

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FINDIK YAĞININ *Bacillus cereus*'un
GELİŞİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

Fatih AKYOL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2002

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FINDIK YAĞININ *Bacillus cereus*'un
GELİŞİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

Fatih AKYOL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN

GEBZE
2002

ÖZET

Bu çalışmada son zamanlarda özellikle Türkiye, İspanya ve İtalya'da kullanımı yaygınlaşan ***Corylus avellana***'dan elde edilen fındık yağının, besin zehirlenmesine sebebiyet veren gram (+) bir bakteri olan ***Bacillus cereus***'un üremesi üzerine olan antibakteriyel etkisi araştırıldı.

Petri başına 0,1 ve 0,5 ml. fındık yağı miktarlarının 20 – 30 – 37 ve 45 °C sıcaklıkta ***Bacillus cereus***'un üremesi üzerine olan etkileri araştırıldı.

Deneyler sonucunda 20 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içinde 0,5 ml. fındık yağı bulunan petrilerde en kuvvetli antibakteriyel etki gösterildi.

0,5 ml. fındık yağı miktarının 20 °C sıcaklıkta ***B. cereus***'un üreme sürecinde, kontrol gruplarına göre, lag – devresinin daha da gecikmesine sebep olduğu sonucuna varıldı.

SUMMARY

In this study, the antibacterial effect of hazelnut – oil that is obtained from ***Corylus avellana***, which has been widespread in Turkey, Italy and Spain, onto growth of ***Bacillus cereus***, which is a gram (+) bacterium causes food borne diseases was researched .

The effects of quantities of 0,1 ml. and 0,5 ml. of hazelnut-oil was studied onto growth of ***Bacillus cereus*** at temperature ranges of 20 – 30 – 37 – 45 °C.

According to these results of research, it was determined that quantity of 0,5 ml. of hazelnut-oil, at 20 °C, showed the most of antibacterial activity.

The quantity of 0.5 ml. of hazelnut-oil, at temperature level of 20 °C, suppressed growth by extending lag period.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunu öneren ve çalışmalarım sırasında hiçbir yardımını esirgemeyen değerli hocalarımdan tez danışmanım olan Sayın Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN, Yrd. Doç. Dr. Murat ÖZDEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Yine laboratuvar çalışmalarım sırasında ve tez yazımım süresince her türlü desteği gösteren arkadaşım İlknur ŞAHİN, Teknisyen Özlem ASKER ve Arş.Gör. Mine GÜL ŞEKER'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
GRAFİKLER DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Bacillus Genusu	3
1.2. Bacillus cereus	4
1.2.1. Bacillus cereus Enterotoksinleri	8
1.2.2. Bacillus cereus 'un Neden Olduğu Hastalıklar	10
1.2.3. Bacillus cereus Gıda Zehirlenmesinin Tarihsel Gelişimi	12
1.2.4. Epidemiyoloji	13
1.2.5. Korunma	14
1.3. Fındık Ağacı	15
1.4. Fındık	16
1.5. Fındık Yağı	17
1.5.1. Fındık Yağının Yararları	20
1.5.2. Fındık Yağı Kullanım Yerleri	21
2. KONUS İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	22
2.1. Bacillus cereus İle İlgili Çalışmalar	22
2.2. Fındık Yağı İle İlgili Çalışmalar	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	28
3.1. Materyal	28
3.1.1. Materyalin Eldesi	28
3.1.2. Kullanılan Maddeler	28
3.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	29

3.2. Yöntem	29
3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması	29
3.2.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	30
3.2.3. Ön Çalışmalar	31
3.2.4. Uygulama	32
4. SONUÇLAR	34
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

MYP	Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar
NA	Nutrient Agar
FDA	United States Food and Drug Administration
BCM	5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-myo-inositol-1-phosphate
NaCl	Sodyum Klorür
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)
ND	Belirlenmemiş
d	Suşların % 11-89'u İçin Pozitif
IU	International Unit
µm	Mikrometre
min	Minimum
max	Maksimum
cfu	Coloni Forming Unit
ml	Mililitre
gr	Gram
mm	Milimetre
a _w	Water Activity

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
4.1. 10^{-5} 'lik Bakteri Sulandırmalarının 18 Saat Sonunda Petri Kaplarında Oluşturdukları Koloniler	51
4.2. 10^{-6} 'lik Bakteri Sulandırmalarının 18 Saat Sonunda Petri Kaplarında Oluşturdukları Koloniler	51

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
1.1. Spor Isı Rezistansı	5
1.2. Vejetatif Hücreler İçin Limit Değerler	5
1.3. Bacillus cereus 'un Karakteristikleri	7
1.4. Bacillus cereus İshal ve Emetik Toksinlerinin Karşılaştırmalı Özellikleri	9
1.5. Bacillus cereus 'un Neden Olduğu Besin Zehirlenmesi Tipleri	12
1.6. 1985 Yılına Kadar Oluşmuş Bacillus cereus Gıda Zehirlenmesine Ait Dünya Raporları	14
1.7. Fındık Yağında Bulunan Yağ Asitleri ve Bulunma Oranları	19
1.8. Fındık Yağının Karakteristikleri	19
4.1. 10^{-5} 'lik Bacillus cereus Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	35
4.2. 10^{-6} 'lik Bacillus cereus Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	37
4.3. 10^{-5} 'lik Bacillus cereus Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	39
4.4. 10^{-6} 'lik Bacillus cereus Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	41
4.5. 10^{-5} 'lik Bacillus cereus Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	43
4.6. 10^{-6} 'lik Bacillus cereus Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının	45

	Antibakteriyel Etkileri	
4.7.	10 ⁻⁵ 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	47
4.8.	10 ⁻⁶ 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	49

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik	Sayfa
4.1. 10^{-5} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	36
4.2. 10^{-6} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	38
4.3. 10^{-5} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	40
4.4. 10^{-6} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	42
4.5. 10^{-5} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	44
4.6. 10^{-6} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	46
4.7. 10^{-5} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	48
4.8. 10^{-6} 'lik <i>Bacillus cereus</i> Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri	50

1. GİRİŞ

Bugün mikroorganizma deyince canlılar arasında gözle göremediğimiz ancak mikroskop kullandığımızda görebildiğimiz organizmaları kastederiz. Gözle göremediğimiz ve mikroorganizma dediğimiz bu organizmalar sırası ile bakteriler, mavi – yeşil algler, mantarlar, protozoa ve virüslerdir. Bakteriler gelişimleri esnasında yüksek bitki ve hayvanlar gibi farklılaşmanın en yüksek noktasına ulaşamadıklarından ilkselliklerini günümüze kadar korumuşlardır (Öner, 1992).

Bakteriler doğada su, hava, toprak, bitki, hayvan ve insan vücudu gibi çeşitli yaşam alanlarında bulunurlar ve metabolitik faaliyetleri sonucu belli bir bölgeye lokalize olurlar. Faydalı bakteriler sirke, yoğurt, turşu, peynir, kefir gibi fermente ürünlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Yine belirli bazı bakteriler endüstriyel olarak üretilip bunlardan; amino asit, vitamin, enzim, dekstran ve antibiyotik elde edilir. Bazı bakteriler toprağa geçen ölü bitki ve hayvan dokularını parçalayarak, doğada madde döngüsünde çok önemli rol oynarlar. Bunun dışında bazı bakteriler ise insan bitki ve hayvanlarda parazit veya patojen olarak bulunurlar yada gıdaları kontamine ederek gıda bozulmalarına ve toksikasyonlara neden olurlar (Akçelik, 2000).

Hepimizin bildiği gibi ana besin maddelerimizi karbonhidratlar, yağlar ve proteinler oluşturur. Bu maddeler mikroorganizmaların da besin maddelerini oluşturdıklarından böyle karbonhidrat, yağ ve protein içeren besin maddelerine uygun koşullarda rastlayan mikroorganizmalar çıkardıkları enzimlerle onları sindirerek, onlardan yararlanma yoluna giderler. Ne var ki onların bu faaliyeti sonucu bizim istemediğimiz reaksiyonlar olduğundan besinler yapı, renk, tat ve koku bakımından bozularak kullanamayacağımız hale gelirler. Ana besin maddeleri göz önünde tutularak mikrobiyal bozulma olaylarını üç grup altında toplamak mümkündür:

1. Karbonhidratlı Besinler : Bunlar karbonhidrat fermente eden mikroorganizmaların etkisi altında, asitler, alkoller ve bazı gazlara dönüşürler.
2. Proteinli Besinler : Bunlar proteolitik mikroorganizmaların etkisi ile amino asitlere, aminlere, amonyağa ve H₂S'ye dönüşürler.
3. Yağlı Besinler : Bunlar da lipolitik mikroorganizmaların etkisi ile gliserin ve yağ asitlerine dönüşürler.

Gıdanın aracı olduğu mikrobiyal kökenli hastalıkları gıda enfeksiyonları ve gıda intoksikasyonları olmak üzere iki temel grupta incelemek mümkündür.

Gıda kaynaklı enfeksiyonlarda hastalık etgeni olan patojen mikroorganizmalar, gıdalar üzerinde çoğalmış olarak vücuda alınırlar. Bunlar barsak sisteminde tutunarak yayılır ve yangıya neden olurlar. Bazıları da vücuda alındıktan sonra barsak sisteminde oluşturdukları toksinler ile hastalığa neden olurlar.

Gıda kaynaklı mikrobiyal intoksikasyonlar, mikroorganizmaların gıdalar üzerinde oluşturdukları toksinlerin vücuda alınması sonucu görülen toksik etkilere (Aytan Karaoğlu, 2001).

Bizim üzerinde çalıştığımız mikroorganizma olan ***Bacillus cereus*** ***Bacillaceae*** familyasının ***Bacillus*** genusuna ait fakültatif aerobik spor oluşturan ve gıdalarda intoksikasyonlara neden olan bir bakteri olup toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir şekilde bulunurlar. Toprak kökenli olması sebebiyle tarla ve bahçe ürünlerine rahatlıkla bulaşabildiği gibi sporları nedeni ile et ve süt ürünlerinde de bulunabilirler.

Bacillus cereus gıda zehirlenmesinde aracı gıdalar olarak; pirinç yemekleri, makarna, et, kümes hayvanları, sebze yemekleri, çeşitli çorbalar, pudingler, baharat ve soslar sayılabilir (Aytan Karaoğlu, 2001).

Bacillus cereus'un gıda zehirlenmelerindeki önemli konumu ve doğada yaygın şekilde bulunması; gıda analizlerinde sayımını zorunlu kılmıştır. Bununla birlikte fındık yağının da son zamanlarda, özellikle fındık ağacının yetiştiği Türkiye, İspanya, İtalya ve Amerika gibi ülkelerin bazı bölgelerinde, gerek gıda endüstrisinde, gerekse evsel kullanımda yaygın olarak tüketimi artmıştır. Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı bu çalışmanın ana amacı fındık yağının **Bacillus cereus** bakterisinin gelişimi üzerine ne gibi etkilerinin olduğunu araştırmaktır.

Çalışmanın diğer bir amacında gıda sanayinde fındık yağı kullanılarak imal edilecek ürünlerde **Bacillus cereus** gelişiminin nasıl etkileneceği ile ilgili bilgilerin ortaya konulmasıdır.

1.1. **Bacillus** Genusu

Sert veya esnek çeperli, düzenli ve düzensiz, çomakçık veya silindir şeklinde olan bakterilere basil denir. Büyük B harfi ile italik yazıyla yazılan **Bacillus** sözcüğü özellikle gram (+) ve endospor oluşturan çomakçık şeklindeki bakteriler için bir genus (cins) adı olarak kullanılır. Küçük b harfi ile yazılan basil kelimesi ise genellikle bütün çomakçıklar için kullanılır. Basiller görünüm özelliklerine ya da bulundukları ortamın çeşitli etkilerine bağlı olarak değişik görünümde bulunabilirler (Bilgehan, 1996).

Ana özelliği endospor oluşturma olan **Bacillus** genusu **Clostridium** cinsi ile birlikte Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1986)'da 13. Bölüm "Endospor Oluşturan Gram Olumlu Çomak ve Koklar" adı altında toplanmaktadır. **Clostridium** cinsine ait türler sadece anaerobik koşullar altında üremesiyle **Bacillus**'tan ayrılır.

Bacillus genusuna ait türlerde hücreler düz çubuk şeklinde ve gram pozitifdirler. Kötü koşullara dayanıklı spor oluşturlar. Sporulasyon havaya maruz kaldığında baskılanmaz. Organizmalar hareketlidir. Peritrik flagellere sahiptirler. Aerobik ya da fakültatif anaerobiktirler. Oksijen terminal elektron

alıcısıdır. Koloni ölçüsü ve morfolojisi çok değişkendir ve ortamda pigment oluşturabilirler. Ekstrem koşullarda yaşayan psikrofilik, termofilik, asidofilik, alkalofilik, lipofilik ve halofilik türleri vardır. Bazı türler tuza toleranslı iken diğerleri tuz için spesifik gereksinimlere sahiptir. Birçok tür katalaz üretir. Oksidaz pozitif veya negatif türleri vardır. Birçok türün hücre duvarı çapraz bağlı mezo – diaminomelik asit içeren peptidoglikandır. Uçta metil bağlı 12'den 17 karbona sahip izo ve anti - izo yağ asitleri baskındır. Türün sporları çok dayanıklı olduğundan ve pasif bulaşmadan dolayı her türlü habitattan izole edilebilirler (Sneath et al., 1986)

Lipazlar genelde 50 °C sıcaklığın üstünde inaktive olmalarına karşın bu genusa ait bazı türlerin lipazı 60 °C sıcaklığın üzerindeki ısılarda iş görebildiğinden hastalıkların tanısında ve endüstriyel kullanımda daha elverişlidir.

Bacillus anthracis insanlar ve bazı hayvanlar için patojendir. ***Bacillus thuringiensis***, ***Bacillus larvae***, ***Bacillus lentimorbus***, ***Bacillus popilliae*** ve bazı ***Bacillus sphericus*** türleri böcekler için patojenidir. ***Bacillus cereus*** ise gıda ile iletilen gastroenteritisde rol oynar; diğer türleri fırsatçı patojen olabilir (Sneath et al., 1986).

1.2. ***Bacillus cereus***

Bacillus cereus, hücreleri büyük çubuklar şeklinde olan gram pozitif, fakültatif aerobik ve spor oluşturan bir bakteridir. Sporları sporangium şişkinliği oluşturmaz.

3,0 – 5,0 µm boy ve 1,0 – 1,2 µm eninde oldukça büyük, düz veya hafif kıvrık, uçları kesilmiş gibi düzgün, kısa ve bazen uzun zincirler yapabilen bir çomakçıktır. Sahip oldukları peritrik flagellerinden dolayı hareketli olan bakterinin sporları oval olup, hücre içinde merkezi veya subterminal olarak yerleşebilir. ***Bacillus cereus*** rahatlıkla sporulasyona gider ve üreyebilir. 20 – 30 dakika gibi çok kısa bir generasyon süresine sahiptirler (Bilgehan, 1996).

Yüksek sıcaklık değerlerine ve kurutmaya karşı dayanıklı olan sporlarının ısı rezistansına ait değerler tablo 1.1.'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Spor Isı Rezistansı.

Sıcaklık		D – değerleri	Ortam	Referanslar
(°C)	(°F)	(dakika)		
90	194	21 – 137	Su	Gilbert et al., 1974
95	203	5 – 36	Su	Gilbert et al., 1974
100	212	6,7 – 8,3	Su	Gilbert et al., 1974

Tablo 1.1.'de gösterilen D – değerleri, desimal azaltma değerleri olup, özel bir ortamda özel bir sıcaklık altında bakteri popülasyonunun % 90'ını öldürmek için gerekli zamanı dakika cinsinden ifade eder.

Ortalama üreme ısısı 28 – 35 °C sıcaklık olan **Bacillus cereus**'un bazı suşları 5 °C sıcaklıkta ve bazıları da 50 °C sıcaklıkta üreyebilirler. **Bacillus cereus**'un vejetatif hücreleri için belirlenen limit değerleri tablo 1.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Vejetatif Hücreler İçin Limit Değerler.

Parametre	Rapor Edilen Değer	Referanslar
Min. a_w	0,92	FDA, 1998
Min. pH	4,3	Reed, 1994
Max. pH	9,3	Fluer and Ezepchuk, 1970
Max. % NaCl	18	Pradhan et al., 1985
Min. sıcaklık	5 °C (41 °F)	FDA, 1998
Max. sıcaklık	50 °C (131 °F)	FDA, 1998

Bacillus cereus kolonileri jelozda yuvarlak 3 – 5 mm. çapında, yoğun, gri – beyaz hafif girintili çıkıntılı veya tüylü görünümlü kenarlı yüzleri ince granüllü olurlar. Buyyonda yoğun bulanıklılık ve çökelti yaparak ürer. Üreme

ortamına bağılı olarak kırmızı, pembemsi, kahverengi ve floresanlı yeşil pigment oluşturabilir. (Bilgehan, 1996).

Bacillus cereus için oldukça seçici bir ortam olan MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin) agarda bu bakterinin suşları pempe koloniler oluşturmakta, lesitinaz aktivitesinden dolayı koloni etrafında presipitasyon sonucu opak bir zon gözlenmektedir. Mannitol pozitif bakteriler ise fenol red indikatöründen dolayı farklı renkte koloniler oluştururlar (Harrigan, 1998).

Proteazlar, penisiline dirençliliği sağlayan β - laktamazlar, fosfolipaz C, hemolisin ve toksinler ***Bacillus cereus***'un ekstrasellüler ürünleridir. Toksinleri letal toksin ve enterotoksin olarak gruplandırılabilir. Letal toksin fareye enjekte edildiğinde onun ölümüne yol açar. Enterotoksinleri ise ishal ve emetik toksin olarak iki çeşittir. Bunların her ikisi de gıda zehirlenmesine yol açar.

Bacillus cereus'un 11 suşunun DNA'sındaki G + C oranı % 31.7 – 40.1, diğer bir 11 suшта ise % 34.7 – 38.0 olarak hesaplanmıştır. Bunun yanı sıra DNA/DNA hibridizasyonu sadece birkaç suшта çalışılmıştır. Ve sonuçta genetik olarak bu suşların homojen oldukları görülmüştür. Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda ***Bacillus cereus***'un DNA'sı ile ***Bacillus anthracis***, ***Bacillus mycoides*** ve ***Bacillus thuringiensis*** bakterilerinin DNA'larının yüksek oranda homoloji gösterdiği tespit edilmiştir (Sneath, 1986).

Genelde serbest yaşayan, bir yere bağımlı olmayan, doğada ve özellikle toprakta yaygın bir şekilde bulunan ve bunun yanı sıra su, süt, kuru gıdalar, tahıllar, nişastalar, sebzeler ve etlerin yüzeylerinde varlığını gösteren ***Bacillus cereus***'un tanımlanması için birden fazla suşla yapılan detaylı çalışmalar vardır. Bu çalışmalar sonucu ortaya çıkan karakteristikler tablo 1.3.'de gösterilmiştir (Sneath, 1986).

Tablo 1.3. *Bacillus cereus*'un Karakteristikleri (Sneath, 1986).

Karakteristikler	<i>Bacillus cereus</i>
Hücre Çapı (>1,0 µm)	+
Hareketlilik	+
Yuvarlak Sporlar	-
Sporangium Şişliği	-
Oksidaz	-
Lipaz (Zeytin Yağı)	+
Katalaz	+
Anaerobik Üreme	+
D – Glukozdan Asit Üretimi	+
Gliserolden Asit Üretimi	+
Maltozdan Asit Üretimi	+
Sükrozdan Asit Üretimi	+
Laktozdan Asit Üretimi	-
D – Mannitolden Asit Üretimi	+
Glukozdan Gaz Üretimi	-
Kazein ve Jelatinin Hidrolizi	+
Sitratin Kullanımı	+
Propionatin Kullanımı	ND
Tirozinin Yıkımı	+
Fenilalaninin Deaminasyonu	-
Yumurta Sarısı İndirgenmesi	+
Nitrat Redüksiyonu	+
Lizozim Reaksiyonu	+
Hemoliz	+
pH 5,7 – 6,8 (Nutrient Broth)'de Üreme	+
30 °C Sıcaklıkta Üreme	+
10 °C ve 40 °C Sıcaklıkta Üreme	d
% 7 NaCl'de Üreme	d
Asetatin Kullanımı	d

1.2.1. *Bacillus cereus* Enterotoksinleri

Gıda zehirlenmesine neden olan ve *Bacillus cereus* tarafından salgılanan enterotoksinler iki tiptir. Bunların bir tipi protein yapısında ısıya ve proteolitik fermentlere dayanıksız, bağlanmış tavşan bağırsak kangalı içinde bol sıvı salınmasına yol açan bir enterotoksindir. Bağırsak epitelinde adenil – siklaz siklik (AMP) sistemine etki ile kolera toksinine benzer. Buna ishal tip toksin denir. Resüs maymunlarında da sürgünlü hastalık oluşturur. Bu tür enterotoksin bakteriler tarafından bağırsaklarda oluşturulur. Pirinç zehirlenmesinden sorumlu bakterilerden soyutlanan ikinci bir enterotoksin maymunlarda da kusturucu etki göstermekte olup adenil – siklik sistemini etkilemezler. Buna da emetik tip toksin denir. Bu enterotoksin bekletilmekte olan besinlerde oluşur ve gıdalarla birlikte alınır (Bilgehan, 1996).

Bacillus cereus tarafından üretilen emetik ve ishal tip enterotoksinlerin karşılaştırılması tablo 1.4.'de verilmiştir.

Tablo 1.4. *Bacillus cereus* İshal ve Emetik Toksinlerinin Karşılaştırmalı Özellikleri.

Özellik	İshal Toksin	Emetik Toksin
Yapı	Protein yapısında	Peptid yapısında
Molekül Ağırlığı	~ 40.000 dalton	~ 5.000 dalton
Stabilite	45 °C sıcaklıkta 30 dakika stabildir. 56 °C sıcaklıkta 5 dakikada inaktive olurlar	126 °C sıcaklıkta 90 dakika stabildir
pH	pH 4 – 11 arasında stabildir	pH 2 – 11 arasında stabildir
Proteazlar	Pronaz, tripsin ve pepsine hassas	Tripsin ve pepsine karşı dirençli
Maymun Tepkisi	1 – 3 saat de diyare	1 – 5 saat de kusma
Sitotoksisite	+	Bilinmiyor
Farelerde	Letal	Bilinmiyor
Antijenite	+	-
İzoelektrik Nokta	5,1 – 5,6	Bilinmiyor
Depolama	İnaktive olur	Stabildir
Optimum Ortam	Glukozlu brain heart infusion	Pirinç kültür bulamacı
Optimum Sıcaklık	32 – 37 °C	25 – 30 °C
Üreme Fazı	Logaritmik fazda üretilir	Aktif üremeden sonra üretilir

Emetik toksin, moleküler yapısı bakımından ishal toksine zıt olarak, düşük moleküler ağırlığa ve düşük antijeniteye sahiptir. Ayrıca ısı ve pH'ya oldukça dayanıklı olup, tripsin ve pepsin enzimlerinden de etkilenmez. Toksin 15 – 50 °C sıcaklıkları aralıklarında üretilebilmekle birlikte optimum sıcaklık 25 – 30 °C sıcaklıdır (Aytan Karaoğlu, 2001).

Bacillus cereus enterotoksinlerinin oluşumu ortam koşullarına bağlıdır. Kültür ortamında enterotoksin üreten suşlar, in vivo olarak aynı seviyelerde toksin üretmeyebilir.

1.2.2. **Bacillus cereus**'un Neden Olduğu Hastalıklar

1955'li yıllardan bu yana **Bacillus cereus**'un bir gıda zehirlenmesi ajanı olduğu bilinmektedir. 1972 ve 1986 yılları arasında **Bacillus cereus**'la ilgili gıda kaynaklı 52 vaka, hastalık kontrol merkezine rapor edilmiştir.

Bacillus cereus gıda zehirlenmesine ve bazı klinik enfeksiyonlara neden olur. Gıda zehirlenmeleri enfeksiyonlardan ziyade intoksikasyonlardır (intoksikasyon: zehirlenme, toksik maddenin vücuda girmesine bağlı olarak ortaya çıkan belirti ve bulguların tümü).

Uygun koşullarda saklanmayan yiyeceklerde bulunan **Bacillus cereus** bakterileri tarafından hızlı ve etkili bir şekilde enterotoksinler üretilir. Hastalık bu yiyeceklerin, dolayısıyla enterotoksinlerin ağız yoluyla alınmasıyla ortaya çıkar. Örneğin; sporları pastörize sütte sağlam olarak kalabilirler. Daha sonra bu sporlar vejetatif hücrelere dönüşüp ürerler ve sütün bozulmasına sebep olurlar. **Bacillus cereus**'un oluşturduğu besin zehirlenmelerinin bildirilen sayısı gittikçe artmaktadır. Bugüne kadar iki türlü besin zehirlenmesi bildirilmiştir.

Birisi konserve etler, sebze çorbaları, pişmiş et ve kümes hayvanları, pişmiş sebzeler, nadiren balık, süt ve dondurma gibi yiyeceklerin bozulması ve bu bozuk gıdaların alınmasından 8 – 16 saatlik uzun bir kuluçka döneminden sonra ortaya çıkar. Hastalık kendisini karın ağrısı (% 75), ishal (% 96) ve kusmasız az bulantı şeklinde kendini gösterir. İshal az olabileceği gibi sulu ve bol da olabilir. Bu tip besin zehirlenmesine ishali sendrom da denir. Ayrıca bu **Clostridium perfringens**'in sebep olduğu gıda zehirlenmesine benzer. İshali sendromda ishalin görülmesinin nedeni enterotoksinlerin adenilat siklazı aktive ederek bağırsak mukozasından sıvı kaybına sebebiyet vermesidir.

İkincisi ise özellikle haşlanmış ya da kavrulmuş pirinç içeren yiyeceklerden (pilav vb.) kaynaklanan ve 1 – 5 saat gibi kısa bir kuluçka döneminden sonra ıveğen olarak başlayan, bulantı ve bol kusmanın (% 100) egemen olduğu, sürgünün az görüldüğü besin zehirlenmesidir. Bu tip hastalığa emetik sendrom da denir. Emetik sendroma yüksek sıcaklığa dayanıklı ve peptid yapısındaki bir toksinin sebep olduğu bilinmekle beraber bu enterotoksinin mekanizması ve hareket merkezi belirlenememiştir (Feeley and George, 1986).

Bu iki tür zehirlenmede yiyecek ve hasta dışkılarından soyutlanan ***Bacillus cereus***’ların değişik sero gruplarına ait olduğu saptanmıştır. ***Bacillus cereus***’un hasta dışkısından soyutlanması, bu etkene bağlı hastalığın tanısı için yeterli değildir. İncelemenin niceliksel yapılması gereklidir. Zehirlenmeye neden olan gıdaların analizlerinde 1 gr. gıda örneğinde 10^6 ve daha fazla ***Bacillus cereus***’a rastlanmaktadır. Yani gramında 10^6 ve daha fazla bakteri bulunan gıdaların tüketimi besin zehirlenmesi ile sonuçlanır.

Bacillus cereus gastroenteristi genellikle iyi huylu olduğundan ve kendi kendine son bulduğundan, antimikrobiyal ajanlar tedavide değersizdir. Bununla birlikte toksinlere karşı bir aşı henüz geliştirilememiştir. Hastalık genellikle 1 – 2 günde iyileşmekle beraber, bazı durumlarda 10 güne kadar etkisinin sürdüğü de gözlemlenmiştir. Sağaltımda nadiren su ve tuz kaybının yerine konması gerekebilir (Bilgehan, 1996).

Besin zehirlenmesi dışında ***Bacillus cereus***’un insanlarda oluşturduğu enfeksiyonlar nadirdir. Daha çok direnci kırılmış kimselerde fırsatçı patojen olarak abse oluşumuna, sellülite, osteomiyelite, idrar yolu enfeksiyonlarına, kulak ve göz enfeksiyonlarına, menenjitte, endokardite ve kemik iliği iltihabına da sebep olabilmektedir (Bilgehan, 1996).

Tablo 1.5. *Bacillus cereus*'un Neden Olduğu Besin Zehirlenmesi Tipleri.

	Emetik Sendrom	İshal Sendrom
Kuluçka Dönemi	1 – 5 saat	8 – 16 saat
Semptomlar	Bulantı ve kusma	Karın ağrısı ve ishal
Hastalık Süresi	1 – 2 gün	1 – 2 gün
İlgili Gıdalar	Pirinç ve ürünleri	Et, süt, sebze vb.

1.2.3. *Bacillus cereus* Gıda Zehirlenmesinin Tarihsel Gelişimi

20. yüzyılın başlarında *Bacillus cereus*'un gıda kaynaklığı hastalığa neden olduğu bazı mikrobiyologlar tarafından tahmin edilse de ortada kesin bir kanıt yoktu. Fakat 1947 – 1949 yılları arasında Norveç'te Hauge adında bir bilim adamı tarafından bir dizi çalışma yürütüldü. Nihayet sonuçlar 1955'de açıklandı. Hauge toplam dört vakayı araştırdı. Bu olaylardan yaklaşık 600 kişi etkilenmişti. İlginç olan dört vakada da aracı gıda vanilya sosu olarak ortaya çıktı. Dört hadisenin de birbirine benzer olmasından dolayı sadece bir hastanede görülen ve yaklaşık 400 kişiyi etkileyen vaka detaylı olarak incelendi. Hastalık vanilya soslu kakaolu pudingden kaynaklanmıştı. Özel bir koğuştaki herkes tatlıdan yemişti ve tümü hastalanmıştı. Hastalığın kuluçka devresi 10 saat kadar sürdü ve hastalar bol ve sulu ishale maruz kaldılar (Cliver, 1990).

Hauge olaydan *Bacillus cereus*'un sorumlu olduğunu ispatlamak için vanilya sosunu direk mikroskopik gözleme tabi tuttu ve büyük gram (+) çubukların ağır bir enfeksiyonunu ortaya çıkardı. Hauge, *Bacillus*'un *Clostridium perfringens* gibi bir anaerob olmadığını göstermek için kan agar plakları hazırladı ve hem aerobik hem de anaerobik olarak inkübe etti. Bu besiyerinde fakültatif anaerobik spor oluşturan sporların neredeyse bir saf kültürü gözlemlendi. Organizma kuvvetli hemolitikti ve yumurta sarısı agarında lesitinaz pozitif idi. *Bacillus*'un mevcut taksonomik tanımına göre, izole edilen spor oluşturan koloniler *Bacillus cereus*'un tipik reaksiyonunu verdiler (Cliver, 1990).

Belirli bir organizmanın, gıda kaynaklı hastalıkla, Hauge tarafından gösterildiği gibi, bağlantısı yeni veya daha önceden ortaya çıkmış patojeni tanıma için çoğunlukla gerek duyulan kanıtlama çeşitlerine iyi bir örnek sağlar. Araştırmacı aşağıdaki kriterleri hangi mikroorganizmanın hastalığa neden olduğunu bulmak için kullanır.

1. İlk olarak mikroorganizmanın hastalıkla kesinlikle bağlantılı olduğu gösterilir. Gıdadan ve hasta kişilerden organizma elde edilir.
2. Bu kaynaklarda elde edilen organizmaların fenotipik, immünolojik ve diğer testlerle uygun olduğu gösterilir.
3. Organizmanın bir deney hayvanına aktarılması önceki durumda olduğu gibi oldukça benzer bir hastalık oluşturur.
4. Organizma hayvanda enfeksiyon olan bölgeden geri alınabilir ve enfeksiyon devri tekrarlanır (Cliver, 1990)

1.2.4.Epidemiyoloji

İlk olarak iyi tanımlanmış ***Bacillus cereus*** ishal tipi gıda zehirlenmesi salgını 1969'da Amerika'da ortaya çıkmıştır. 1978'de 209 ve 118 vaka içeren iki ayrı salgın Amerika'da tanımlanmıştır. Bununla beraber emetik sendrom ilk olarak 1971'de İngiltere'de gözlemlenmiştir. 1982'ye kadar da 120'nin üzerinde salgın rapor edilmiştir (Cliver,1990).

Bunun yanı sıra ***Bacillus cereus***'un neden olduğu hastalıklar ülkeden ülkeye farklılık gösterir. Günümüze kadar Amerika'da pek fazla salgına rastlanmamasına rağmen dünya çapında ciddi salgınlar meydana gelmiştir. 1960 ve 1968 yılları arasında Macaristan'da meydana gelen gıda zehirlenmelerine sebep olan bakteriler arasında ***Bacillus cereus*** üçüncü sırada yer almıştır. Macaristan dışında İngiltere, Kanada, Hindistan, Japonya ve Singapur'da da önemli salgınlara rastlanmıştır (Feeley and George, 1986).

Emetik sendroma neden olan toksinler özellikle pirinç ürünlerinde meydana geldiğinden bu tip hastalık salgınları bilhassa Çin Restoranlarının bulunduğu ülkelerde rapor edilmiştir. İngiltere'de 1971'den beri meydana

gelen 100'den fazla salgın kızartılmış pirinç ile ilişkilendirilmiştir. Bunun nedeni ise geniş hacimlerde pişirilen pirincin oda sıcaklığında saklanması ve servis edilmeden önce çok kısa süreli ve hızlı bir kızartma işleminden geçirilmesidir (Feeley and George, 1986).

Dolayısıyla hastalığa rastlanmadaki bu coğrafi farklılıklar o ülkelerin yemek kültürüne ve Avrupa ülkelerindeki daha ileri tetkik ve araştırmalara bağlıdır.

Tablo 1.6. 1985 Yılına Kadar Oluşmuş *Bacillus cereus* Gıda Zehirlenmesine Ait Dünya Raporları (Aytan Karaoğlu, 2001).

İshal Sendrom	Rapor Edilen Vakaların	Emetik Sendrom
Ülke	Yaklaşık Sayısı	Ülke
Macaristan	101 – 200	İngiltere
Finlandiya	51 – 100	Hollanda
İngiltere, Amerika, Norveç, Bulgaristan, Kanada, Rusya	6 – 50	Avustralya, Amerika, Kanada, Hindistan, Japonya
Avustralya, Brezilya, Şili, Çin, Danimarka, Almanya, Hindistan, İtalya, Japonya, Hollanda, Polonya, Romanya, İspanya, İsveç, Yugoslavya	1 – 5	Norveç, Bulgaristan, Şili, Belçika, Çin, Danimarka, Almanya, Macaristan, Finlandiya, İspanya, Singapur, Fransa

1.2.5.Korunma

Bacillus cereus sporları ısıya karşı oldukça dayanıklıdır. Dolayısıyla düşük ısılarda pişirme esnasında sporlar ölmez. Eğer pişirme sonrası yiyecekler uygun olmayan koşullarda saklanır ise vejetatif hücrelerin üremesi meydana gelir. Eğer yeterli sayıda bakteri varsa üreyen bu hücrelerin

enterotoksin salgılaması sonucu gıdalar bozulur. Ve bu besinlerin alınması daha önce bahsettiğimiz hastalıklara sebep olur.

Bundan dolayı en başta yiyecekler hazırlanırken maksimum ölçülerde hijyen kurallarına dikkat edilmelidir. Böylece yiyeceklerin kontamine olma riski en aza iner.

Bacillus cereus 4 °C ile 54 °C sıcaklık arasında üreyebildiğinden, bu bakterinin neden olacağı gıda zehirlenmelerini önlemek için yiyecekler 4 °C sıcaklığın altında yani buzdolabında saklanmalıdır. Şayet pişirilen bir yemek hemen tüketilemeyecek ise mümkün olduğu kadar hızlı sürede 4 °C sıcaklığın altına indirilmelidir.

1.3. Fındık Ağacı

Fındık ağacı (***Corylus avellana*** L.) huş ağacıgilerden ***Corylus*** L. cinsine aittir. Bunlar yaprak dökücü çalılar veya ağaçlardır. Yaprakları basit ve kenarları dişli. Erkek çiçekler Sonbaharda görülmeye başlayan uzun ve sarkık amentumlarda, her biri tek bir braktenin koltuğunda, periantsız, 4 stamenli. Dişi çiçekler dikasyum durumunda, bir braktede 2 adet ve brakteollü. Her bir dişi çiçek dip kısmı birleşik uç kısımları ayrılmış 3 brakteolden oluşmuş bir involukrum ile örtülü. Meyveleri 1 – 8’li gruplar halinde ve uçta parçalı bir involukrum ile örtülmüş (Seçmen ve ark., 1995).

Kuzey yarıkürede yayılış gösteren 15 türü vardır. Ülkemizde 3 türü bulunur. Çalışmamızda kullandığımız fındık yağı bu üç türden biri olan ***Corylus avellana*** L.’den elde edilmiştir. Bu bitki 6 metreye kadar boylanabilen çalılardır. Involukrum meyveden kısa veya hafif uzun. Karadeniz bölgesinde yaprak dökücü orman kuşağında doğal yayılış göstermekle birlikte ülkemizin hemen her yerinde yetiştirilmektedir (Seçmen ve ark., 1995).

Ülkemiz dışında fındık ağacı İspanya ve İtalya gibi akdeniz ülkelerinde ve Amerika’nın Oregon ve Washington bölgelerinde de rahatlıkla

yetiştirilebilmektedir. Fındık ağacının sistematığı aşağıda gösterildiği şekildedir:

Divisio : Angiospermae

Clasis : Magnoliopsida

Subclassis : Hamamelidae

Ordo : Fagales

Familia : *Betulaceae*

Genus : *Corylus*

Species : *Corylus avellana* L.

1.4. Fındık

İnsanoğlu yerleşik düzene geçip düzenli tarım yapmaya başladığı andan itibaren bir çok bitkinin her yıl düzenli olarak ekim veya dikimini yapmıştır. Fındık da bu bitkilerden biridir. Dişi çiçeklerin çanak yapraklarından olgunlaşan fındıklar temmuz ve ağustos aylarında toplanır.

Önceleri kuruyemiş olarak tüketilen fındığın, gıda sanayinin gelişmesi ile birlikte kullanım alanı oldukça genişlemiştir. Fındık çikolata, bisküvi, şekerleme, tatlı, pasta, dondurma imalatında yardımcı malzeme olarak kullanılmaktadır. Çikolata ve bisküvi imalatında dünyanın yıllık iç tüketimi 300.000 tonu aşmıştır. Fındık ve fındık ürünleri yiyeceklerin tat ve besin değerini artırır. Özel ambalajlarda pazarlanan fındık, fındık ezmesi, nuga ve nutkrem, yüksek besin değerine sahip gıda maddeleridir.

Fındığın vitamin ve mineral deposu olan bir besin olması onun tüketimini hayli önemli kılmaktadır. Fındık vücutta karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında düzenleyici görevleri olan bir kısım B grubu vitaminler yönünden zengin bir kaynaktır. B1, B2 ve özellikle B6 vitamini fındıkta bol miktarda bulunur. Kan yapımı ve ruhsal sağlık için gerekli olan B2 ve B6 vitaminleri gelişme çağındaki okul çocuklarının beslenmesinde büyük önem taşımaktadır.

Kalp ve diğer kasların sağlığı için en iyi kaynak, bitkisel yağlardan sonra E vitamini açısından çok zengin olan fındıktır. Bu vitamin alyuvarların parçalanmasını önleyerek kansızlığa karşı koruyucu etki yapmaktadır. E vitamini, kanser yapıcı etmenlerin oluşmasını önler, ya da oluştuktan sonra etkisiz hale getirerek vücudu korur. Amerika'da California eyaletinde yapılan altı yıl süreli bir araştırma göstermiştir ki günde en az bir avuç fındık yiyen bir insanın enfarktüstten ölme riski, hiç fındık yemeyen bir kimseye göre yarı yarıya azalmaktadır.

Kemikler ve dişler için gerekli olan kalsiyum, kan yapımında görev alan demir, üreme ve cinsiyet hormonlarının gelişmesinde rol oynayan çinko için en iyi bitkisel kaynaklardan biri fındıktır. Sinirlerin uyarılması ve kas dokusunun çalışması için gerekli olan potasyumca da zengindir. Potasyum, magnezyum ve kalsiyum içeriği yüksek, sodyum miktarı düşük olan fındığın kemik gelişimi ve sağlığı ile kan basıncının düzenlenmesinde büyük önemi vardır. Bunun yanında fındıkta bakır ve manganez de bulunmaktadır.

Ayrıca fındık % 55 – 60'a varan yağ içeriğinden dolayı özellikle Akdeniz ağırlıklı diyetlerde iyi bir enerji kaynağıdır.

1.5. Fındık Yağı

Yağlar, metabolizma için gerekli olan üç temel organik maddeden (protein, karbonhidrat ve yağ) biridir. Organizmanın enerji deposu olarak işlev görmektedir ve 1 gram yağ yaklaşık olarak 9 kalordir. Bunun dışında yağlar;

- Vücutta yaşamsal değeri olan bazı hormonların sentezi için gerekmektedir.
- Yağların bileşiminde yer alan ve ancak vücut tarafından yapılamayan bazı esansiyel yağ asitlerinin vücuda alınmasını sağlar.
- A, D, E ve K vitaminleri sadece yağda eriyebildikleri için mutlaka yağlarla birlikte alınmaları gerekmektedir.

Katı ve sıvı yağlar, yağ asitlerinin gliserinle oluşturduğu esterlerdir. Bir mol gliserin ile üç mol yağ asidinden oluşan esterlere trigliseritler denir. Doğal, katı ve sıvı yağlar çeşitli trigliseritlerin bir karışımıdır. Trigliseritlerin yağ asitleri, uzun zincirli ve karboksilli asitlerdir. Bunların bir kısmı doymuş yapıda olmalarına karşılık diğer bir kısmı bir ya da daha fazla ikili bağ içerirler ki bunlara da doymamış yağ asitleri denir. Doymamış yağ asitleri de tekli- ve çoklu- olmak üzere iki gruba ayrılır. Doğal kaynaklardan elde edilen yağ asitlerinin molekülleri hemen hemen çift sayıda karbon atomlarından oluşmaktadır. Sıvı yağlar katı yağlara göre daha yüksek oranda doymamış yağ asidi içerirler (Mortimer, 1993).

Fındığın içinde % 55 – 60 oranında yağ bulunmaktadır. Fındık ham yağı, fındık meyvesinden elde edilen, kimyasal işlem görmemiş ve içinde herhangi bir katkı maddesi bulunmayan oleik esaslı bitkisel bir yağdır. Fındık yağının yüksek oranda doymamış yağ asidi içermesi onu oldukça faydalı bir besin kaynağı haline getirmektedir. Bu doymamış yağ asitlerinin büyük çoğunluğunu oleik (% 77 – 78) ve linoleik (% 13 – 14) asitler oluşturur. Ayrıca oleik asit insandaki depo yağlarının % 44,8 – 46,9'unu, linoleik yağ asidi ise % 8,2 – 11'ini oluşturur. Fındık yağında bulunan yağ asitleri ile bunların bulunuş oranları tablo 1.7.'de verilmiştir.

Tablo 1.7. Fındık Yağında Bulunan Yağ Asitleri ve Bulunma Oranları.

Yağ Asidi	Formülü	Karbon Sayısı : İkili Bağ Sayısı	Fındık Yağındaki Oranı (%)
Oleik Asit	$C_{17}H_{33}COOH$	C 18 : 1	77.6 – 78.5
Linoleik Asit	$C_{17}H_{31}COOH$	C 18 : 2	13.5 – 14.2
Palmitik Asit	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	C 16 : -	5.1 – 5.2
Stearik Asit	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	C 18 : -	2.0 – 2.1
Palmitoleik Asit	$C_{15}H_{29}COOH$	C 16 : 1	0.3
Eikosenoik Asit	$C_{19}H_{37}COOH$	C 20 : 1	0.2
Linolenik Asit	$C_{17}H_{29}COOH$	C 18 : 3	0.1 – 0.2
9 – Heptadekenoik	$C_{16}H_{31}COOH$	C 16 : 1	0.1
Araşidik Asit	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	C 20 : -	0.1
Behenik Asit	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$	C 20 : -	0 – 0.2
Miristik Asit	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	C 14 : -	İz Miktarda
Heptadekanoik Asit	$CH_3(CH_2)_{15}COOH$	C 17 : -	İz Miktarda

Son yıllarda başta Karadeniz Bölgesi olmak üzere ülkemizde de kullanımı artan ve çeşitli amaçlarla tüketilmeye başlanan fındık yağının çeşitli karakteristikleri tablo 1.8.'de verilmiştir.

Tablo 1.8. Fındık Yağının Karakteristikleri.

100 gramının Kalori Değeri	884 kcal
Görünüm	Açık ve parlak
Renk (5 ¼" Lovibond Ölçeği)	9 sarı/1 kırmızı
Serbest Yağ Asidi (%)(Oleik olarak)	En fazla 0.05
40 °C Sıcaklıkta Refraktif İndeks	1.4625 – 1.4627
Sabunlaşma Değeri	188
Buharlaşma Noktası	450 – 470 °F
Parlama Noktası	620 – 645 °F
Kaynama Noktası	680 – 690 °F

1.5.1.Fındık Yağının Yararları

Tübitak, Yıldız Teknik Üniversitesi, 19 Mayıs Üniversitesi ve Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığınca son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalarda oleik asidin kandaki kolesterol miktarının yükselmesini önlediği, yüksek kolesterolü ise düşürdüğü, kan şekerini düzenlediği ve kalp – damar hastalıklarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Yıldız Teknik Üniversitesi ve Tübitak tarafından yapılan başka bir ortak çalışma sonrasında Prof. Dr. Mehmet Pala'nın hazırladığı rapora göre kolesterolü % 26.2 oranında düşürdüğü ve kan şekerini düzelttiği belirtilmiştir. Fındık yağı kalp hastalığından koruyucu Apoprotein A – 1'i % 28 artırmakta, riskli Apoprotein – B'yi de % 7.5 oranında azaltmaktadır. Bunların yanı sıra fındık yağı böbrek ağrılarını gidermekte kum ve taş düşürülmesine yardımcı olmakta, barsak solucanlarını düşürmektedir.

Esansiyel bir yağ asidi olan linoleik asit metabolizma tarafından yapılamamaktadır. Organizma bu maddeyi dışardan gıdalarla birlikte almaktadır. Organizmanın üremesi ve sağlıklı gelişmesi için son derece gerekli olan bu asit fındık yağında bol miktarda bulunmaktadır. Fındık yağı, oleik ve linoleik asit gibi iki önemli yağ asidini bileşiminde bulunduran ender gıdalardan biridir.

Fındık yağı, vücut ısısının korunmasından, yağda eriyen vitaminlerin taşınmasına kadar bir çok görevi yerine getirmektedir. Doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermesinden dolayı vücutta parçalanması ve sindirimi kolaydır.

Erime noktası düşük ve bilinen bütün sıvı yağlara göre oksitlenme ve acılaşma süreleri de daha uzundur.

1.5.2. Fındık Yağının Kullanım Yerleri

Fındık yağının metabolizma için anlatılan faydaları düşünüldüğünde gıda sanayinde ve evsel kullanımda içerik maddesi olarak kullanılması uygundur.

Günümüzde kullanımı giderek yaygınlaşan rafine fındık yağı mayonez, gözleme, salatalar, soslar, kekler, pirinç yemekleri, gibi gıdalar dışında, pastacılık ve bisküvi sanayinde, fındık ham yağı da boya, kozmetik, sabun sanayii gibi diğer endüstriyel dallarda oldukça fazla kullanım alanına sahiptir.

Böylece tüketilen gıda maddeleri ile günlük diyet için alınması gereken yağ miktarı daha sağlıklı bir yağ olan fındık yağından karşılanmış olmaktadır.

2. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

2.1. *B. cereus* ile ilgili Çalışmalar

B. cereus ile ilgili çalışmalar;

- Ticari olarak tüketilen gıdaların mikrobiyolojik kalitelerinin tespiti amacıyla *Bacillus cereus* belirlenmesi ve sayımı,
- Bazı antibakteriyel maddelerin *Bacillus cereus* gelişimi üzerine etkilerinin belirlenmesi konularında yoğunlaşmıştır.

Soya yağında kızartılmış patateslere değişik konsantrasyonlarda *B. cereus* ekilerek çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda patatesler deneylerden önce 7 ve 13 °C sıcaklıkta 4 hafta kadar muhafaza edilmiştir. 10 cm'lik çubuklar şeklinde kesilen patatesler 185 °C sıcaklıkta 2 – 3,5 dakika kızartıldıktan sonra 3 ve 5 log cfu/gr *B. cereus* ile inoküle edilip 21 ve 26,7 °C sıcaklıkta 9 saate kadar inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçta 13 °C sıcaklıkta saklanan ve 26,7 °C sıcaklıkta inkübasyona bırakılan patateslerde *B. cereus*'un daha hızlı bir üreme gösterdiği saptanmıştır (Doan and Davidson, 1999).

Önceden pişirilmiş 171 gıda örneğinde *B. cereus* aranmıştır. Bu gıdaların % 10'unda kontaminasyon olduğu belirlenmiştir. Kontamine olan 8 örnekten 4'ünde *B. cereus* miktarı 10^5 - 5×10^5 cfu/gr arasında, diğerlerinde ise 10^6 cfu/gr'dan fazla ortaya çıkmıştır (Barbati et al., 1998).

Avusturya'da yapılan bir çalışmada marketlerden elde edilen içinde 55 farklı baharat ve şifalı bitkinin bulunduğu ambalajlı 160 örneğin mikrobiyolojik kaliteleri incelenmiştir. Bu örneklerin bazılarında *B. cereus* suşuna 10^5 cfu/gr gibi intoksikasyon tipinde gıda zehirlenmesine sebep olabilecek derecede yüksek oranlarda rastlanmıştır (Kneifel and Berger, 1994).

Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada Pretoria bölgesindeki marketlerde elde edilen öğütülmüş sığır eti, kızartılmış tavuk, salam, Vienna sosu ve jambonda **B. cereus** aranmıştır. Temin edilen 51 numune test edilmiştir. 1 kızartılmış tavuk, 3 salam ve 5 Vienna sosu numunesinden $2,5 \times 10^8 - 1,5 \times 10^7$ cfu/gr miktarlarında **B. cereus** suşu izole edilmiştir (Nortje et al., 1999).

Doğal ve asitliği arttırılmış havuç örneklerinde $5 - 30$ °C sıcaklıkta **B. cereus**'un üremesi üzerine çalışmalar yapılmıştır (Valero et al., 2000). Bu araştırmada dört **B. cereus** suşu kullanmıştır. Bunlardan biri (**B. cereus** INRA AVTZ415) 5 °C sıcaklıkta de ürerken diğerleri 12 °C sıcaklık ve üzerinde üreme göstermiştir. Ayrıca havuç örneklerinin asitliği limon suyu ve sitrik asit ile arttırılmıştır. **B. cereus**'un 25 °C sıcaklıkta ve pH seviyesi 4,50'den daha az olan örnekleri içeren ortamlarda üremediği gözlenmiştir. (Valero et al. 2000).

Kekik yağında bulunan ve parfüm sanayinde kullanılan, hafif antiseptik özelliğe sahip karvakrolun **B. cereus** bakterisi üzerine olan antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 200 gr. haşlanmış pirince 10^4 cfu/g **B. cereus** ve değişik konsantrasyonlarda karvakrol ilave edilip 8 °C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. Sonuç olarak 0,15 mg/g ve daha üzeri karvakrol konsantrasyonlarının **B. cereus**'un üremesi üzerine antimikrobiyal etkisi olduğu saptanmıştır (Ultee et al., 2000).

Peng et al., **B. cereus**'un izolasyonu için kromojenik bir substrat içeren yeni bir besiyeri kullanılmışlardır. Bu besiyerini MYP agar ile karşılaştırmışlardır. BCM besiyeri 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-myo-inositol-1-phosphate olarak isimlendirilen bir kromojenik substrat içermektedir. **Bacillus cereus**'un MYP agarda opak presipitasyon zonu oluşturan beyaz koloniler olarak ürediği gözlenirken, BCM agarda turkuaz, presipitasyon zonu oluşturmayan, yassı ve $2 - 7$ mm. çapında koloniler oluşturarak ürediği tespit edilmiştir (Peng et al., 2000).

Nisin, monolaurin ve nisin-monolaurin kombinasyonunun sütlerde **B. cereus**'un üremesi üzerine antimikrobiyal etkilerini değerlendirmek için 37 °C sıcaklıkta 5 gün (120 saat) süreyle bakteriyal gelişim incelenmiştir. 100 IU ml⁻¹ miktarındaki nisin il başta populasyon seviyesinde ani bir azalmaya neden olduğu fakat bu etkinin geçici olup 2 – 4 saat sonra bakteri kültürünün kontrol seviyesi olan 2x10⁷ cfu ml⁻¹ düzeyine ulaştığı gözlenmiştir. Diğer yandan 250 µg ml⁻¹lik monolaurin yaklaşık olarak 5. inkübasyon gününe kadar uzun bir bakteristatik etki göstermiştir. 120. saat sonunda dahi bakteriyal populasyon kontrol seviyesinden daha düşük bir miktar olan 4,1x10⁴ cfu ml⁻¹ düzeyinde kalmıştır. Nisin – monolaurin kombinasyonunun etkisi ise çok daha kuvvetli olarak bulunmuştur. 5. gün sonunda dahi süt içerisinde hiçbir üreme görülmemiştir (Mansour and Milliere, 2000).

Argon varlığında ve yüksek basınç altında **B. cereus** sporlarının inaktivasyonuna ilişkin yapılan bir çalışmada 30 dakika ve 20 °C sıcaklıkta argon varlığının sporların inaktivasyonunu hızlandırdığı, bununla birlikte 40 °C sıcaklıkta herhangi bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Fujii et al., 2001).

Karvakrol, nisin ve nisin-karvakrol kombinasyonlarının farklı pH ve sıcaklık seviyelerinde **B. cereus** üzerine olan antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. 0,3 mmol l⁻¹lik karvakrol konsantrasyonunun antibakteriyel bir etkisi görülmezken, nisin ile karıştırılan aynı karvakrol konsantrasyonun antibakteriyel etkisi gözlenmiştir. Nisinin antibakteriyel etkisi kendisi ile kombine edilen karvakrol konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilendiği gösterilmiştir. pH 6,30 ve pH 5,75'de karvakrol ve nisin pH 7,0'da olduklarından daha etkili oldukları bulunmuştur. Bununla birlikte 8 °C sıcaklıkta 30 °C sıcaklıkta olduğundan daha az aktif oldukları belirtilmiştir (Periago and Moezelaar, 2001).

1996 yılında yapılan çalışmada 300 kadar hint yemeği örneğinde **B. cereus** aranmıştır. **B. cereus** suşuna pişmemiş prinçte % 46, pastörize sütte % 30, pişmiş prinçte % 28, pişmiş sebzelerde % 24, çiğ bakliyalarda % 12 ve baharatlarda % 2 oranında rastlanmıştır (Shah et al., 1996).

İzmir ili ve çevresinden elde edilen 100 farklı örnekte **B. cereus** aranması, sayımı ve identifikasyon çalışmaları yapılmıştır. İncelenen örneklerin % 82'sinde **B. cereus**'a rastlanmıştır. Pozitif çıkan örneklerdeki **B. cereus** sayıları $10^1 - 1,6 \times 10^6$ cfu/gr arasında değişmektedir (Karaoğlu Aytan, 2001).

İzmir'de yapılan diğer bir çalışmada çeşitli bakterilerin lipaz aktiviteleri incelenmiş ve **Bacillus** genusuna ait bakterilerin lipolitik aktivitelerinin düşük olduğu saptanmıştır (Giray, 2001).

Van yöresinde tüketilen bazı gıda maddelerinde **B. cereus** suşunun varlığı incelenmiştir. Toplam 270 numune kullanılmıştır. Örneklerin % 8,5'dan **B. cereus** izole edilerek, belirlenmiştir. **B. cereus** sayısı 10^2 ile $2,5 \times 10^4$ cfu/gr arasında değişiklik göstermiştir. Sonuç olarak **B. cereus** ile kontaminasyon oranı tatlı çeşitlerinde % 14, paket çorbalarda % 11, tahıl ve baklagillerde % 18,7 olarak belirlenmiştir.

Sarımsağın aroma maddesi olan allisin antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahiptir. Sarımsağın 1:125.000 oranında sulandırılmış ekstraktının **Bacillus**, **Staphylococcus**, **Vibrio**, **Streptococcus** ve diğer türlerin çoğalmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (Hayashi et al., 1993).

2.2. Fındık Yağı İle İlgili Çalışmalar

Fındık ağacının Türkiye, İtalya, İspanya ve Amerika'nın Oregon ve Washington gibi sınırlı bölgelerde yetişmesinden ve fındık yağı kullanımının son zamanlarda ortaya çıkmasından dolayı bu konuyla ilgili yapılan araştırmalara pek fazla rastlanmamıştır. Bu az sayıdaki çalışmada da genelde fındık yağının kimyasal özellikleri ile ilgili olup mikrobiyolojik çalışmalar görülmemektedir.

Fındık yağının polar ve nonpolar lipid sınıflarındaki yağ asidi dağılımı incelenmiştir. Buna göre tüm lipid sınıflarında en yüksek oranda bulunan yağ asidi oleik asit olmuştur. Bu yağ asidinden sonra linoleik, palmitik ve stearik

asit de oldukça yüksek miktarda bulunmuştur. Miristik, palmitoleik, heksadekadienoik, linolenik, eikosanoik ve eikosenoik asitlerde küçük miktarlarda bulunmuştur. Tekli doymamış yağ asitleri nonpolar lipidlerde daha ağırlıklı bulunurken, doymuş ve çoklu doymamış yağ asitleri polar lipidlerde daha fazla bulunmuştur (Parcerisa et al., 1997).

108 farklı *Trichoderma* sp. suşunun bir hindistan cevizi benzeri aroma olan 6-pentil-alfa-pirone (6PP) üretme yetenekleri fındık yağında dahil olduğu çeşitli yağlarda çalışılmıştır. Bunların içinden *Trichoderma viride* TSP2 % 5 - 20 aralığında değişen yağ konsantrasyonlarında oldukça iyi bir üretim göstermiştir (Bonnarme et al., 1997).

Laurik, miristik, palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin antibakteriyel aktiviteleri çalışılmıştır. Laurik, palmitoleik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin, et bozulmalarına neden olan *C. pisciola*, *L. curvatus*, *L. sake* bakterileri üzerine antibakteriyel etkileri olduğu gösterilmiştir. Bunların içinde de laurik ve palmitoleik asitler en kuvvetli etkiyi göstermiştir. Oleik, miristik, palmitik ve stearik yağ asitlerinin 2500 µg/ml'ye kadar olan konsantrasyonlarının ise antibakteriyel etkileri bulunmamıştır. Fakat 2500 µg/ml'den daha fazla oleik, miristik, palmitik ve stearik yağ asidi konsantrasyonlarının antibakteriyel etkisi bu çalışmada rapor edilmemiştir (Ouattara et al., 1997).

Bununla birlikte gram (-) bakteriler uzun zincirli yağ asitlerinin bulunduğu ortamlara gram (+) bakterilerden daha dayanıklıdır. Gram (-) bakterilerin sahip olduğu bu direnç onların hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlerden kaynaklanır (Ouattara et al., 1997).

Bu çalışmalarda doymamış ve 14 karbondan uzun zincirli esansiyel yağ asitlerinin, doymuş yağ asitlerine göre mikroorganizmalara karşı daha aktif olduğu tespit edilmiştir. Çift bağ sayısı arttıkça doymamış esansiyel yağ asitlerinin inhibisyon etkisinin de arttığı gözlenmiştir (Ouattara et al., 1997).

18 karbona sahip doymamış yağ asitlerinin antibakteriyel etkileri sırasıyla; linolenik (C_{18:3}), linoleik (C_{18:2}) ve oleik (C_{18:1}) asit şeklindedir. (Ouattara et al., 1997).

Wang ve Johnson tarafından yapılan benzer çalışmada da linolenik asidin ***Listeria monocytogenes***'e karşı linoleik ve oleik asitten daha etkili olduğu bulunmuştur (Wang and Johnson, 1992).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Materyalin Eldesi

Bacillus cereus'un enterotoksin üretebilen *B. cereus* DSMZ [Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)] 4312 suşu Tübitak Marmara Araştırma Merkezi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Fındık yağı Furkan Gıda Ltd. Şti. (İstanbul/Türkiye)'nden kimyasal analizi yapılmış, hiçbir katkı maddesi bulunmadan elde edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Maddeler

Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP) (OXOID) ve Nutrient Agar (NA) (OXOID) olmak üzere iki besiyeri kullanılmıştır. Besiyerlerinin içerikleri aşağıda gösterildiği şekildedir.

MYP Agar:

Et ekstraktı	1,0 gr.
Pepton	10,0 gr.
Mannitol	10,0 gr.
NaCl	10,0 gr.
Phenol Red	0,025 gr.
Agar	15,0 gr.

Nutrient Agar:

Et ekstraktı	3,0 gr.
Pepton	5,0 gr.
Agar	15,0 gr.
Distile su	1000 ml.

Besiyerleri dışında kullanılan diğer maddeler;

- ***Bacillus cereus*** seçici katkısı (OXOID SR99)
- Tween 80 (MERCK)
- Yumurta Sarısı
- % 0,85'lik Fizyolojik Tuzlu Su
- Peptonlu Su
- % 70'lik Alkol
- Steril Distile Su'dur.

3.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Otoklav
- Etüv
- Karıştırıcı
- Manyetik karıştırıcı
- Koloni sayıcı
- Elektronik tartı
- Fotoğraf makinesi
- Petri kapları, cam tüpler, porttüp, öze, drigalski baget, beher, puar, 1, 2, 5 ve 10 ml'lik pipetler, 250 ve 500 ml'lik balonjojeler 2 ve 5 ml'lik enjektör.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

B. cereus DSMZ 4312 suşu yatık nutrient agarda +4 °C sıcaklıkta stoklanan ana kültürden öze yardımıyla alınarak, tamponlanmış peptonlu su içerisinde 24 saat 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi.

Oda sıcaklığında saklanan fındık yağı ise 121 °C sıcaklıkta 20 dakika steril edildikten sonra +4 °C sıcaklıkta muhafaza edildi. Fındık yağının farklı konsantrasyonlarını hazırlamak için % 0,85'lik fizyolojik tuzlu su kullanıldı.

Fındık yağı konsantrasyonlarının homojenizasyonunu sağlamak amacıyla konsantrasyon değerinin 1/100'ü kadar Tween 80 ilave edilip, vorteks ile fındık yağı çözülene kadar karıştırıldı.

3.2.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Nutrient agardan 28 gr. tartılıp 1000 ml. Distile su içersinde eritilmiştir. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası besiyeri 50 °C sıcaklığa soğutulduktan sonra petri kaplarına ve yatık nutrient agar hazırlamak için tüplere dökülmüştür. Yatık nutrient agar bakterilerin stoklanması için, petriler ise yumurta sarısı emülsiyonlarının mikrobiyolojik kontrolünü yapmak için kullanıldı.

İçeriğindeki mannitol, lesitin (yumurta sarısından kaynaklanan) ve polymyxin B nedeniyle ***Bacillus cereus*** için oldukça seçici bir besiyeri olan MYP agar kullanıldı. Polymyxin B gram negatif bakterileri inhibe ederek MYP agara seçicilik kazandırır. ***Bacillus cereus***'un lesitinaz aktivitesinden dolayı meydana gelen koloniler etrafında presipitasyon zonu oluşmaktadır.

MYP besiyerinden 21,5 gr. tartılıp 500 ml. distile su içersinde ısıtılarak eritilir. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrası besiyeri 50 °C sıcaklığa soğutulduktan sonra, 2 ml. steril distile su içersinde çözündürülmüş 50.000 ünite Polymyxin B katıldı. Laboratuvarda hazırlanmış 50 ml. yumurta sarısı emülsiyonu da ilave edilerek karıştırıldıktan sonra petri kaplarına 20 ml. olacak şekilde döküldü. Hazırlanan besiyerleri 37 °C sıcaklıkta 48 saat inkübe edilerek besiyerlerinin hazırlanışı ve dökülmesi esnasında herhangi bir kontaminasyon olup olmadığı kontrol edildi.

Yumurta sarısı emülsiyonunu hazırlamak için bir gün önceden marketlerden temin edilen yumurtalar fırçayla yıkandıktan sonra % 70'lik alkol içersinde 1 saat bekletildi. Steril şartlarda 5 ml'lik steril enjektör yardımıyla beyazından ayrılan yumurta sarısı toplam 25 ml. olacak şekilde steril şişelere konuldu. Buna 25 ml. steril % 0,85'lik fizyolojik tuzlu su karıştırılarak iyice çalkalandı. Hazırlanan bu emülsiyonun mikrobiyolojik kontrolü için nutrient

agara 0,1 ml. üç paralelli ekim yapılarak, 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda petri kaplarında herhangi bir üreme meydana gelmemesi yumurta sarısı emülsiyonunun besiyerlerine katılabileceğini gösterdi.

3.2.3. Ön Çalışmalar

Ön çalışmalar sırasında tamponlanmış peptonlu su kullanılarak 10^{-1} 'den 10^{-8} 'e kadar sulandırmak süretiyle hazırlanan bakteri seyreltmeleri ile 0,1 ml.'lik üç paralelli ekim yapıldı. Deney sonuçları koloni sayısı olarak verileceği için yayma plaka yöntemi kullanıldı. Petri kapları **Bacillus cereus**'un optimum üreme ısısı olan 30 °C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakıldı. 10^{-1} – 10^{-4} arasındaki bakteri sulandırmaları koloniler sayılamayacak kadar çok yoğun üreme gösterdi. 10^{-7} ve 10^{-8} 'lik bakteri sulandırmalarında ise ya çok az sayıda koloni oluşumu gözlemlendi ya da hiçbir üreme olmadı. Bu nedenle deneylerimizde 10^{-5} ve 10^{-6} 'lık sulandırmalar kullanıldı.

Kullanacağımız fındık yağı sulandırmalarını belirlemek için ilk olarak steril saf fındık yağı ile 0,5 – 0,1 – 0,01'lik fındık yağı konsantrasyonları kullanıldı. Bu konsantrasyonlardan petri kaplarına 0,1 – 0,5 ve 1 ml. alınarak yayma plaka yöntemiyle agar üzerinde ince bir film tabakası oluşturması sağlandı. 10^{-5} ve 10^{-6} 'lık bakteri sulandırmalarından 0,1 ml. kullanılarak yayma plaka yöntemiyle ekim yapıldı. Petri kapları 30 °C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakıldı. 0,1 ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonlarından 1'er ml. kullanılarak hazırlanan petri kaplarındaki antibakteriyel etkinin en iyi olduğu gözlemlendi.

0,1 ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonları, MYP agar içersinde 167 ml. distile su, 7,2 gr. MYP agar tozu, 17 ml. yumurta sarısı emülsiyonu, 0,7 ml. **Bacillus cereus** selektif katkısı ile birlikte kullanılarak MYP agar petri kaplarına döküldüğünde her petri kabında 1 ml. bulunacak şekilde ilave edildi. Böylece her iki fındık yağı konsantrasyonlarından her petride hacimce % 5 oranında bulundu. Buna göre 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu içeren

petrilerde saf fındık yağı oranı % 0,5, 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu içeren petrilerde saf fındık yağı oranı % 2,5 oldu. 0,1 ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonları içeren petri kaplarına bakteri sulandırmalarından 0,1 ml. ekim yapıp 30 °C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakıldı. 0,1 ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonları kullanılıp agar yüzeyinde film oluşturarak yapılan uygulamalar ile paralel sonuçlar elde edildi. Uygulamalardaki kolaylıklardan dolayı fındık yağı konsantrasyonlarının besiyeri içine karıştırılmasına karar verildi.

3.2.4. Uygulama

Fındık yağının antibakteriyel etkisinin tespiti amacıyla 0,1, 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonları ve sadece MYP agar tozu kullanılarak hazırlanan MYP agarlar ile çalışıldı. 0,1 ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonlarından her petriye 1 ml. gelecek şekilde MYP agar bileşimine karıştırıldı. Kullanılan besiyerlerinde **Bacillus cereus** üzerine olan ve fındık yağı konsantrasyonlarından kaynaklanan antibakteriyel etki koloni sayısı belirlenerek değerlendirildi.

B. cereus DSMZ 4312'nin 10^{-5} ve 10^{-6} 'lik sulandırmaları kullanılarak petri kaplarına 0,1 ml.'lik ekim yapıldı. Uygulamalarda drigalski bageti kullanılarak üç paralelli olarak yayma plaka yöntemi uygulandı.

Bacillus cereus bakterisinin farklı sıcaklıklarda üremesi üzerine olan etkilerini belirlemek için 4 farklı sıcaklık kullanıldı (20 °C, 30 °C, 37 °C ve 45 °C). 30 °C sıcaklık **Bacillus cereus** bakterisinin optimum üreme ısısı, 37 °C sıcaklık ise tüm bakteriler için genel bir üreme ısısı olmasından ötürü seçildi. 45 °C sıcaklık bakterinin üreyebileceği en yüksek limit sıcaklık değerine yakın olması sebebiyle kullanıldı. Bununla birlikte dördüncü sıcaklık değeri olarak ilk önce bakterinin üreyebileceği en düşük limit sıcaklık değerine yakın bir değer olan 15 °C sıcaklık denendi. Fakat bu derecede üreme gözlenmemesinden dolayı 20 °C sıcaklığın dördüncü sıcaklık olarak uygulanmasına karar verildi.

4 farklı sıcaklıkta üretilen ***Bacillus cereus*** bakterisinin üremesi, etüve konulduktan sonra düzenli olarak 1'er saatlik aralarla kontrol etmek suretiyle değerlendirmeler yapıldı. Üreme gözlenen petrilere koloni sayımı yapıldı.

Koloni sayısı inkübasyon sıcaklığına bağlı olarak 11. – 15. Saatten sonra bir değişim göstermedi. Bu sebepten ilk 18 saatlik sonuçlar rapor edilip değerlendirildi.

4. SONUÇLAR

20 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-5} 'lik ***Bacillus cereus*** sulandırılmalarında üreme 10. saatten itibaren başladı ve 15. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.1.).

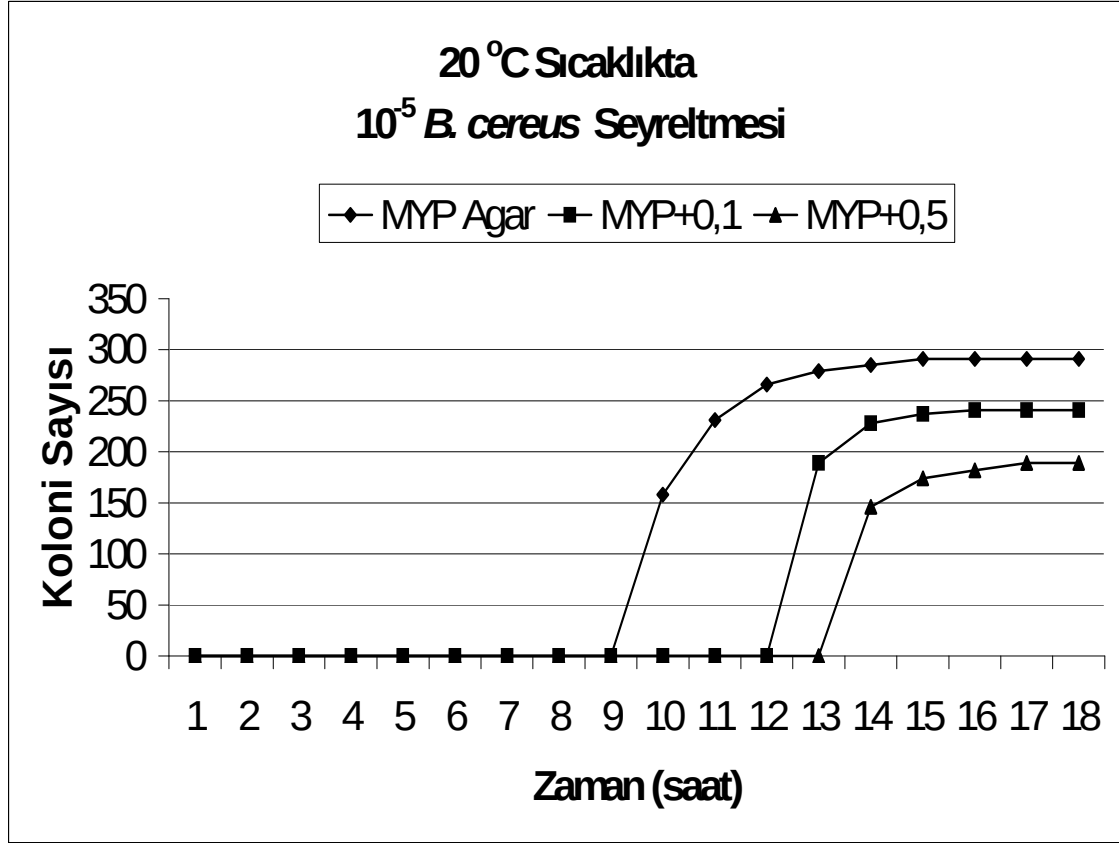
20 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik ***Bacillus cereus*** sulandırılmalarında üreme 13. saatten itibaren başladı ve 16. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.1.).

20 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik ***Bacillus cereus*** sulandırılmalarında üreme 14. saatten itibaren başladı ve 17. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20⁰ C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	158	0	0
11	231	0	0
12	266	0	0
13	279	189	0
14	285	228	146
15	291	237	174
16	291	241	182
17	291	241	189
18	291	241	189

Grafik 4.1. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



20 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırılmalarında üreme 10. saatten itibaren başladı ve 15. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.2.).

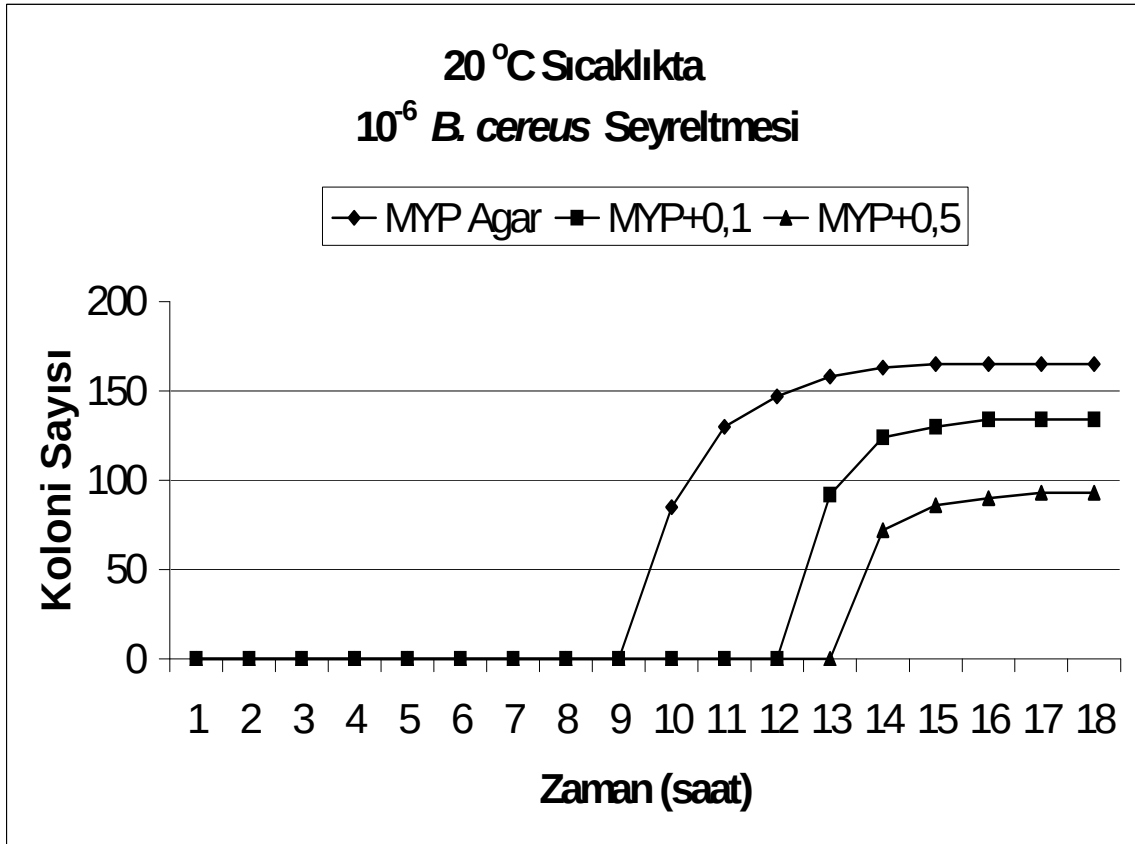
20 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırılmalarında üreme 13. saatten itibaren başladı ve 16. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.2.).

20 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırılmalarında üreme 14. saatten itibaren başladı ve 17. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	85	0	0
11	130	0	0
12	147	0	0
13	158	92	0
14	163	124	72
15	163	130	86
16	163	134	90
17	163	134	93
18	163	134	93

Grafik 4.2. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 20 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



30 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 5. saatten itibaren başladı ve 10. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.3.).

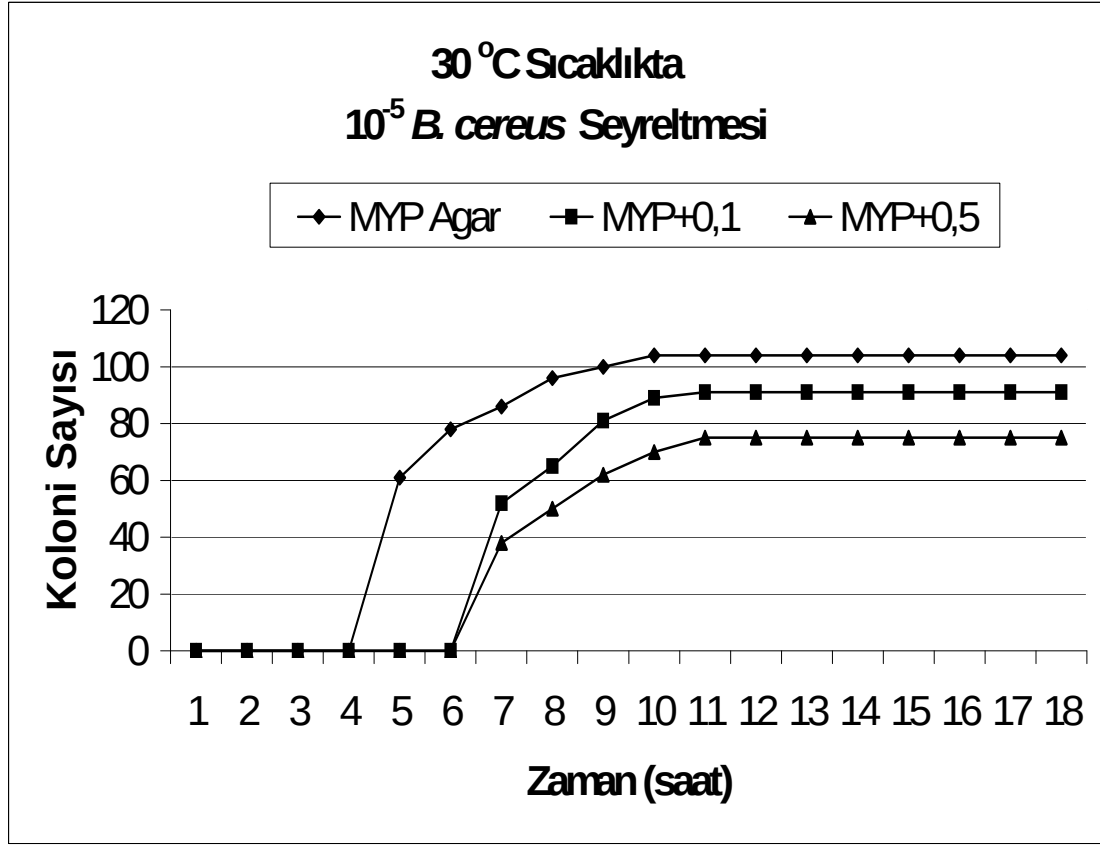
30 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 11. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.3.).

30 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 11. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	61	0	0
6	78	0	0
7	86	52	38
8	96	65	50
9	100	81	62
10	104	89	70
11	104	91	75
12	104	91	75
13	104	91	75
14	104	91	75
15	104	91	75
16	104	91	75
17	104	91	75
18	104	91	75

Grafik 4.3. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



30 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 5. saatten itibaren başladı ve 10. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.4.).

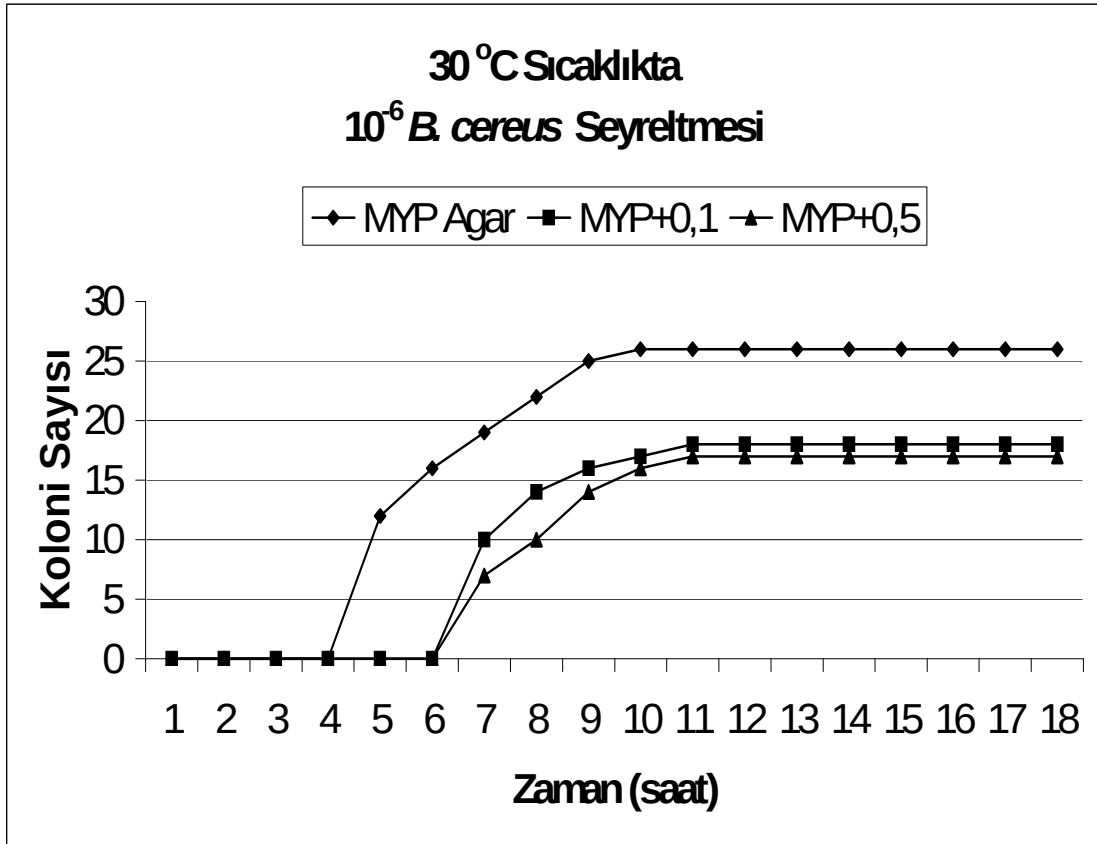
30 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 11. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.4.).

30° C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 11. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	12	0	0
6	16	0	0
7	19	10	7
8	22	14	10
9	25	16	14
10	26	17	16
11	26	18	17
12	26	18	17
13	26	18	17
14	26	18	17
15	26	18	17
16	26	18	17
17	26	18	17
18	26	18	17

Grafik 4.4. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 30 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



37 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırılmalarında üreme 5. saatten itibaren başladı ve 9. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.5.).

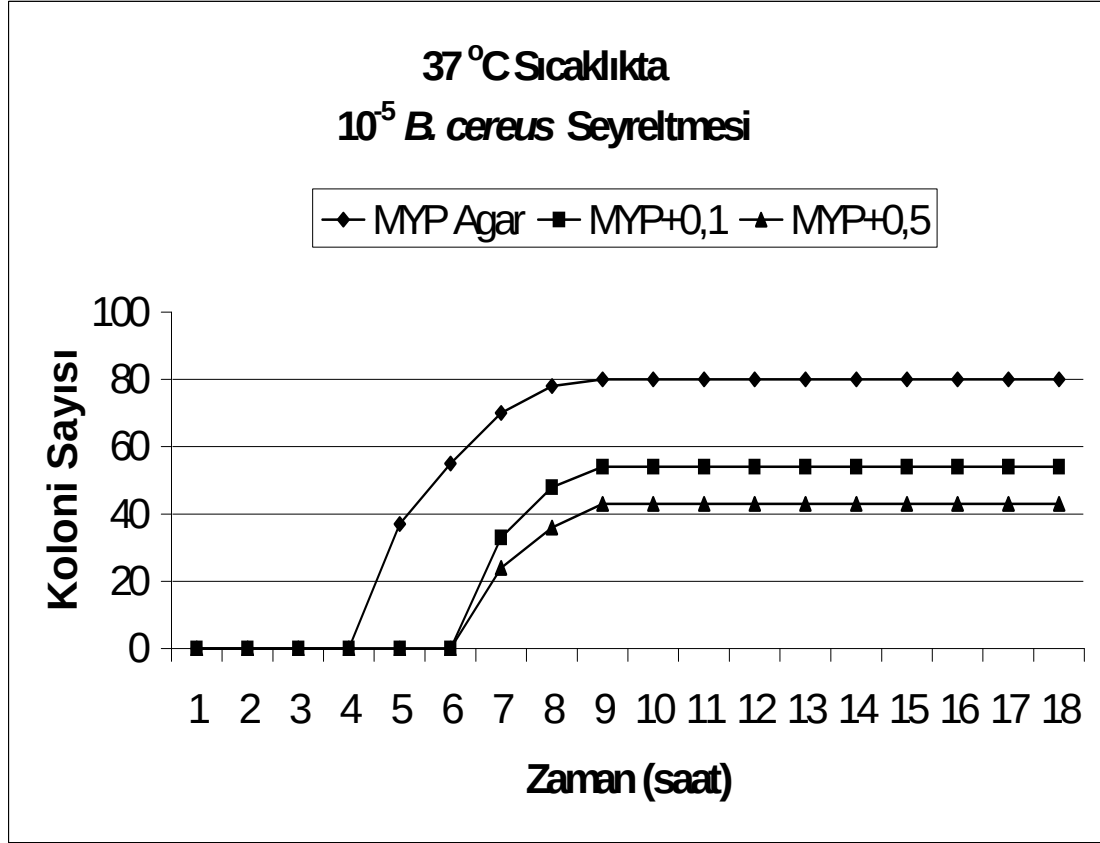
37 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırılmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 9. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.5.).

37 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırılmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 9. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.5.).

Tablo 4.5. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	37	0	0
6	70	0	0
7	78	33	24
8	80	48	36
9	80	54	43
10	80	54	43
11	80	54	43
12	80	54	43
13	80	54	43
14	80	54	43
15	80	54	43
16	80	54	43
17	80	54	43
18	80	54	43

Grafik 4.5. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



37 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 5. saatten itibaren başladı ve 9. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.6.).

37 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 9. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.6.).

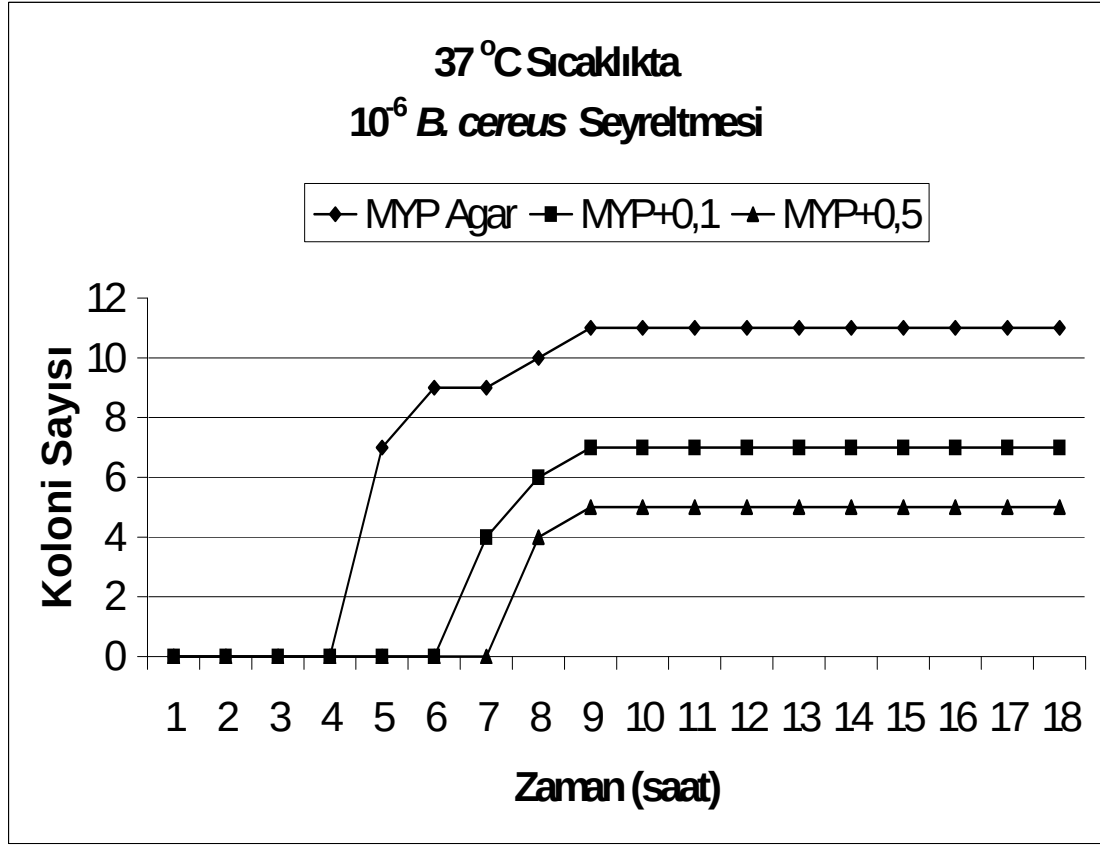
37 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 8. saatten itibaren başladı

ve 9. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	7	0	0
6	9	0	0
7	9	4	0
8	10	6	4
9	11	7	5
10	11	7	5
11	11	7	5
12	11	7	5
13	11	7	5
14	11	7	5
15	11	7	5
16	11	7	5
17	11	7	5
18	11	7	5

Grafik 4.6. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 37 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



45 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 4. saatten itibaren başladı ve 11. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.7.).

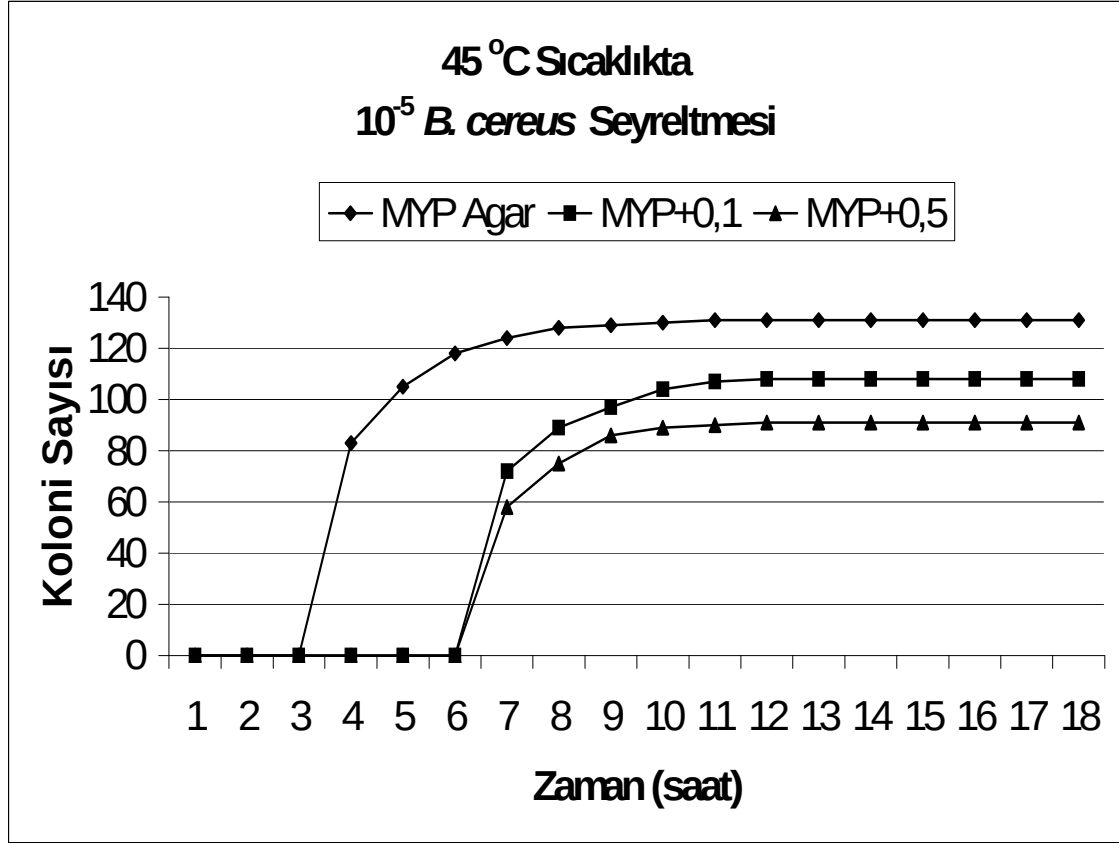
45 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 12. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.7.).

45 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 12. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.7.).

Tablo 4.7. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	83	0	0
5	105	0	0
6	118	0	0
7	124	72	58
8	128	89	75
9	129	97	86
10	130	104	89
11	131	107	90
12	131	108	91
13	131	108	91
14	131	108	91
15	131	108	91
16	131	108	91
17	131	108	91
18	131	108	91

Grafik 4.7. 10^{-5} 'lik *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



45 °C sıcaklıkta inkübe edilen ve içersine fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmemiş MYP agarda 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 4. saatten itibaren başladı ve 10. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.8.).

45 °C sıcaklıkta içersine 0,1'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı ve 10. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.8.).

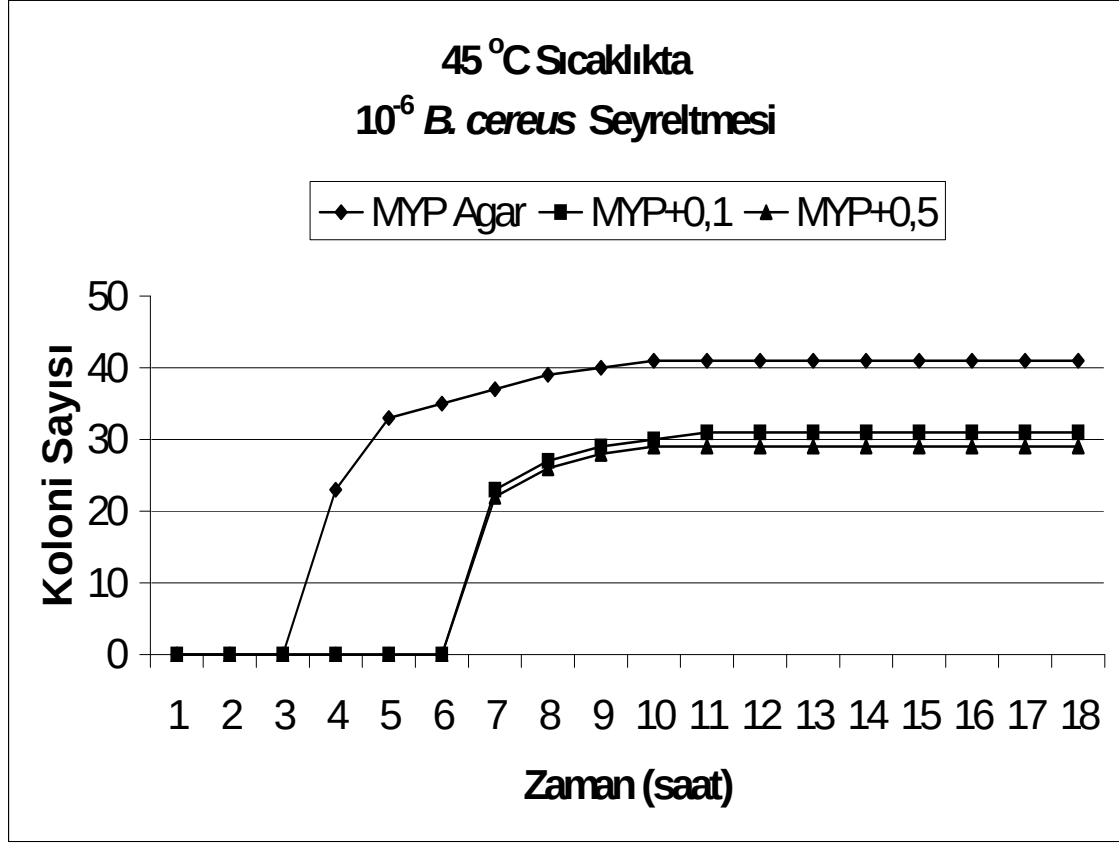
45 °C sıcaklıkta içersine 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu ilave edilmiş 10^{-6} 'lik *Bacillus cereus* sulandırmalarında üreme 7. saatten itibaren başladı

ve 11. saatte ise koloni sayısı petri kabındaki maksimum seviyesine ulaştı (Bkz. Tablo 4.8.).

Tablo 4.8. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.

Saat	Koloni Sayıları		
	MYP	MYP+0,1	MYP+0,5
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	23	0	0
5	33	0	0
6	35	0	0
7	37	23	22
8	39	27	26
9	40	29	28
10	41	30	29
11	41	31	29
12	41	31	29
13	41	31	29
14	41	31	29
15	41	31	29
16	41	31	29
17	41	31	29
18	41	31	29

Grafik 4.8. 10^{-6} 'lık *Bacillus cereus* Bakteri Sulandırması Kullanılarak 45 °C Sıcaklıkta Fındık Yağı Konsantrasyonlarının Antibakteriyel Etkileri.



Deneyler sonucunda fındık yağı konsantrasyonlarının en iyi antibakteriyel etkisi 20 °C sıcaklıkta ortaya çıktı. 10^{-5} ve 10^{-6} 'lık bakteri dilüsyonlarının 20 °C sıcaklıkta 18 saatlik inkübasyon sonunda MYP agar, 0,1 ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu bulunan MYP agar petri kaplarının fotoğrafları şekil 4.1. ve şekil 4.2.'de gösterildi.

Şekil 4.1. 10^{-5} 'lik Bakteri Sulandırmalarının 18 Saat Sonunda Petri Kaplarında Oluşturdukları Koloniler

MYP Agar

MYP+0,1

MYP+0,5

Şekil 4.2. 10^{-6} 'lik Bakteri Sulandırmalarının 18 Saat Sonunda Petri Kaplarında Oluşturdukları Koloniler

MYP Agar

MYP+0,1

MYP+0,5

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bacillus cereus bakterisi için seçici besiyeri olan MYP agara yapılan ekimler ile içerisinde 0,1'lik ve 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonları ilave edilerek hazırlanan MYP agara yapılan ekimler karşılaştırıldı. İçinde 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu bulunan, yani içinde 0,5 ml. fındık yağı bulunan MYP agarda daha fazla antibakteriyel etki tespit edildi.

Hacim olarak % 5 oranında 0,5'lik fındık yağı konsantrasyonu **Bacillus cereus** bakterisinin petri kaplarında oluşan koloni yoğunluğunu azalttığı, lag periyodunu geciktirerek bakteristatik etki gösterdiği tespit edildi.

Ouattara et al., 1997'de yaptığı çalışmalarda laurik, palmitoleik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin **C. pisciola**, **L. curvatus** ve **L. sake** bakterileri üzerine antibakteriyel etkilerini tespit etmişlerdir. Yukarıda sayılan yağ asitlerinden linoleik, palmitoleik ve linolenik asitler fındık yağı içerisinde de bulunmaktadır. Dolayısıyla yaptığımız çalışmada **Bacillus cereus** bakterisine karşı tespit edilen bakteristatik etkinin bu yağ asitlerinden kaynaklandığı ifade edilebilir. Bununla birlikte fındık yağı içerisinde bulunan diğer yağ asitlerinde antibakteriyel özelliğinin varlığı incelenebilir.

Fındık yağı kullanılarak hazırlanan gıdalar, fındık yağı kullanılmadan hazırlanan gıdalarla kıyaslandıklarında elde edilen sonuçlara dayanılarak daha uzun raf ömürlü olmaları beklenir.

Antibakteriyel etkisi tespit edilen fındık yağının üretim kapasitesi artırılmalı, gıda sanayinde ve evsel kullanımda diğer sıvı yağlarla birlikte yaygın olarak kullanımı sağlanmalıdır.

Bilindiği gibi intoksikasyon tipinde gıda zehirlenmesine sebep olan **Bacillus cereus** bakterisinin ürettiği enterotoksinlerdir. Bundan dolayı **Bacillus cereus** bakterisine karşı bakteristatik etkisi tespit edilen fındık

yağının enterotoksinlerin oluşumuna ya da kimyasal yapılarına etkileri üzerine çalışmalar yapılabilir.

Bacillus cereus dışında gıda zehirlenmelerine sebep olan diğer bakteriler üzerine fındık yağının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılabilir.

Bununla birlikte diğer sıvı yağların antimikrobiyal etkileri de araştırma konusu olabilir.

KAYNAKLAR

1. AKÇELİK, M., AYHAN, K., ÇAKIR, İ., DOĞAN, H. B., GÜRGÜN, V., HALKMAN, A. K., KALELİ, D., KULEAŞAN, H., ÖZKAYA, D. F., TUNAİL, N., ve TÜKEL, Ç., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2. Basım, Ankara, 2000.
2. AYTAN KARAOĞLU, F., Çeşitli Kuru Gıdalarda **Bacillus cereus** Aranması, Sayımı ve İdentifikasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2001.
3. BARBATI, S., COLACURCI, B., AQUILA, M. G., TUCCI, C., and MUSELLI, D., Investigation of **Bacillus cereus** Contamination Levels in Precooked Food, Microbiologie, Aliments, Nutrition, Volume 16, No:2, 131-133, 1998.
4. BİLGEHAN, H., Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 8. Basım, İzmir, sf. 20 –21, 1996.
5. BİLGEHAN, H., Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir, 9. Basım, sf. 327-328, 1995.
6. BONNARME, P., DJIAN, A., LATRASSE, A., FERON, G., GINIES, C., DURAND, A., and LE QUERE, J. L., Production of 6 – pentyl - α - pyrone by *Trichoderma* sp. from vegetable oils. Journal of Biotechnology, Volume 56, p. 143 –150, 1997.
7. CLIVER, D. O., Food-borne Diseases, Academic Press Inc., San Diego, California, p. 395, 1990.
8. DOAN, C. H., and DAVIDSON, P. M., Growth of **Bacillus cereus** on Oil – blanched Potato Strips for “Home – style” French Fries. Journal of Food Science (Food Microbiology and Safety), Volume 64, No : 5, p. 909 – 912, 1999.
9. ERKMEN, O., Basic Methods of Microbiological Analysis of Foods. Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, sf. 123, 2000.
10. FUJII, K., OHTANI, A., WATANABE, J., OHGOSHİ, H., FUJII, T., and HONMA, K., (Short Communication) High – pressure inactivation of **Bacillus cereus** spore in the presence of argon. International Journal of Food Microbiology, Volume 72, p. 239 – 242, 2002.

11. GİRAY, N.A., İzmir İli ve Çevresinden Lipolitik Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2001.
12. HARRIGAN, W.F., Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego, 1998.
13. HAYASHI, T., SANA, K., OHSUMI, C., Gas chromatographic analysis of allisin in the callus tissues of **Allium sativum**. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, Volume 57,1, p. 162 – 163, 1993.
14. http://home.earthlink.net/~zinkd/b_cereus.htm
15. http://www.internationalhospital.com.tr/_html/haberler.htm
16. <http://darussifa.kolayweb.com/f.htm>
17. <http://www.geocities.com/findigimtr/Findiktuketim.htm>
18. <http://www.yyu.edu.tr/fakulte/zf/dergi/1999/ozet.asp>
19. <http://www.byegm.gov.tr/yayinlarimiz/ANADOLUNUNSESI/143/AND28.HTM>
20. <http://www.ordusoya.com.tr/FindikYagi/FindikYagi.htm>
21. <http://www.ag.iastate.edu/departments/foodsci/classes/fshn420/bcereus.htm>
22. <http://seafood.ucdavis.edu/HACCP/Compendium/chapt10.htm>
23. <http://www.libertyvegetableoil.com/hazelnut.htm>
24. KNEIFEL, W., and BERGER, E., Microbiological Criteria of Random Samples of Spices and Herbs Retailed on The Austrian Markets, Journal of Food Protection. Volume: 57, No: 10, p. 893-901, 1994.
25. MANSOUR, M., and MILLIERE, J. B., An inhibitory synergistic effect of a nisin – monolaurin combination on **Bacillus** sp. vegetative cells in milk. Food Microbiology, Volume 18, p. 87 – 94, 2001.
26. MORTIMER, C.E., Modern Üniversite Kimyası Cilt 2. Çağlayan Basımevi, 2. Basım, İstanbul, sf. 391-393, 1993.
27. NORTJE, G. L., VORSTER, S. M., GREEBE, R. P., and STEYN, P. L., Occurrence of **Bacillus cereus** and **Yersinia enterocolitica** in South African retail meats. Food Microbiology, Volume 16, p. 213 – 217, 1999.
28. NOTERMANS, S., and BATT, C.A., A Risk Assessment Approach for Food-borne **Bacillus cereus** and Its Toxins. Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement 84, p. 515-516, 1998.

29. OUATTARA, B., SIMARD, R., E., HOLLEY, R., A., PIETTE, G., J., P., BEGIN, A., Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 3, p. 155 – 162, 1997.
30. ÖNER, M., Genel Mikrobiyoloji (Ders Kitabı). Ege Üniversitesi Basımevi Seri No: 94, Bornova-İzmir, 1992
31. PARCERISA, J., RICHARDSON, D. G., RAFECAS, M., CODONY, R., and BOATELLA, J., Fatty Acid Distribution in Polar and Nonpolar Lipid Classes of Hazelnut Oil (*Corylus avellana* L.). *Journal of Agriculture Food Chemistry*, Volume 45, No: 10, p. 3887 – 3890, 1997.
32. PERIAGA, P. M., and MOEZELAAR, R., (Short Communication) Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 68, p. 141 – 148, 2001.
33. PENG, H., FORD, V., FRAMPTON, E. W., RESTAINO, L., SHELEF, L. A., and SPITZ, H., Isolation and enumeration of *Bacillus cereus* from foods on a novel chromogenic plating medium. *Food Microbiology*, Volume 18, p. 231 – 238, 2001.
34. SALMERON, M. C., Growth of *Bacillus cereus* in natural and acidified carrot substrates over temperature range 5 – 30⁰ C. *Food Microbiology*, Volume 17, p. 605 – 612, 2000.
35. SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L., ve LEBLEBİCİ E., Tohumlu Bitkiler Sistematigi (Ders Kitabı). Ege Üniversitesi Basımevi, 4. Basım, Seri No: 116, Bornova-İzmir, 1995.
36. SHAH, R. C., WADHER, B. J., and BHOOSREDDY, G. L., Incidence and Characteristics of *Bacillus cereus* Isolated from Indian Foods, *Journal of Food Science and Technology*. Volume 33, No:3, p. 249-250, 1996.
37. SNEATH, P. H. A., NICHOLAS, S. M., MAIR, N.S., SHARPE, M. E., and HOLT, J. G., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 2, Section 13, USA, p. 1104-1131, 1986.
38. STECCHINI, M. L., TORRE, M. D., DONDA, S., and MALTINI, E., Growth of *Bacillus cereus* on Solid Media as Affected by Agar,

- Sodium Chloride, and Potassium Sorbate. Journal of Food Protection, Volume 63, No: 7, p. 926 – 929, 2000.
39. TAMER, A. Ü., Genel Mikrobiyoloji Laboratuar Kılavuzu. Anadolu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2. Baskı, 1991.
 40. ULTEE, A., SLUMP, R. A., STEGING, G., and SMID, J., Antimicrobial Activity of Carvacrol toward **Bacillus cereus** on Rice. Journal of Food Protection, Volume 63, No: 5, p. 620 – 624, 2000.
 41. VALERO, M., LEONTIDIS, S., FERNANDEZ, P. S., MARTINEZ, A., and
 42. SAMUEL, B., Medical Microbiology. Second Edition, California, USA, Section 31 **Bacillus** , p. 398 – 405, 1986.
 43. WANG, L., JOHNSON, E.A., Inhibition of **Listeria monocytogenes** by fatty acids and monoglycerides. Appl. Environ. Microbiol. Volume 58, p. 624 – 629, 1992.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Yalova'da doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Yalova'da tamamladıktan sonra 1994 yılında Ege Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 1998 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladı.