde Çizelge 5.7, 5.8, 5.9 ve 5.10'da yer almaktadır. Karşılaştırmada kullanılan Duncan tabloları ise sırası ile Ek-4, 5, 6 ve 7'de verilmiştir.

E. coli ATCC 25922'nin NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} 'larına ait karşılaştırmalarının Duncan tablosu Ek-4'te verilmiştir. Çizelge 5.7'de ise ortalama μ_{max} değerleri Duncan sınıflama değerleri ile birlikte verilmiştir.

En düşük ortalama μ_{max} değerleri NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin % 6, % 7 ve % 8 tuz içeren TSB besiyerlerindeki gelişiminde görülmüştür. Ancak aynı konsantrasyonlarda tuz içeren besiyerlerinde tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürleri belirgin bir üreme göstermediği için bu tuz konsantrasyonlarında güvenli birer μ_{max} değeri hesaplanamamıştır. NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün % 5 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değeri, adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürün ortalama μ_{max} değerine göre önemli ölçüde büyüktür ($p<0.05$). Fakat NaCl'e adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün % 5 tuz konsantrasyonunda tek bir μ_{max} değeri bulunduğundan istatistiki bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün % 5 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değeri ile adapte edilmemiş kültürün % 4 tuz içeren besiyerindeki ortalama μ_{max} değerleri aynı Duncan sınıfında yer almaktadır. Başka bir deyişle, tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün % 5 tuz ortamındaki ortalama μ_{max} 'ı, tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün % 4 tuz ortamındaki ortalama μ_{max} 'ı kadar hızlıdır. Tuza adapte edilmiş ve edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin % 4 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değerleri karşılaştırıldığında, adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürüne ait ortalama μ_{max} değeri adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün ortalama μ_{max} değerinden istatistiki önemlilikte yüksektir ($p<0.05$). Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürünün % 3 tuz ortamındaki ortalama μ_{max} değeri % 4 tuz ortamındaki ortalama μ_{max} değerinden önemli derecede büyük ($p<0.05$) ve % 2 tuz ortamındaki ortalama μ_{max} değerinden önemli derecede küçüktür ($p<0.05$). Ancak % 3 tuz konsantrasyonunda, tuza

adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin ortalama μ_{\max} değeri arasında fark önemli olmamıştır ($p>0.05$).

Çizelge 5.7. *E. coli* ATCC 25922 suşunun % 5 NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{\max} değerlerinin karşılaştırılması

Tuz Kons. (%)	Adapte Edilmiş	Adapte Edilmemiş
0	0.5749 ⁽⁹⁾ ± 0.0078	0.5703 ⁽⁹⁾ ± 0.0241
1	0.4944 ⁽⁸⁾ ± 0.0053	0.4707 ^(7,8) ± 0.0707
2	0.4256 ^(6,7) ± 0.0120	0.4040 ^(5,6) ± 0.0241
3	0.3344 ⁽⁴⁾ ± 0.0057	0.3656 ^(4,5) ± 0.0381
4	0.2653 ⁽³⁾ ± 0.0266	0.1851 ⁽²⁾ ± 0.0393
5	0.1564 ⁽²⁾ ± 0.0256	0.0391*
6	0.0766 ⁽¹⁾ ± 0.0090	
7	0.0370 ⁽¹⁾ ± 0.0071	
8	0.0200 ⁽¹⁾ ± 0.0044	

* Tek sonuç olduğu için Duncan sınıflamasına dahil olamamıştır.

Benzer durum, tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin % 2, % 1 ve % 0 tuz konsantrasyonları içinde geçerlidir. Bu 3 tuz konsantrasyonunda (% 2, % 1 ve % 0), ortalama μ_{\max} değerleri birbirinden önemli derecede farklı olup azalan tuz değeri ile artış göstermektedirler. Adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin her üç tuz konsantrasyonundaki (% 2, % 1 ve % 0) ortalama μ_{\max} değeri, adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin aynı tuz konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında her üçünde de fark istatistiki olarak önemsizdir ($p>0.05$).

5.3. NaCl'e Adapte Edilmiş ve Adapte Edilmemiş *E. coli* O157:H7 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması

E. coli O157:H7 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-7 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu Ek-5'te verilmiştir. Çizelge 5.8'de ise ortalama μ_{\max} değerlerinin Duncan sınıflama değerleri ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 5.8. *E. coli* O157:H7 türünün % 5 NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-7 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değerlerinin karşılaştırılması

Tuz Kons. (%)	Adapte Edilmiş	Adapte Edilmemiş
0	0.4882 ⁽⁹⁾ \pm 0.0088	0.4717 ^(8,9) \pm 0.0115
1	0.4454 ⁽⁷⁾ \pm 0.0181	0.4658 ⁽⁸⁾ \pm 0.0181
2	0.3812 ⁽⁶⁾ \pm 0.0066	0.3835 ⁽⁶⁾ \pm 0.0100
3	0.3134 ⁽⁵⁾ \pm 0.0159	0.2972 ⁽⁵⁾ \pm 0.0048
4	0.1895 ⁽⁴⁾ \pm 0.0013	0.1975 ⁽⁴⁾ \pm 0.0157
5	0.1340 ⁽³⁾ \pm 0.0017	0.1395 ⁽³⁾ \pm 0.0025
6	0.0723 ⁽²⁾ \pm 0.0029	0.0773 ⁽²⁾ \pm 0.0093
7	0.0206 ⁽¹⁾ \pm 0.0006	

Çizelge 5.8'e göre *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmiş kültürünün % 0-7 tuz içeren TSB besiyerinde spesifik gelişme hızlarının ortalama değerleri (ortalama μ_{max}), artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azalmış ve her tuz konsantrasyonundaki ortalama μ_{max} değerleri birbirinden istatistiki önemlilikte ($p < 0.05$) farklı bulunmuştur. *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmemiş kültürleri için de aynı durum söz konusudur. Ancak *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmemiş kültürlerinden sadece % 0 ve % 1 tuz içeren besiyerindeki kültürlerinin ortalama μ_{max} değerlerinin birbirinden farkları önemsizdir ($p > 0.05$).

E. coli O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, % 0, % 2, % 3, % 4, % 5 ve % 6 tuz içeren TSB besiyerlerindeki μ_{max} 'ların ortalamaları arasındaki farklar istatistiki olarak önemsizdir ($p > 0.05$). NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 kültürünün % 1 tuz içeren besiyerindeki ortalama μ_{max} 'lar, adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 kültürünün ortalama μ_{max} 'larından istatistiki önemlilikte küçüktür ($p < 0.05$).

Yaptığımız çalışmada adapte edilen kültürlerin en fazla % 7-8 (*E. coli* ATCC 25922 için % 8, *E. coli* O157:H7 için % 7) tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterdiği, buna karşın adapte edilmemiş kültürlerin adapte edilmişlere göre % 1-2 tuz konsantrasyonunda geri kaldıkları görülmüştür. Ancak adapte edilmiş ve edilmemiş

hiçbir kültür % 10 tuz konsantrasyonunda kaydedilebilir bir gelişme göstermemiştir. Goh ve ark. (2012), yaptıkları bir çalışmada % 8 tuza kadar 80 gün süre ile yaptıkları adaptasyon sonucunda (80 pasajlamada) adapte edilen kültürlerin % 11'lik tuz konsantrasyonlarında bile gelişebildiklerini bildirmişlerdir. Düşük düzeyde de olsa bu farkın nedeni, bizim adaptasyon çalışmamızda daha düşük bir tuz konsantrasyonu (% 5) ve daha kısa süreli (10 gün) bir adaptasyonun olması ile ilgili olabilir. Ancak her iki çalışmada kültür ortamında *E. coli* suşunun tuza adaptasyonu ile yüksek tuz ortamlarında gelişebileceğini göstermeleri yönünden paralellik göstermiştir.

5.4. NaCl'e Adapte Edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 Suşunun Ortalama μ_{max} Değerlerinin Karşılaştırılması

NaCl'e adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-6 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu Ek-6'da verilmiştir. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-6 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{max} değerlerinin karşılaştırılması Çizelge 5.9'da verilmiştir.

Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin ortalama μ_{max} değerleri karşılaştırıldığında, % 0 ve % 3 tuz konsantrasyonunda tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7'den istatistik önemlilikte daha hızlı gelişmiştir ($p < 0.05$). Adapte edilmemiş iki suşun % 1, % 2 ve % 4 tuz konsantrasyonlarında ise ortalama μ_{max} değerleri arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). Ancak % 5 ve % 6 tuz konsantrasyonlarında ise adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 belirgin bir gelişme gösteremezken adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 gelişme göstermiştir. Bu durum, yüksek tuz konsantrasyonları için patojen *E. coli*'nin daha dayanıklı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Çizelge 5.9. NaCl'e adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-6 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{\max} değerlerinin karşılaştırılması

Tuz Kons. (%)	Adapte Edilmemiş <i>E. coli</i> ATCC 25922	Adapte Edilmemiş <i>E. coli</i> O157:H7
0	0.5703 ⁽⁶⁾ ± 0.0241	0.4717 ⁽⁵⁾ ± 0.0115
1	0.4707 ⁽⁵⁾ ± 0.0707	0.4658 ⁽⁵⁾ ± 0.0181
2	0.4040 ⁽⁴⁾ ± 0.0241	0.3835 ⁽⁴⁾ ± 0.0100
3	0.3656 ⁽⁴⁾ ± 0.0381	0.2972 ⁽³⁾ ± 0.0048
4	0.1851 ⁽²⁾ ± 0.0393	0.1975 ⁽²⁾ ± 0.0157
5	0.0391*	0.1395 ⁽²⁾ ± 0.0025
6		0.0773 ⁽¹⁾ ± 0.0093

* Tek sonuç olduğu için Duncan sınıflamasına dahil olamamıştır.

5.5. NaCl'e Adapte Edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 Suşunun Ortalama μ_{\max} Değerlerinin Karşılaştırılması

NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu Ek-7'de verilmiştir. Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki ortalama μ_{\max} değerlerinin karşılaştırılması Çizelge 5.10'da verilmiştir.

Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin ortalama μ_{\max} değerleri karşılaştırıldığında, 5 tuz konsantrasyonunda (% 0, % 1, % 2, % 4 ve % 5 tuz içeren TSB besiyerinde) gelişen kültürlerin hepsinde tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* O157:H7'den istatistiksel önemlilikte daha hızlı gelişmiştir ($p < 0.05$). Tuza adapte edilmiş iki suşun, % 3 ve % 6 tuz içeren besiyerindeki ortalama μ_{\max} değerleri arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). Her iki suşun % 7 tuz konsantrasyonunda ve *E. coli* ATCC 25922'nin % 8 tuz konsantrasyonunda ortalama μ_{\max} değerleri de istatistiki olarak birbirinden farklı değildir. Tuza adapte edilmiş kültürlerden *E. coli* ATCC 25922, genel olarak daha yüksek bir maksimum spesifik gelişme hızı göstermiştir.

Çizelge 5.10. NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması

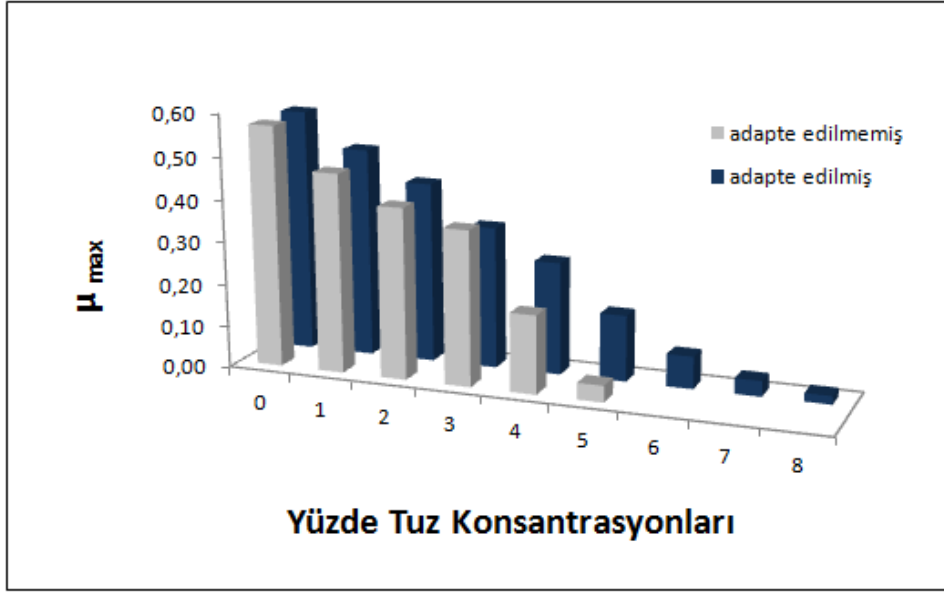
Tuz Kons. (%)	Adapte Edilmiş <i>E. coli</i> ATCC 25922	Adapte Edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7
0	0.5749 ⁽¹¹⁾ ± 0.0078	0.4882 ⁽¹⁰⁾ ± 0.0088
1	0.4944 ⁽¹⁰⁾ ± 0.0053	0.4454 ⁽⁹⁾ ± 0.0181
2	0.4256 ⁽⁹⁾ ± 0.0120	0.3812 ⁽⁸⁾ ± 0.0066
3	0.3344 ⁽⁷⁾ ± 0.0057	0.3134 ⁽⁷⁾ ± 0.0159
4	0.2653 ⁽⁶⁾ ± 0.0266	0.1895 ⁽⁵⁾ ± 0.0013
5	0.1564 ⁽⁴⁾ ± 0.0256	0.1340 ⁽³⁾ ± 0.0017
6	0.0766 ⁽²⁾ ± 0.0090	0.0723 ⁽²⁾ ± 0.0029
7	0.0370 ⁽¹⁾ ± 0.0071	0.0206 ⁽¹⁾ ± 0.0006
8	0.0200 ⁽¹⁾ ± 0.0044	

5.6. Suşların Maksimum Spesifik Gelişme Hızının Farklı Tuz Konsantrasyonlarına Göre İkili Olarak Karşılaştırması

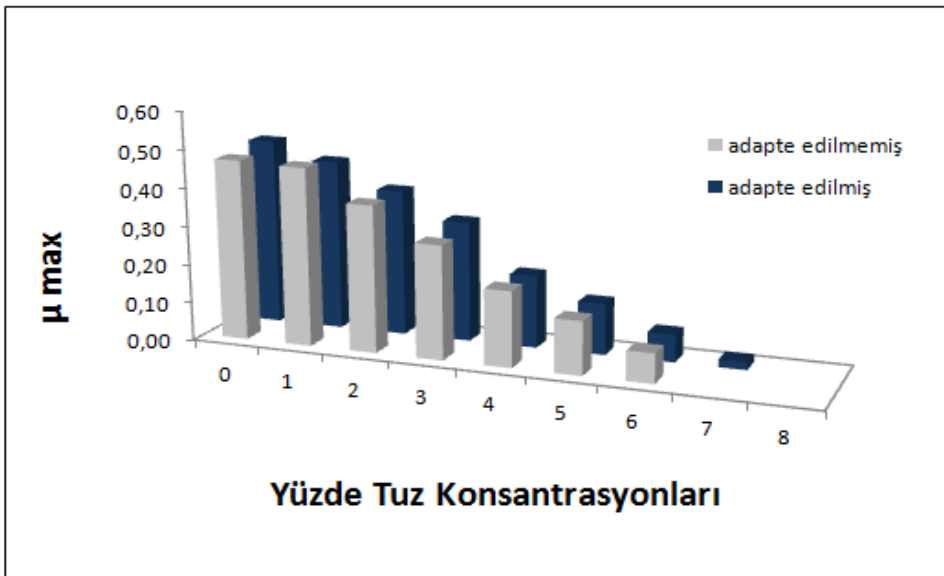
Modifiye Gompertz Modeli kullanılarak hesaplanan gelişim kurvesi parametrelerinden maksimum spesifik gelişim hızının suş ve adaptasyon üzerine olan etkileri ikili grafikler şeklinde açıklanmıştır. Şekil 5.7'te *E. coli* ATCC 25922 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve adapte edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki ortalama maksimum spesifik gelişme hızları (μ_{\max}) karşılaştırılmıştır. Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin μ_{\max} 'ı genel olarak adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin μ_{\max} 'ından daha büyüktür. Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922, % 8 tuz konsantrasyonuna kadar gelişme gösterirken adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 % 5 tuz konsantrasyonuna kadar gelişme göstermiştir.

E. coli O157:H7 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki maksimum spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması Şekil 5.8'te yapılmıştır. İki kültürün μ_{\max} 'ları farklılık göstermektedir. Tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 suşunun % 1 ve % 3 tuz konsantrasyonlarındaki μ_{\max} 'ı adapte

edilmemiş *E. coli* O157:H7 suşununkinden daha yüksek iken diğer tuz konsantrasyonlarında adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7'nin μ_{max} 'ı adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin μ_{max} 'ından daha yüksek olmuştur.



Şekil 5.7. *E. coli* ATCC 25922 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki ortalama maksimum spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması.

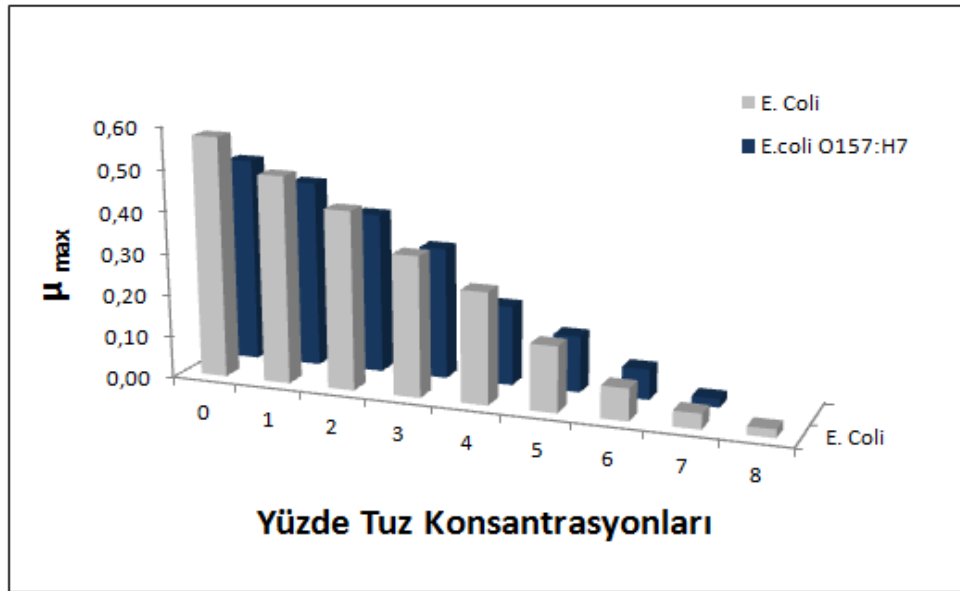


Şekil 5.8. *E. coli* O157:H7 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki ortalama maksimum spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması.

Her iki suşun (*E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7) NaCl'e adapte edilmiş ve adapte edilmemiş kültürlerinin ortalama μ_{max} değerlerinin tuza bağlı değişimlerinin karşılaştırılması ise Şekil 5.9 ve Şekil 5.10'da verilmiştir.

Şekil 5.9'da NaCl'e adapte edilmiş suşlar karşılaştırılmıştır. Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin tüm tuz konsantrasyonlarındaki ortalama μ_{max} değeri tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin ortalama μ_{max} değerinden daha yüksek olmuştur. Adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922, % 8 tuz konsantrasyonuna kadar gelişim gösterebilirken adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin gelişim gösterdiği tuz konsantrasyonu % 7'de kalmıştır.

NaCl'e adapte edilmemiş suşların ortalama maksimum spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması ise Şekil 5.10'da yapılmıştır. Ancak tuza adapte edilmemiş kültürlerde % 3'e kadar olan düşük tuz konsantrasyonlarında *E. coli* ATCC 25922'nin μ_{max} 'ı daha yüksek iken % 4 ve üzerindeki tuz konsantrasyonlarında ise *E. coli* O157:H7'nin μ_{max} 'ı daha yüksektir. Bu durumu patojenin direnç mekanizması sayesinde adapte edilmemiş kültüründe bile *E. coli* O157:H7'nin tuza karşı daha dirençli olduğu şeklinde izah edilebilir.



Şekil 5.9. *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki ortalama maksimum spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması.

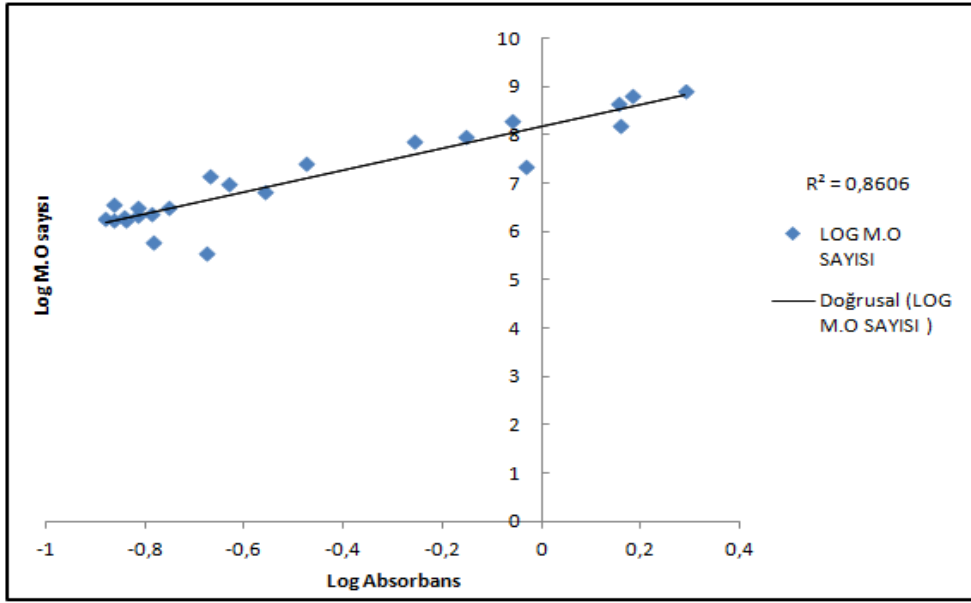


Şekil 5.10. *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmemiş kültürlerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki ortalama maksimum spesifik gelişme hızlarının karşılaştırılması.

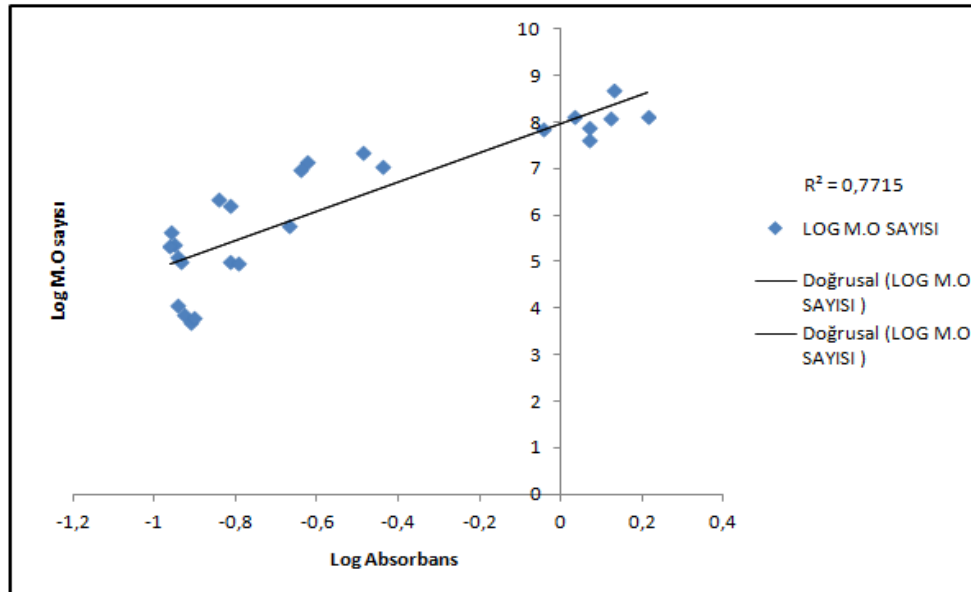
5.7. Suşların Kültürel Sayım Sonuçları ile Absorbans Değerleri Arasındaki İlişki

Absorbans değerleri okunan kültürlerin başlangıç inokulasyon miktarları NaCl'e adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 için 8.90 log kob/ml, adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 için 7.61 log kob/ml, adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 için 8.82 log kob/ml adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 için ise 7.37 log kob/ml olmuştur. Kültürel sayım sonucunda tüm kültürlerin 10^8 - 10^9 kob/ml arasında ürediği görülmüştür. Suşların kültürel sayım sonuçları ile absorbans değerleri arasındaki ilişki iki değerinde logaritması alınarak gösterilmiştir. Açıklanmak istenilen ilişki grafikler şeklinde Şekil 5.11, 5.12, 5.13 ve 5.14'te gösterilmiştir.

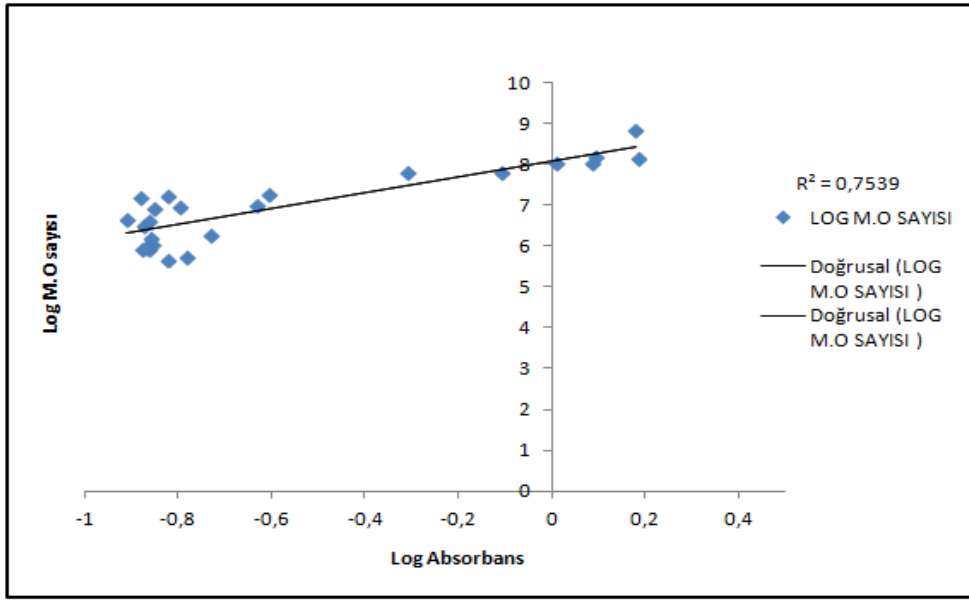
Tüm grafiklerde Log Absorbans = 0 için (absorbans = 1) log kob/ml değeri 8 civarında olduğu görülmekte ve tüm grafiklerde log m.o sayısı/log absorbans ilişkisi aynı eğimde görülmektedir. Buna dayanarak 1 absorbansın kabaca 10^8 kob/ml'ye denk geldiği ve absorbansların kültürel sayımdaki 4 grafikte (Şekil 5.11, 5.12, 5.13 ve 5.14) benzer olduğu görülmektedir.



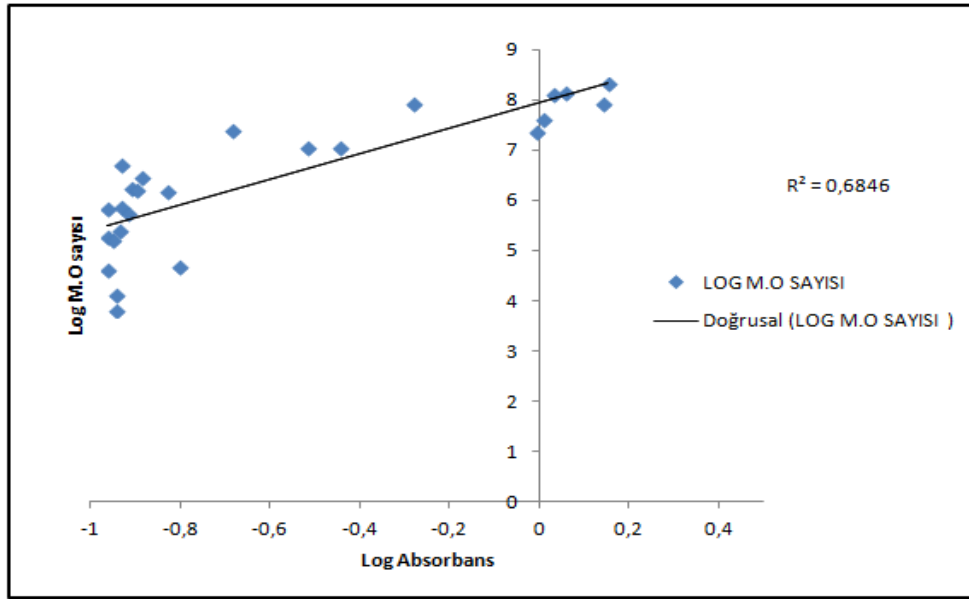
Şekil 5.11. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin kültürel sayım absorbans ilişkisi.



Şekil 5.12. Tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin kültürel sayım absorbans ilişkisi.



Şekil 5.13. Tuza adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7'nin kültürel sayım absorbands ilişkisi.



Şekil 5.14. Tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin kültürel sayım absorbands ilişkisi.

Kültürel sayımların esas amacı baştada belirtildiği gibi bulaşının yani kontaminasyonun olup olmadığını kontrol etmektir. Teze aktarılan çalışmalarda bir kontaminasyon görülmemiştir.

6. SONUÇ

Bu çalışma, biri patojen biri patojen olmayan *E. coli* suşunun tuza adaptasyonu ile yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme kabiliyetinin başka bir deyişle toleranslarının artıp artmadığının anlaşılması için yapılmıştır. Tuza dayanıklılığın incelenmesi, her iki suşun tuza adapte edilmiş ve adapte edilmemiş kültürlerinin 11 ardışık tuz konsantrasyonunda (% 0-10) TSB besiyerinde gelişimlerinin izlenmesi ile yapılmıştır. İzlemede metot 4.2.1.8'de belirtildiği gibi spektrofotometrik tayin yöntemi kullanılmıştır. Ölçümler, önceden belirlenen aralıklarda her tuz konsantrasyonunda 24 saat boyunca yapılmıştır. Veriler Modifiye Gompertz Modeli kullanılarak modellenmiş ve her iki suşun tuza adapte edilmiş ve adapte edilmemiş kültürlerinin 11 tuz konsantrasyonundaki gelişimlerine ait toplam 132 adet gelişim kurvesi çizilmiştir.

Tüm kurveler incelendiğinde, tuz konsantrasyonları arttıkça mikroorganizmanın gelişim hızı azaldığından maksimum spesifik gelişme hızı ve maksimum populasyon yoğunluğu azalmakta, lag fazı süresi ise artmaktadır.

Mikroorganizma gelişiminin en önemli parametresi, maksimum spesifik gelişme hızı (μ_{max})'dır. Bu nedenle tuza adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerin tuza karşı dayanıklılıklarının ölçüsü olarak μ_{max} kullanılmıştır. Ancak 132 kurvenin her üç parametresinde güvenli olduğu 86 μ_{max} değeri, suş farkı ve adaptasyonun tuza dayanıklılık üzerine etkisinin incelenmesinde kullanılmıştır. Yapılan varyans analizi suş farkının, adaptasyonun, tuz konsantrasyonlarının ve bunların kombinasyonlarının (suş no x adaptasyon x tuz interaksyonu) gelişim hızı üzerine etkili olduğunu göstermiştir.

NaCl'e adapte edilmiş *E.coli* ATCC 25922 ile adapte edilmemiş *E.coli* ATCC 25922 karşılaştırıldığında, modellenebilir veri elde etme, adapte edilmemiş *E.coli* ATCC 25922'lerde % 5 tuz konsantrasyonunda kalırken adapte edilmişlerde % 8 tuz konsantrasyonuna kadar ilerlemiştir. NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 kültürlerinin ortalama μ_{max} değerleri, kültürlerin gelişme ortamlarının içerdiği artan tuz konsantrasyonu ile azalmaktadır. Ayrıca, aynı tuz konsantrasyonlarında tuza adapte edilmiş kültürlerle ait ortalama μ_{max} değerleri, hemen hemen tüm tuz

konsantrasyonlarında adapte edilmemiş kültürlerin ortalama μ_{max} değerlerinden büyük olmakla birlikte, % 3 tuz konsantrasyonuna kadar bu fark istatistiki olarak önemsizken ($p>0.05$) % 4 ve üzerindeki tuz konsantrasyonlarında ise bu fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

E. coli O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmiş kültürünün % 0-7 tuz içeren TSB besiyerinde spesifik gelişme hızlarının ortalama değerleri (ortalama μ_{max}), artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azalmış ve her tuz konsantrasyonundaki ortalama μ_{max} değerleri birbirinden istatistiki önemlilikte ($p<0.05$) farklı bulunmuştur. *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmemiş kültürleri için de aynı durum söz konusudur. Ancak *E. coli* O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmemiş kültürlerinden sadece % 0 ve % 1 tuz içeren besiyerindeki kültürlerinin ortalama μ_{max} değerlerinin birbirinden farkları önemsizdir ($p>0.05$).

E. coli O157:H7'nin NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, % 0, % 2, % 3, % 4, % 5 ve % 6 tuz içeren TSB besiyerlerindeki μ_{max} 'ların ortalamaları arasındaki farklar istatistiki olarak önemsizdir ($p>0.05$). NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 kültürünün % 1 tuz içeren besiyerindeki ortalama μ_{max} 'lar, adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 kültürünün ortalama μ_{max} 'larından istatistiki önemlilikte küçüktür ($p<0.05$).

NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin ortalama μ_{max} değerleri karşılaştırıldığında, adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin hemen hemen her tuz konsantrasyonunda *E. coli* O157:H7'den daha yüksek bir ortalama μ_{max} gösterdiği belirlenmiştir. Beş tuz konsantrasyonunda (% 0, % 1, % 2, % 4 ve % 5 tuz içeren TSB besiyerinde) gelişen kültürlerin hepsinde tuza adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* O157:H7'den istatistiksel önemlilikte daha hızlı gelişmiştir ($p<0.05$). Tuza adapte edilmiş iki suşun, % 3 ve % 6 tuz içeren besiyerindeki ortalama μ_{max} değerleri arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Her iki suşun % 7 tuz konsantrasyonunda ve *E. coli* ATCC 25922'nin % 8 tuz konsantrasyonunda ortalama μ_{max} değerleri de istatistiki olarak birbirinden farklı değildir.

NaCl'e adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin ortalama μ_{max} değerleri karşılaştırıldığında, % 0 ve % 3 tuz konsantrasyonunda tuza adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7'den istatistik önemlilikte daha hızlı gelişmiştir ($p<0.05$). Adapte edilmemiş iki suşun % 1, % 2 ve

% 4 tuz konsantrasyonlarında ise ortalama μ_{max} değerleri arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Ancak % 5 ve % 6 tuz konsantrasyonlarında ise adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 belirgin bir gelişme gösteremezken adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 gelişme göstermiştir. Bu durum, yüksek tuz konsantrasyonları için patojen *E. coli*'nin daha dayanıklı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bu durumu patojenin direnç mekanizması sayesinde adapte edilmemiş kültüründe bile *E. coli* O157:H7'nin tuza karşı daha dirençli olduğu şeklinde izah edilebilir.

Araştırma sonunda, ele alınan iki suşunda adaptasyon ile tuza tolerans kazandığı görülmüştür.

Tuza adapte olan patojenler gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından birçok risk taşımaktadır. Bu tür patojenler tuzlu gıdalarda canlılığını sürdürmekte, yüksek tuzlu gıdalarda çoğalabilmekte ve tuzun sandığımız koruyucu limitini aşabilmektelerdir. Ancak gıdalarda koruyucu olarak sadece tuz değil başta asitlik ve pH'da olmak üzere diğer faktörler de söz konusudur. Bu durumda turşu gibi düşük pH'lı gıdalarda % 5-6 olan koruyucu tuz konsantrasyonunun yeterli olup olmayacağını bu çalışmaya bakarak söylemek zordur. Bu nedenle çok faktörlü (asit, pH, tuz, rekabetçi flora vb.) bir adaptasyon çalışması ve dayanıklılık testi yapılması yararlı olacaktır.

Mikroorganizmanın inhibe ve inaktive edici faktörlere karşı adaptasyonunun incelenmesi oldukça yeni ve bir o kadar da önemlidir. Özellikle gıda alanında bu tarz çalışmalar oldukça azdır. Bu nedenle çalışmamız sınırlı düzeyde de olsa literatüre katkı niteliğindedir.

KAYNAKLAR

- Abdulkarim, S. M., Fatimah, A. B., Anderson, J. G., 2009. Effect of salt concentrations on the growth of heat-stressed and unstressed *Escherichia coli*. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, **7** (3&4): 51-54.
- Aksöz, N., 1985. Halofilik Bakteriler. **Mikrobiyoloji Bülteni**. **19**: 161-167.
- Anonim, 2013. Türk Gıda Kodeksi. <http://www.tarim.gov.tr/Mevzuat/Turk-Gida-Kodeksi> Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara. Erişim tarihi: 17/12/2013.
- Anonim, 2014 (a). Türk Gıda Kodeksi. <http://www.tarim.gov.tr/Mevzuat/Turk-Gida-Kodeksi> Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara. Erişim tarihi: 23/06/2014.
- Anonim, 2014 (b). Water Activity of Sucrose and NaCl Solutions. <http://www.bccdc.ca/NR/rdonlyres/E41F3065-A61C-41FF-B358-66255D2DDA4F/0/WaterActivityofSucroseandNaClSolutionsJan13.pdf>. Centre of Disease Control, USA. Erişim tarihi: 09/06/2014.
- Anonim, 2014 (c). McFarland Baryum Sülfat Bulanıklık Standardı Hazırlanması <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/uamdss/05-AMD-TP-02-McFarland-bulaniklik-standardi-hazirlanmasi.pdf>. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara. Erişim tarihi: 12/09/2014.
- Arda, M., 2000. **Temel Mikrobiyoloji** (Genişletilmiş İkinci Baskı). Medisan Yayın Serisi, No: 46, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Areñse, P., Bernal, V., Iborra, J. L., Canovas, M., 2010. Metabolic adaptation of *Escherichia coli* to long-term exposure to salt stress. **Process Biochemistry**, **45**: 1459-1467.
- Arıcan, A., Andiç, S., 2008. İki Farklı pH Değerine Kadar İnkübe Edilen ve 4 °C'de Depolanan Yoğurtlarda *Escherichia coli* O157:H7'nin Canlı Kalma Durumu. **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, **17** (4): 537-542.
- Ayhan, K., Coşansu, S., 2000. Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 ve Fermente Et Ürünlerindeki Önemi. **Gıda**, **25** (1): 33-38.

- Bunning, V.K., R.G. Crawford, J.T. Tierney, J.T. Peeler. 1990. Thermotolerance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* after sublethal heat shock. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**: 3216–3219.
- Casey, P.G., Condon, S., 2002. Sodium chloride decreases the bacteriocidal effect of acid pH on *Escherichia coli* O157:H45. *International Journal of Food Microbiology*, **76**: 199-206.
- Chapman, P.A., Siddons, C.A., Wright, D.J., Norman, P., 1993. Cattle as a Possible source of verocytotoxin Producing *Escherichia coli* O157 Infections In Man. *Epidemiol Infect*, **11**: 439-447.
- Cheng, H. Y., Yang, H. Y., Chou, C. C., 2002. Influence of acid adaptation on the tolerance of *Escherichia coli* O157:H7 to some subsequent stresses. *J Food Prot.*, **65** (2): 260-265.
- Çoksöyler, F. N., 2013. Predictive Microbiology. *2nd International Eurasian Conference On Mathematican Sciences And Applications*. August 26-29 2013, Sarajevo/Bosnia and Herzegouina, 387-388.
- Dikici, A., 2009. Çevresel Stres Faktörlerine Karşı Bakteriyel Adaptasyonlar ve Mekanizmaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **4** (3): 59-68.
- Ertaş, N., Yıldırım, Y., Karadal, F., Al, S., 2013. Hayvansal Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7'nin Önemi. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine*, **10** (1): 45-52.
- Farber, J. M., Brown, B. E., 1990. Effect of prior heat shock on heat resistance of *Listeria monocytogenes* in meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**: 1584–1587.
- Fay, A.C., 1934. The effect of hypertonic sugar solutions on the thermal resistance of bacteria. *J. Agric. Res.*, **48**: 453–468.
- Glass, K. A., Loeffelholz, J. M., Ford, J. P., Doyle, M. P., 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**: 2513-2516.
- Gog, D. J., How, J. A., Lim, J. Z., Ng, W. C., Oon, J. S., Lee, K. C., Lee, C. H., Ling, M.H. 2012. Gradual and Step-wise Halophilization Enables *Escherichia coli* ATCC 8739 to Adapt to %11 NaCl. *Electronic Physician*, **4** (3): 527-535.
- Gould, G. W., 1996. *New Methods of Food Preservation*. Second edition. Great Britain by Hartnolls Ltd, Bodmin, Cornwall.

- Gülbezer, S., Ökmen, G., 2012. Ozmotik Koruyucular ve Mikroorganizmalar. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi**, **5** (1): 41-52.
- Halkman, A. K., Gürgün, V., 1990. **Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri** (2. Baskı). Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No:7, Ankara.
- Halkman, A. K., Noveir, M. R., Doğan, H. B., 1998. **Çeşitli Hayvansal Gıda Ürünlerinde E. coli O157:H7 Aranması** (Basılmamış 75 s.). TÜBİTAK-VHAG-1192 Nolu Proje, Ankara.
- Halkman, A. K., Doğan, H. B., 2000. **Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları** (Genişletilmiş 2. Baskı). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara 522 s.
- Halkman, A. K., Noveir, M. R., Doğan, H. B., 2001. **Escherichia coli O157:H7 Serotipi** (Basılmamış 54s.), Ankara.
- How, J. A., Lim, J. Z. R., Goh, D. J. W., Jack, S. H., Lee, K. C., Lee, C. H., Ling, M. H. T., 2013. Adaptation of *Escherichia coli* ATCC 8739 to 11% NaCl. **Dataset Papers in Biology Volume**, 7 pages.
- Kim, W.S., N.W. Dunn., 1997. Identification of a cold shock gene in lactic acid bacteria and the effect of cold shock on cryotolerance. **Current Microbiology**, **35**: 59–63.
- Lee, S. Y., Kang, D. H., 2008. Combined effects of heat, acetic acid, and salt for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory media. **Food Control**, **20**: 1006–1012.
- Lee, S. Y., Rhee, M. S., Dougherty, R. H., Kang, D. H., 2009. Antagonistic effect of acetic acid and salt for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in cucumber puree. **Journal of Applied Microbiology**, **108**: 1361–1368.
- Leyer, G.J., E.A. Johnson, 1992. Acid adaptation promotes survival of *Salmonella* spp.in cheese. **Appl. Environ. Microbiol.**, **58**: 2075–2080.
- Lou, Y., Yousef, A. E., 1997. Adaptation to Sublethal Environmental Stresses Protects *Listeria monocytogenes* against Lethal Preservation Factors. **Applied and Environmental Microbiology**, **63** (4): 1252–1255.
- Özhan N., Çoksöyler N., 2005. Survival of *Escherichia coli* in traditional fermented turnip juice. **J Food Sci Techn**, **42**: 67–69.
- Öztürk, F. Y., 2010. **Asit ve Tuza Adapte Edilmiş Escherichia coli O157:H7 ve Listeria monocytogenes'in Türk Sucuklarında Yaşama Düzeylerinin**

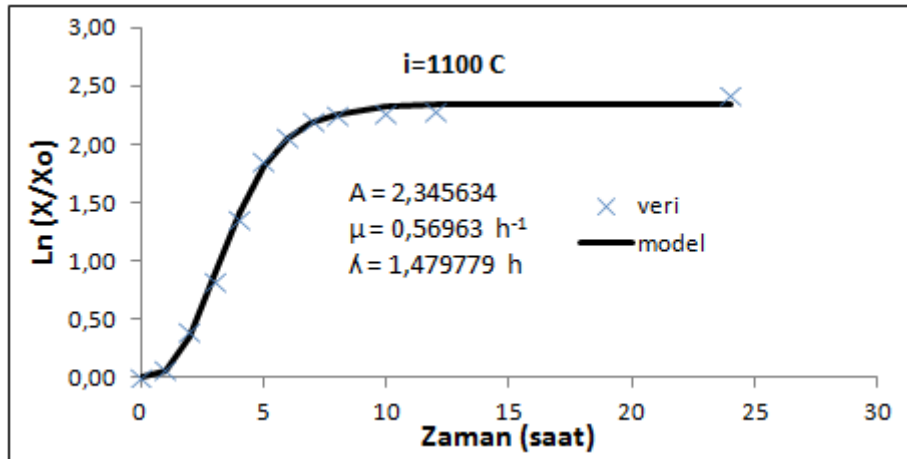
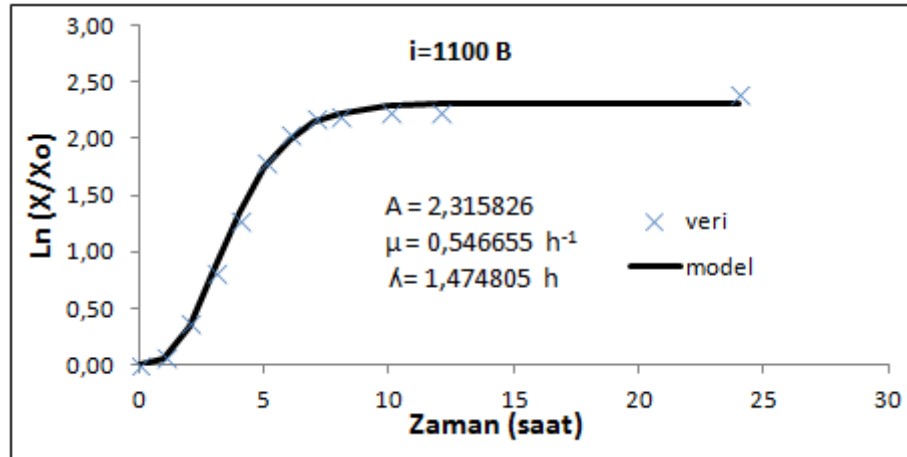
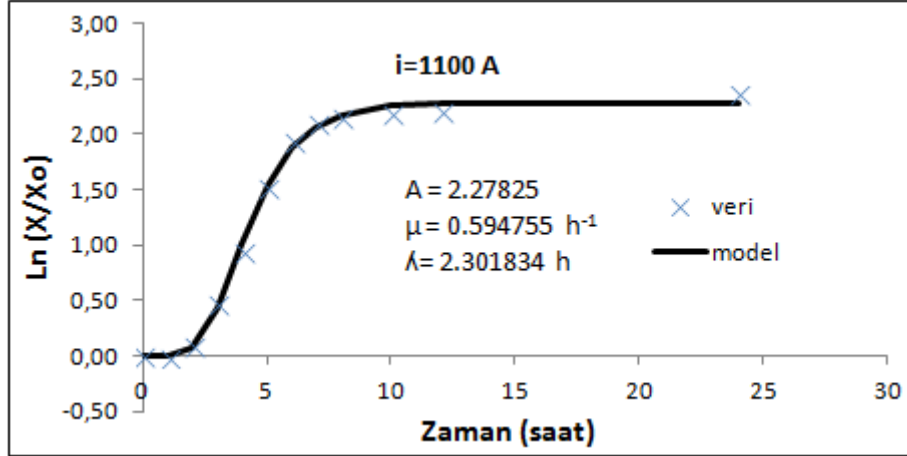
- Belirlenmesi* (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, *Dışkapı, Ankara*.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Clark, D. P., 2010. ***Brock Biology of Microorganisms***. Tenth Edition. Pearson Education International, USA.
- Myers, J. A., Curtis, B. S., Curtis, W. R., 2013. Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. ***BMC Biophysics***, **6**: 4.
- Ray, B., Bhunia, A., 2008. ***Fundamental Food Microbiology***. Forth Edition. CRC Press, Boca Raton.
- Reitsma, Christine J., Henning, David R., 1996. Survival of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 During the Manufacture and Curing of Cheddar Cheese. ***Journal of Food Protection***, **5**: 448-561 ve 460-464.
- Roberts, M. F., 2005. Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. ***Saline Systems***, **1** (5):1-30.
- Sarımehmetoğlu, B., Küplülü, Ö., Kaymaz, Ş., 1998. Hamburger ve İnegöl Köftelerinden *Escherichia coli* O157 :H7 İzolasyonu. ***Ankara Üniv.Vet.Fak. Dergi***, **45**: 221 - 227.
- Shah, N.P., 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. ***J. Dairy Sci.***, **83**: 894–907.
- Shee, A. K., Raja, R. B., Sethi, D., Kunhambu, A., Arunachalam, K. D., 2010. Studies on the antibacterial activity potential of commonly used food preservatives. ***International Journal of Engineering Science and Technology Vol.***, **2** (3): 264-269.
- Shivanand, P., Mugeraya, G., 2011. Halophilic bacteria and their compatible solutes – osmoregulation and potential applications. ***Current Science***, **100** (10): 1516-1521.
- Temiz, A., 2010. ***Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri***. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.
- Tosun, H., Gönül, Ş.A., 2003. *E. Coli* O157:H7'nin Aside Tolerans Kazanması ve Asidik Gıdalarda Önemi. ***Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi***, **01**(10): 10-17.
- Tutak, G. A., 2010. ***Gastroenterit etkeni olabilen patojen Escherichia coli'lerin araştırılması*** (uzmanlık tezi, basılmamış). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

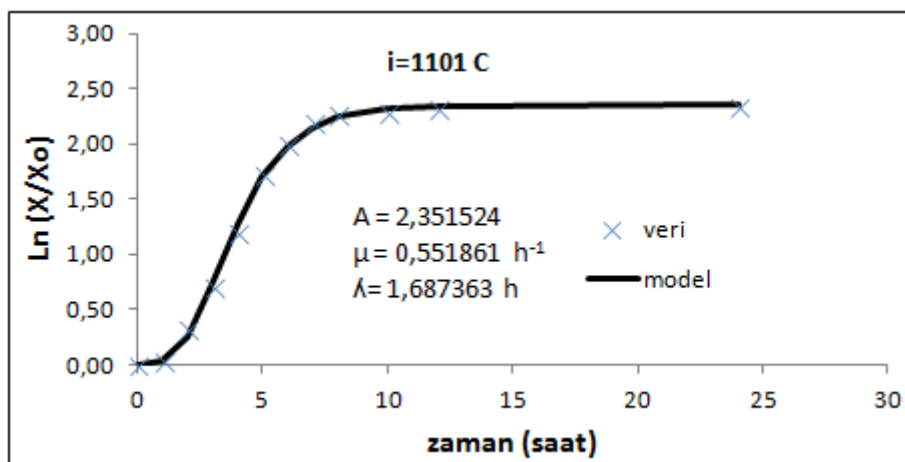
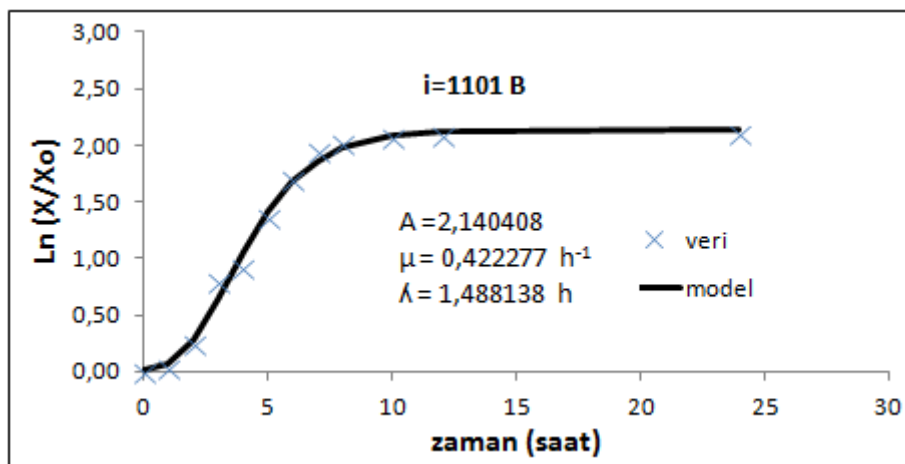
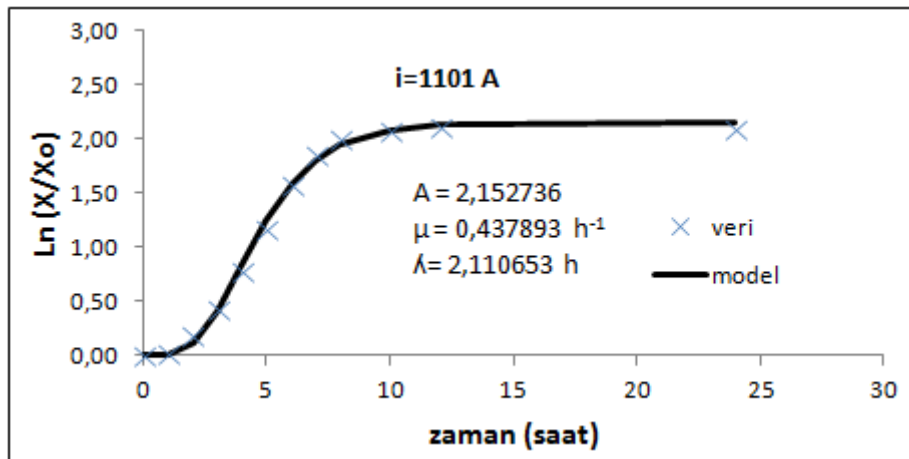
- Vossenberq, J. L. C., Driessen, A. J. M., Konings, W. N., 2000. Adaptations of the Cell Membrane for Life in Extreme Environments, Chap.6. *Environmental Stressors and Gene Response*, Elsevier Science B.V.
- Yeniiz, E., 2005. *Çeşitli Gruplarda Dışkıda Escherichia coli O157:H7 Varlığının Araştırılması* (uzmanlık tezi, basılmış). Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul.
- Yousef, A. E., Juneja, V. K., 2003. *Microbial stress adaptation and food safety*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Yousef, A.E., Courtney, P.D., 2003. Basics of stres adaptation and implications in new generation foods. "*Microbial Stres Adaptation and Food Safety*" (Editor: AE Yousef and VK Juneja). CRC Pres, New York. Syf:1–25.
- Zwietering, M. H., Koos, J. T., Hasenack, B. E., Wit, J. C., Riet, K. V., 1991. Modeling of Bacterial Growth as a Function of Temperature. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 1094-1101.

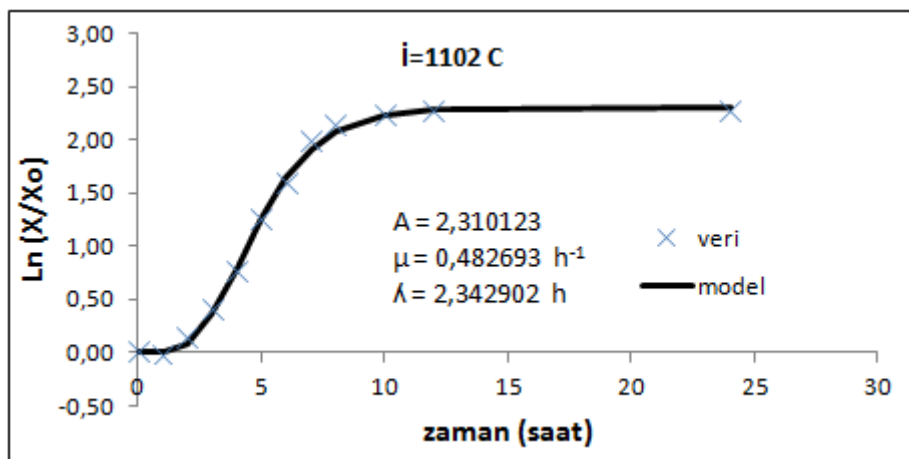
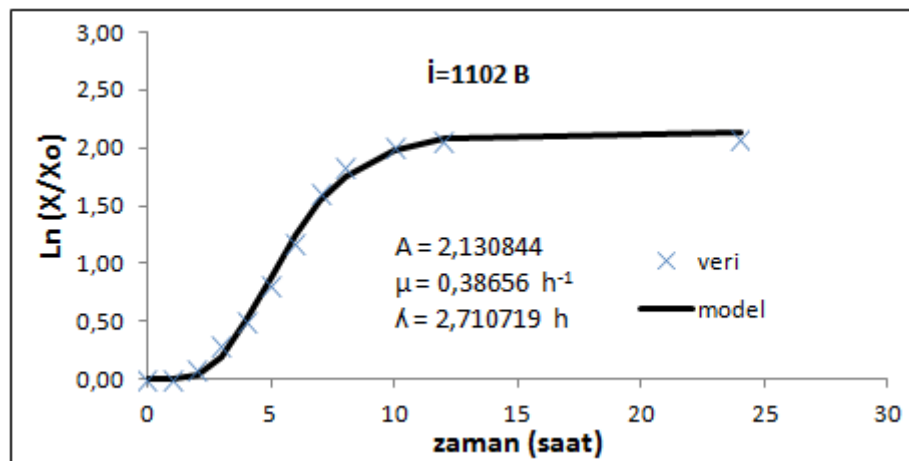
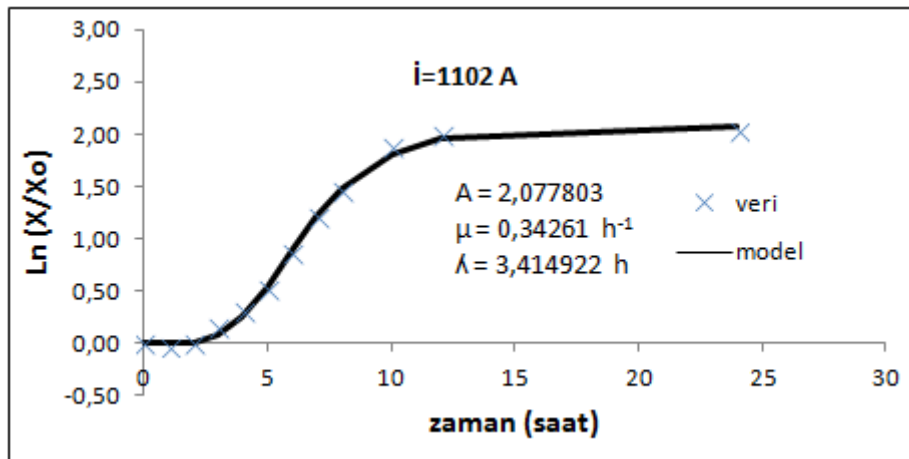
EKLER

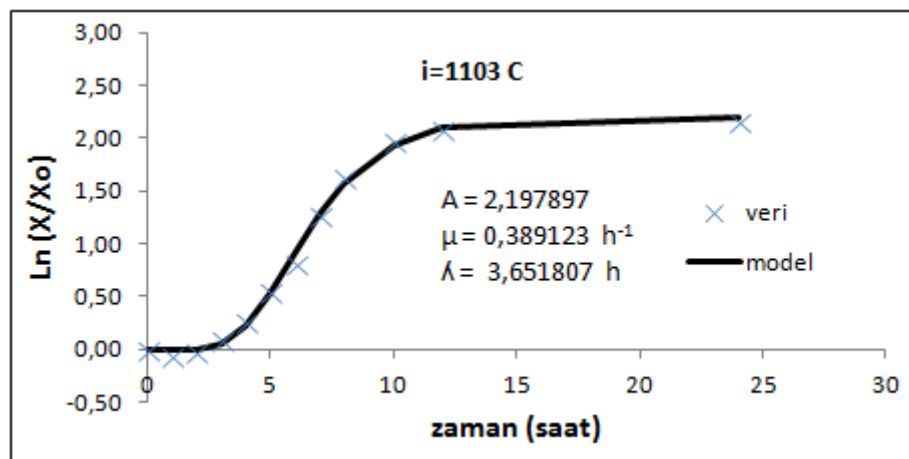
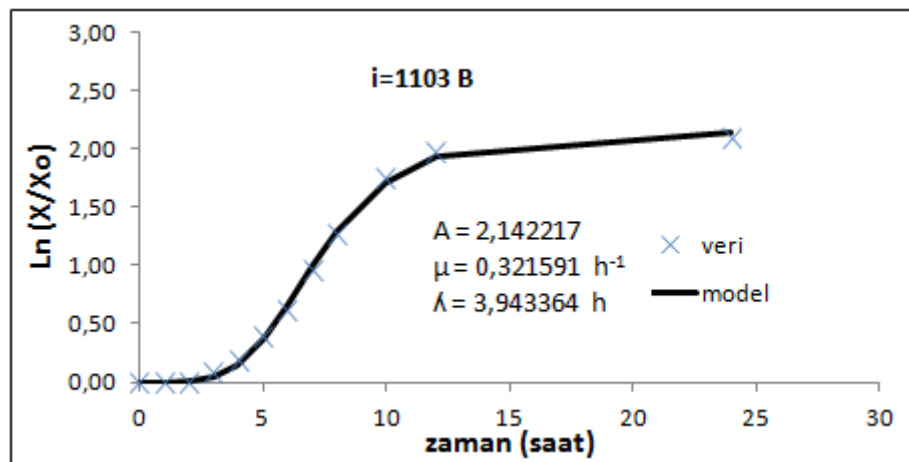
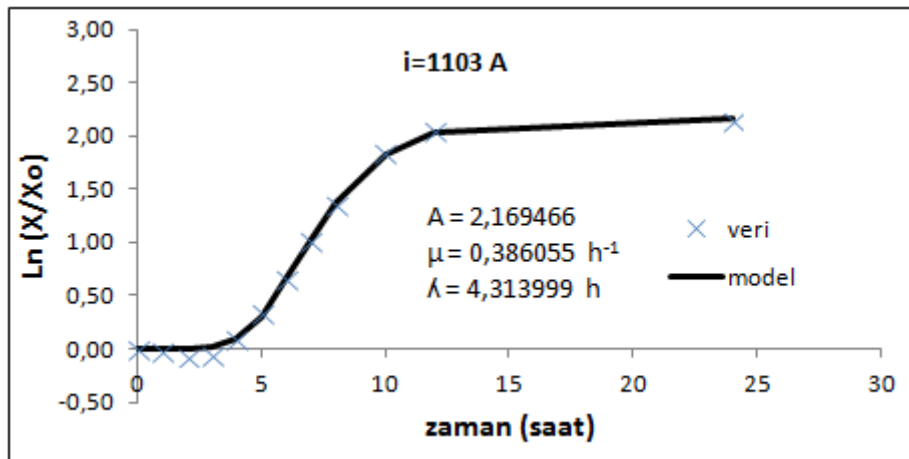
EK-1: Gelişim parametrelerine ait 132 adet gelişim kurvesi

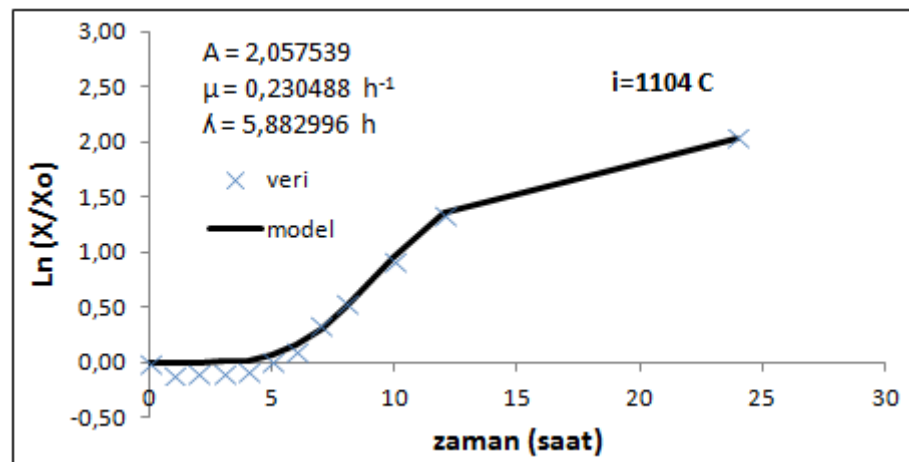
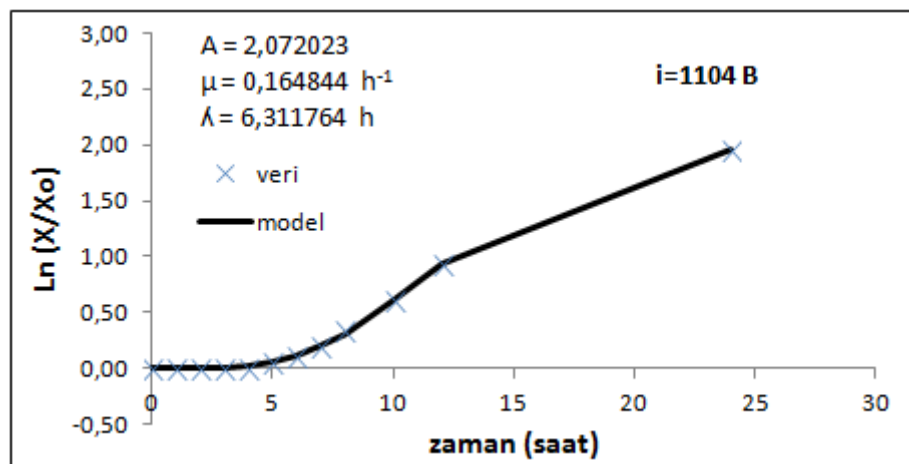
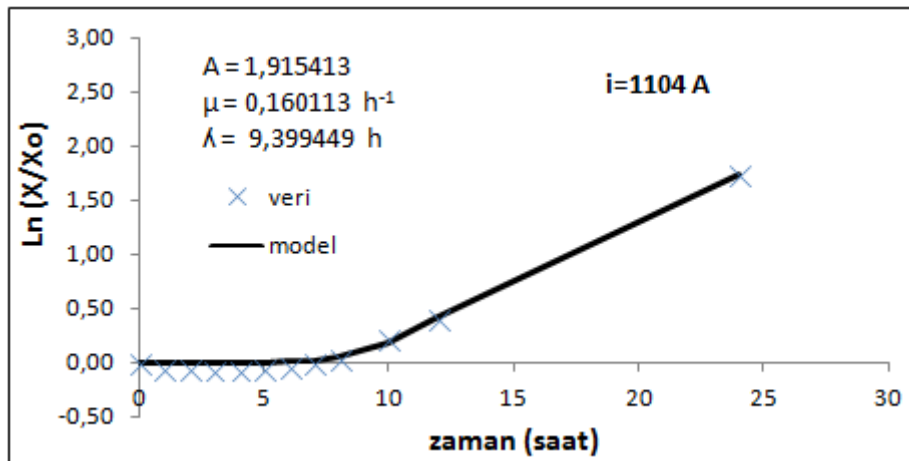
- a) Adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922'nin % 0-10 tuz konsantrasyonundaki gelişim kurveleri (i=1100 A kodlaması: 1= *E. coli* ATCC 25922, 1= Adapte edilmemiş, 00= %0 tuz, A çalışılan paralel, — modellenebilir veri, - - - modellenemeyen veridir.)

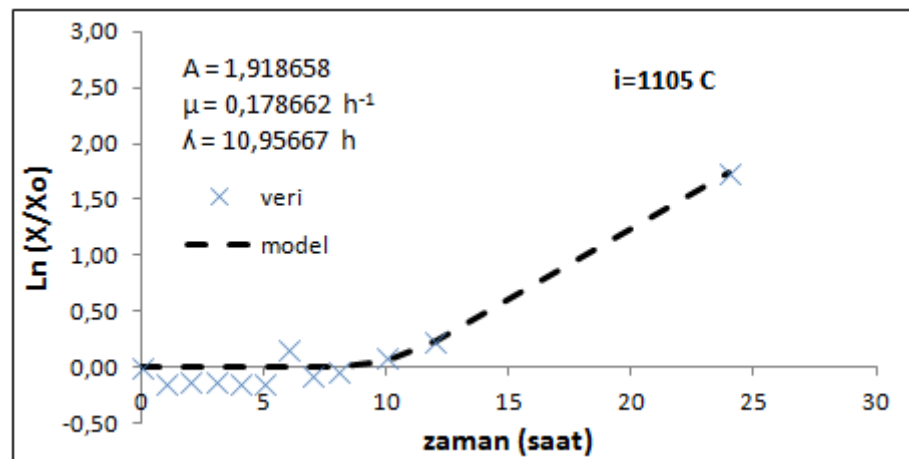
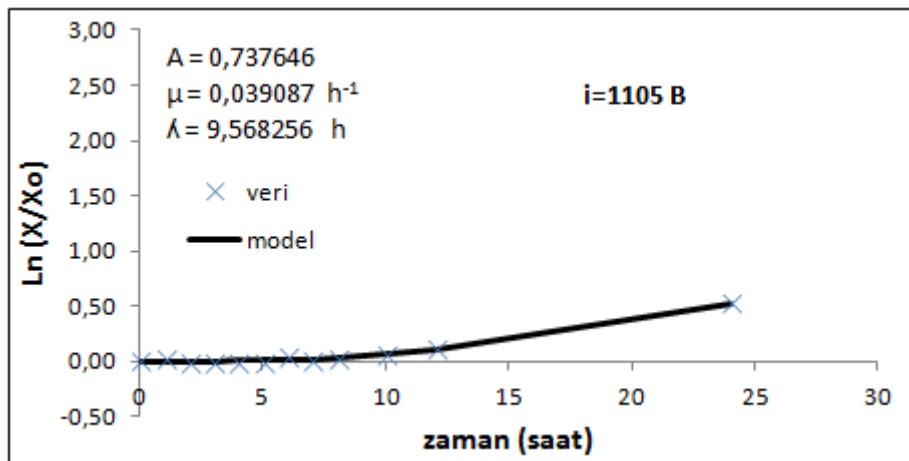
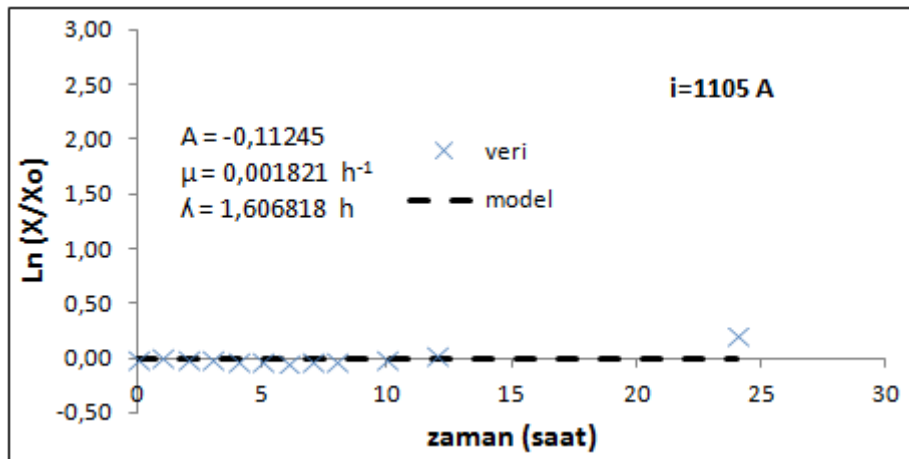


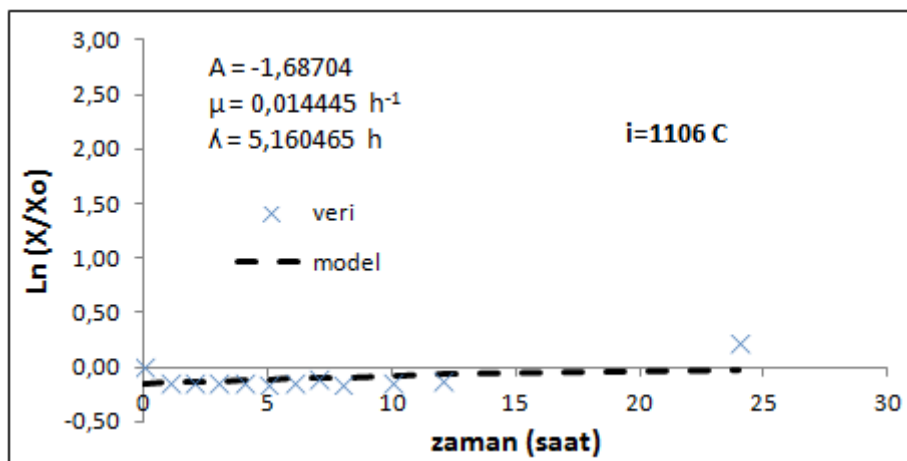
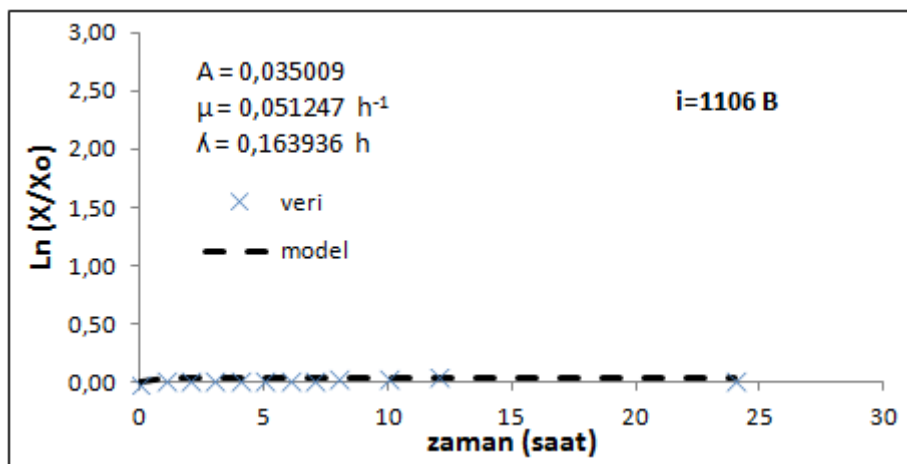
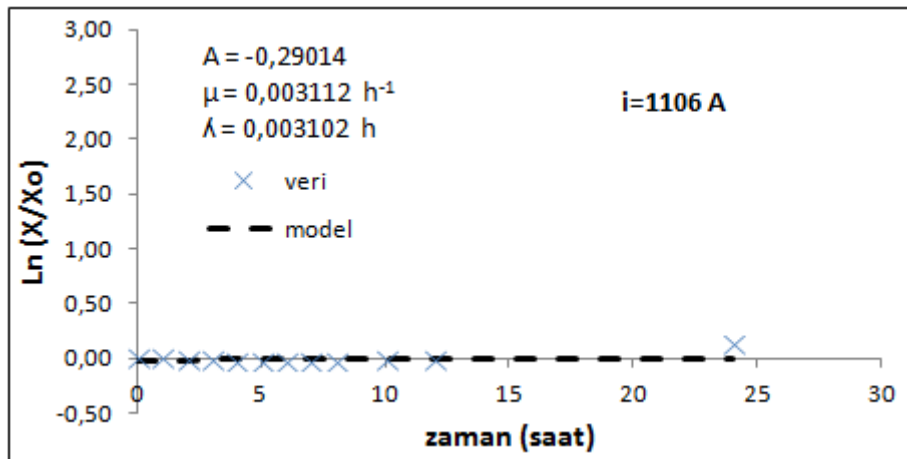


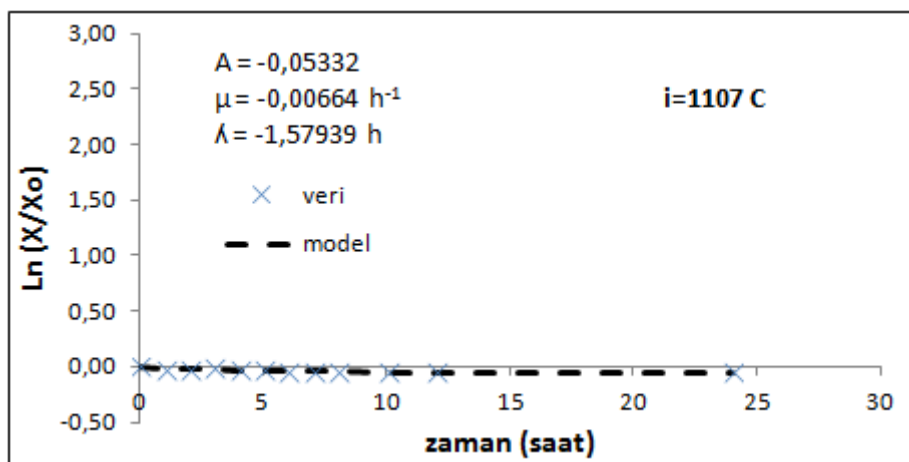
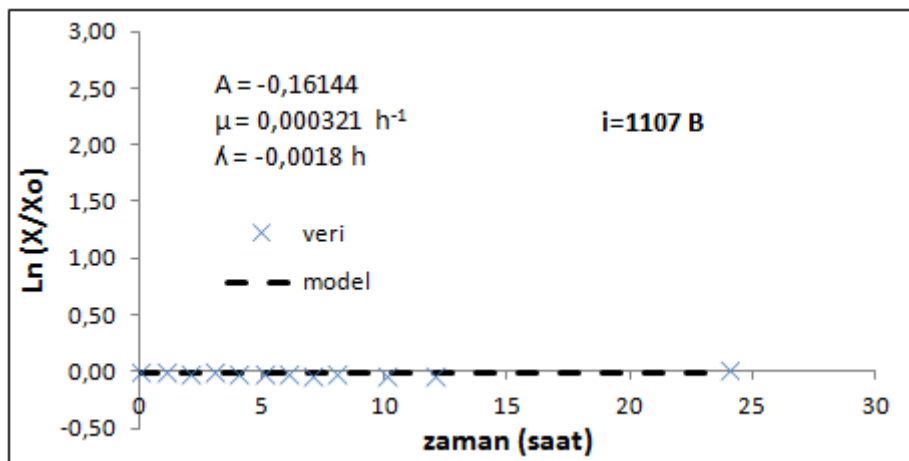
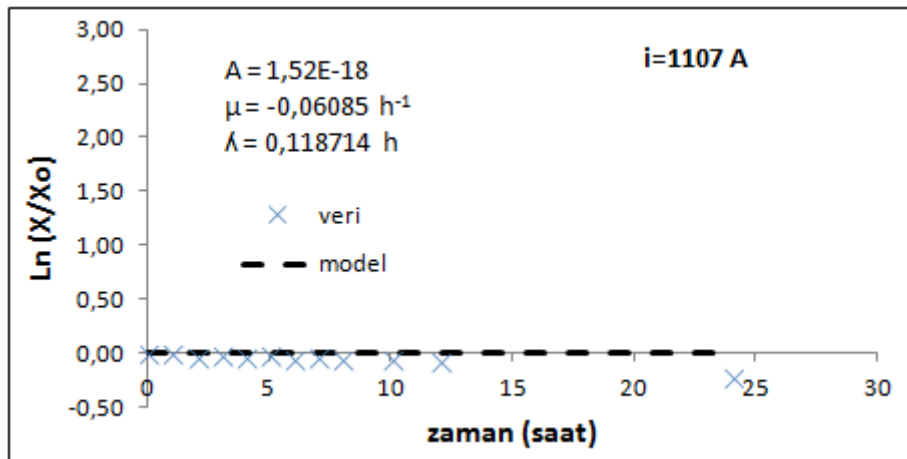


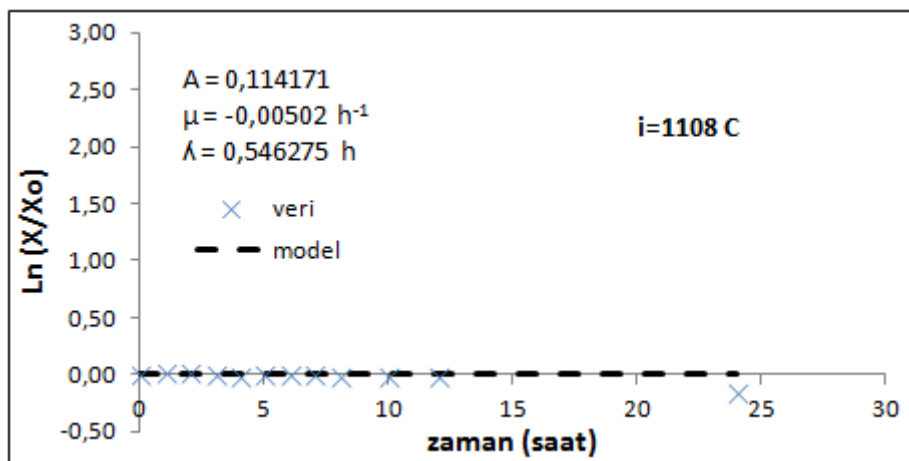
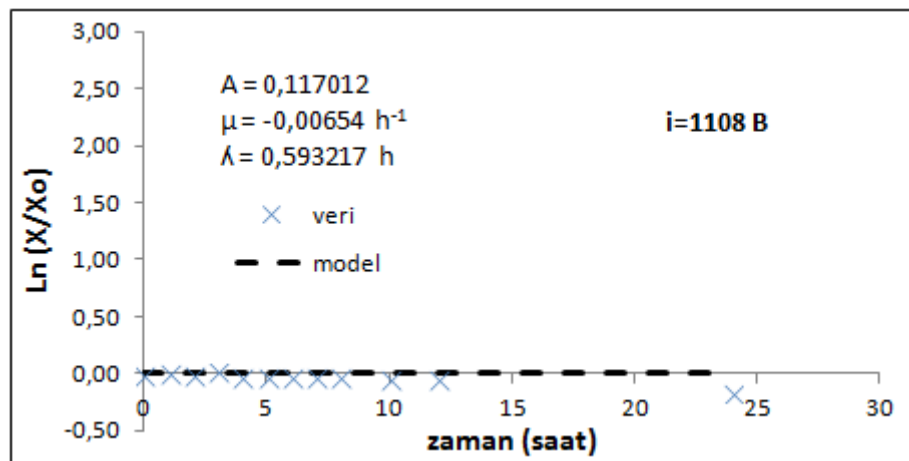
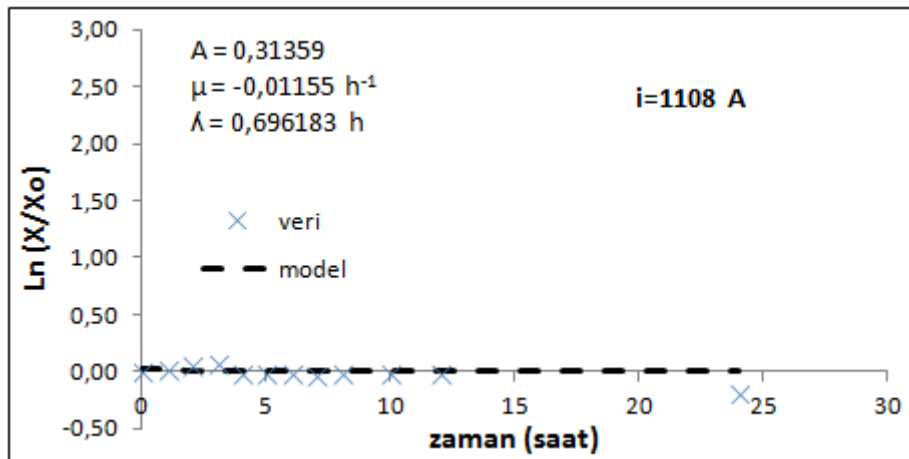


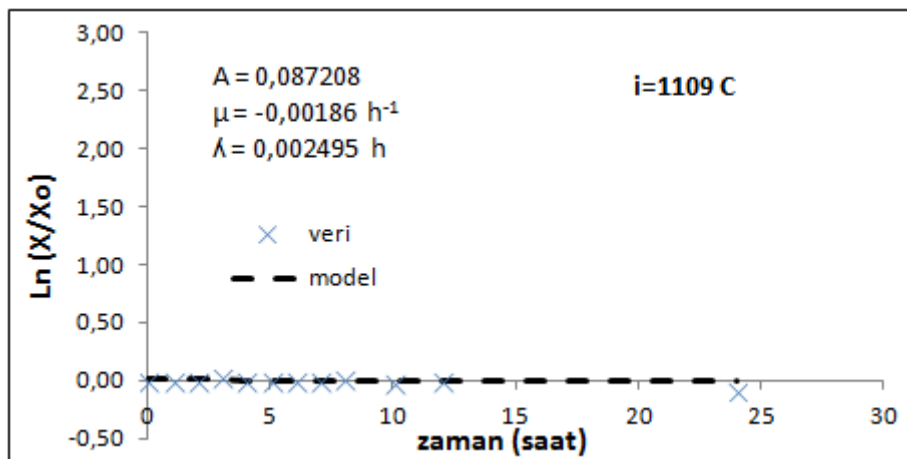
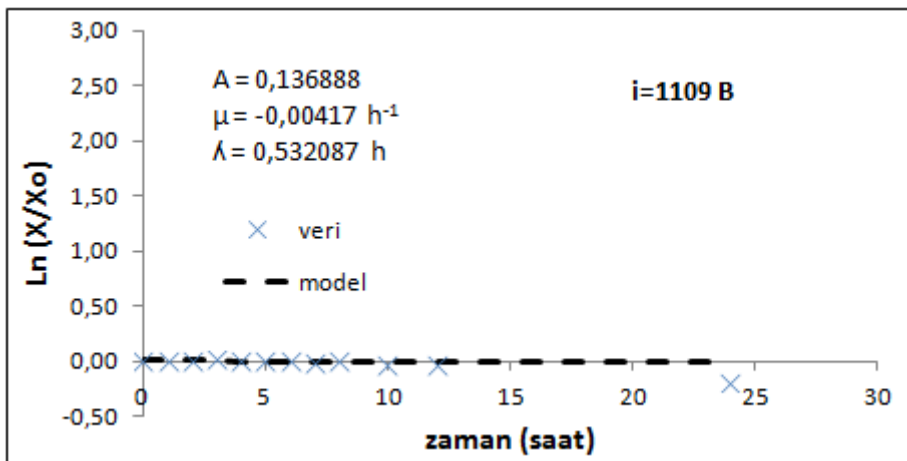
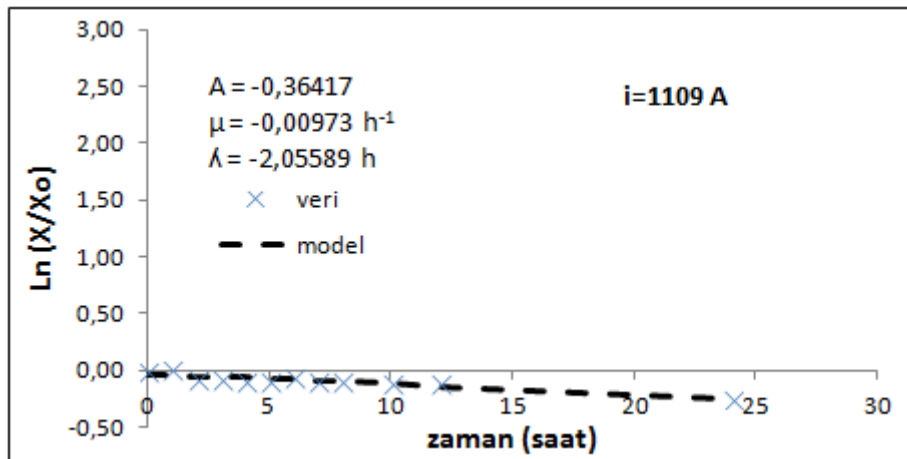


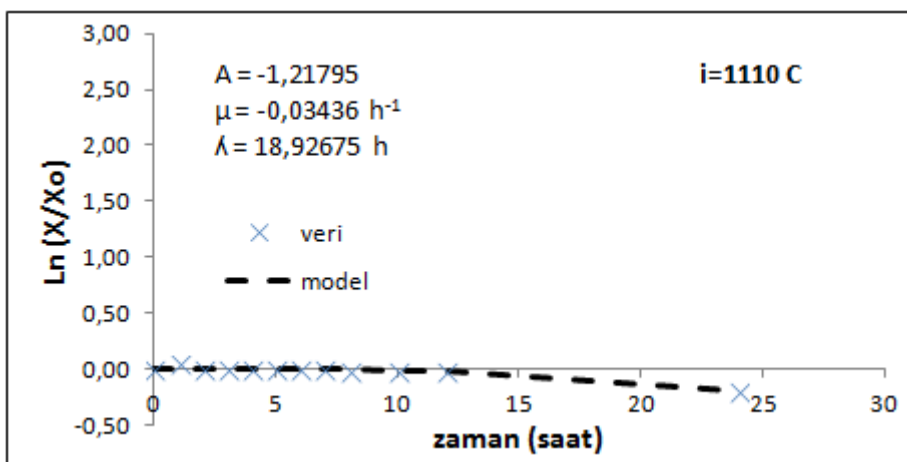
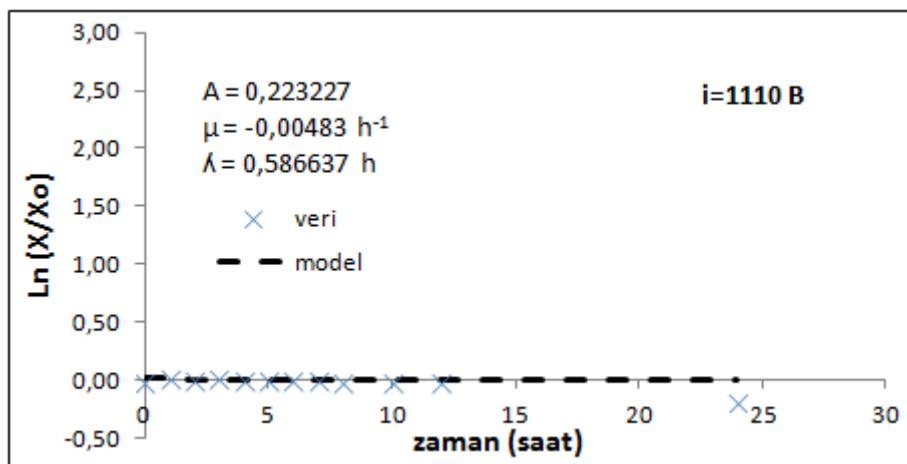
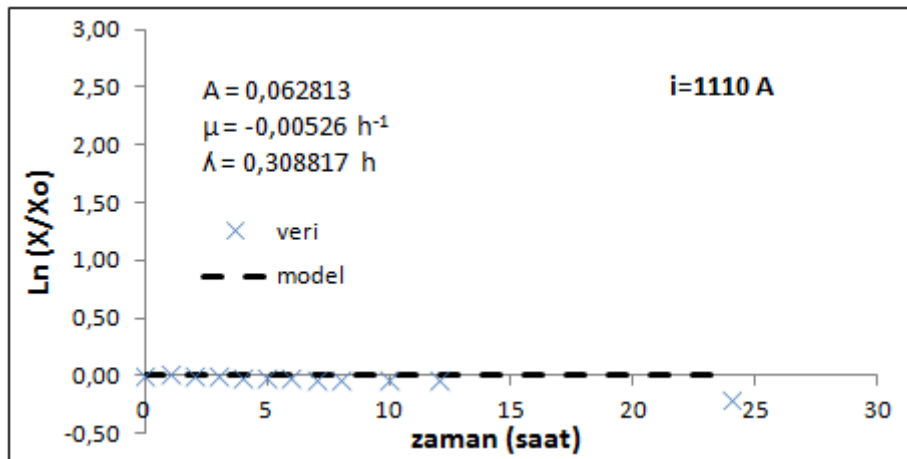




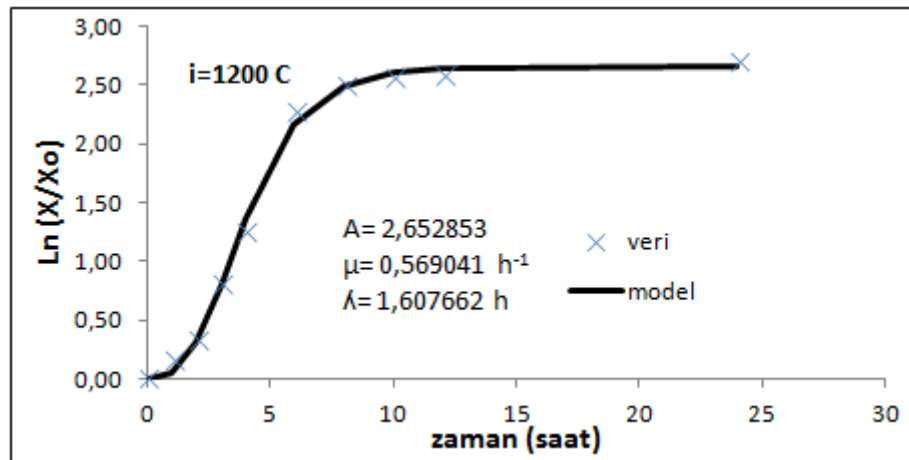
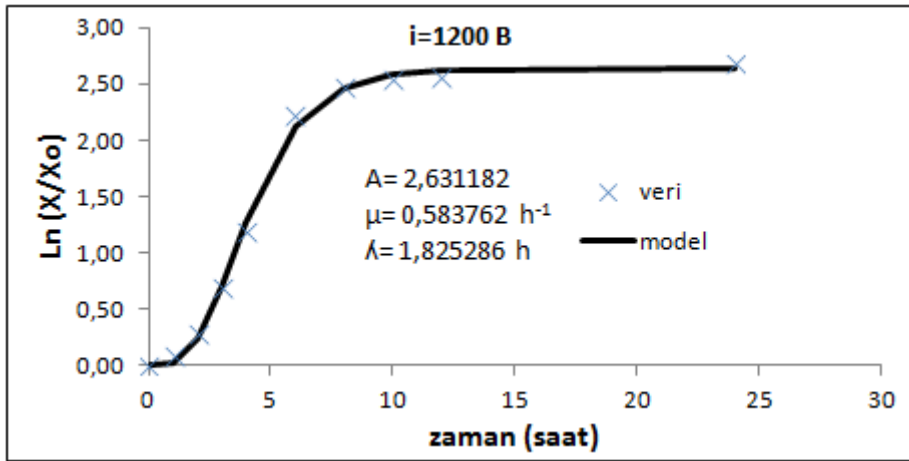
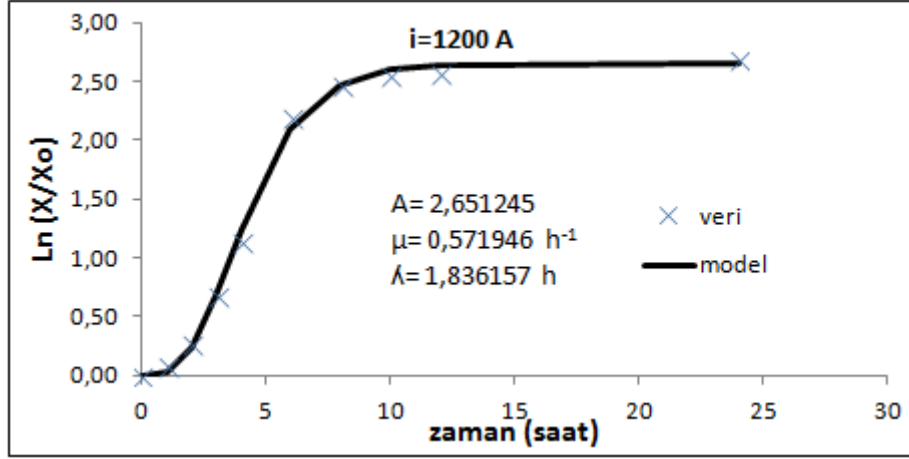


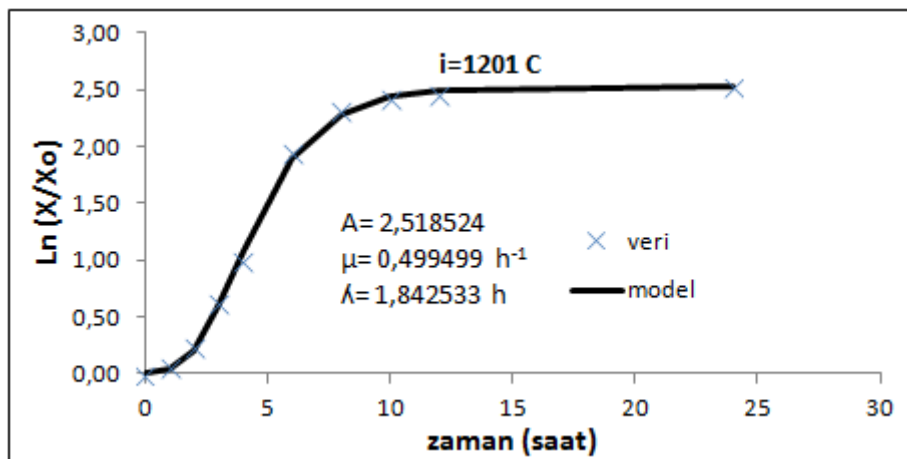
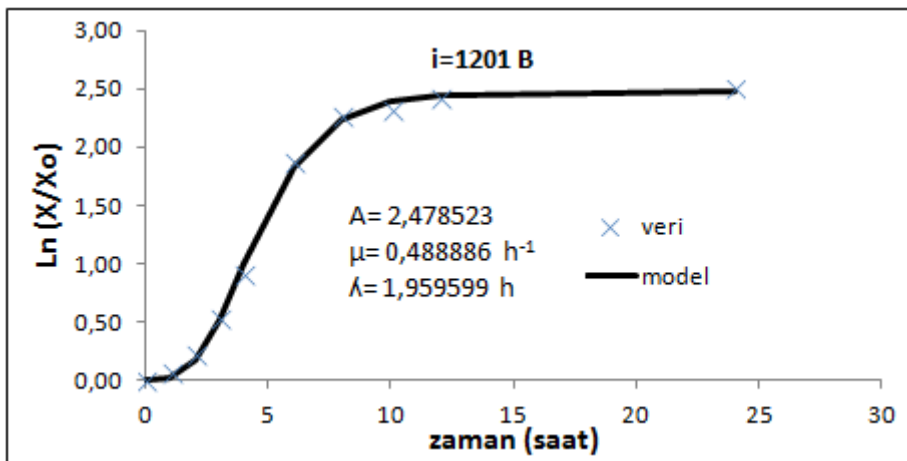
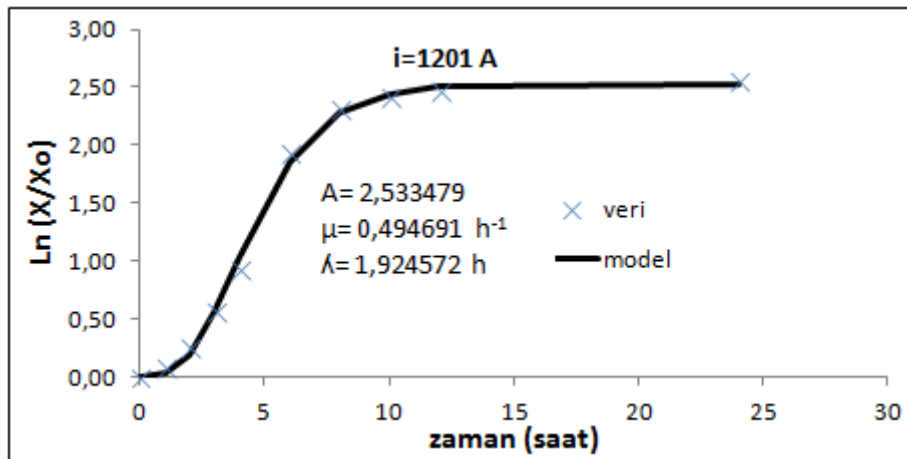


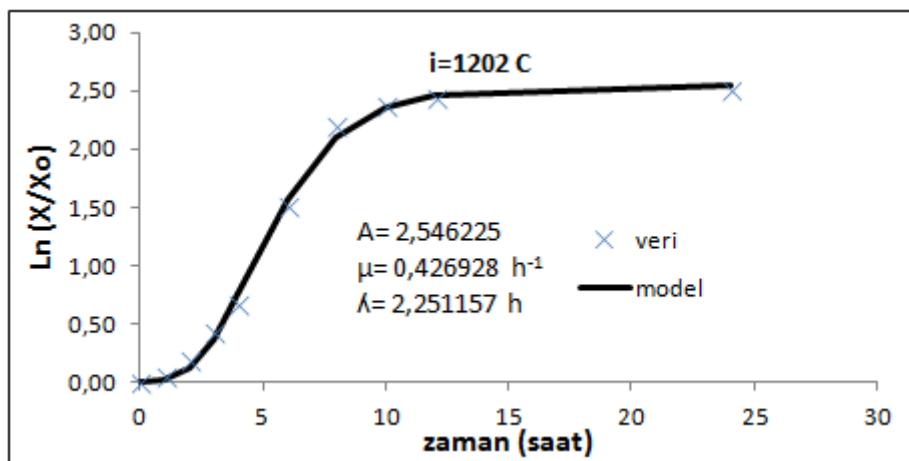
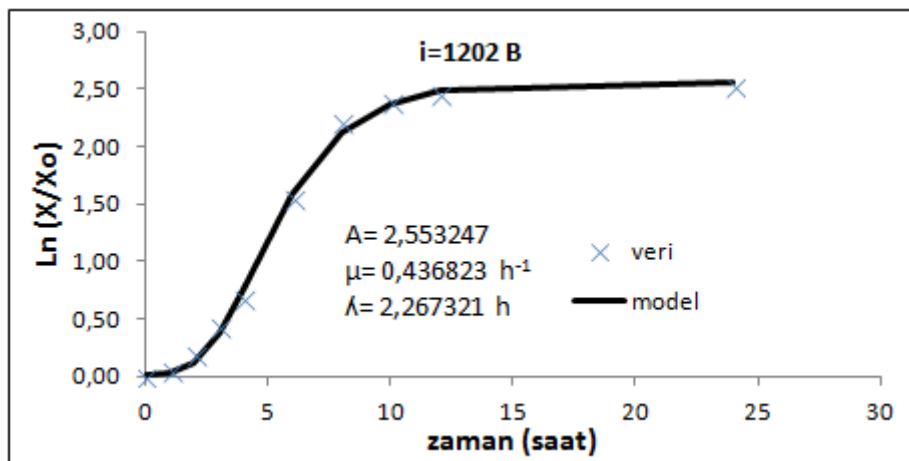
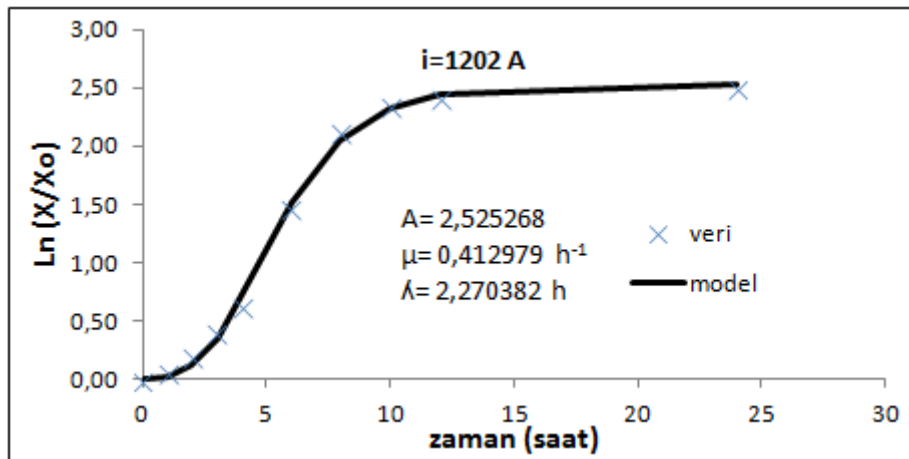


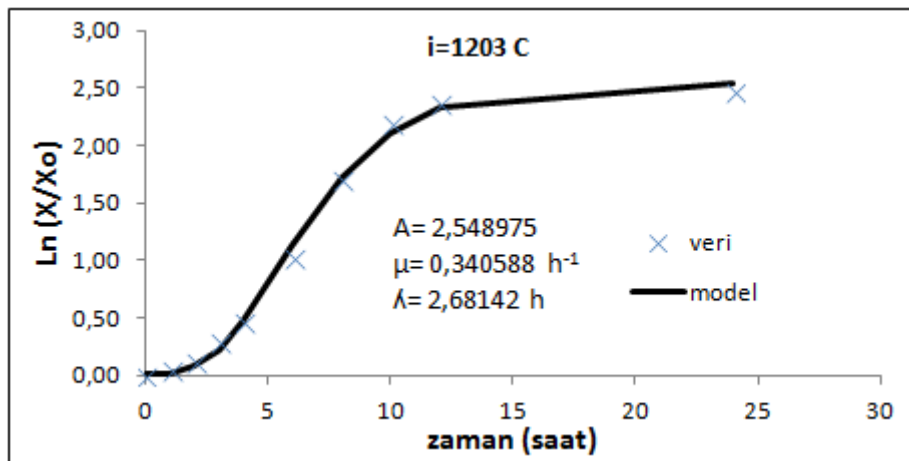
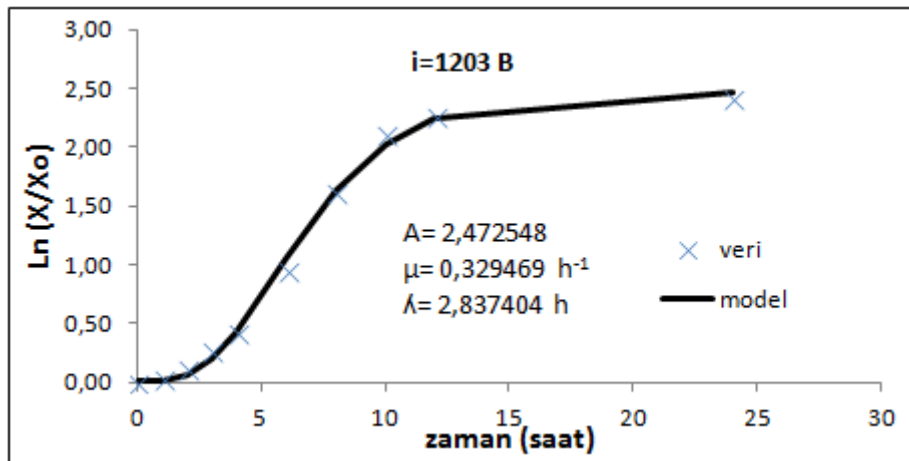
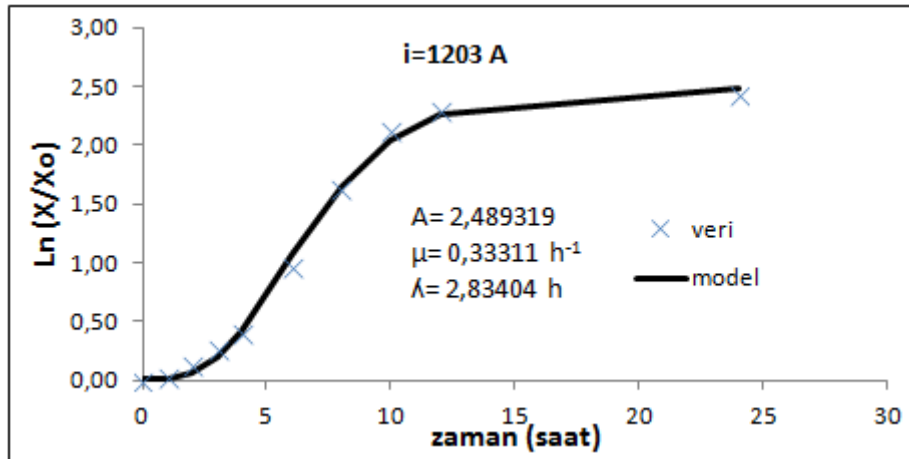


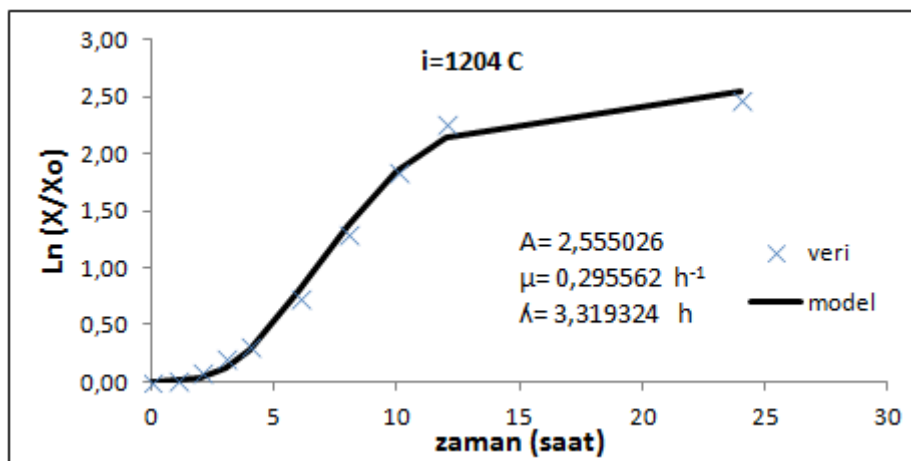
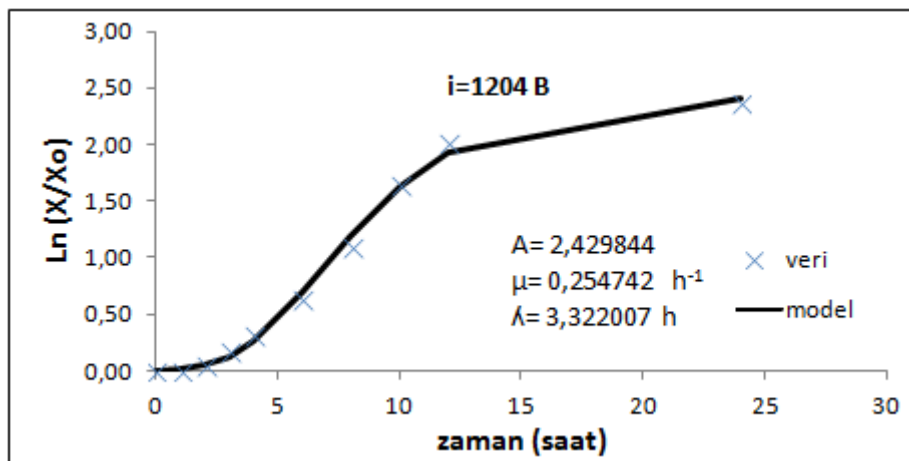
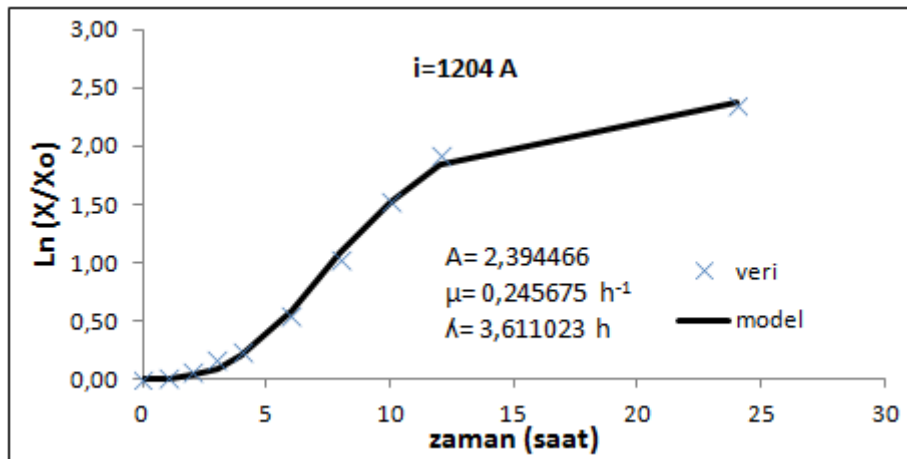
- b) Adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922'nin % 0-10 tuz konsantrasyonundaki gelişim kurveleri (i=1200 A kodlaması: 1= *E. coli* ATCC 25922, 2= Adapte edilmiş, 00= %0 tuz, A çalışılan paralel, — modellenebilir veri, - - - modellenemeyen veridir.)

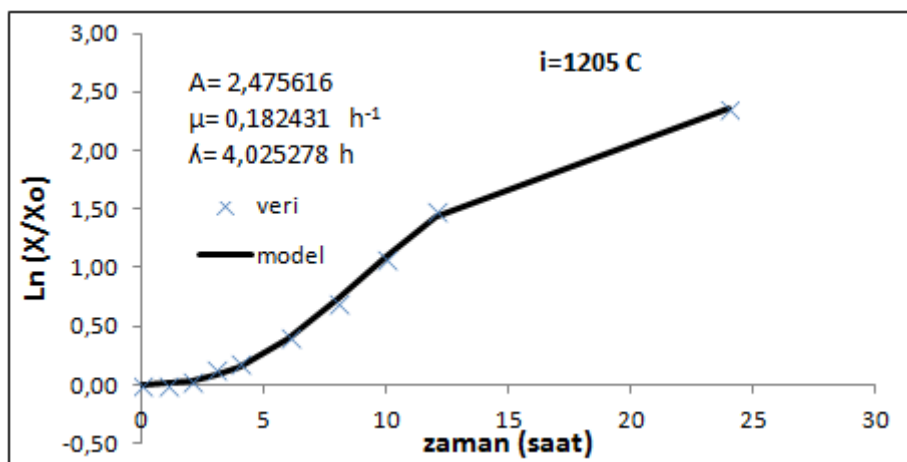
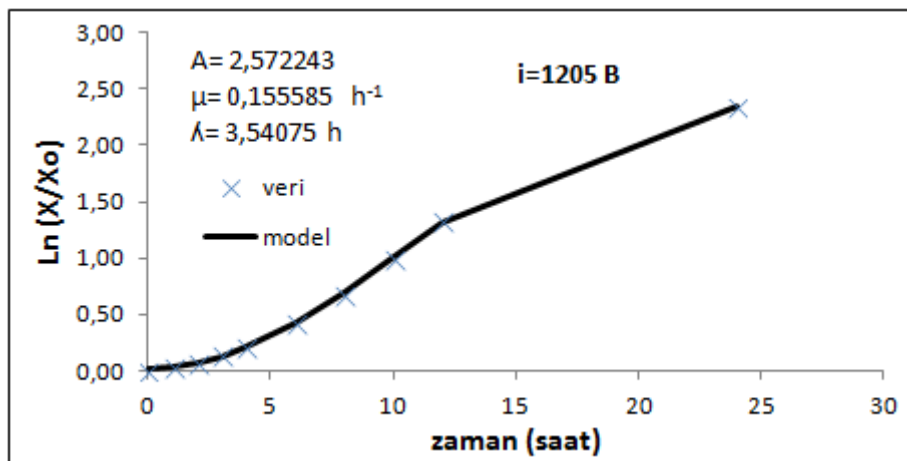
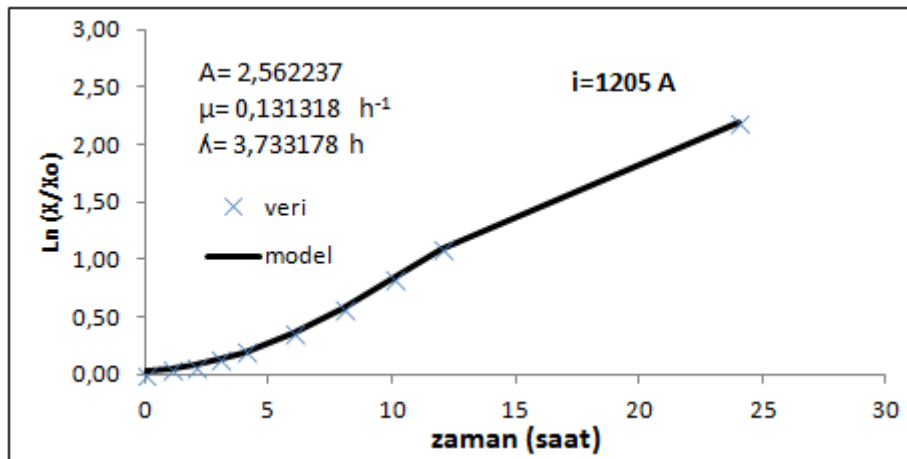


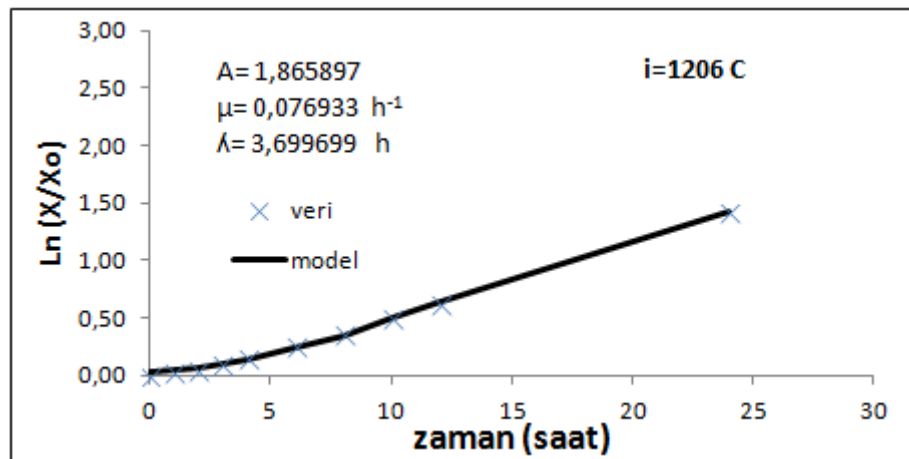
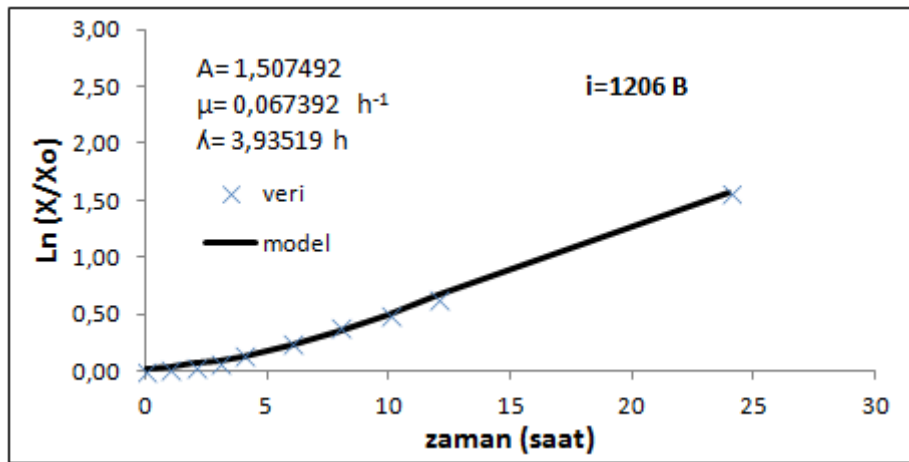
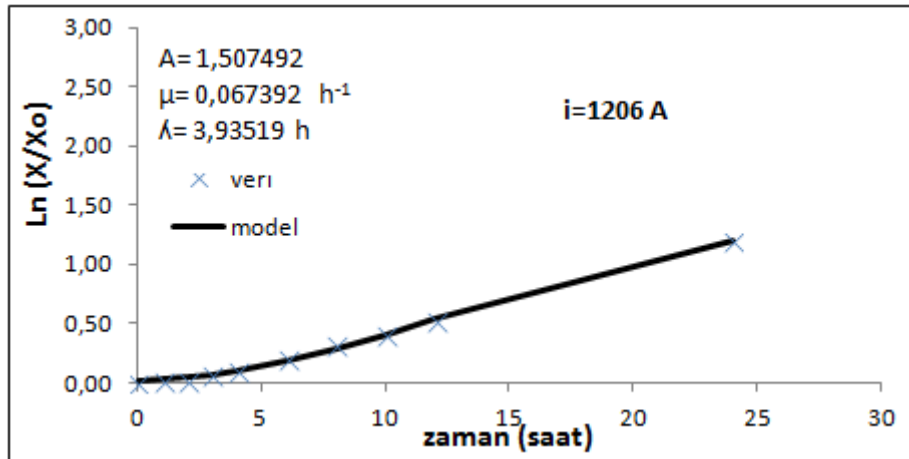


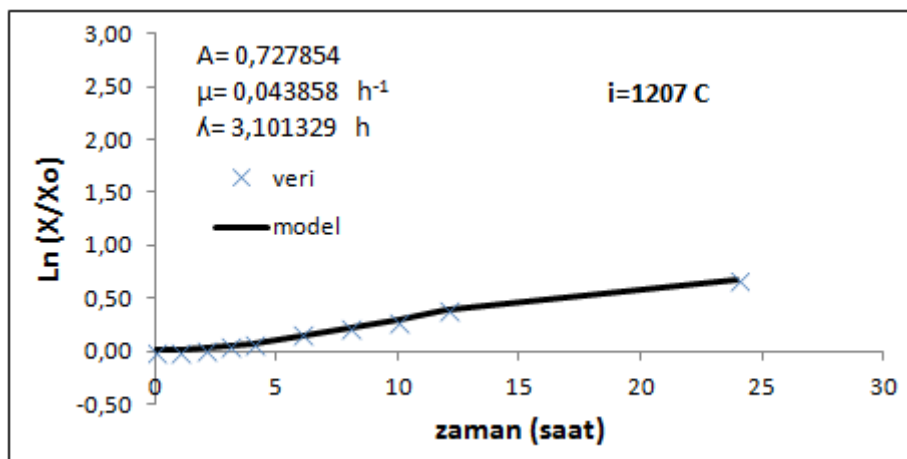
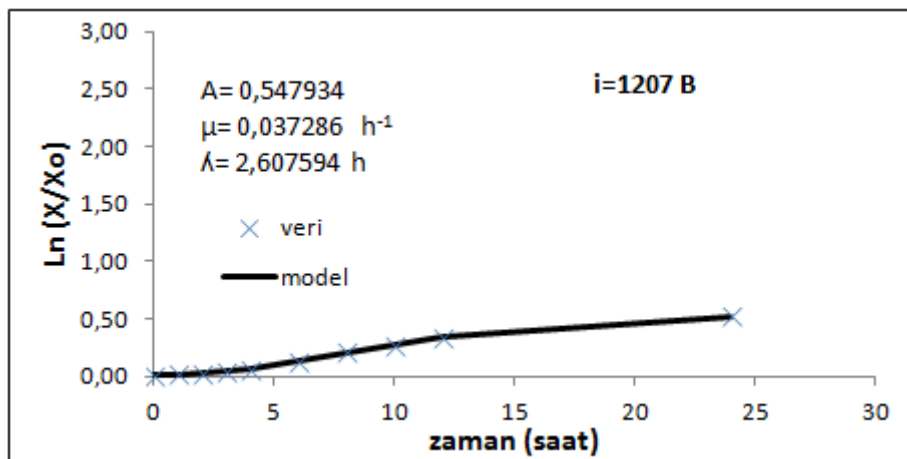
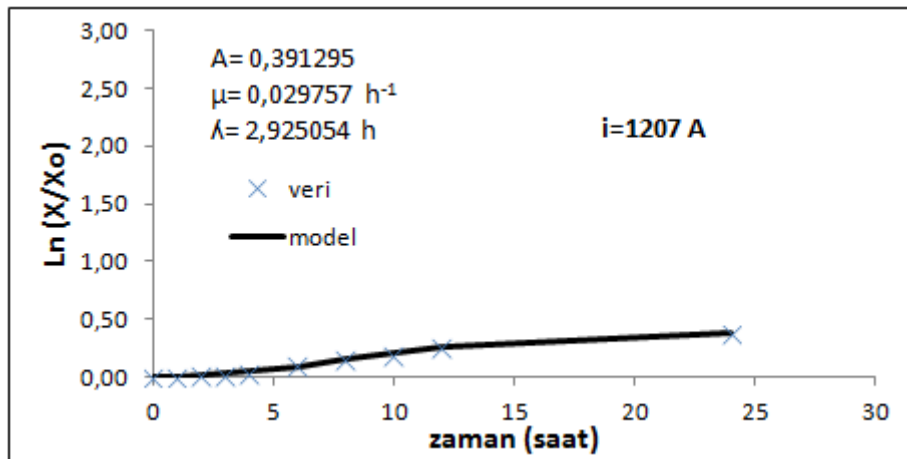


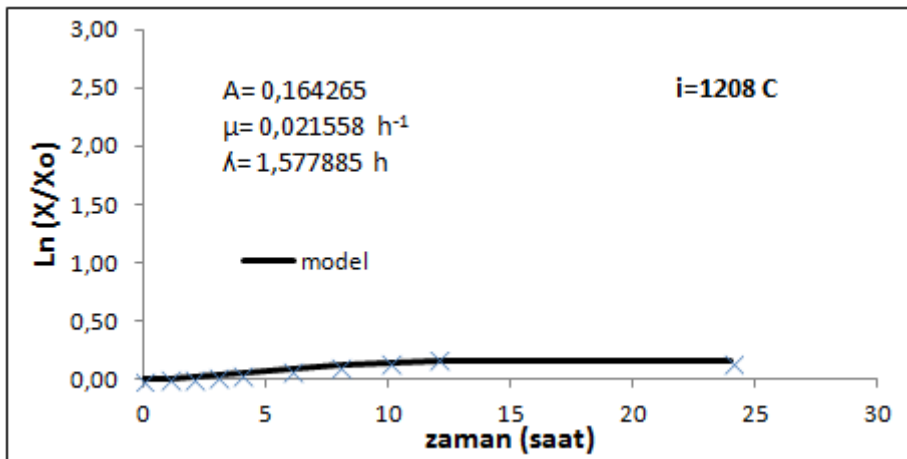
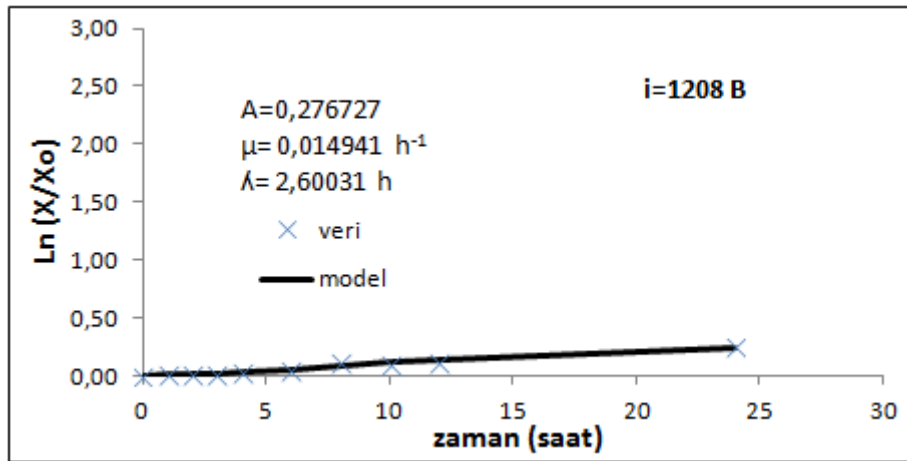
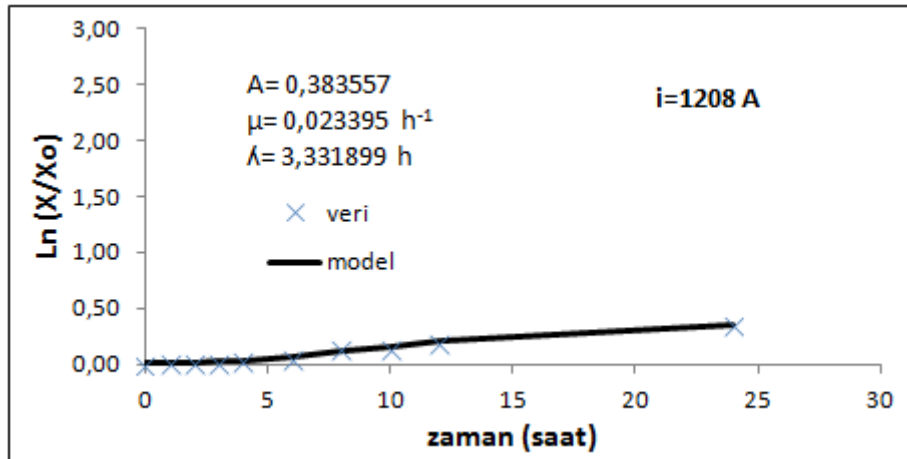


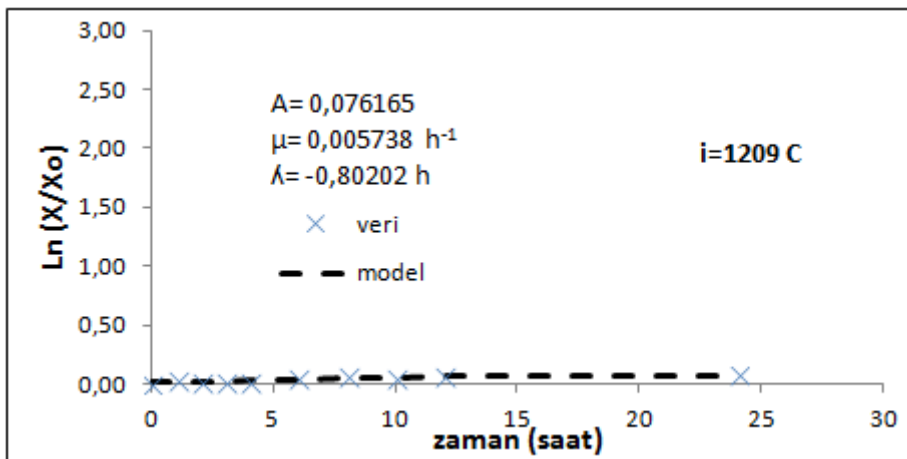
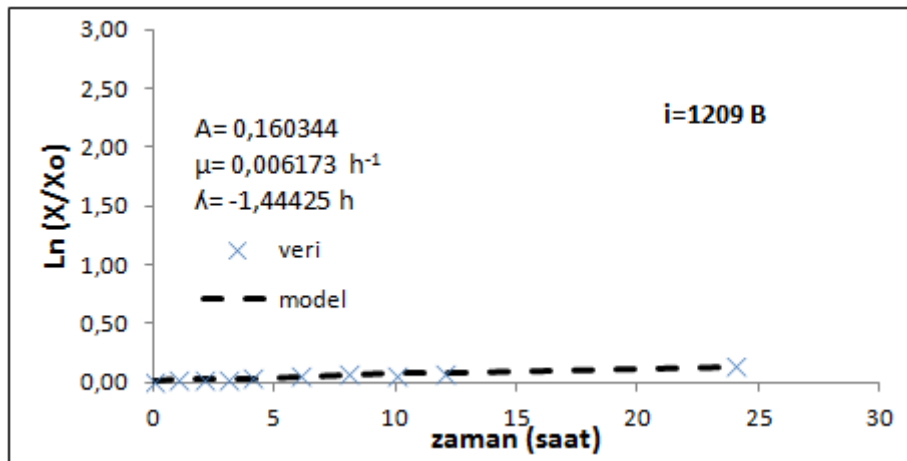
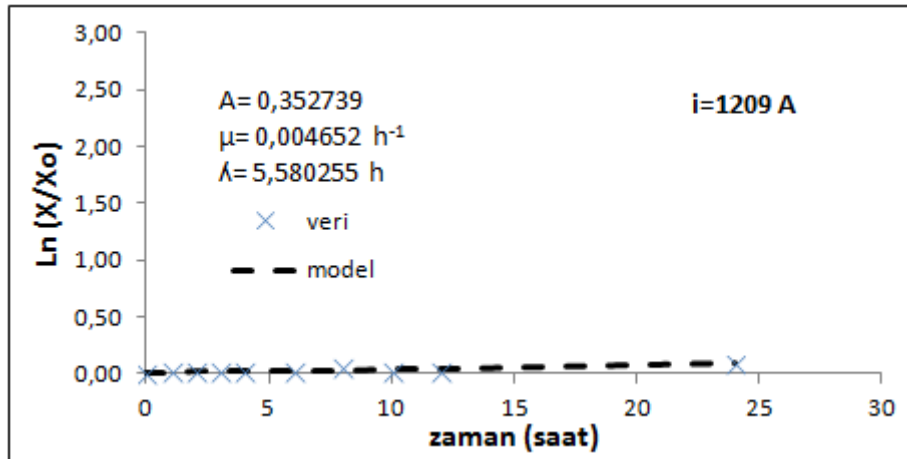


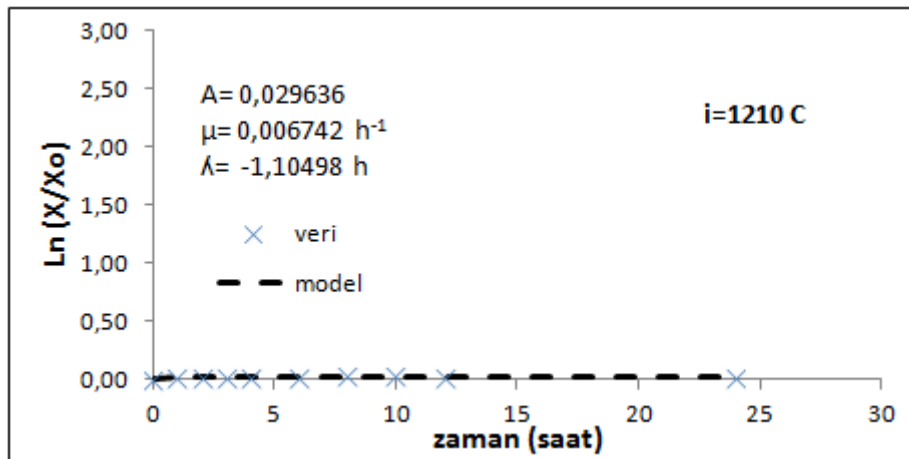
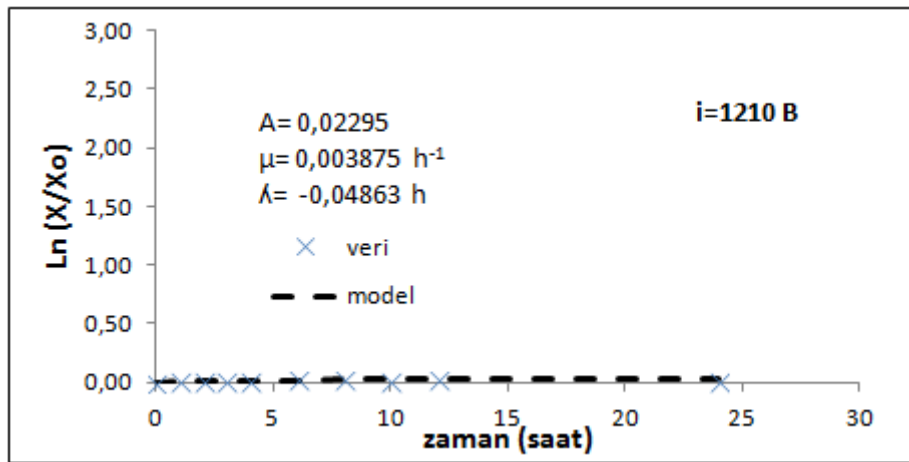
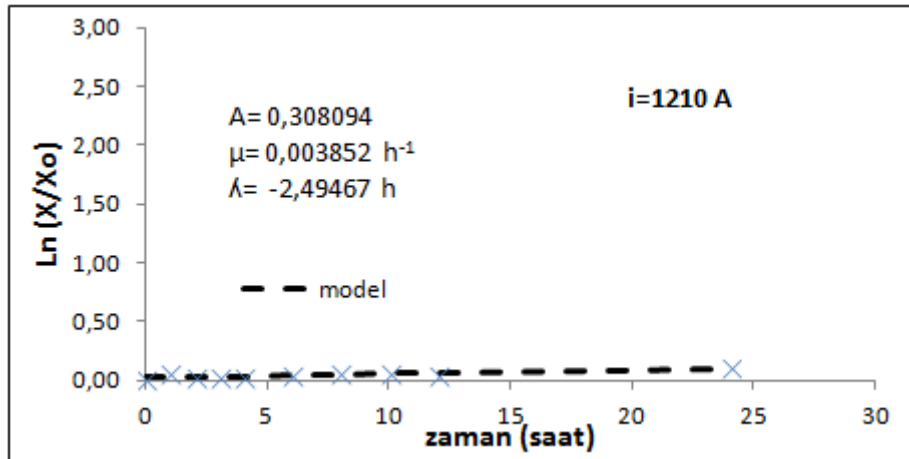




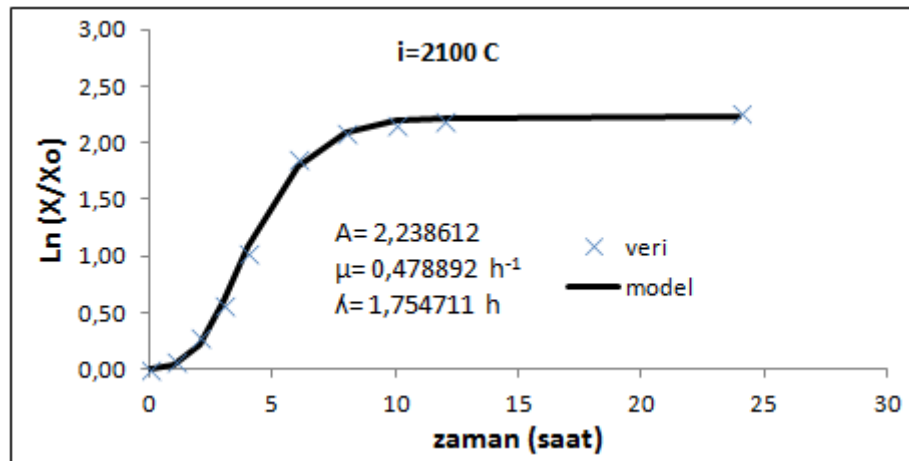
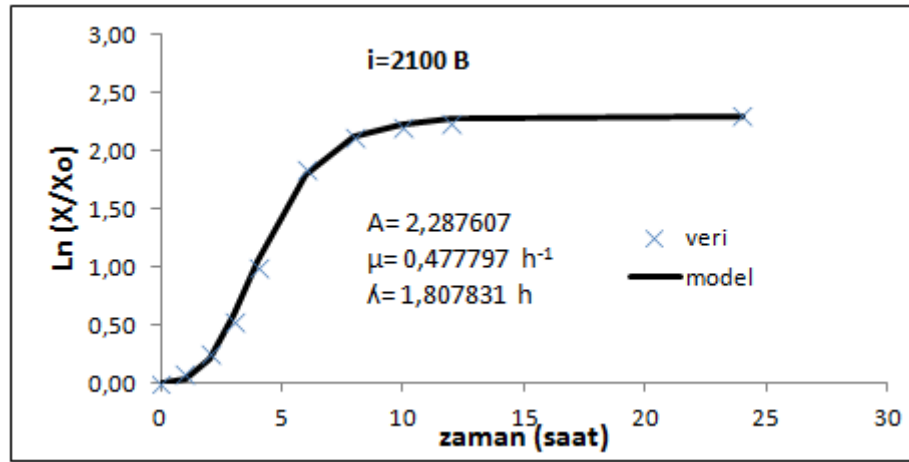
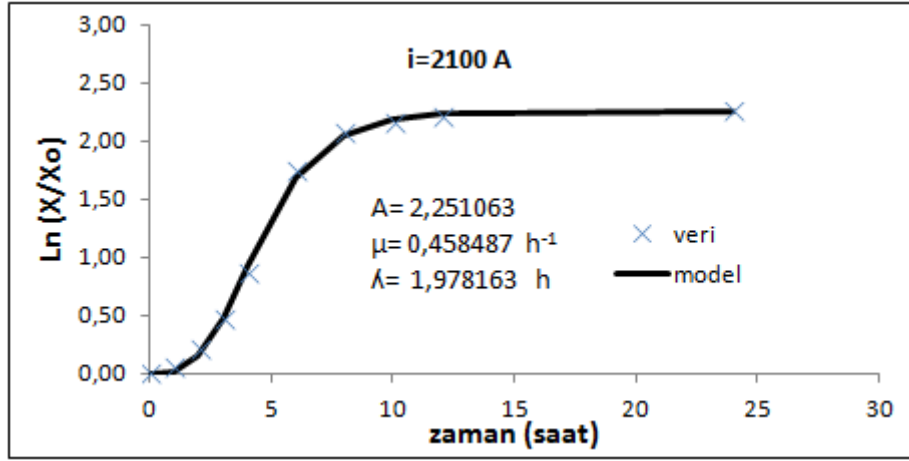


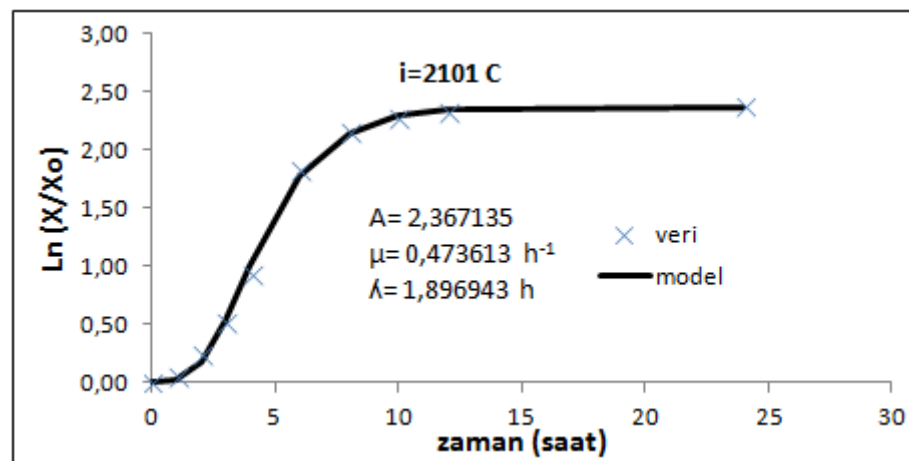
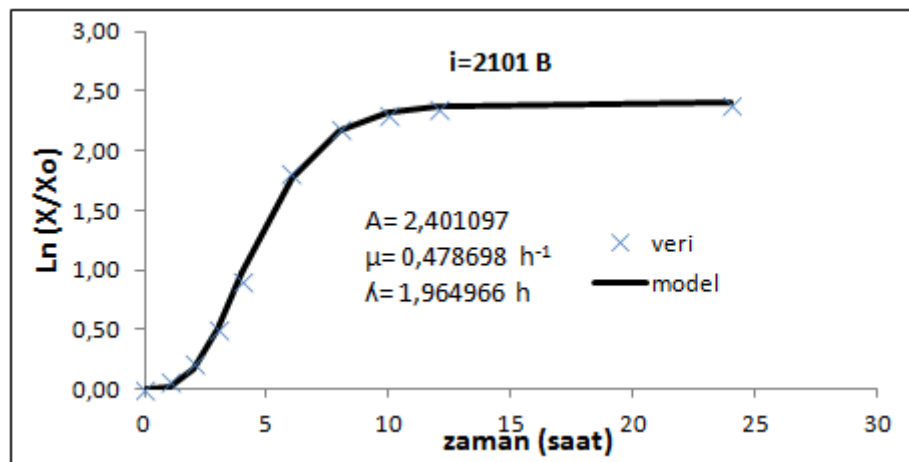
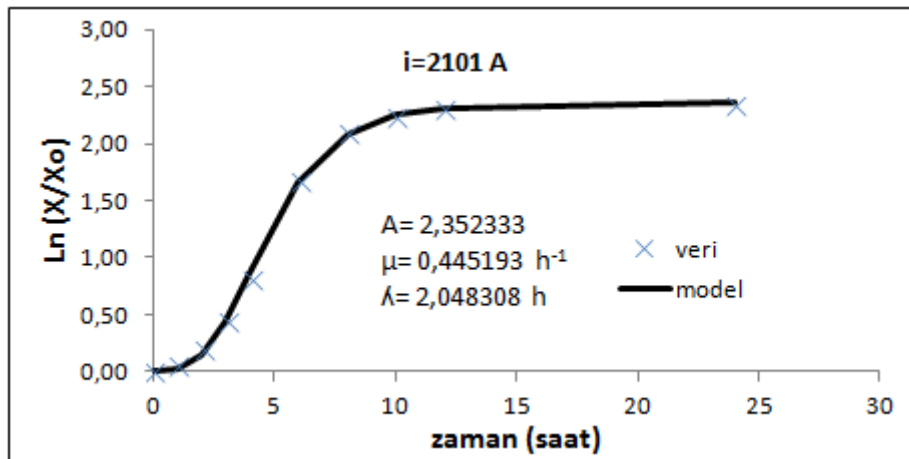


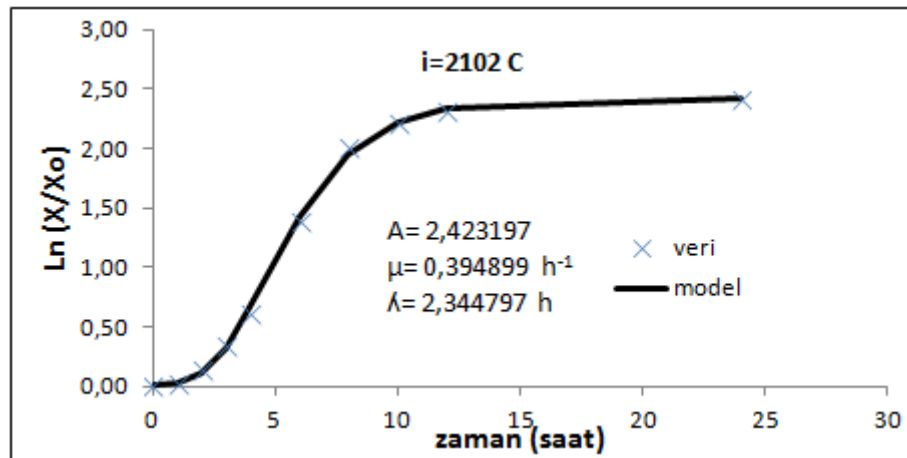
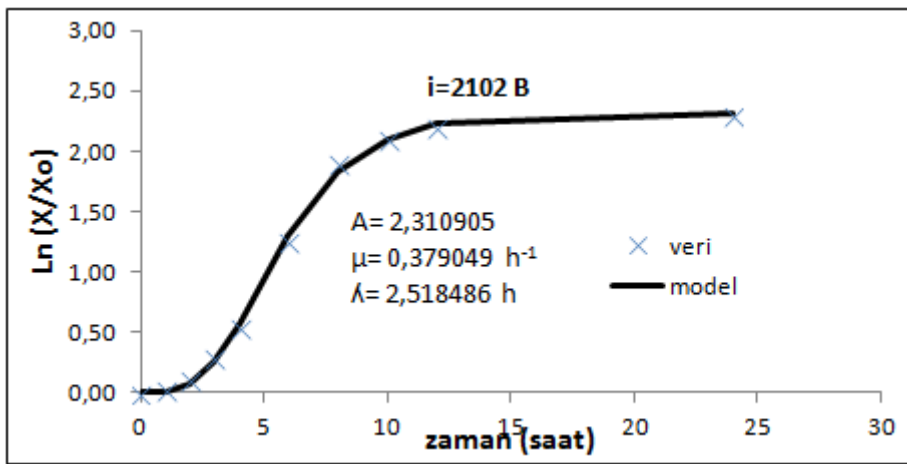
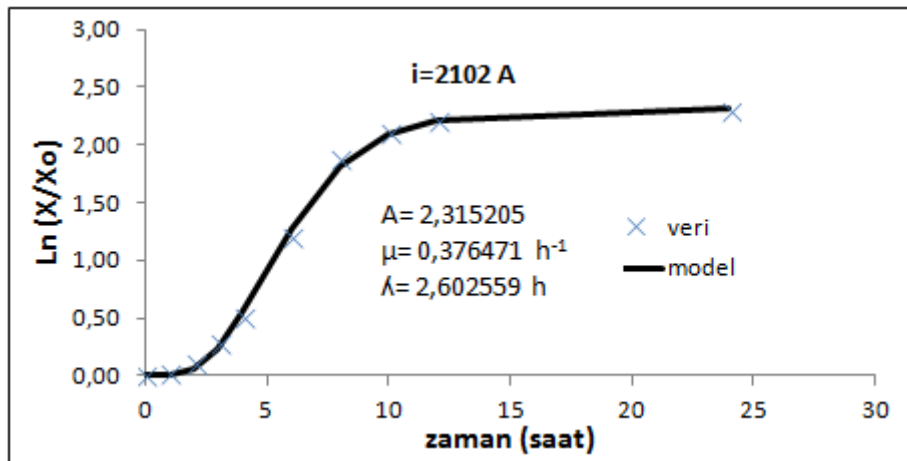


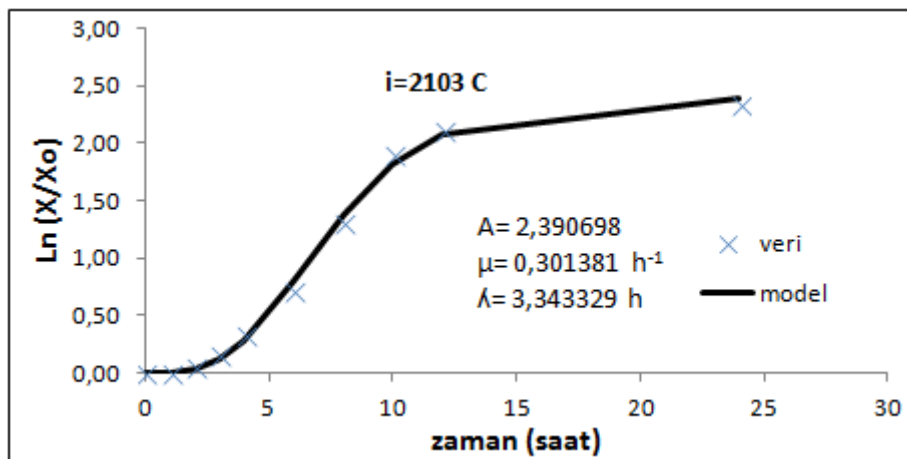
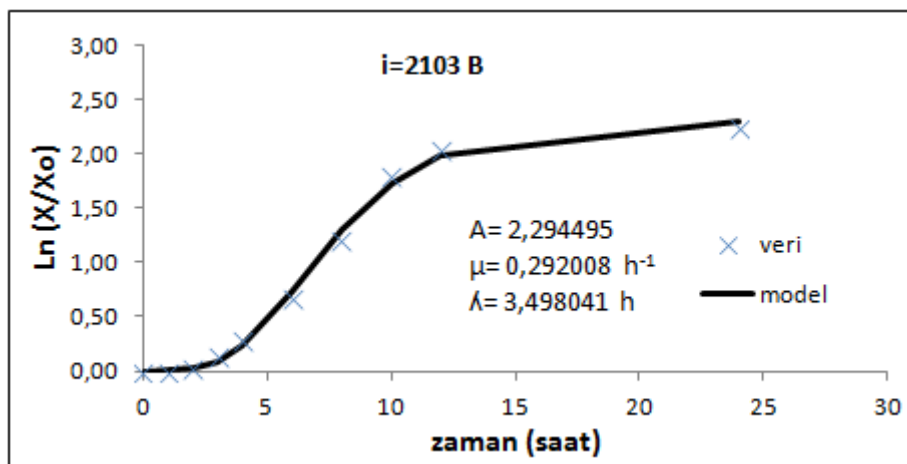
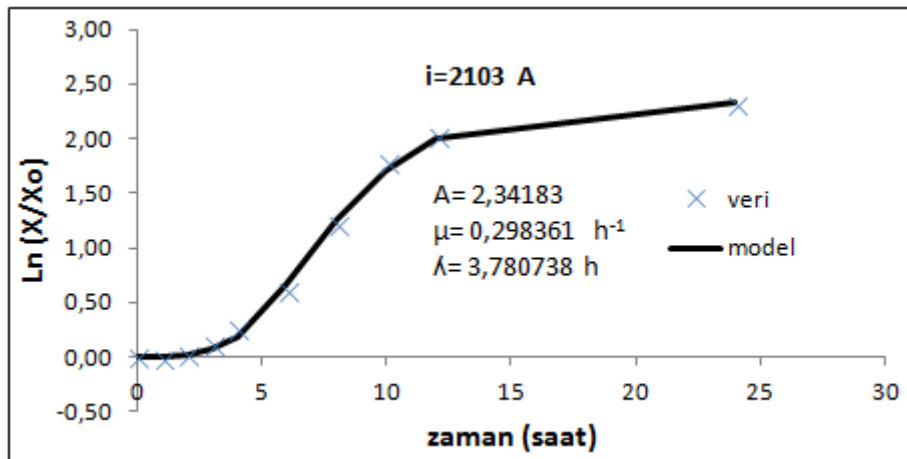


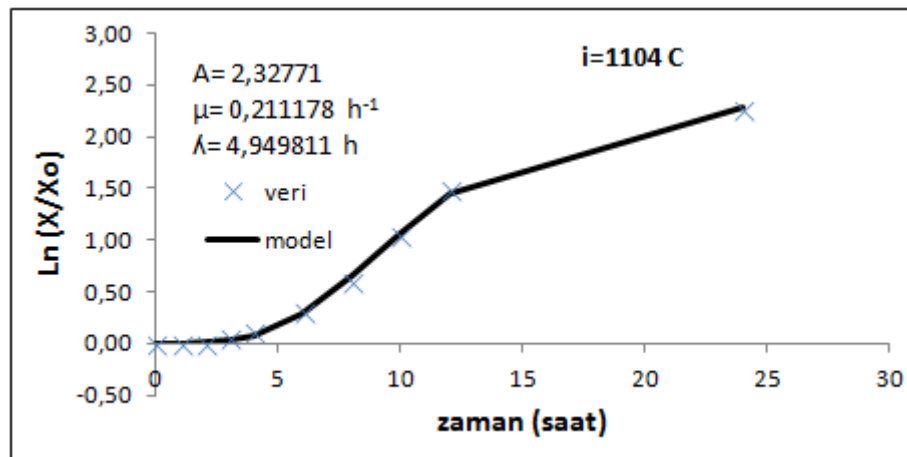
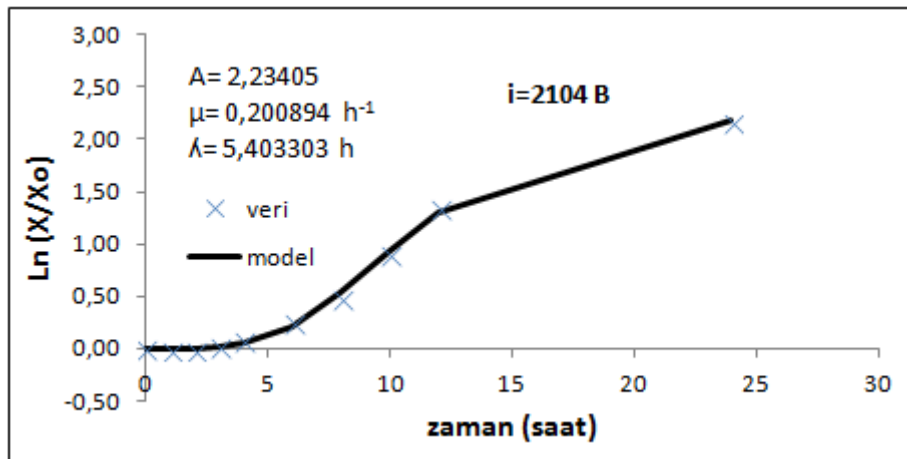
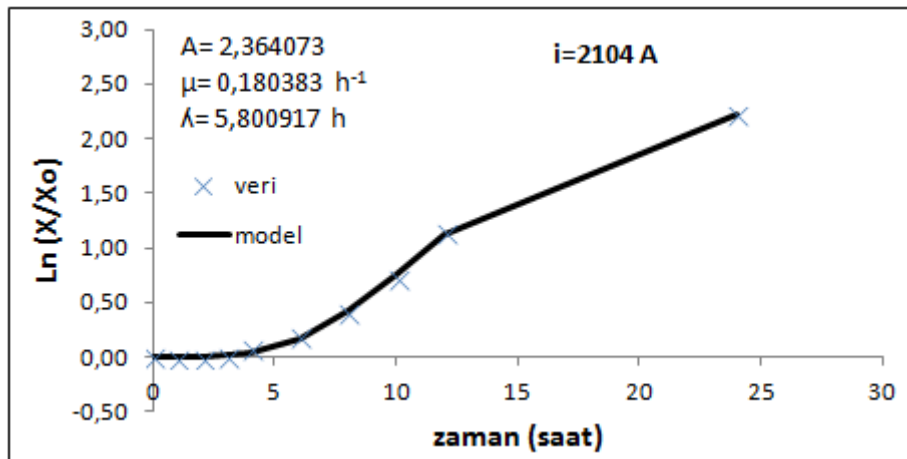
- c) Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H'nin % 0-10 tuz konsantrasyonundaki gelişim kurveleri (i=2100 A kodlaması: 2= *E. coli* O157:H, 1= Adapte edilmemiş, 00= %0 tuz, A çalışılan paralel, — modelenebilir veri, — — modellenemeyen veridir.)

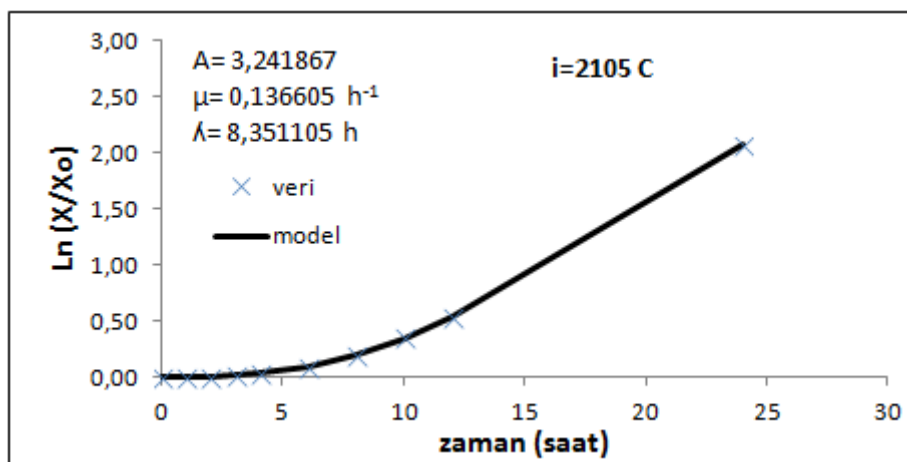
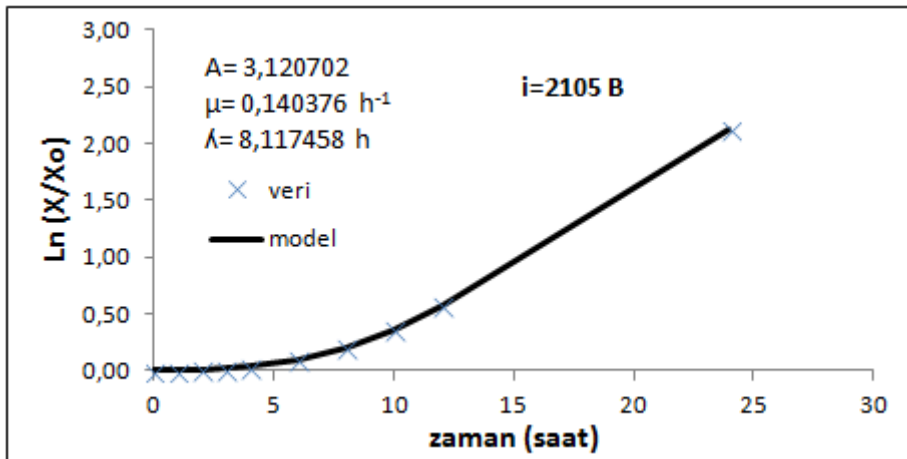
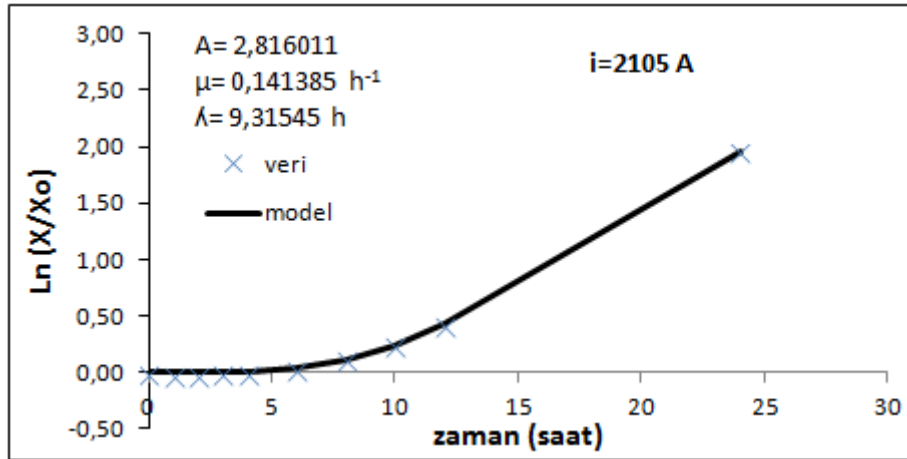


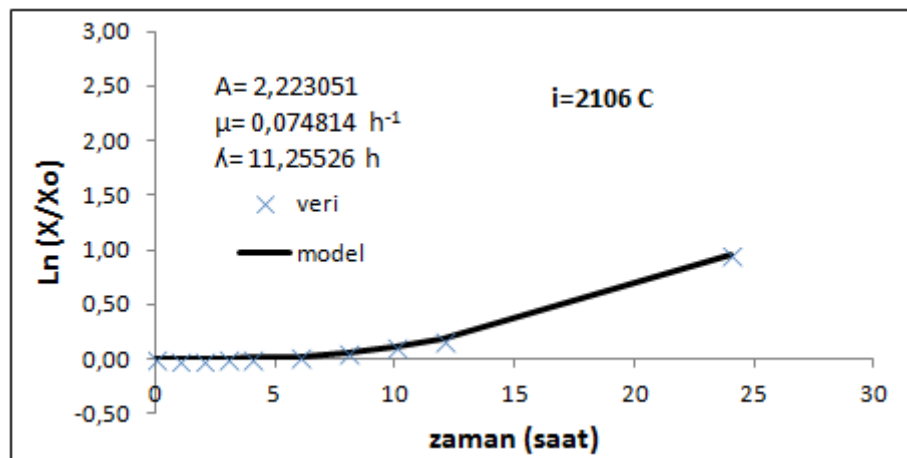
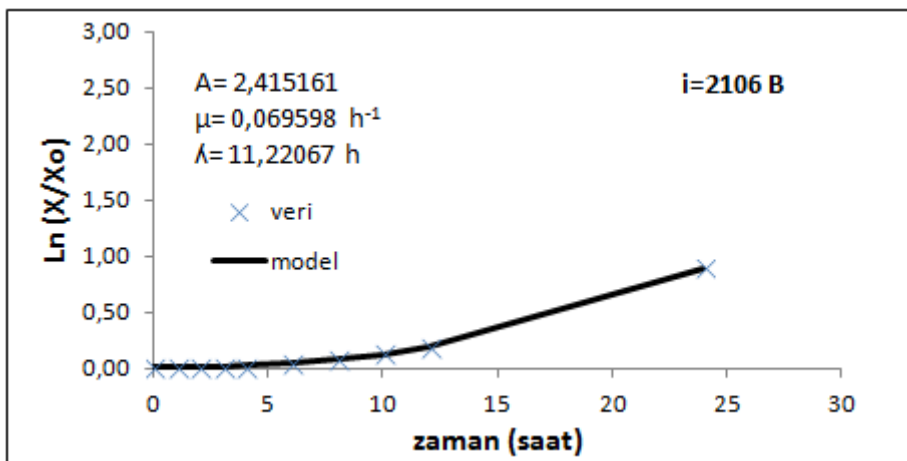
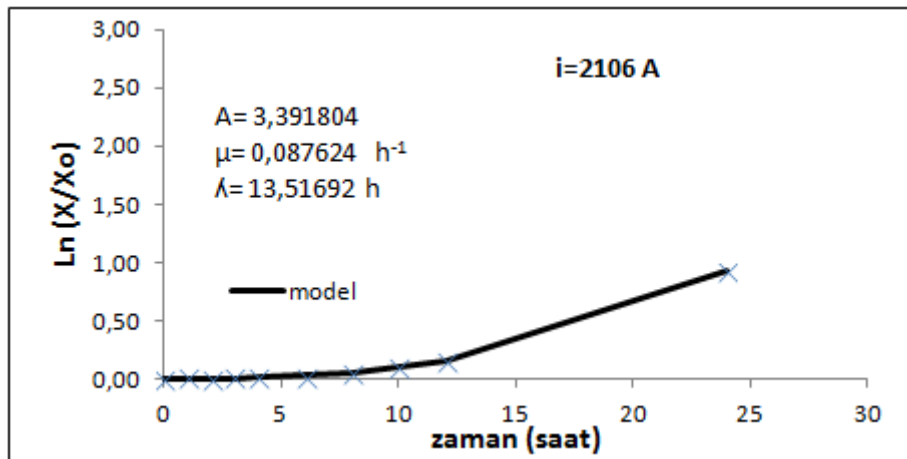


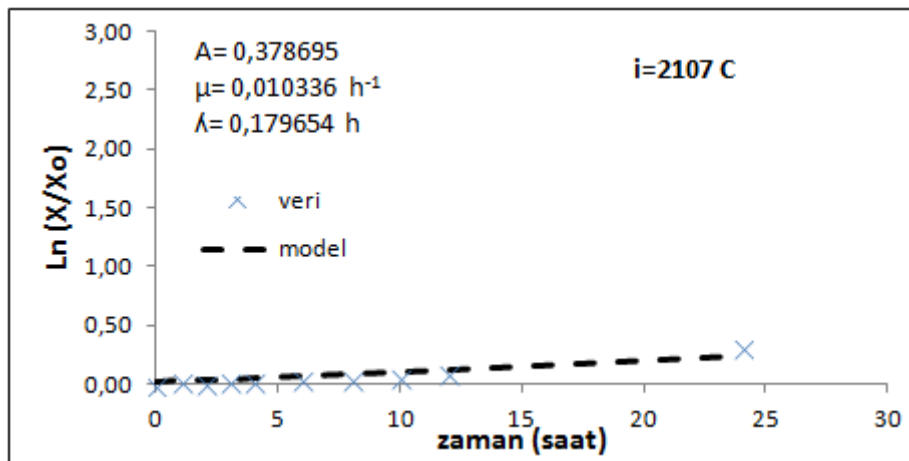
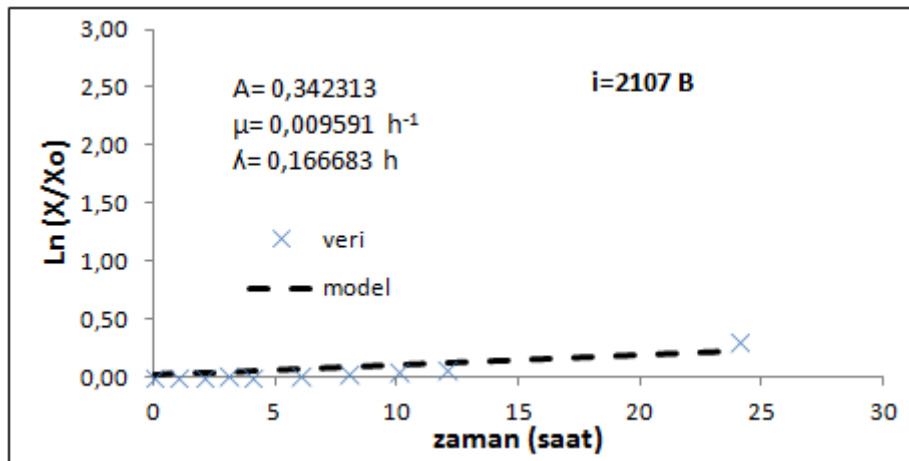
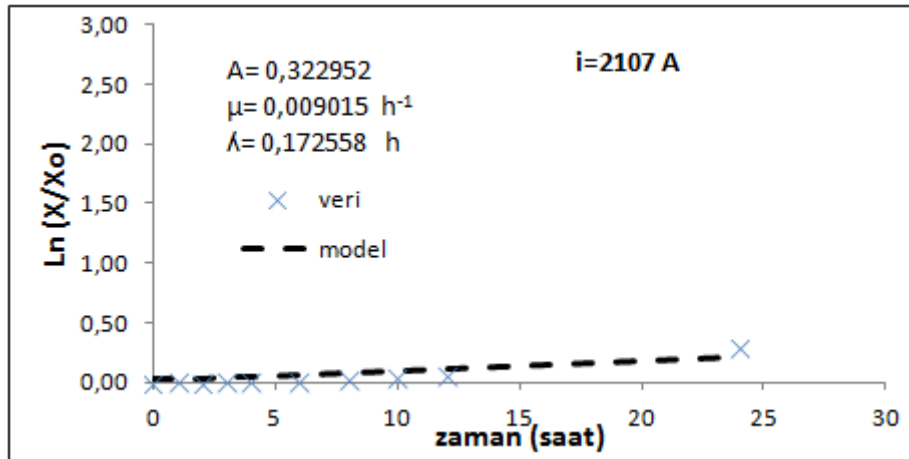


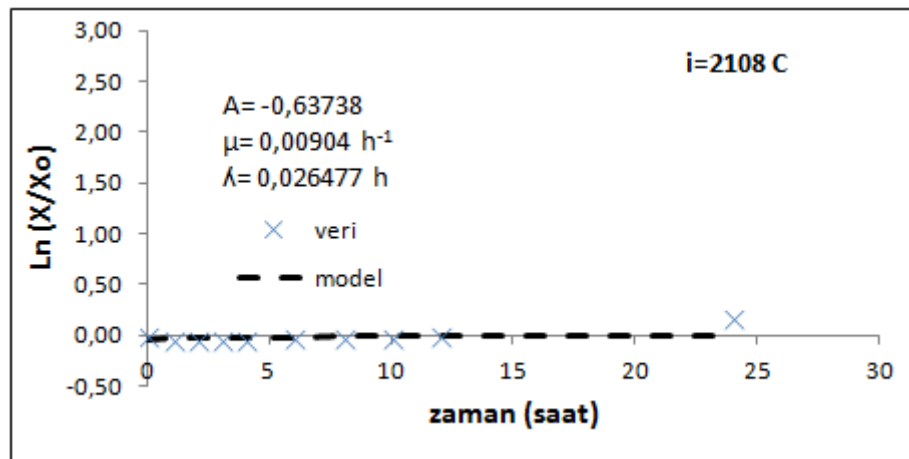
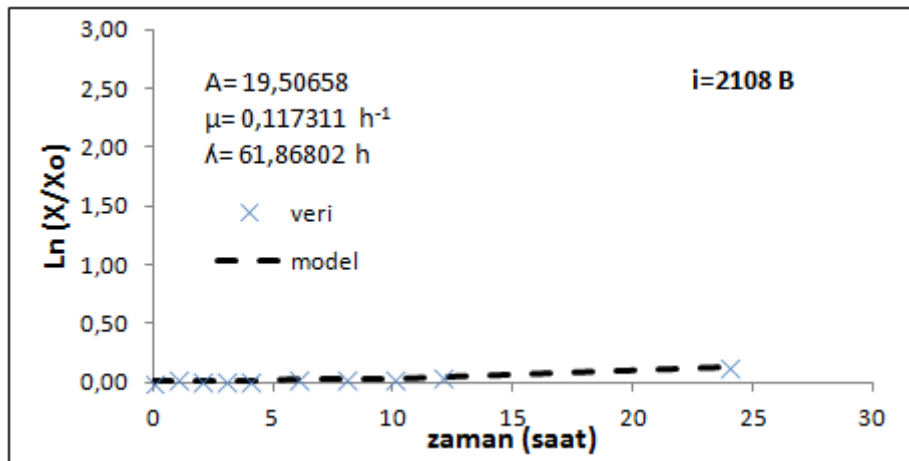
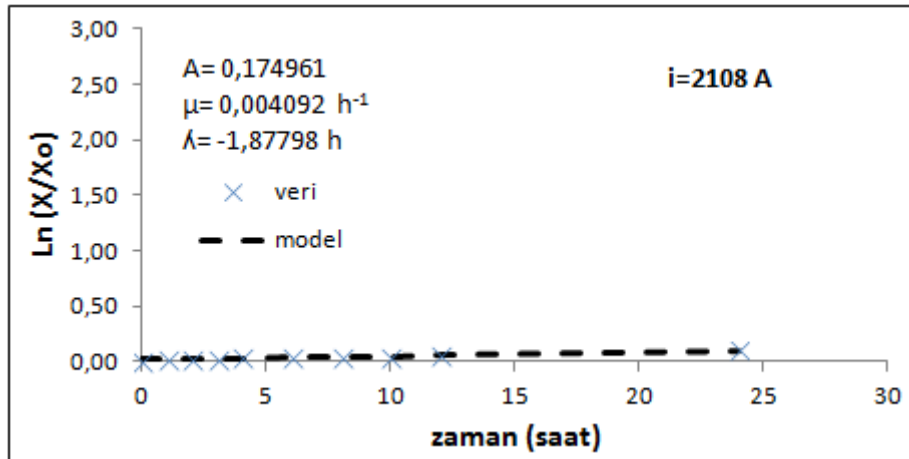


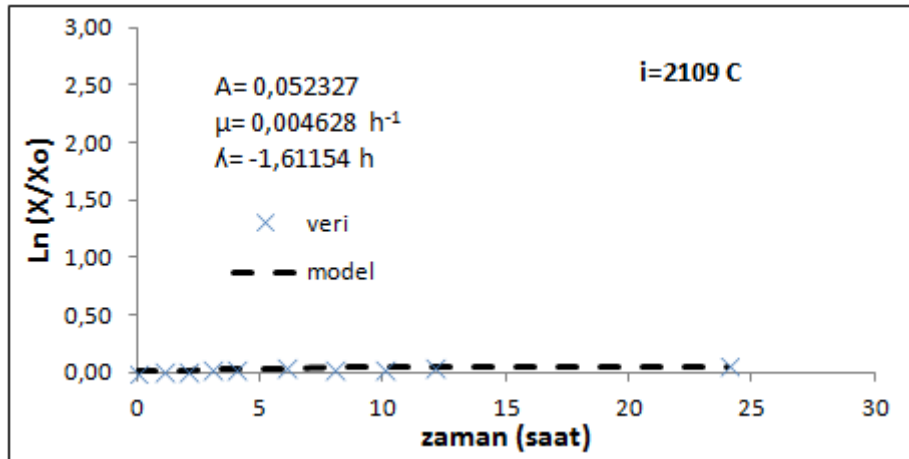
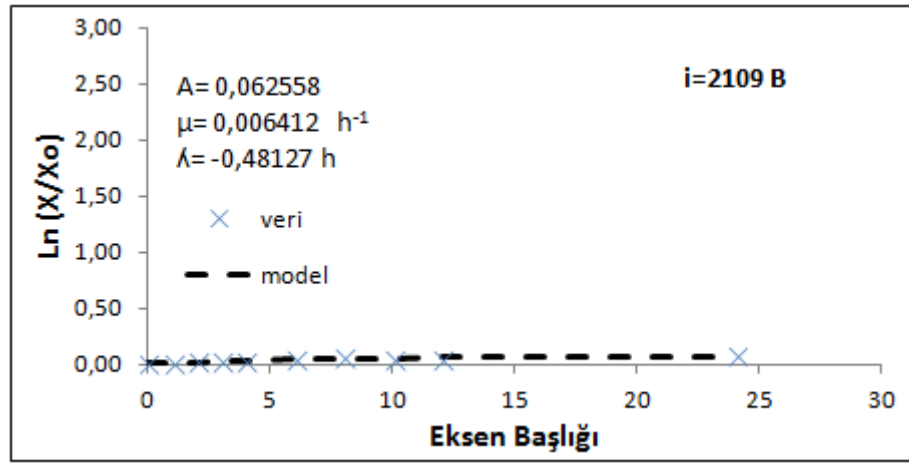
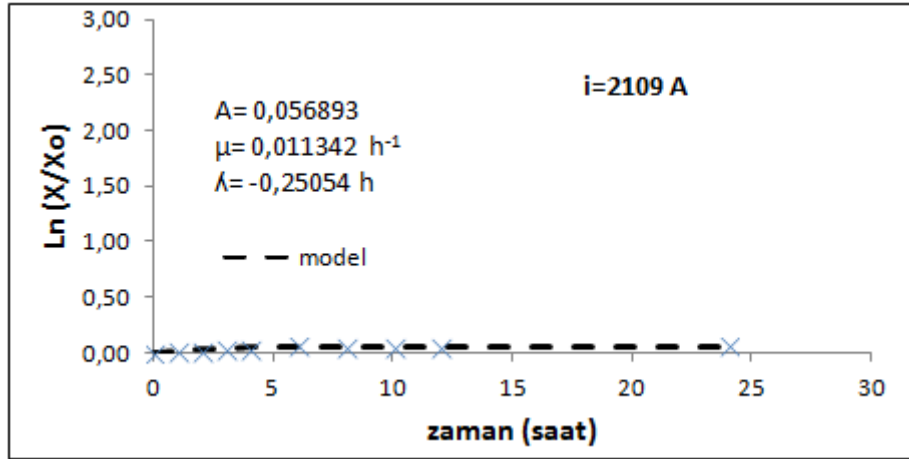


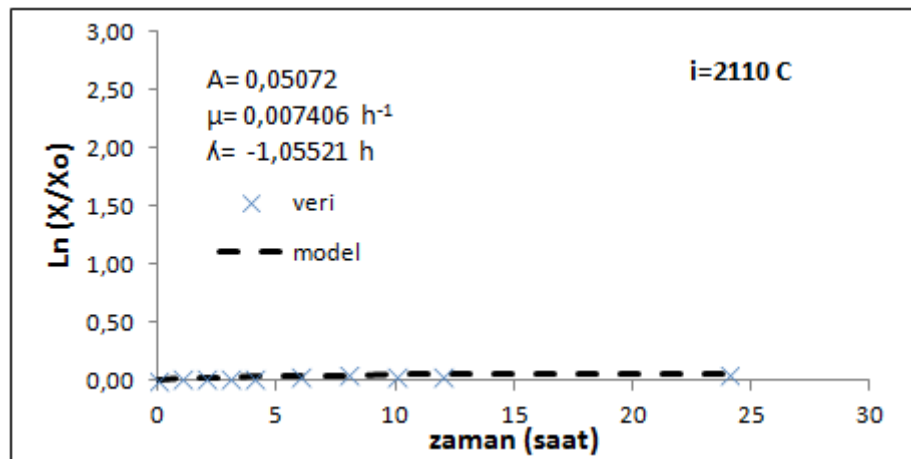
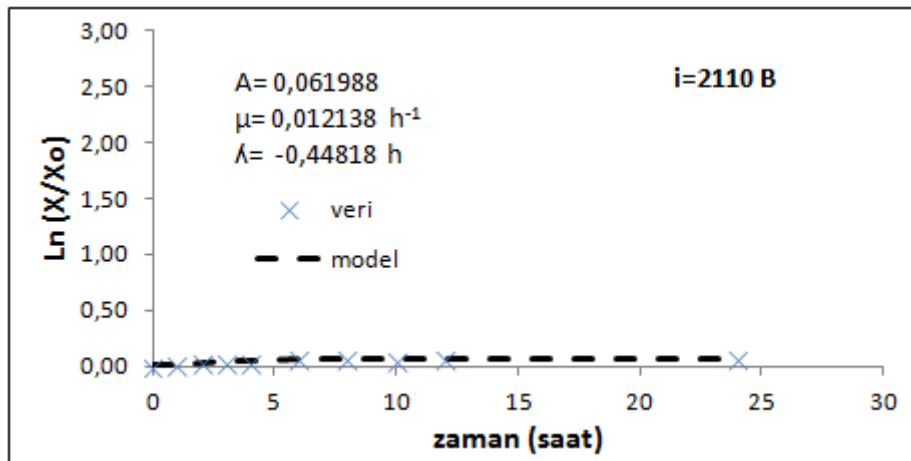
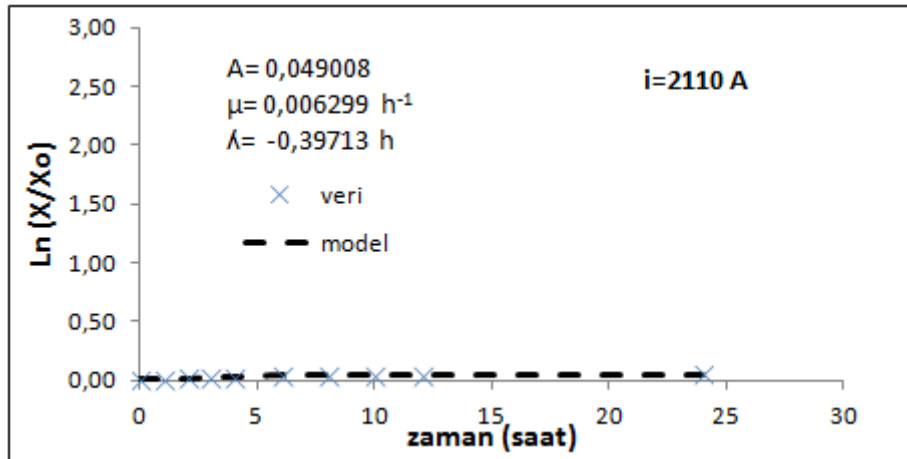




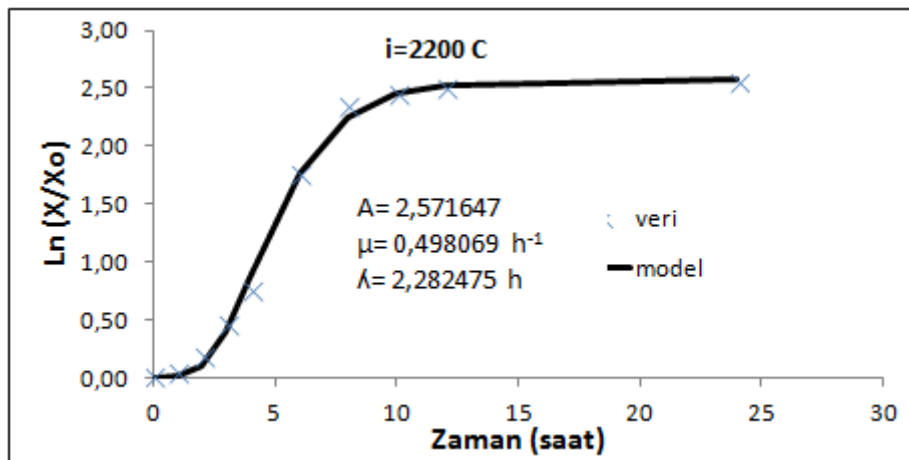
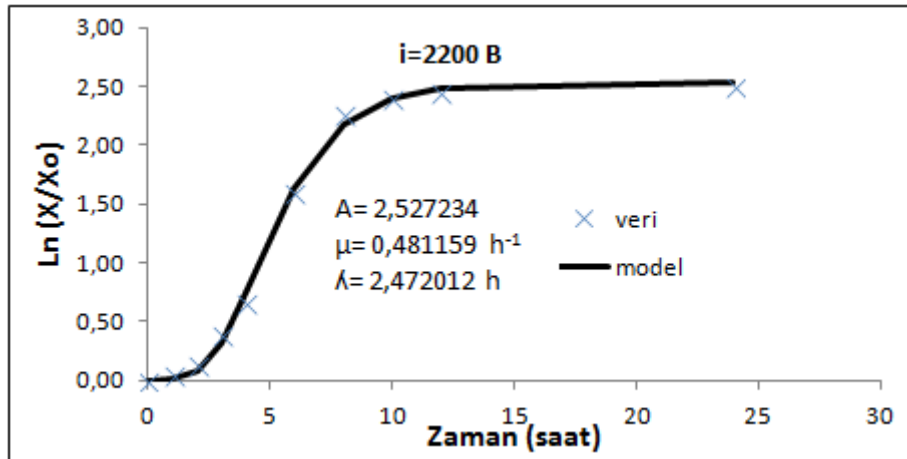
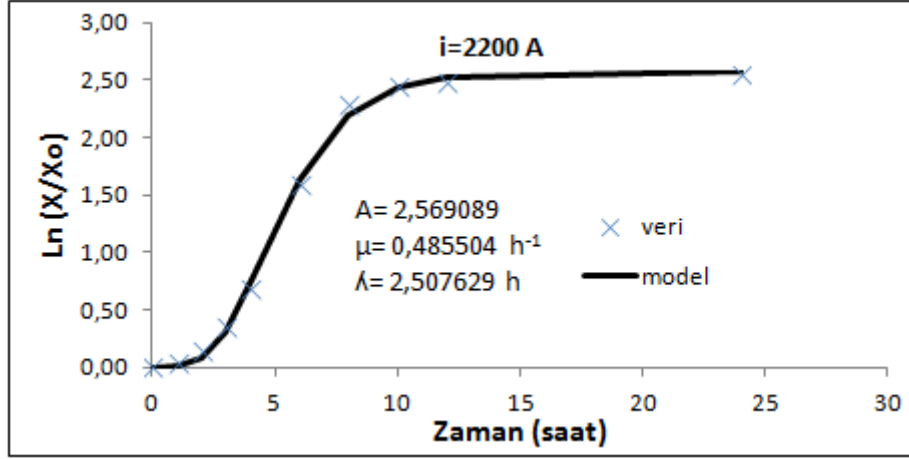


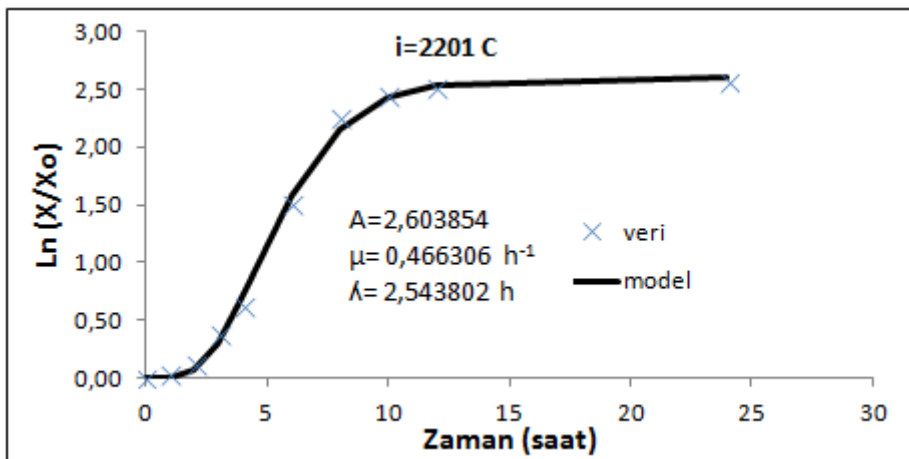
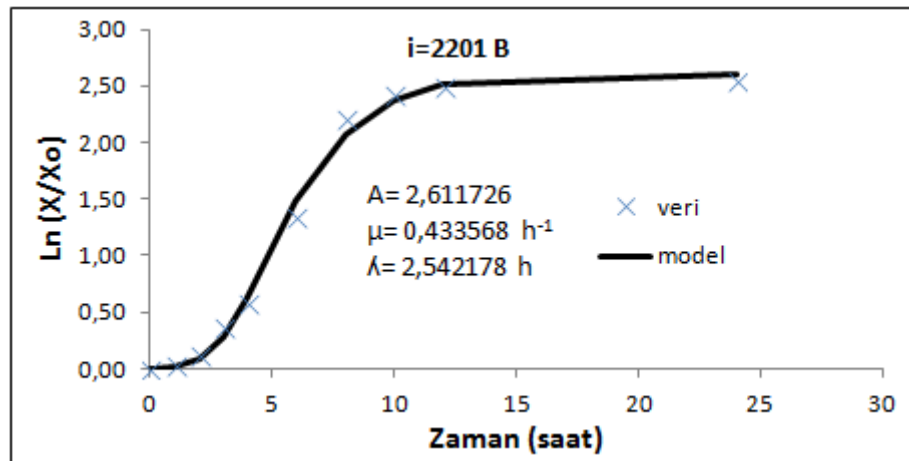
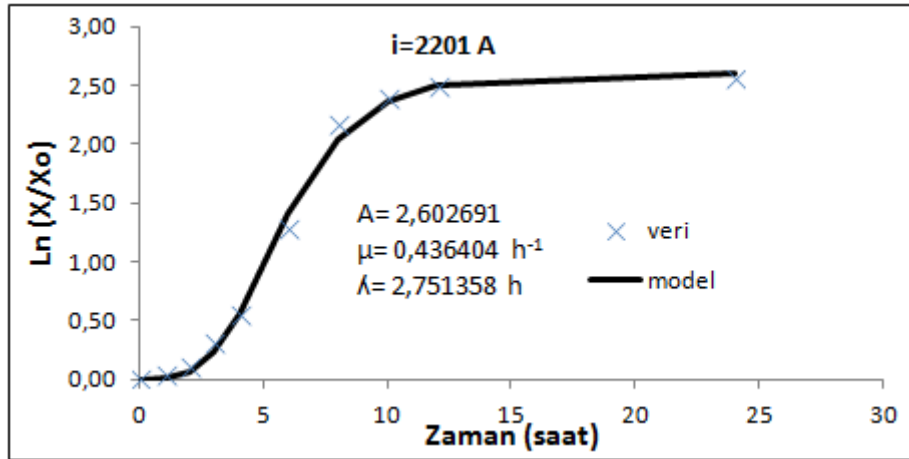


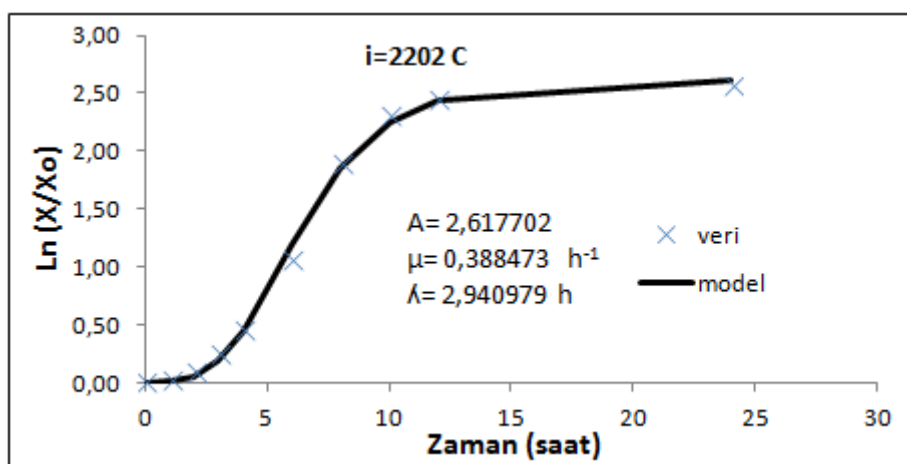
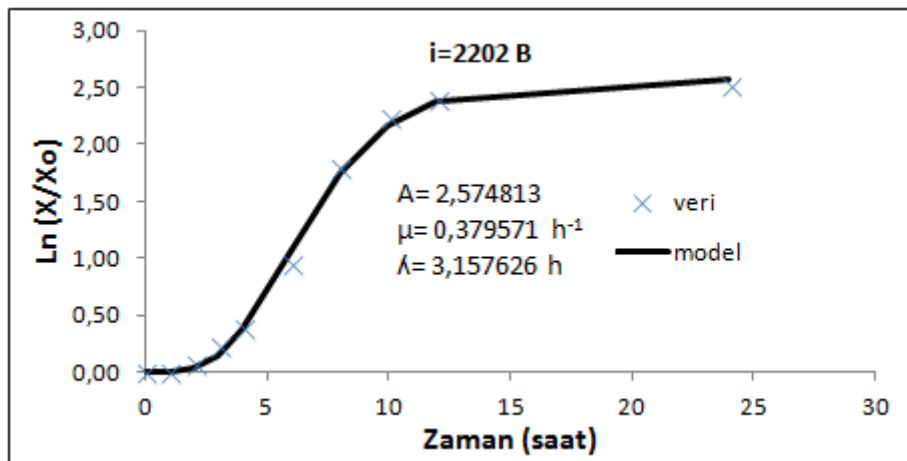
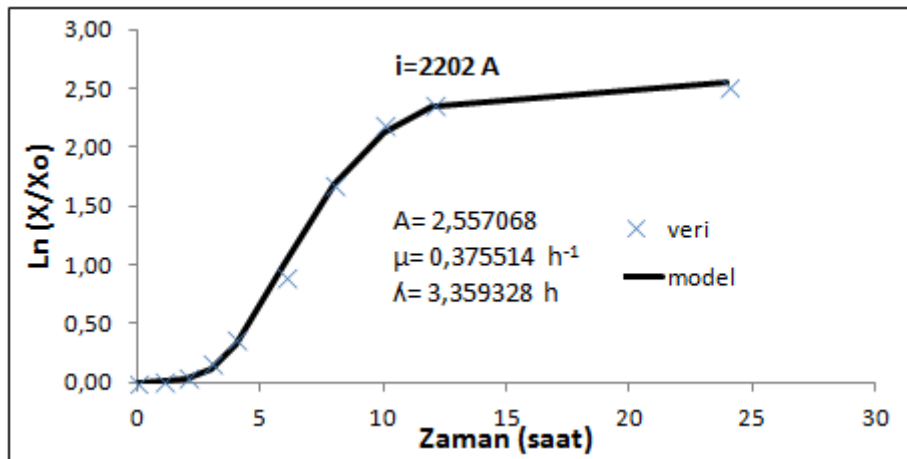


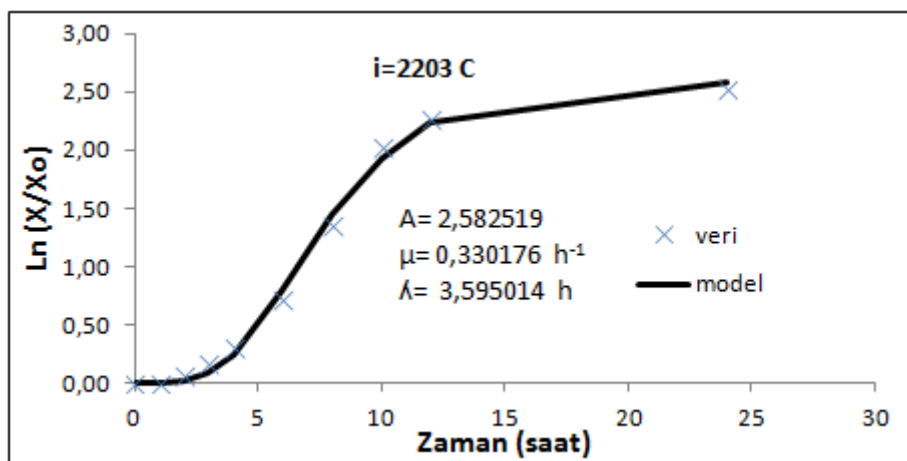
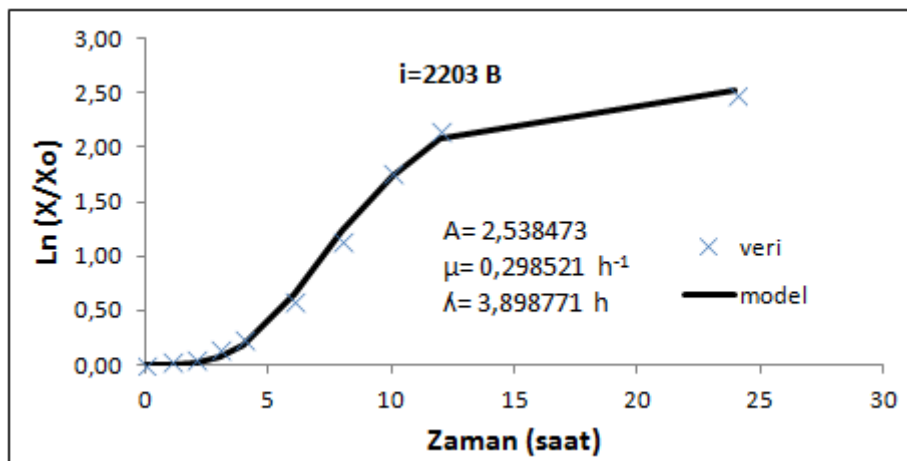
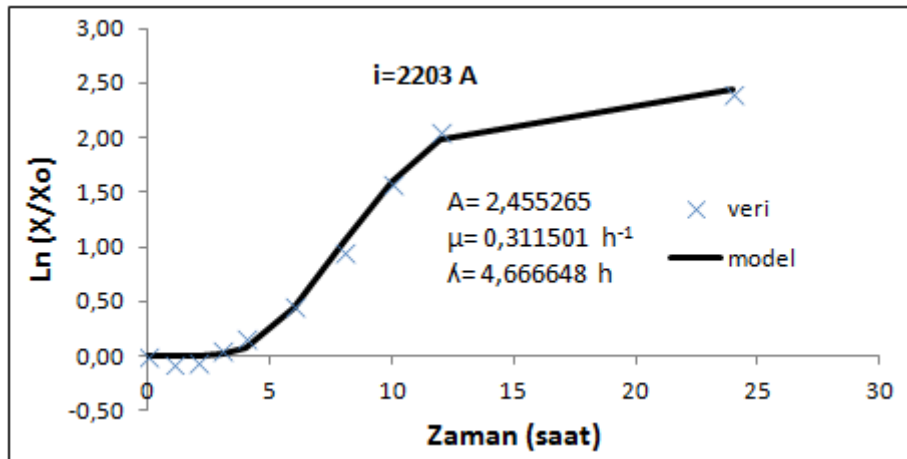


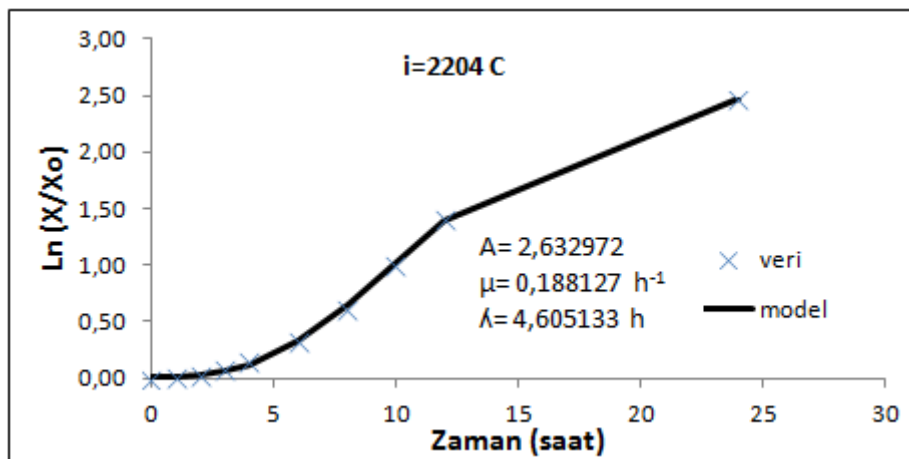
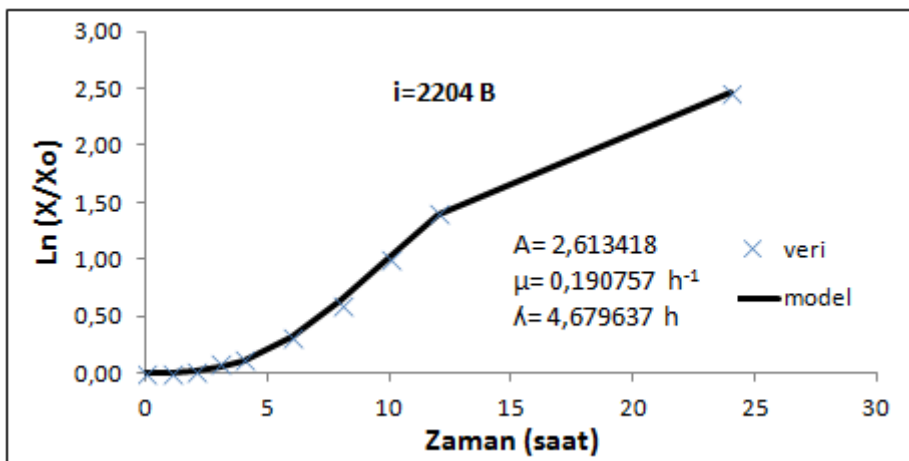
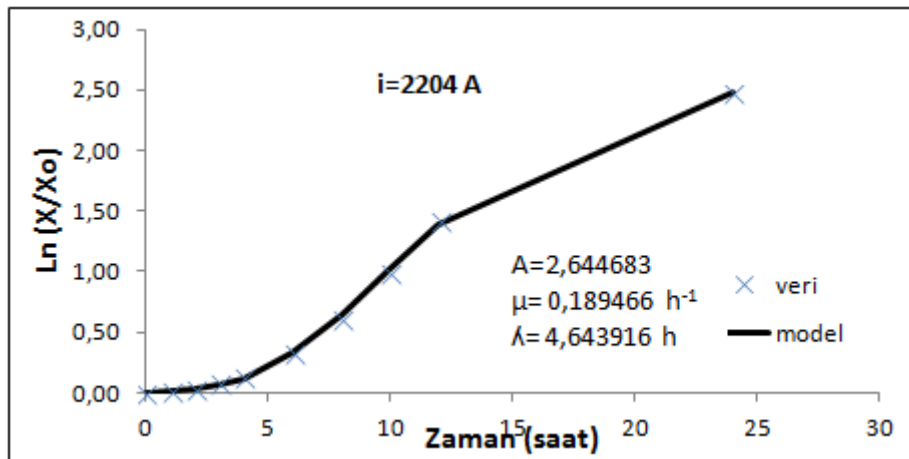
- d) Adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin % 0-10 tuz konsantrasyonundaki gelişim kurveleri (i=2200 A kodlaması: 2= *E. coli* O157:H7, 2= Adapte edilmiş, 00= %0 tuz, A çalışılan paralel, — modellenebilir veri, - - - modellenemeyen veridir.)

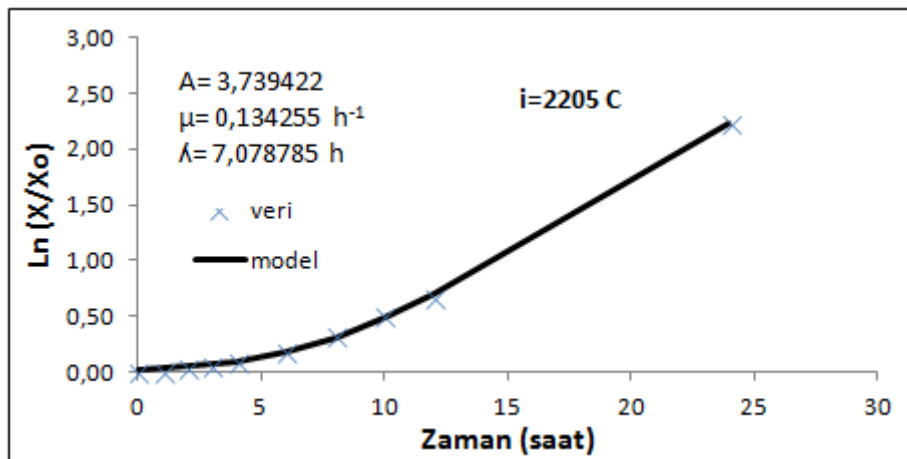
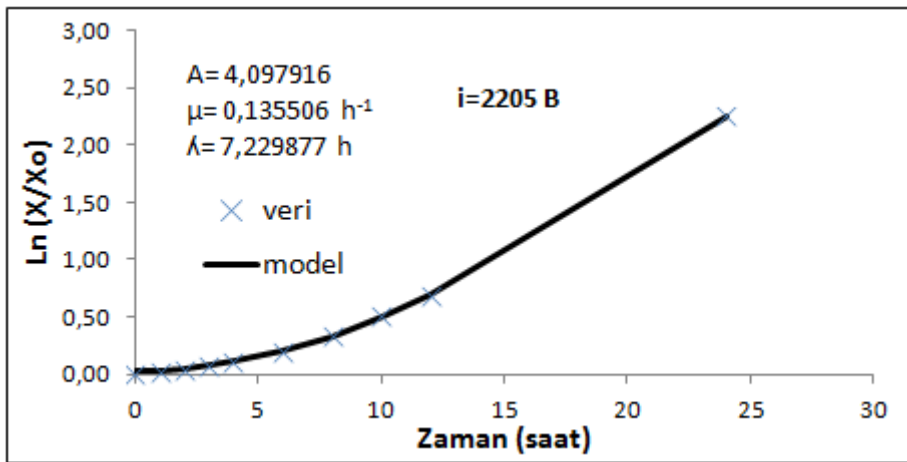
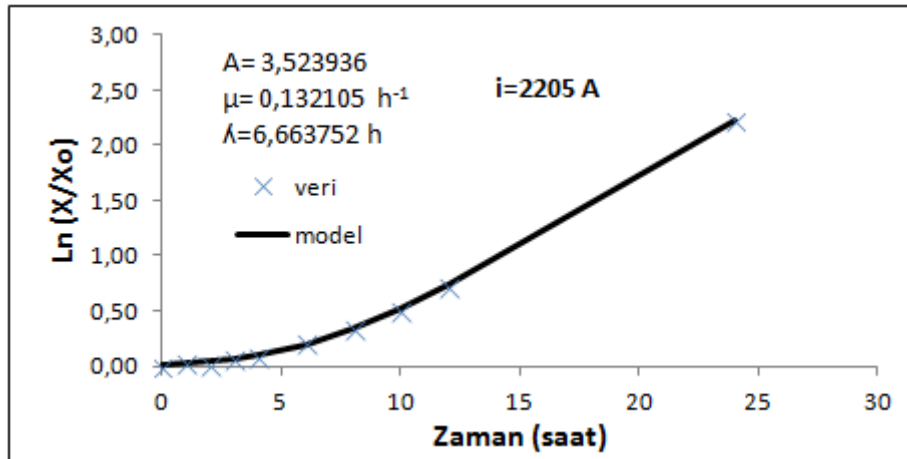


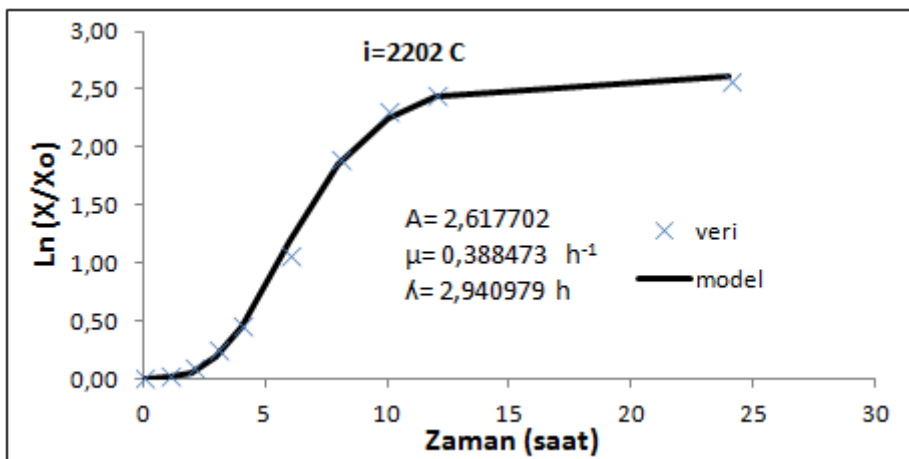
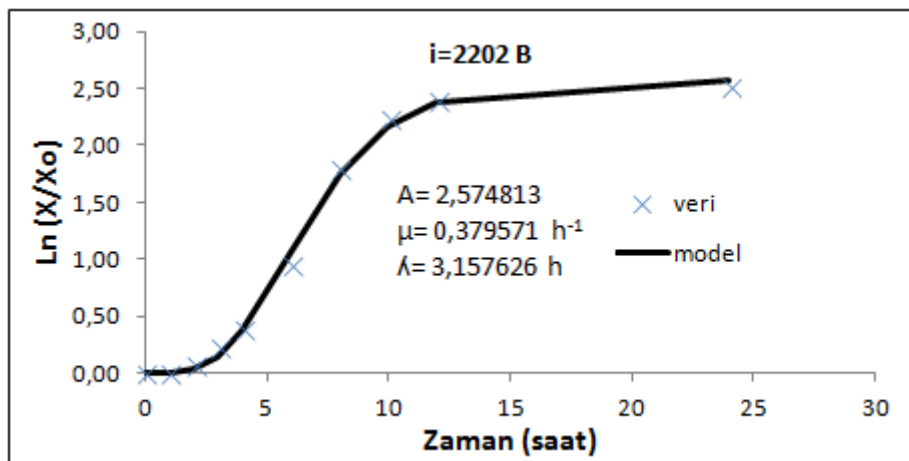
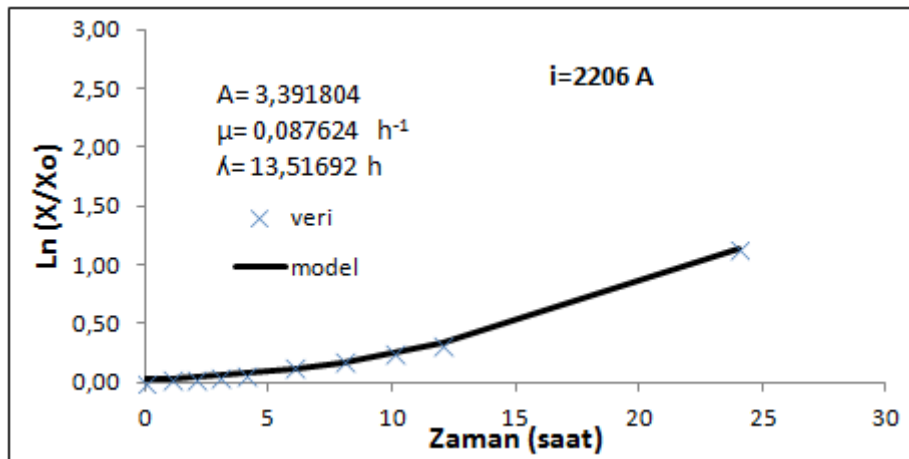


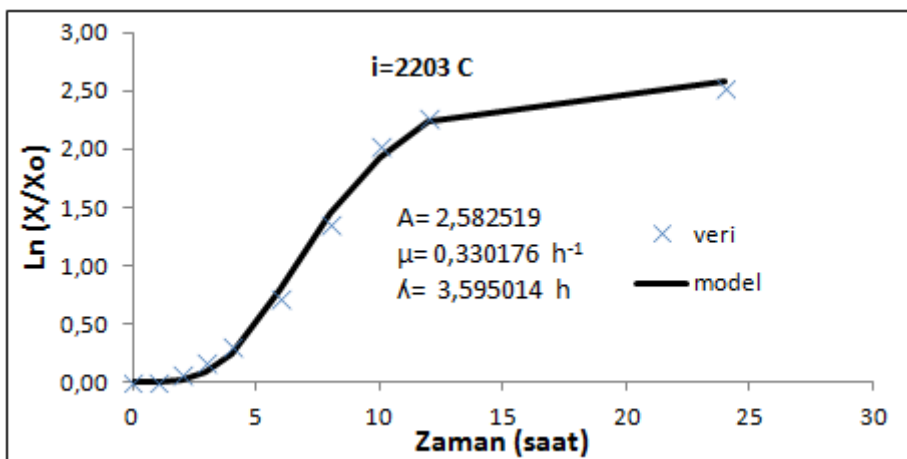
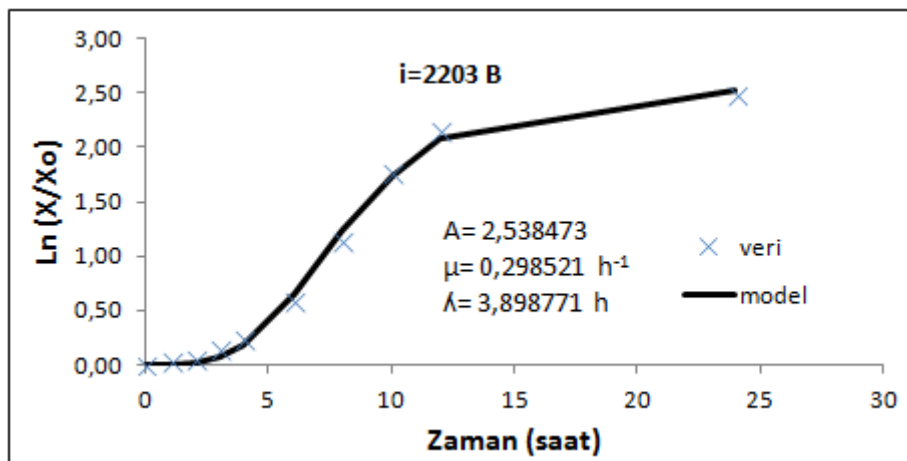
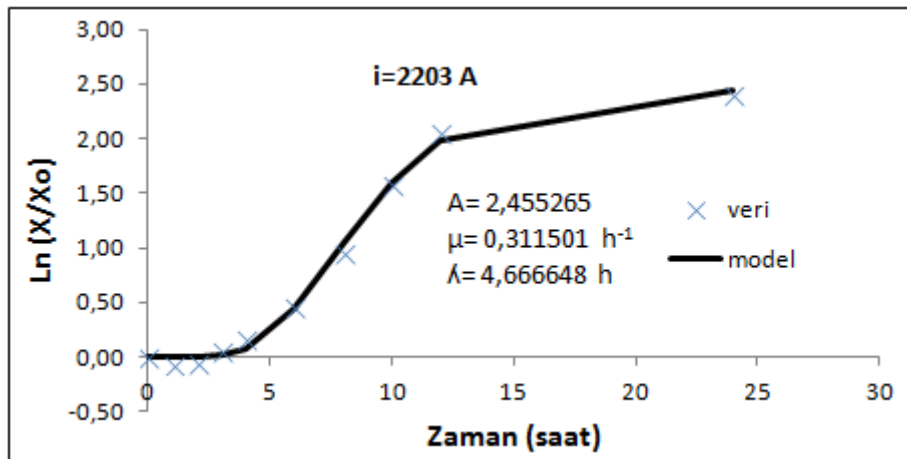


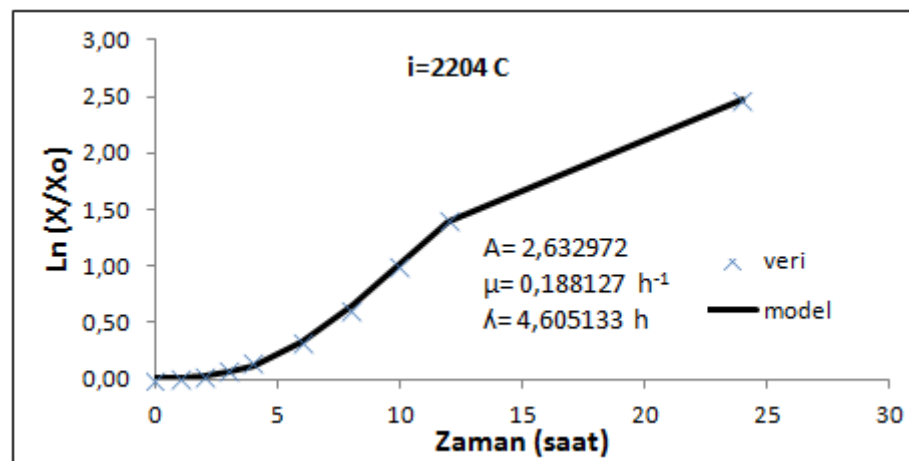
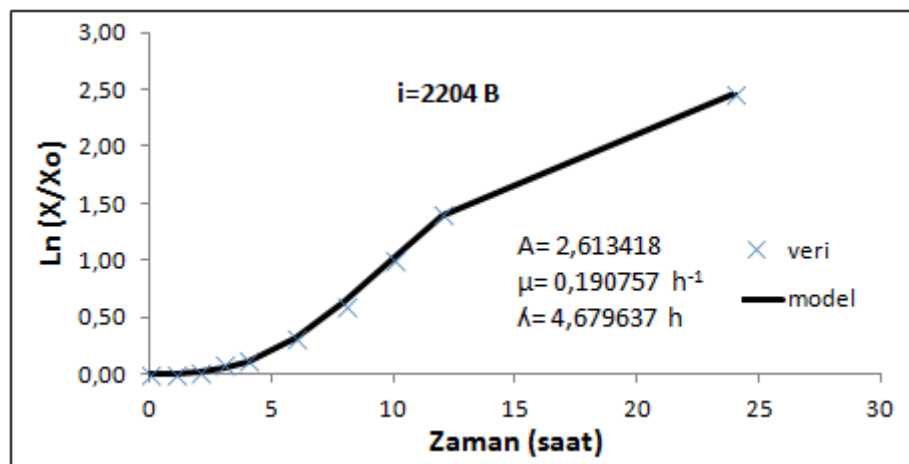
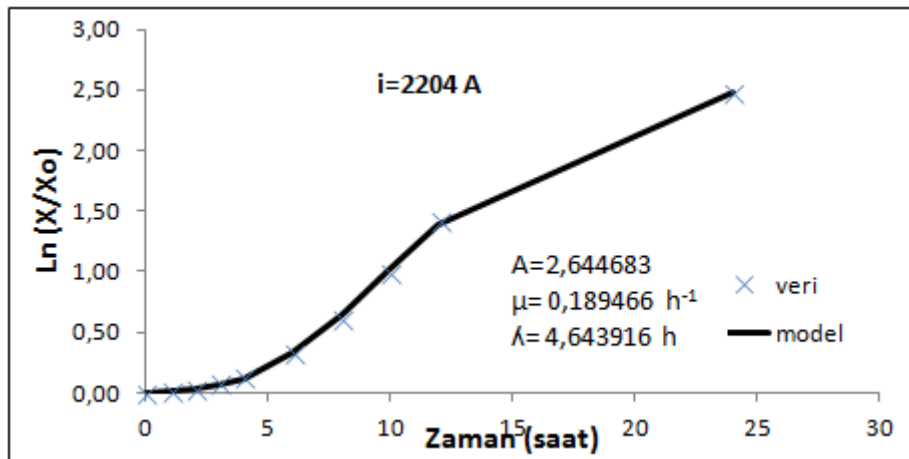


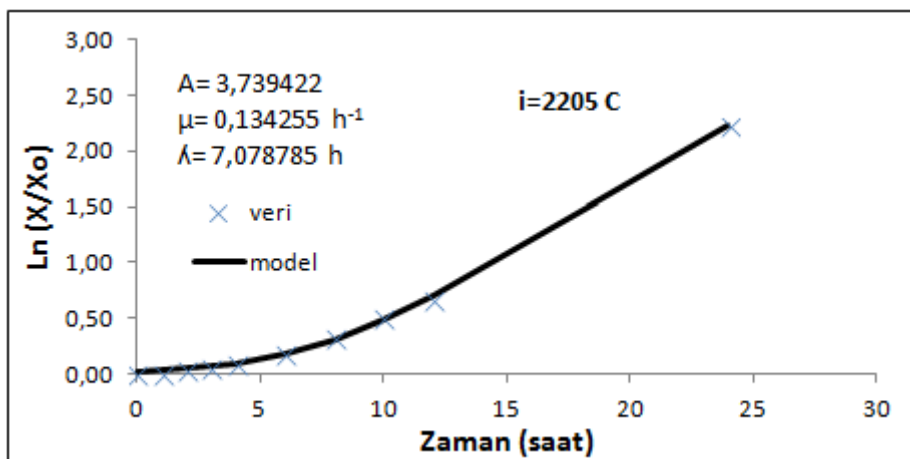
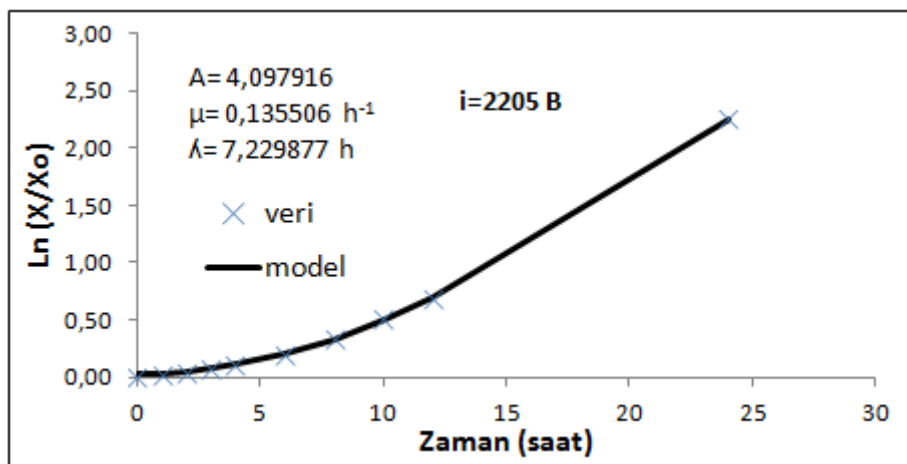
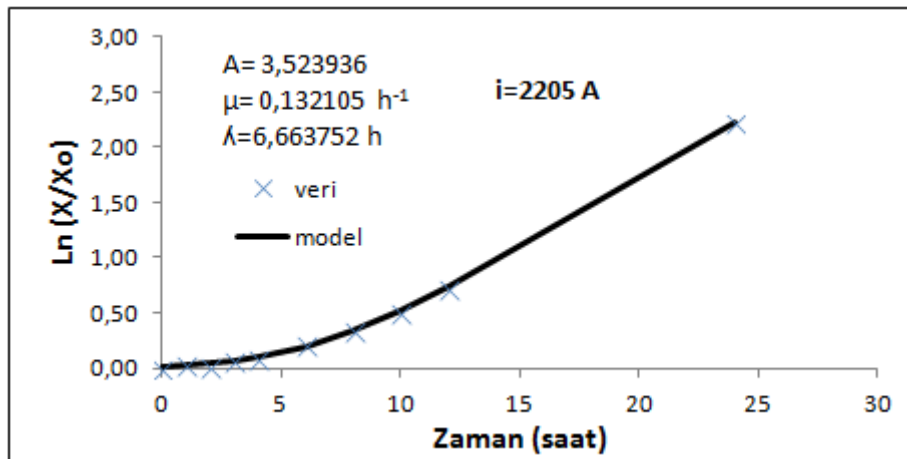


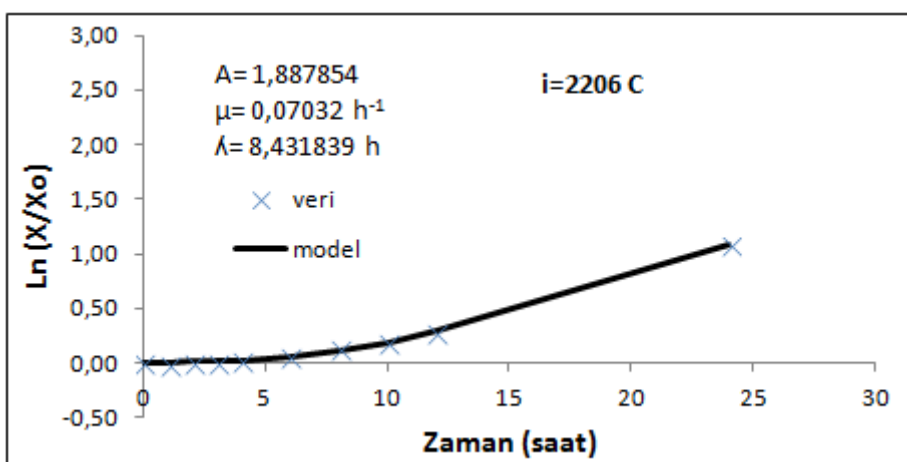
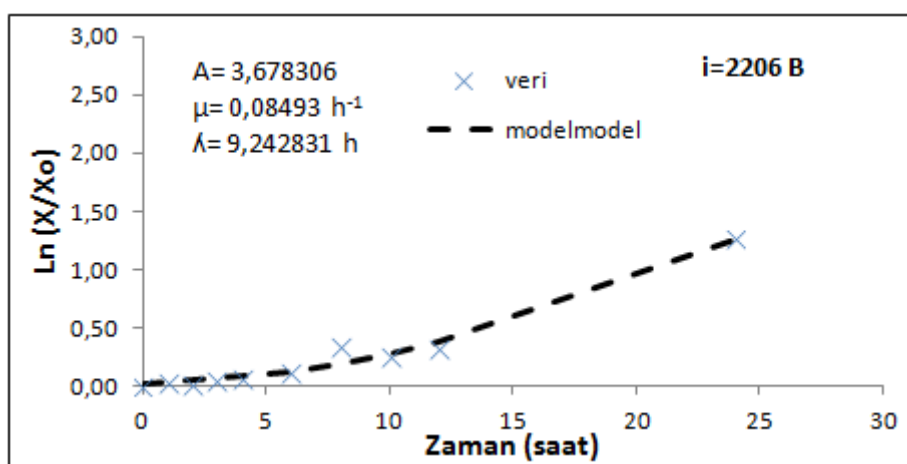
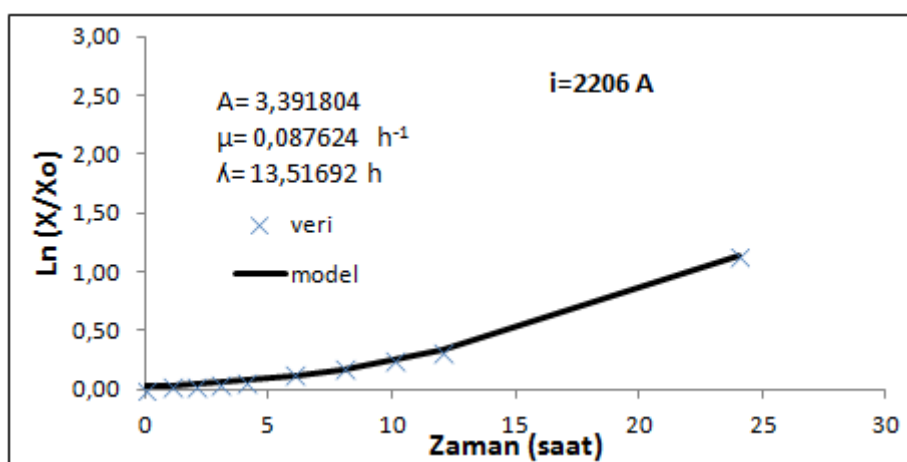


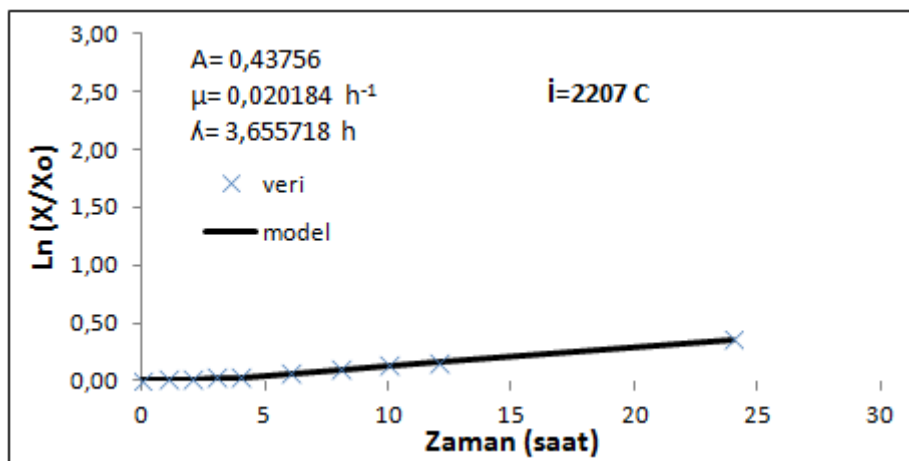
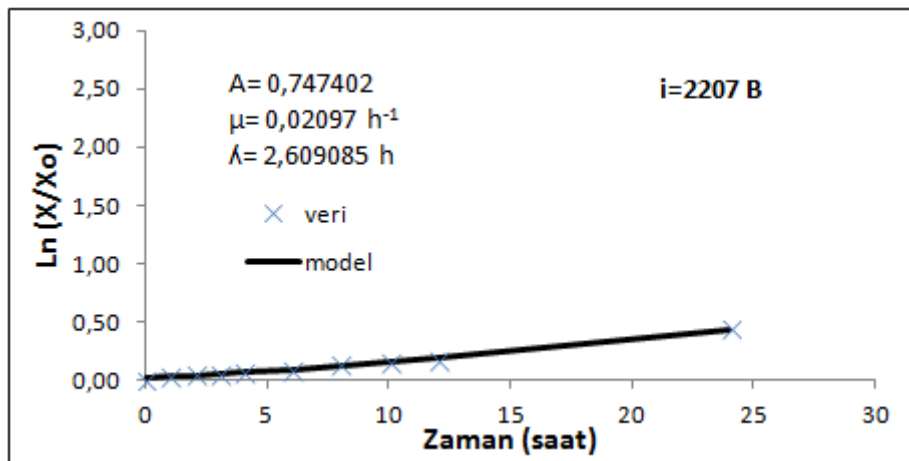
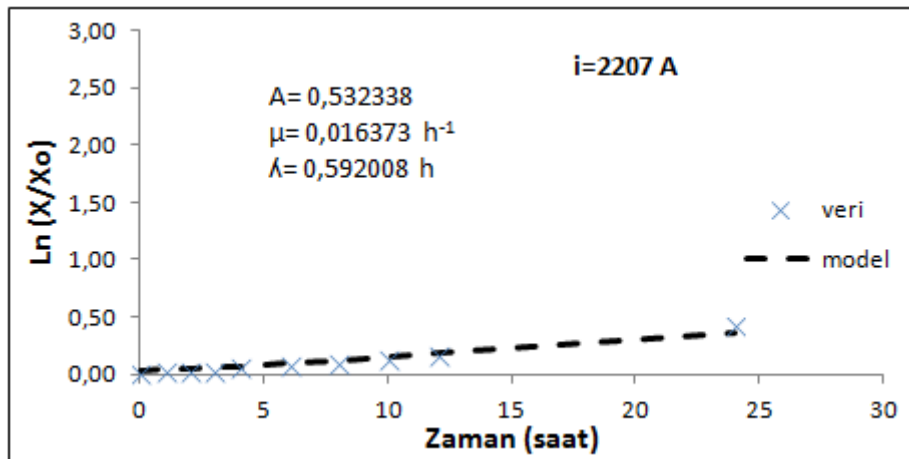


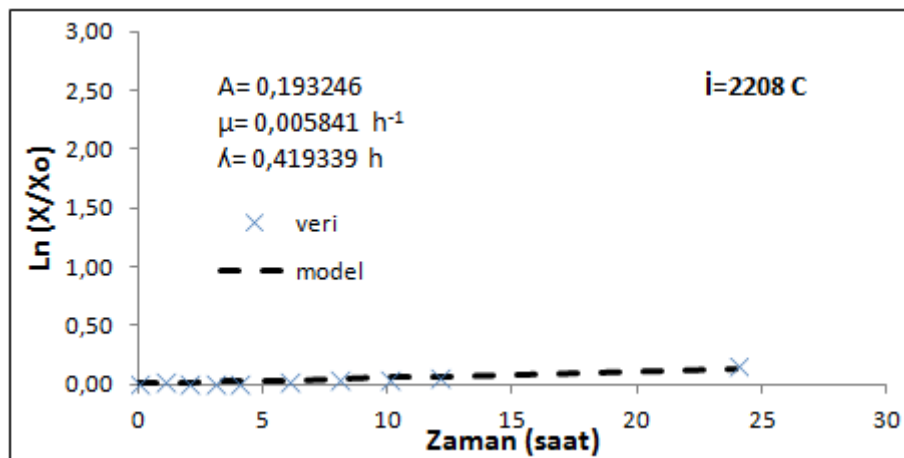
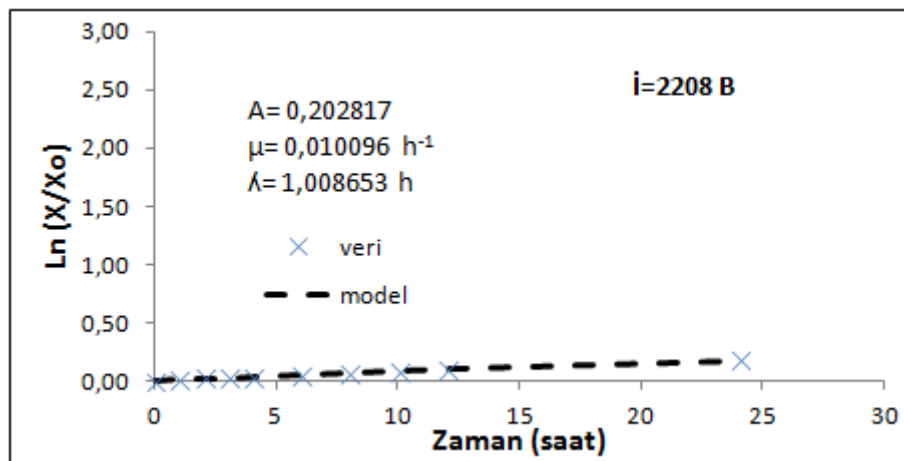
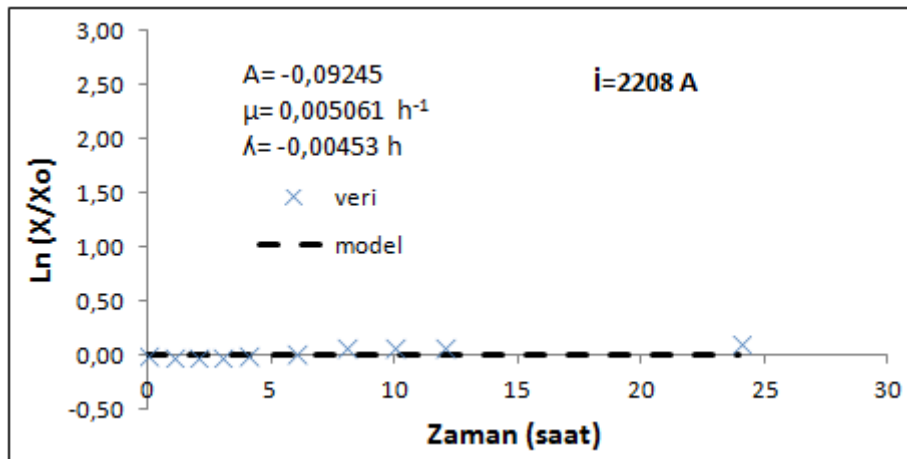


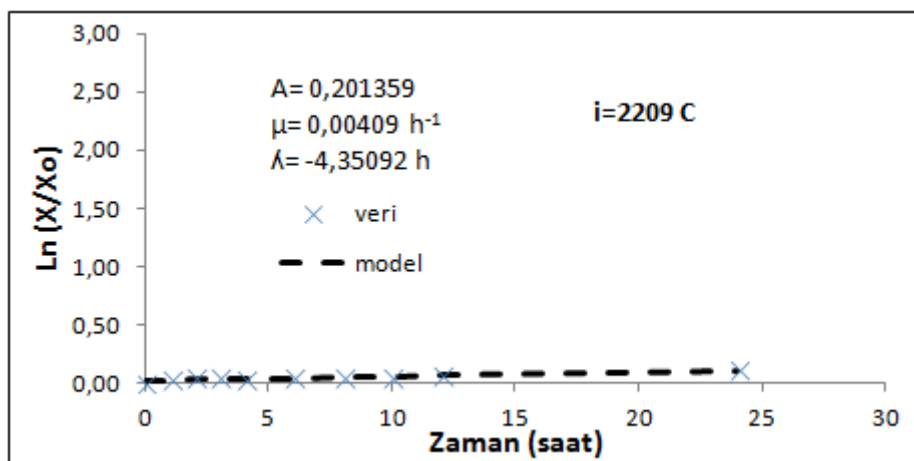
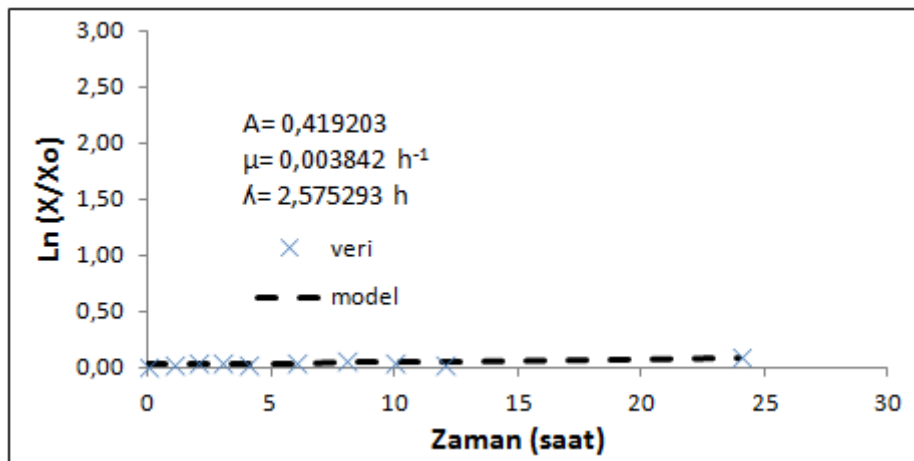
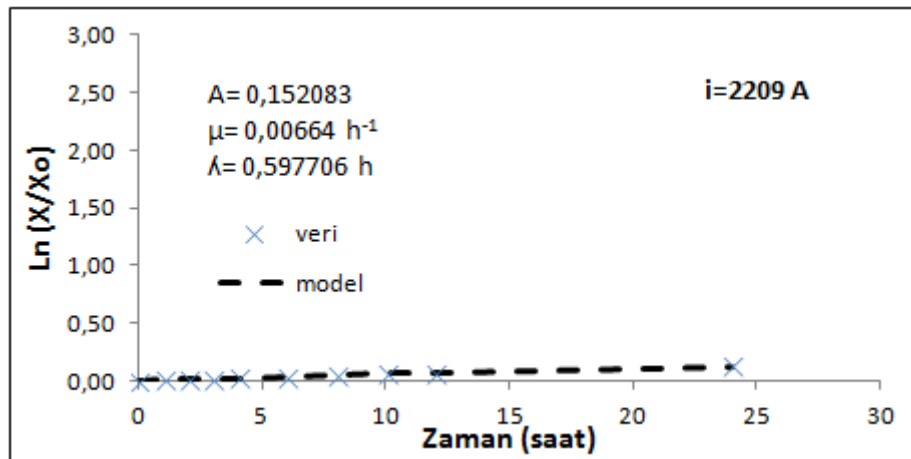


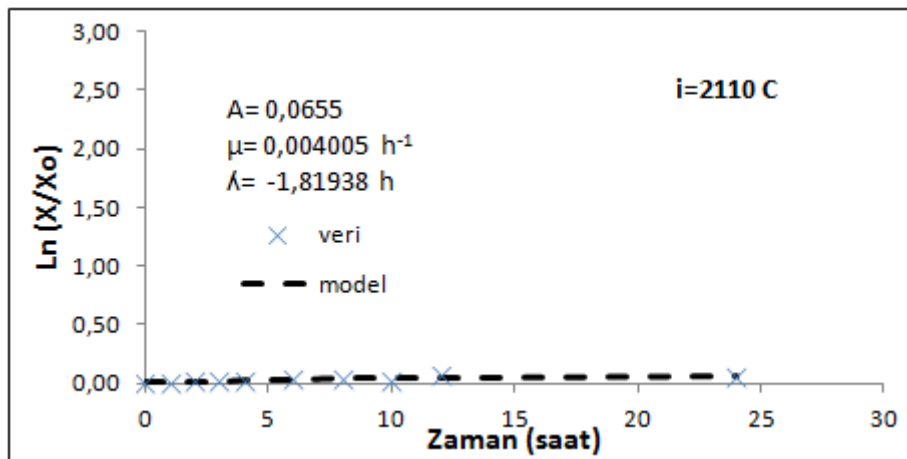
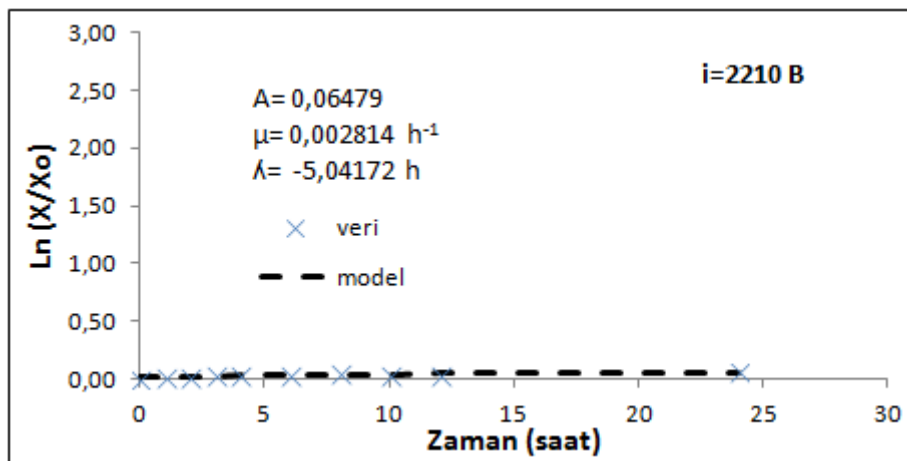
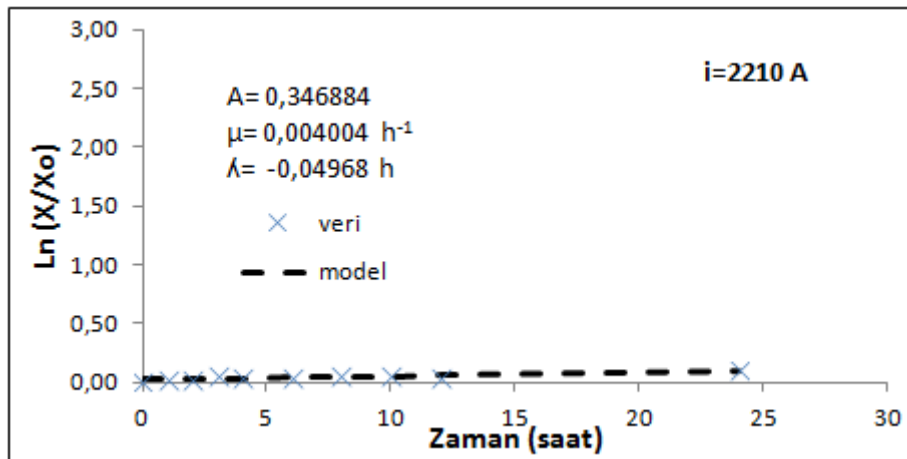












Ek-2: Tüm gelişim kurveleri parametreleri (güven aralığı içine 0 (sıfır) giren gelişim kurvesi parametreleri dahil)

PARALEL NO	SUŞ NO	ADAP TASYON	TUZ	A	μ	L	R^2
1	1	1	0	2.2782	0.5948	2.3018	0.9972
2	1	1	0	2.3158	0.5467	1.4748	0.9971
3	1	1	0	2.3456	0.5696	1.4798	0.9977
1	1	1	1	2.1527	0.4379	2.1107	0.9971
2	1	1	1	2.1404	0.4223	1.4881	0.9922
3	1	1	1	2.3515	0.5519	1.6874	0.9985
1	1	1	2	2.0778	0.3426	3.4149	0.9974
2	1	1	2	2.1308	0.3866	2.7107	0.9952
3	1	1	2	2.3101	0.4827	2.3429	0.9977
1	1	1	3	2.1695	0.3861	4.3140	0.9986
2	1	1	3	2.1422	0.3216	3.9434	0.9983
3	1	1	3	2.1979	0.3891	3.6518	0.9971
1	1	1	4	1.9154	0.1601	9.3994	0.9915
2	1	1	4	2.0720	0.1648	6.3118	0.9996
3	1	1	4	2.0575	0.2305	5.8830	0.9911
1	1	1	5	-0.1124	0.0018	1.6068	-0.0317
2	1	1	5	0.7376	0.0391	9.5683	0.9873
3	1	1	5	1.9187	0.1787	10.9567	0.9587
1	1	1	6	-0.2901	0.0031	0.0031	0.0797
2	1	1	6	0.0350	0.0512	0.1639	0.4700
3	1	1	6	-1.6870	0.0144	5.1605	0.2455
1	1	1	7	0.0000	-0.0608	0.1187	1.0000
2	1	1	7	-0.1614	0.0003	-0.0018	0.0090
3	1	1	7	-0.0533	-0.0066	-1.5794	0.6952
1	1	1	8	0.3136	-0.0116	0.6962	-0.0275
2	1	1	8	0.1170	-0.0065	0.5932	-0.2382
3	1	1	8	0.1142	-0.0050	0.5463	-0.1257
1	1	1	9	-0.3642	-0.0097	-2.0559	0.8318
2	1	1	9	0.1369	-0.0042	0.5321	-0.0911
3	1	1	9	0.0872	-0.0019	0.0025	-0.0255
1	1	1	10	0.0628	-0.0053	0.3088	-0.3222
2	1	1	10	0.2232	-0.0048	0.5866	-0.0068
3	1	1	10	-1.2180	-0.0344	18.9268	0.9062
1	1	2	0	2.6512	0.5719	1.8362	0.9972
2	1	2	0	2.6312	0.5838	1.8253	0.9975
3	1	2	0	2.6529	0.5690	1.6077	0.9962
1	1	2	1	2.5335	0.4947	1.9246	0.9976
2	1	2	1	2.4785	0.4889	1.9596	0.9976
3	1	2	1	2.5185	0.4995	1.8425	0.9983
1	1	2	2	2.5253	0.4130	2.2704	0.9972
2	1	2	2	2.5532	0.4368	2.2673	0.9973
3	1	2	2	2.5462	0.4269	2.2512	0.9970

Ek-2: Tüm gelişim kurveleri parametreleri (güven aralığı içine 0 (sıfır) giren gelişim kurvesi parametreleri dahil) (Devamı)

PARALEL NO	SUŞ NO	ADAP TASYON	TUZ	A	μ	L	R^2
1	1	2	3	2.4893	0.3331	2.8340	0.9965
2	1	2	3	2.4725	0.3295	2.8374	0.9966
3	1	2	3	2.5490	0.3406	2.6814	0.9961
1	1	2	4	2.3945	0.2457	3.6110	0.9975
2	1	2	4	2.4298	0.2547	3.3220	0.9962
3	1	2	4	2.5550	0.2956	3.3193	0.9947
1	1	2	5	2.5622	0.1313	3.7332	0.9996
2	1	2	5	2.5722	0.1556	3.5408	0.9996
3	1	2	5	2.4756	0.1824	4.0253	0.9987
1	1	2	6	1.5075	0.0674	3.9352	0.9964
2	1	2	6	2.1523	0.0854	4.2610	0.9971
3	1	2	6	1.8659	0.0769	3.6997	0.9983
1	1	2	7	0.3913	0.0298	2.9251	0.9985
2	1	2	7	0.5479	0.0373	2.6076	0.9981
3	1	2	7	0.7279	0.0439	3.1013	0.9947
1	1	2	8	0.3836	0.0234	3.3319	0.9886
2	1	2	8	0.2767	0.0149	2.6003	0.9535
3	1	2	8	0.1643	0.0216	1.5779	0.9686
1	1	2	9	0.3527	0.0047	5.5803	0.7129
2	1	2	9	0.1603	0.0062	-1.4442	0.9541
3	1	2	9	0.0762	0.0057	-0.8020	0.8964
1	1	2	10	0.3081	0.0039	-2.4947	0.6783
2	1	2	10	0.0230	0.0039	-0.0486	0.7336
3	1	2	10	0.0296	0.0067	-1.1050	0.6349
1	2	1	0	2.2511	0.4585	1.9782	0.9981
2	2	1	0	2.2876	0.4778	1.8078	0.9982
3	2	1	0	2.2386	0.4789	1.7547	0.9977
1	2	1	1	2.3523	0.4452	2.0483	0.9990
2	2	1	1	2.4011	0.4787	1.9650	0.9987
3	2	1	1	2.3671	0.4736	1.8969	0.9985
1	2	1	2	2.3152	0.3765	2.6026	0.9981
2	2	1	2	2.3109	0.3790	2.5185	0.9985
3	2	1	2	2.4232	0.3949	2.3448	0.9989
1	2	1	3	2.3418	0.2984	3.7807	0.9977
2	2	1	3	2.2945	0.2920	3.4980	0.9964
3	2	1	3	2.3907	0.3014	3.3433	0.9961
1	2	1	4	2.3641	0.1804	5.8009	0.9992
2	2	1	4	2.2341	0.2009	5.4033	0.9987
3	2	1	4	2.3277	0.2112	4.9498	0.9984
1	2	1	5	2.8160	0.1414	9.3154	0.9993
2	2	1	5	3.1207	0.1404	8.1175	1.0000
3	2	1	5	3.2419	0.1366	8.3511	0.9999

Ek-2: Tüm gelişim kurveleri parametreleri (güven aralığı içine 0 (sıfır) giren gelişim kurvesi parametreleri dahil) (Devamı)

PARALEL NO	SUŞ NO	ADAP TASYON	TUZ	A	μ	L	R^2
1	2	1	6	3.3918	0.0876	13.5169	0.9995
2	2	1	6	2.4152	0.0696	11.2207	0.9994
3	2	1	6	2.2231	0.0748	11.2553	0.9992
1	2	1	7	0.3230	0.0090	0.1726	0.7476
2	2	1	7	0.3423	0.0096	0.1667	0.7669
3	2	1	7	0.3787	0.0103	0.1797	0.8303
1	2	1	8	0.1750	0.0041	-1.8780	0.9172
2	2	1	8	19.5066	0.1173	61.8680	0.9645
3	2	1	8	-0.6374	0.0090	0.0265	0.1685
1	2	1	9	0.0569	0.0113	-0.2505	0.8799
2	2	1	9	0.0626	0.0064	-0.4813	0.8846
3	2	1	9	0.0523	0.0046	-1.6115	0.8604
1	2	1	10	0.0490	0.0063	-0.3971	0.9545
2	2	1	10	0.0620	0.0121	-0.4482	0.9379
3	2	1	10	0.0507	0.0074	-1.0552	0.8989
1	2	2	0	2.5691	0.4855	2.5076	0.9978
2	2	2	0	2.5272	0.4812	2.4720	0.9970
3	2	2	0	2.5716	0.4981	2.2825	0.9974
1	2	2	1	2.6027	0.4364	2.7514	0.9959
2	2	2	1	2.6117	0.4336	2.5422	0.9950
3	2	2	1	2.6039	0.4663	2.5438	0.9973
1	2	2	2	2.5571	0.3755	3.3593	0.9975
2	2	2	2	2.5748	0.3796	3.1576	0.9959
3	2	2	2	2.6177	0.3885	2.9410	0.9969
1	2	2	3	2.4553	0.3115	4.6666	0.9957
2	2	2	3	2.5385	0.2985	3.8988	0.9964
3	2	2	3	2.5825	0.3302	3.5950	0.9953
1	2	2	4	2.6447	0.1895	4.6439	0.9992
2	2	2	4	2.6134	0.1908	4.6796	0.9994
3	2	2	4	2.6330	0.1881	4.6051	0.9995
1	2	2	5	3.5239	0.1321	6.6638	0.9996
2	2	2	5	4.0979	0.1355	7.2299	0.9998
3	2	2	5	3.7394	0.1343	7.0788	0.9995
1	2	2	6	3.0234	0.0744	8.8219	0.9980
2	2	2	6	3.6783	0.0849	9.2428	0.9793
3	2	2	6	1.8879	0.0703	8.4318	0.9988
1	2	2	7	0.5323	0.0164	0.5920	0.9401
2	2	2	7	0.7474	0.0210	2.6091	0.9899
3	2	2	7	0.4376	0.0202	3.6557	0.9972
1	2	2	8	-0.0925	0.0051	-0.0045	-0.6413
2	2	2	8	0.2028	0.0101	1.0087	0.9911
3	2	2	8	0.1932	0.0058	0.4193	0.9041

Ek-2: Tüm gelişim kurveleri parametreleri (güven aralığı içine 0 (sıfır) giren gelişim kurvesi parametreleri dahil) (Devamı)

PARALEL NO	SUŞ NO	ADAP TASYON	TUZ	A	μ	L	R²
1	2	2	9	0.1521	0.0066	0.5977	0.9757
2	2	2	9	0.4192	0.0038	2.5753	0.6400
3	2	2	9	0.2014	0.0041	-4.3509	0.8433
1	2	2	10	0.3469	0.0040	-0.0497	0.7868
2	2	2	10	0.0648	0.0028	-5.0417	0.6262
3	2	2	10	0.0655	0.0040	-1.8194	0.6951

Ek-3 Deney sırasındaki ölçüm sonuçları

a) Adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 için ölçüm sonuçları

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
0	0	0,168	0,158	0,153	3	6	0,328	0,330	0,376
0	1	0,166	0,170	0,165	3	7	0,467	0,467	0,585
0	2	0,185	0,230	0,226	3	8	0,655	0,631	0,842
0	3	0,272	0,358	0,349	3	10	1,079	1,018	1,195
0	4	0,430	0,572	0,597	3	12	1,320	1,290	1,342
0	5	0,773	0,948	0,986	3	24	1,443	1,450	1,428
0	6	1,171	1,229	1,214	4	0	0,194	0,179	0,174
0	7	1,370	1,395	1,390	4	1	0,182	0,180	0,156
0	8	1,444	1,425	1,448	4	2	0,183	0,178	0,157
0	10	1,516	1,474	1,486	4	3	0,181	0,179	0,159
0	12	1,523	1,492	1,500	4	4	0,181	0,179	0,162
0	24	1,790	1,728	1,716	4	5	0,183	0,188	0,177
1	0	0,198	0,194	0,152	4	6	0,186	0,198	0,195
1	1	0,202	0,200	0,158	4	7	0,194	0,218	0,246
1	2	0,239	0,250	0,210	4	8	0,201	0,252	0,298
1	3	0,308	0,429	0,307	4	10	0,240	0,330	0,439
1	4	0,434	0,487	0,505	4	12	0,293	0,454	0,665
1	5	0,642	0,759	0,860	4	24	1,104	1,266	1,343
1	6	0,965	1,062	1,119	5	0	0,184	0,189	0,167
1	7	1,281	1,375	1,361	5	1	0,186	0,195	0,145
1	8	1,463	1,456	1,462	5	2	0,185	0,188	0,146
1	10	1,577	1,543	1,512	5	3	0,182	0,188	0,148
1	12	1,635	1,570	1,544	5	4	0,181	0,186	0,145
1	24	1,627	1,594	1,573	5	5	0,179	0,188	0,145
2	0	0,202	0,190	0,155	5	6	0,178	0,198	0,195
2	1	0,194	0,191	0,152	5	7	0,181	0,189	0,154
2	2	0,201	0,208	0,178	5	8	0,181	0,193	0,161
2	3	0,235	0,256	0,231	5	10	0,184	0,200	0,181
2	4	0,271	0,313	0,331	5	12	0,192	0,211	0,211
2	5	0,340	0,429	0,544	5	24	0,227	0,320	0,950
2	6	0,474	0,612	0,760	6	0	0,163	0,185	0,168
2	7	0,673	0,943	1,124	6	1	0,163	0,191	0,145
2	8	0,871	1,187	1,316	6	2	0,162	0,191	0,147
2	10	1,310	1,416	1,442	6	3	0,161	0,192	0,147
2	12	1,481	1,484	1,492	6	4	0,159	0,190	0,145
2	24	1,523	1,517	1,502	6	5	0,159	0,189	0,144
3	0	0,169	0,178	0,165	6	6	0,158	0,192	0,145
3	1	0,166	0,178	0,155	6	7	0,158	0,190	0,151
3	2	0,158	0,179	0,161	6	8	0,158	0,193	0,143
3	3	0,162	0,194	0,182	6	10	0,160	0,194	0,146
3	4	0,185	0,216	0,216	6	12	0,162	0,196	0,149
3	5	0,237	0,263	0,287	6	24	0,185	0,189	0,209

a) Adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 için ölçüm sonuçları (devamı)

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
7	0	0,164	0,150	0,150	9	0	0,146	0,143	0,144
7	1	0,164	0,151	0,145	9	1	0,147	0,144	0,144
7	2	0,160	0,149	0,146	9	2	0,135	0,145	0,145
7	3	0,162	0,150	0,147	9	3	0,136	0,146	0,148
7	4	0,159	0,148	0,145	9	4	0,132	0,143	0,143
7	5	0,161	0,148	0,146	9	5	0,133	0,145	0,144
7	6	0,157	0,148	0,142	9	6	0,137	0,143	0,144
7	7	0,160	0,146	0,143	9	7	0,132	0,142	0,144
7	8	0,156	0,148	0,142	9	8	0,132	0,143	0,146
7	10	0,156	0,147	0,142	9	10	0,131	0,139	0,142
7	12	0,153	0,145	0,144	9	12	0,130	0,138	0,143
7	24	0,131	0,153	0,142	9	24	0,114	0,119	0,133
8	0	0,150	0,149	0,143	10	0	0,145	0,144	0,142
8	1	0,152	0,152	0,145	10	1	0,147	0,147	0,150
8	2	0,158	0,149	0,145	10	2	0,145	0,146	0,144
8	3	0,160	0,153	0,144	10	3	0,145	0,147	0,143
8	4	0,148	0,147	0,142	10	4	0,142	0,146	0,142
8	5	0,148	0,147	0,143	10	5	0,143	0,146	0,142
8	6	0,148	0,147	0,143	10	6	0,142	0,145	0,142
8	7	0,146	0,146	0,143	10	7	0,141	0,145	0,144
8	8	0,148	0,146	0,140	10	8	0,141	0,142	0,140
8	10	0,147	0,144	0,140	10	10	0,141	0,144	0,140
8	12	0,148	0,143	0,140	10	12	0,140	0,142	0,141
8	24	0,124	0,127	0,122	10	24	0,119	0,120	0,117

b) Adapte edilmiş *E.coli* ATCC 25922 için ölçüm sonuçları

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
0	0	0,111	0,113	0,109	4	6	0,224	0,231	0,231
0	1	0,121	0,123	0,127	4	8	0,363	0,368	0,406
0	2	0,147	0,150	0,151	4	10	0,590	0,639	0,708
0	3	0,219	0,224	0,243	4	12	0,880	0,922	1,081
0	4	0,347	0,372	0,383	4	24	1,343	1,305	1,319
0	6	1,004	1,034	1,065	5	0	0,127	0,112	0,114
0	8	1,325	1,345	1,320	5	1	0,134	0,116	0,113
0	10	1,429	1,437	1,406	5	2	0,135	0,121	0,118
0	12	1,462	1,455	1,432	5	3	0,145	0,130	0,129
0	24	1,633	1,644	1,614	5	4	0,156	0,139	0,138
1	0	0,128	0,131	0,129	5	6	0,181	0,172	0,170
1	1	0,138	0,140	0,138	5	8	0,224	0,220	0,228
1	2	0,165	0,164	0,164	5	10	0,291	0,304	0,331
1	3	0,223	0,225	0,240	5	12	0,377	0,425	0,501
1	4	0,325	0,326	0,347	5	24	1,129	1,165	1,195
1	6	0,885	0,862	0,904	6	0	0,124	0,113	0,110
1	8	1,284	1,278	1,315	6	1	0,126	0,115	0,113
1	10	1,436	1,336	1,449	6	2	0,126	0,118	0,116
1	12	1,502	1,484	1,504	6	3	0,132	0,123	0,122
1	24	1,637	1,606	1,612	6	4	0,137	0,130	0,127
2	0	0,127	0,120	0,123	6	6	0,153	0,145	0,142
2	1	0,134	0,127	0,129	6	8	0,171	0,168	0,157
2	2	0,155	0,144	0,148	6	10	0,187	0,185	0,180
2	3	0,190	0,184	0,189	6	12	0,208	0,213	0,205
2	4	0,239	0,236	0,241	6	24	0,410	0,541	0,454
2	6	0,556	0,565	0,555	7	0	0,122	0,112	0,109
2	8	1,068	1,096	1,107	7	1	0,123	0,114	0,108
2	10	1,318	1,316	1,327	7	2	0,124	0,114	0,110
2	12	1,418	1,393	1,419	7	3	0,125	0,117	0,114
2	24	1,538	1,491	1,506	7	4	0,127	0,119	0,117
3	0	0,127	0,128	0,119	7	6	0,135	0,128	0,128
3	1	0,131	0,132	0,125	7	8	0,142	0,139	0,137
3	2	0,144	0,143	0,135	7	10	0,149	0,147	0,145
3	3	0,167	0,166	0,161	7	12	0,159	0,156	0,160
3	4	0,191	0,196	0,191	7	24	0,178	0,189	0,213
3	6	0,335	0,330	0,334	8	0	0,135	0,113	0,108
3	8	0,653	0,648	0,658	8	1	0,137	0,115	0,110
3	10	1,072	1,059	1,080	8	2	0,137	0,114	0,110
3	12	1,253	1,241	1,281	8	3	0,138	0,114	0,112
3	24	1,438	1,426	1,408	8	4	0,139	0,116	0,113
4	0	0,129	0,122	0,111	8	6	0,142	0,118	0,118
4	1	0,131	0,123	0,114	8	8	0,155	0,128	0,122
4	2	0,138	0,130	0,122	8	10	0,156	0,125	0,125
4	3	0,152	0,145	0,138	8	12	0,165	0,128	0,129
4	4	0,164	0,169	0,153	8	24	0,192	0,145	0,125

b) Adapte edilmiş *E.coli* ATCC 25922 için ölçüm sonuçları (devamı)

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
9	0	0,119	0,111	0,114	10	0	0,110	0,112	0,112
9	1	0,121	0,114	0,117	10	1	0,117	0,113	0,115
9	2	0,121	0,114	0,116	10	2	0,113	0,113	0,114
9	3	0,121	0,114	0,116	10	3	0,113	0,113	0,114
9	4	0,121	0,115	0,116	10	4	0,113	0,113	0,115
9	6	0,122	0,117	0,119	10	6	0,115	0,115	0,115
9	8	0,127	0,119	0,121	10	8	0,116	0,115	0,116
9	10	0,122	0,118	0,120	10	10	0,117	0,114	0,116
9	12	0,122	0,120	0,121	10	12	0,115	0,115	0,115
9	24	0,130	0,127	0,123	10	24	0,122	0,114	0,115

c) Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 için ölçüm sonuçları

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
0	0	0,159	0,146	0,158	4	6	0,178	0,182	0,179
0	1	0,169	0,159	0,170	4	8	0,222	0,232	0,239
0	2	0,198	0,189	0,209	4	10	0,305	0,350	0,371
0	3	0,256	0,251	0,277	4	12	0,463	0,544	0,587
0	4	0,376	0,399	0,442	4	24	1,354	1,237	1,257
0	6	0,909	0,930	1,015	5	0	0,144	0,129	0,133
0	8	1,254	1,210	1,277	5	1	0,141	0,129	0,133
0	10	1,383	1,327	1,366	5	2	0,140	0,130	0,133
0	12	1,439	1,375	1,416	5	3	0,142	0,131	0,135
0	24	1,519	1,463	1,517	5	4	0,144	0,133	0,137
1	0	0,145	0,131	0,142	5	6	0,148	0,142	0,146
1	1	0,153	0,141	0,151	5	8	0,162	0,157	0,162
1	2	0,177	0,164	0,182	5	10	0,185	0,186	0,189
1	3	0,227	0,217	0,238	5	12	0,219	0,229	0,227
1	4	0,328	0,327	0,363	5	24	1,021	1,075	1,053
1	6	0,777	0,811	0,889	6	0	0,137	0,133	0,139
1	8	1,191	1,168	1,229	6	1	0,139	0,133	0,138
1	10	1,362	1,324	1,384	6	2	0,137	0,133	0,138
1	12	1,462	1,390	1,447	6	3	0,139	0,135	0,139
1	24	1,501	1,428	1,520	6	4	0,140	0,135	0,140
2	0	0,147	0,147	0,131	6	6	0,140	0,139	0,143
2	1	0,150	0,150	0,135	6	8	0,146	0,143	0,147
2	2	0,163	0,165	0,152	6	10	0,153	0,152	0,157
2	3	0,195	0,197	0,185	6	12	0,161	0,159	0,164
2	4	0,246	0,253	0,243	6	24	0,346	0,325	0,362
2	6	0,487	0,513	0,525	7	0	0,135	0,131	0,132
2	8	0,968	0,987	0,974	7	1	0,136	0,132	0,136
2	10	1,213	1,210	1,209	7	2	0,135	0,132	0,134
2	12	1,333	1,333	1,325	7	3	0,137	0,133	0,136
2	24	1,451	1,458	1,460	7	4	0,137	0,132	0,135
3	0	0,146	0,144	0,132	7	6	0,136	0,134	0,137
3	1	0,144	0,144	0,132	7	8	0,140	0,135	0,138
3	2	0,149	0,150	0,140	7	10	0,141	0,138	0,140
3	3	0,164	0,165	0,155	7	12	0,144	0,141	0,144
3	4	0,188	0,194	0,186	7	24	0,181	0,178	0,180
3	6	0,269	0,285	0,273	8	0	0,135	0,129	0,127
3	8	0,487	0,488	0,492	8	1	0,138	0,132	0,121
3	10	0,867	0,875	0,891	8	2	0,137	0,130	0,121
3	12	1,099	1,109	1,100	8	3	0,139	0,131	0,122
3	24	1,468	1,353	1,364	8	4	0,140	0,131	0,122
4	0	0,147	0,142	0,131	8	6	0,141	0,133	0,123
4	1	0,145	0,141	0,130	8	8	0,141	0,133	0,124
4	2	0,145	0,141	0,131	8	10	0,141	0,133	0,125
4	3	0,149	0,146	0,138	8	12	0,142	0,134	0,127
4	4	0,159	0,154	0,147	8	24	0,150	0,146	0,150

c) Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7 için ölçüm sonuçları (devamı)

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
9	0	0,134	0,125	0,134	10	0	0,132	0,123	0,126
9	1	0,137	0,126	0,136	10	1	0,133	0,126	0,129
9	2	0,137	0,128	0,136	10	2	0,135	0,127	0,129
9	3	0,139	0,128	0,138	10	3	0,135	0,128	0,130
9	4	0,139	0,128	0,137	10	4	0,135	0,128	0,130
9	6	0,143	0,130	0,140	10	6	0,137	0,131	0,131
9	8	0,141	0,133	0,139	10	8	0,138	0,131	0,133
9	10	0,141	0,131	0,139	10	10	0,138	0,130	0,132
9	12	0,141	0,131	0,140	10	12	0,138	0,131	0,132
9	24	0,143	0,134	0,142	10	24	0,139	0,131	0,133

d) Adapte edilmiş *E.coli* O157:H7 için ölçüm sonuçları

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
0	0	0,159	0,146	0,158	4	6	0,178	0,182	0,179
0	1	0,169	0,159	0,170	4	8	0,222	0,232	0,239
0	2	0,198	0,189	0,209	4	10	0,305	0,350	0,371
0	3	0,256	0,251	0,277	4	12	0,463	0,544	0,587
0	4	0,376	0,399	0,442	4	24	1,354	1,237	1,257
0	6	0,909	0,930	1,015	5	0	0,144	0,129	0,133
0	8	1,254	1,210	1,277	5	1	0,141	0,129	0,133
0	10	1,383	1,327	1,366	5	2	0,140	0,130	0,133
0	12	1,439	1,375	1,416	5	3	0,142	0,131	0,135
0	24	1,519	1,463	1,517	5	4	0,144	0,133	0,137
1	0	0,145	0,131	0,142	5	6	0,148	0,142	0,146
1	1	0,153	0,141	0,151	5	8	0,162	0,157	0,162
1	2	0,177	0,164	0,182	5	10	0,185	0,186	0,189
1	3	0,227	0,217	0,238	5	12	0,219	0,229	0,227
1	4	0,328	0,327	0,363	5	24	1,021	1,075	1,053
1	6	0,777	0,811	0,889	6	0	0,137	0,133	0,139
1	8	1,191	1,168	1,229	6	1	0,139	0,133	0,138
1	10	1,362	1,324	1,384	6	2	0,137	0,133	0,138
1	12	1,462	1,390	1,447	6	3	0,139	0,135	0,139
1	24	1,501	1,428	1,520	6	4	0,140	0,135	0,140
2	0	0,147	0,147	0,131	6	6	0,140	0,139	0,143
2	1	0,150	0,150	0,135	6	8	0,146	0,143	0,147
2	2	0,163	0,165	0,152	6	10	0,153	0,152	0,157
2	3	0,195	0,197	0,185	6	12	0,161	0,159	0,164
2	4	0,246	0,253	0,243	6	24	0,346	0,325	0,362
2	6	0,487	0,513	0,525	7	0	0,135	0,131	0,132
2	8	0,968	0,987	0,974	7	1	0,136	0,132	0,136
2	10	1,213	1,210	1,209	7	2	0,135	0,132	0,134
2	12	1,333	1,333	1,325	7	3	0,137	0,133	0,136
2	24	1,451	1,458	1,460	7	4	0,137	0,132	0,135
3	0	0,146	0,144	0,132	7	6	0,136	0,134	0,137
3	1	0,144	0,144	0,132	7	8	0,140	0,135	0,138
3	2	0,149	0,150	0,140	7	10	0,141	0,138	0,140
3	3	0,164	0,165	0,155	7	12	0,144	0,141	0,144
3	4	0,188	0,194	0,186	7	24	0,181	0,178	0,180
3	6	0,269	0,285	0,273	8	0	0,135	0,129	0,127
3	8	0,487	0,488	0,492	8	1	0,138	0,132	0,121
3	10	0,867	0,875	0,891	8	2	0,137	0,130	0,121
3	12	1,099	1,109	1,100	8	3	0,139	0,131	0,122
3	24	1,468	1,353	1,364	8	4	0,140	0,131	0,122
4	0	0,147	0,142	0,131	8	6	0,141	0,133	0,123
4	1	0,145	0,141	0,130	8	8	0,141	0,133	0,124
4	2	0,145	0,141	0,131	8	10	0,141	0,133	0,125
4	3	0,149	0,146	0,138	8	12	0,142	0,134	0,127
4	4	0,159	0,154	0,147	8	24	0,150	0,146	0,150

d) Adapte edilmiş *E.coli* O157:H7 için ölçüm sonuçları (devamı)

TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C	TUZ	SAAT	Ab.A	Ab.B	Ab.C
9	0	0,134	0,125	0,134	10	0	0,132	0,123	0,126
9	1	0,137	0,126	0,136	10	1	0,133	0,126	0,129
9	2	0,137	0,128	0,136	10	2	0,135	0,127	0,129
9	3	0,139	0,128	0,138	10	3	0,135	0,128	0,130
9	4	0,139	0,128	0,137	10	4	0,135	0,128	0,130
9	6	0,143	0,130	0,140	10	6	0,137	0,131	0,131
9	8	0,141	0,133	0,139	10	8	0,138	0,131	0,133
9	10	0,141	0,131	0,139	10	10	0,138	0,130	0,132
9	12	0,141	0,131	0,140	10	12	0,138	0,131	0,132
9	24	0,143	0,134	0,142	10	24	0,139	0,131	0,133

Ek-4: *E. coli* ATTC 25922 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu

	N	P = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
**i=12 tuz kons= % 8	3	0.01996								
i=12 tuz kons= % 7	3	0.03696								
i=12 tuz kons= % 6	3	0.07657								
i=12 tuz kons= % 5	3		0.15644							
*i=11 tuz kons= % 4	3		0.18514							
i=12 tuz kons= % 4	3			0.2653						
i=12 tuz kons= % 3	3				0.3343					
i=11 tuz kons= % 3	3				0.3655	0.3655				
i=11 tuz kons= % 2	3					0.4039	0.4039			
i=12 tuz kons= % 2	3						0.4255	0.4255		
i=11 tuz kons= % 1	3							0.4706	0.4706	
i=12 tuz kons= % 1	3								0.4943	
i=11 tuz kons= % 0	3									0.5703
i=12 tuz kons= % 0	3									0.5749
Önemlilik (Sig.)		0.057	0.300	1.000	0.260	0.169	0.433	0.108	0.391	0.868

* i=11 Adapte edilmemiş *E. coli* ATTC 25922

** i=12 Adapte edilmiş *E. coli* ATTC 25922

Ek-5: *E. coli* O157:H7 suşunun NaCl'e adapte edilmiş ve edilmemiş kültürlerinin % 0-7 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu

	N	P = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
**i=22 tuz kons= % 7	2	0.0205								
i=22 tuz kons= % 6	2		0.0723							
*i=21 tuz kons= % 6	3		0.0773							
i=22 tuz kons= % 5	3			0.1339						
i=21 tuz kons= % 5	3			0.1394						
i=22 tuz kons= % 4	3				0.1894					
i=21 tuz kons= % 4	3				0.1974					
i=21 tuz kons= % 3	3					0.2972				
i=22 tuz kons= % 3	3					0.3133				
i=22 tuz kons= % 2	3						0.3811			
i=21 tuz kons= % 2	3						0.3834			
i=22 tuz kons= % 1	3							0.4454		
i=21 tuz kons= % 1	3								0.4658	
i=21 tuz kons= % 0	3								0.4717	0.4717
i=22 tuz kons= % 0	3									0.4882
Önemlilik (Sig.)		1.000	0.587	0.550	0.385	0.087	0.803	1.000	0.523	0.080

* i=21 Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7

** i=22 Adapte edilmiş *E. coli* O157:H7

Ek-6: NaCl'e adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-6 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu

	N	P = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
**i=21 tuz kons= % 6	3	0.0773					
i=21 tuz kons= % 5	3		0.1394				
*i=11 tuz kons= % 4	3		0.1851				
i=21 tuz kons= % 4	3		0.1974				
i=21 tuz kons= % 3	3			0.2972			
i=11 tuz kons= % 3	3				0.3655		
i=21 tuz kons= % 2	3				0.3834		
i=11 tuz kons= % 2	3				0.4039		
i=21 tuz kons= % 1	3					0.4658	
i=11 tuz kons= % 1	3					0.4706	
i=21 tuz kons= % 0	3					0.4717	
i=11 tuz kons= % 0	3						0.5703
Önemlilik (Sig.)		1.000	0.065	1.000	0.216	0.848	1.000

* i=11 Adapte edilmemiş *E. coli* ATCC 25922

** i=21 Adapte edilmemiş *E. coli* O157:H7

Ek-7: NaCl'e adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* O157:H7 kültürlerinin % 0-8 tuz içeren TSB besiyerindeki maksimum spesifik gelişme hızlarına ait Duncan^a tablosu

	N	P = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
*i=12 tuz kons= % 8	3	0.0199											
**i=22 tuz kons= % 7	2	0.0205											
i=12 tuz kons= % 7	3	0.0369											
i=22 tuz kons= % 6	2		0.0723										
i=12 tuz kons= % 6	3		0.0765										
i=22 tuz kons= % 5	3			0.1339									
i=12 tuz kons= % 5	3				0.1564								
i=22 tuz kons= % 4	3					0.1894							
i=12 tuz kons= % 4	3						0.2653						
i=22 tuz kons= % 3	3							0.3133					
i=12 tuz kons= % 3	3							0.3343					
i=22 tuz kons= % 2	3								0.3811				
i=12 tuz kons= % 2	3									0.4255			
i=22 tuz kons= % 1	3									0.4454			
i=22 tuz kons= % 0	3										0.4882		
i=12 tuz kons= % 1	3										0.4943		
i=12 tuz kons= % 0	3											0.5749	
Önemlilik (Sig.)		0.134	0.689	1.000	1.000	1.000	1.000	0.054	1.000	0.067	0.564	1.000	

* i=12 Adapte edilmiş *E. coli* ATCC 25922

** i=22 Adapte edilmiş *E. coli* O157:H7

ÖZ GEÇMİŞ

Nisan 1986 yılında Erzincan'da dünyaya geldi. İlk ve orta öğrenimini Erzincan'da tamamladı. 2005 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2010 yılında lisans eğitimini başarıyla tamamlayarak "Gıda Mühendisi" ünvanını almaya hak kazandı. 2010-2012 yılları arasında "Gıda Mühendisi" ünvanı ile çalıştı. Eylül-2012 itibari ile Yükseköğretim Kurulu (YÖK)'nun başlatmış olduğu "Öğretim Elemanı Yetiştirme Programı-ÖYP" kapsamında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne araştırma görevlisi olarak atandı ve aynı yıl yüksek lisans eğitimine başladı. Yabancı dili İngilizce'dir.