



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEYTİNYAĞI ATIK ÜRÜNÜ ZEYTİN KARA SUYUNUN *BACİLLUS*
SUBTİLİS ATCC 6633'ÜN GELİŞİMİNDE BESİ ORTAMI OLARAK
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÇİĞDEM ASLAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY

ARALIK-2017



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEYTİNYAĞI ATIK ÜRÜNÜ ZEYTİN KARA SUYUNUN *BACILLUS*
SUBTILIS ATCC 6633'ÜN GELİŞİMİNDE BESİ ORTAMI OLARAK
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÇİĞDEM ASLAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY

ARALIK-2017

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEYTİNYAĞI ATIK ÜRÜNÜ ZEYTİN KARA SUYUNUN *BACILLUS*
SUBTILIS ATCC 6633'ÜN GELİŞİMİNDE BESİ ORTAMI OLARAK
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Çiğdem ASLAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Emine AKSAN ALDANMAZ danışmanlığında hazırlanan bu tez
25/12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Yrd.Doç.Dr.Emine AKSAN ALDANMAZ
Başkan

Doç.Dr. Ahmet Doğan DUMAN

Üye

Yrd.Doç.Dr.Adnan BOZDOĞAN

Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA

Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 1002Y0104

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı. 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

25.12.2017

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Çiğdem ASLAN

ÖZET

ZEYTİNYAĞI ATIK ÜRÜNÜ ZEYTİN KARA SUYUNUN *BACILLUS SUBTILIS* ATCC 6633'ÜN GELİŞİMİNDE BESİ ORTAMI OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Çeşitli gıda sanayi atıkları, tek hücre proteini, hücre kütlesi elde edilmesinde ya da çeşitli mikrobiyal metabolitlerin üretilmesinde besi ortamı olarak kullanılabilmektedir. Zeytinyağ üretim esnasında atık olarak açığa çıkan ve ekonomik olarak değerlendirilmeyen “zeytin kara suyunun” bu çalışmada *Bacillus subtilis* ATCC 6633 gelişiminde besi ortamı olarak kullanımı incelenmiştir.

Araştırma sonuçlarında, üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularının pH değerleri, % yağ içeriği ve toplam azot miktarı açısından birbirine yakın özelliklerde olduğu, % kurumadde ve kül içeriklerinde ise bir fabrikanın değerleri daha düşük olarak saptanmıştır. Üç fabrikadan elde edilen zeytin karasularında İnkübasyon öncesi zeytin karasularının pH değerleri, 5.39 ile 5.55, yağ içeriği %1.01 ile %2.17 ve toplam azot miktarı 0.06 mg N/L ile 0.22 mg N/L, kurumadde %0.10 ile %7.86 ve kül içerikleri %0.46 ile %2.39 arasında belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası zeytin karasularının pH değerleri 5.35 ile 5.57, yağ içeriği %0.07 ile %1.45 ve toplam azot miktarı 0.05 mg N/L ile 0.13 mg N/L, kurumadde %0.01 ile %6.48 ve kül içerikleri %0.39 ile %1.23 arasında saptanmıştır. Besi ortamında bileşen olarak kullanılan pepton ve glikoz, zeytin kara suyu kimyasal analiz sonuçlarında etkili olabileceği belirlenmiştir.

Bacillus subtilis'in zeytin kara suyunda gelişimini incelediğimizde, 12 saatte gelişim eğrisini oluşturduğu ve *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında inkübasyon öncesinde hücre sayısı $5.7599 \log_{10}$ ile $6.1126 \log_{10}$, inkübasyon sonunda belirlenen hücre sayısı $15.0881 \log_{10}$ ile $18.0976 \log_{10}$ arasında saptanmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında kontrol besiyerine göre daha yüksek hücre sayımlarına ulaşmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin kara suyunda gelişiminde besiyeri bileşenleri olarak pepton ve glikozun çok önemli bir etkisi belirlenmemiştir.

2017. 48 sayfa

Anahtar Kelimeler: Zeytin kara suyu. *Bacillus subtilis*. Besi ortamı

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE USABILITY OF OLIVE MILL WASTE WATER AS A GROWING MEDIUM OF *BACILLUS SUBTILIS* ATCC 6633

Various food industry wastes can be used as a medium for single cell protein production, cell mass production or production of various microbial metabolites. In this study, the use of "olive mill waste water", which is uneconomically evaluated as waste during the production of olive oil, as a nutrient medium in the growth of *Bacillus subtilis* ATCC 6633 has been examined.

Olive mill waste water were supplied from three different factories. The results of the study show that the pH values, % fat content and the total nitrogen amount of olive waste are close to each. other while the values of a factory in % dry matter and ash content are lower. The

Before the incubation, in olive waste water from three factory, it was determined that pH values 5.39 to 5.55, the fat content 1.01 to 2.17%, the total nitrogen content 0.06 mg N/L to 0.22 mg N / L, the dry matter content 0.10 to 7.86% and the ash contents 0.46 to 2.39%. After incubation, the pH values of the olive waters were found to be between 5.35 and 5.57, the oil content 0.07% to 1.45% and the total nitrogen content 0.05 to 0.13 mg N/L, 0.01 to 6.48% dry matter and 0.39 to 1.23% ash content. It has been determined that peptone and glucose, which are used as components in the fattening medium, may be effective in the chemical analysis results of olive waste water.

When we examined the growth of *Bacillus subtilis* in olive oil wastes, we found that the growth curve was 12 hours and the number of cells was 5.7599 log₁₀ and 6.1126 log₁₀ before incubation in olive waters and the number of cells determined at the end of incubation was found between 15.0881 log₁₀ and 18.0976 log₁₀. *Bacillus subtilis* reached higher cell counts in olive waters than in control media. It has not been identified as a significant effect of the nutrient components as peptone and glucose on the growth of *Bacillus subtilis* in the olive oil wastes.

2017. 48 pages

Key Words: Olive groundwater. *Bacillus subtilis*. Nutrient

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren danışman hocam. Sayın Yrd.Doç.Dr. Emine AKSAN ALDANMAZ'a. çalışmalarım sırasında değerli fikir ve yardımlarını esirgemeyen Gıda Mühendisliği bölümündeki bütün hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarımda yardımcı olan MKU merkez laboratuvar çalışanlarının tümüne. ayrıca Hatay İl Kontrol Laboratuvarı tüm çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm çalışmalarımda ihtiyaç duyduğum her an varlıklarını hissettiğim değerli ailem; annem Sultan ASLAN. babam Hasan Erol ASLAN ve kardeşim İlkem Sekban ASLAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	9
3.1. Materyal.....	9
3.1.1. Besiyerleri	10
3.1.2. Kimyasal Maddeler	10
3.1.3. Alet ve Ekipmanlar.....	11
3.2. Yöntem	11
3.2.1. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında pH Değerlerinin Belirlenmesi	12
3.2.2. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Azot Miktarının Belirlenmesi	12
3.2.3. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Yağ Miktarının Belirlenmesi	13
3.2.4. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Kül Miktarının Belirlenmesi	13
3.2.5. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi	14
3.2.6. <i>Bacillus subtilis</i> 'ün Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Gelişimi ve Biyokütle Oluşumu.....	14
3.2.6.1. <i>Bacillus subtilis</i> 'ün Zeytin Karasularında Gelişim Eğrisinin Belirlenmesi	14
3.2.6.2. <i>Bacillus subtilis</i> 'ün Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Biyokütle ile Oluşumu	15
3.3. İstatistiksel Analizler	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	17
4.1. Zeytin Karsularında Kimasal Analiz Sonuçları.....	17
4.1.1. <i>Bacillus subtilis</i> ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında pH Değerleri Sonuçları.....	17
4.1.2. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Azot Miktarı Sonuçları.....	19
4.1.3. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Yağ Miktarı Sonuçları.....	21
4.1.4. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Kül Miktarı Sonuçları.....	23
4.1.5. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Kuru Madde Miktarı Sonuçları.....	24

4.2. <i>Bacillus subtilis</i> 'in Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Gelişimi ve Biyokütle Oluşumu	26
4.2.1. <i>Bacillus subtilis</i> 'in Zeytin Kara sularında Gelişimi Eğrisi	26
4.2.2. <i>Bacillus subtilis</i> 'in Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Biyokütle Oluşumu	28
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	30
KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	36
EKLER	37
EK 1. pH.....	37
EK 2. Nitrojen	39
EK 3. Yağ	41
EK 4. Kuru Madde	43
EK 5. Kül	45
EK 6. Hücre Sayımı	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Ülkelere göre zeytinyağı üretimi (2013 T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, 2013).....	1
Şekil 1.2.	Zeytinyağı üretim akım şeması (ÇOMÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2015)	2
Şekil 3.1.	Zeytinyağı atık ürünü Zeytin Kara Suyunun fotoğrafı	9
Şekil 3.2.	<i>Bacillus subtilis</i> 'in zeytin kara suyunda (Örnek A) kalibrasyon eğrisi	15
Şekil 3.3.	<i>Bacillus subtilis</i> 'in zeytin kara suyunda (Örnek B) kalibrasyon eğrisi.....	16
Şekil 3.4.	<i>Bacillus subtilis</i> 'in zeytin kara suyunda (Örnek C) kalibrasyon eğrisi.....	16
Şekil 4.1.	Örnek A'dan elde edilen zeytin kara suyunda <i>Bacillus subtilis</i> 'in üreme eğrisi.....	28
Şekil 4.2.	Örnek B'den elde edilen zeytin kara suyunda <i>Bacillus subtilis</i> 'in üreme eğrisi.....	29
Şekil 4.3.	Örnek C'den elde edilen zeytin kara suyunda <i>Bacillus subtilis</i> 'in üreme eğrisi.....	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Zeytin kara suyunun kimyasal bileşimi (Oruç. 2006)	4
Çizelge 3.1.	Fabrikadan temin edilen zeytin karasularına verilen kodlar.....	9
Çizelge 3.2.	Zeytin karasularında yapılan zenginleştirme (glikoz,pepton ile ortam kodları)	10
Çizelge 3.3.	Çalışmada kullanılan besiyerleri	10
Çizelge 3.4.	Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	10
Çizelge 3.5.	Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar.....	11
Çizelge 3.6.	Mikroorganizmaların gelişiminde kullanılan besi ortamları	11
Çizelge 4.1.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda pH değerindeki değişimler	17
Çizelge 4.2.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda toplam Azot miktarındaki değişimler	18
Çizelge 4.3.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda Kuru Madde miktarındaki değişimler.....	20
Çizelge 4.4.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda Kül miktarındaki değişimler.....	22
Çizelge 4.5.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda Yağ miktarındaki değişimler.....	23
Çizelge 4.6.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda Kuru Madde miktarındaki değişimler.....	25
Çizelge 4.7.	<i>Bacillus subtilis</i> 'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda Gelişim Miktarlarındaki değişimler	29

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Santigrat Derece
g	: Gram
m	: Kütle (Kilogram)
L	: Litre

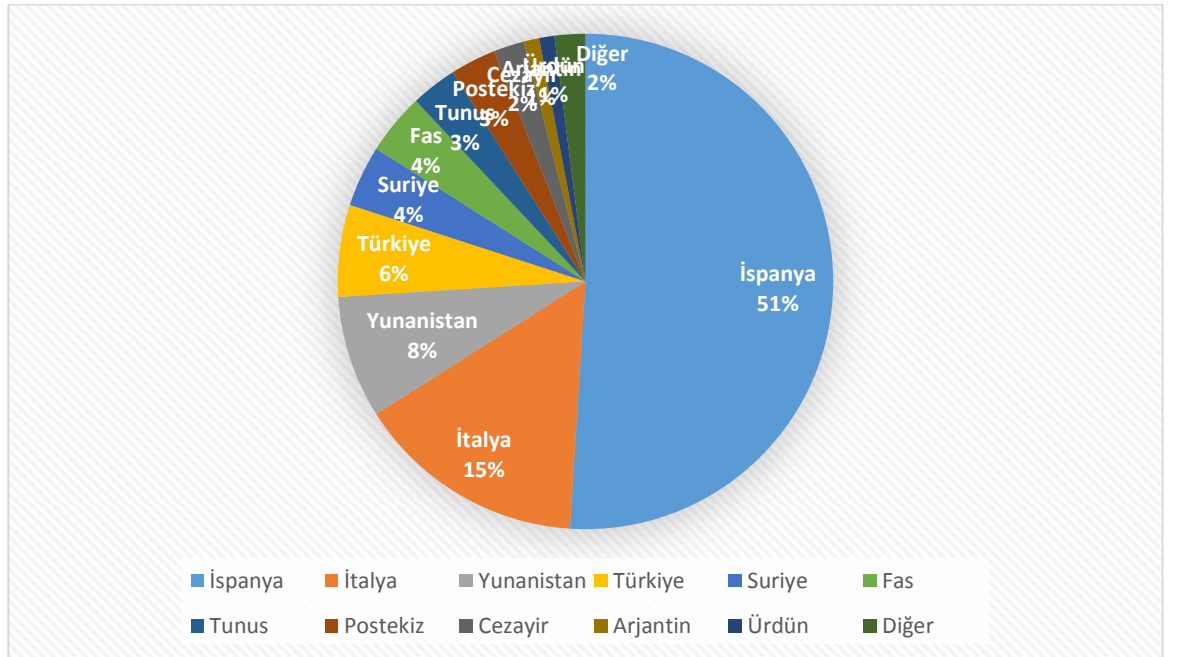
KISALTMALAR

OMW	:Olive Mill Wastewater
ZKS	:Zeytin Kara suyu
NB	:Nutrient Broth
KOİ	:Kimyasal Oksijen İhtiyacı
LOG	:Logaritmik

1. GİRİŞ

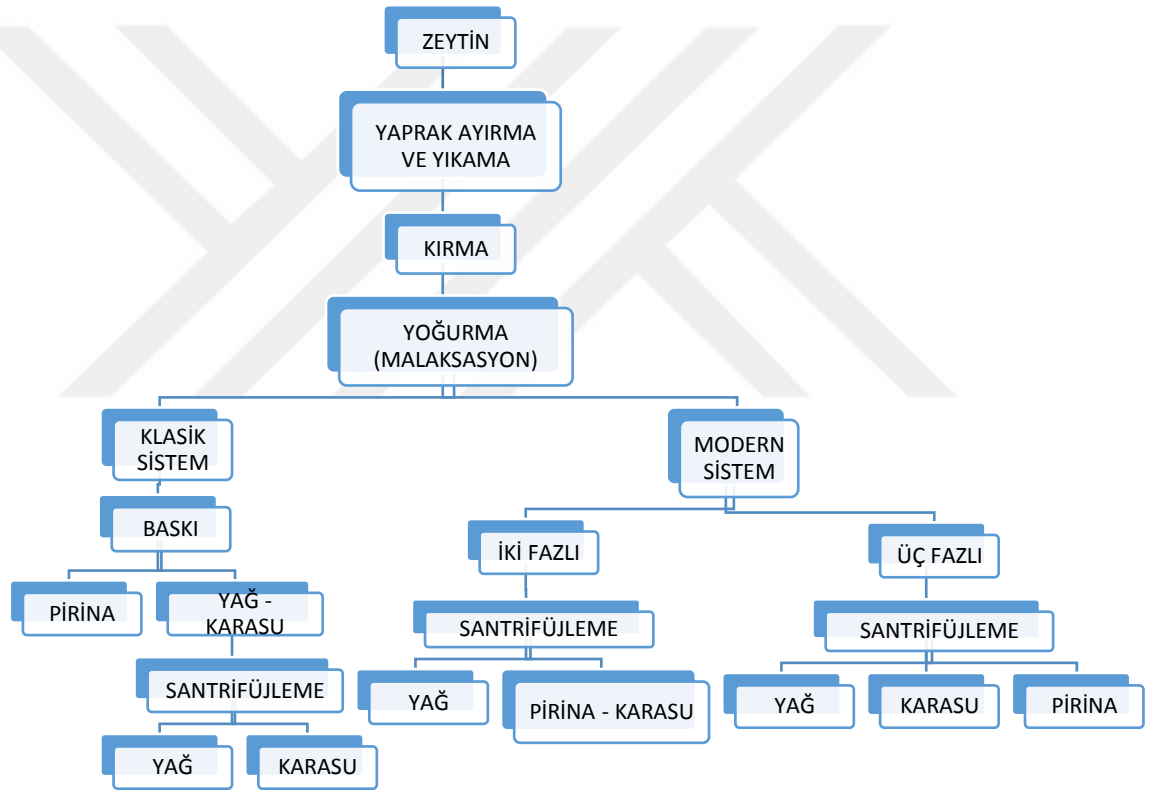
Zeytin, Akdeniz ülkelerinde çok eski çağlardan beri süregelen önemli ve geleneksel bir üründür ve ülkelerinin ekonomisinde önemli bir yer tutmaktadır (Erses Yay ve ark., 2012). Dünya zeytin yetiştiriciliğinin %90'lık büyük bir kısmı Akdeniz ülkelerinde yapılmaktadır. Zeytin üretimi yapan ülkeler sırasıyla, İspanya, İtalya, Yunanistan, Tunus, Suriye ve Türkiye'dir. Bunun yanı sıra son yıllarda Avustralya, Japonya ve Arjantin gibi ülkelere de zeytin üretimine başlanılmıştır. Türkiye, dünya zeytin üretiminde altıncı sırada yer alan önemli zeytin üreticisi ülkelerden birisidir (Yay ve ark., 2012). Ülkemizde yaklaşık 95 milyon zeytin ağacı bulunmaktadır. Türkiye'de Ege, Marmara, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Karadeniz Bölgelerinde zeytin yetiştiriciliği yapılmaktadır (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş, 2011).

Zeytin bitkisinin en önemli ürünü zeytinyağıdır. Dünyada üretilen zeytinyağının % 97'si Akdeniz ülkeleri üretmektedir (Avcı 2016). Ülkemizde de üretilen zeytinlerin %65-70'i zeytinyağına işlenerek tüketilmektedir (Tunalıoğlu ve Armağan. 2008). Dünyada üretilen toplam zeytinyağının yaklaşık %25'i Türkiye'de elde edilmektedir (Ergüder ve ark., 2000; Erses Yay ve ark.. 2012).



Şekil 1.1. Ülkelere göre zeytinyağı üretimi (2013) T.C.Çevre ve Şehircilik Bakanlığı (Zeytin Sektörünün Atıklarının Yönetimi)

Zeytinyağ üretimi esnasında yan ürün olarak açığa çıkan atık su çeşitli çevre problemlerine neden olmaktadır. Üretim esnasında açığa çıkan atık su “zeytin kara suyu” olarak adlandırılmaktadır (Hazırbulan 2006). Zeytin kara suyu, zeytin meyvelerinden zeytinyağı elde edilirken, ılık suyla yağın sürüklenmesi ve baskı sırasında kullanılan suyun havada okside olarak kararmasıyla oluşan bir üründür, (Erdem ve ark., 2015). Zeytinyağı üretim akım şeması ve kara suyun oluşumu Şekil 1.2.’de verilmiştir. Genel olarak 1 ton zeytin için 1 ton atık su oluşmaktadır (Beccari ve ark. 1999).



Şekil 1.2. Zeytinyağı üretim akım şeması (Erdem ve ark., 2015)

Zeytin kara suyu yüksek oranda organik madde içermektedir. Bu nedenle doğrudan toprağa yada doğal sulara aktarılması sonucu birçok olumsuzluk ortaya çıkmaktadır. Zeytin kara suyunun çevreye zarar vermeden kullanılması için 5000 kat oranda seyreltilmesi gerekmektedir. Toprağa atık olarak verilen zeytin kara suyu.

toprağın gözeneklilik ve pH gibi özelliklerini etkilemektedir. Ayrıca, fitotoksik etki göstererek tohum gelişimini engellemektedir. Bunun yanı sıra, fermentasyon sonucu metan ve diğer gazların oluşumuna neden olmaktadır (McNamara ve ark., 2008). Doğal sulara zeytin kara suyunun aktarılması sonucunda da benzer birçok olumsuzluklar söz konusudur. Zeytin kara suyu, doğal suların oksijen miktarını azaltmakta, bileşimindeki yağ içeriğinden dolayı su yüzeyinde film tabakası oluşturarak suda bulunan yararlı mikroorganizmaların gelişimini engellemekte, ayrıca alg gelişiminin artmasına neden olarak ekosistem dengesini bozmaktadır. Bunların yanı sıra zeytin kara suyu doğal sularda renk değişimlerine neden olmakta ve fitotoksik etkisi nedeni ile canlı yaşamını olumsuz etkilemektedir (Rozzi ve Malpei, 1996; Durucan ve Gördük, 2002; Tunalıoğlu ve Bektaş, 2010; Avcı, 2016).

Zeytin kara suyunun çevreye verdiği birçok olumsuz etki nedenleriyle, arıtma ile ilgili birçok araştırma yapılmaktadır. Bu yöntemler arasında fizikokimyasal, kimyasal, elektrokimyasal ve biyolojik arıtma teknikleri araştırılmaktadır (Tunalıoğlu ve Bektaş, 2010; Avcı, 2016; Gültepe, 2016). Zeytin kara suyu aynı zamanda, potasyum, fosfor, antioksidanlar, şeker, azotlu bileşikler, uçucu asitler, polialkoller, pektin, yağ, polifenoller, tanenler, iz elementler (sodyum, magnezyum, demir vs.) gibi birçok değerli bileşenlere sahiptir ve bu nedenle zeytin kara suyunun değerlendirilmemesi ekonomik bir kayıptır (Oruç, 2006). Zeytin kara suyunun kimyasal bileşimi Çizelge 1.1.'de verilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, zeytin kara suyunun gıda olarak, enzim üretiminde, yağ asitleri eldesinde, kozmetikte, antioksidan madde üretiminde, ilaç sanayiinde kullanımı ile ilgili birçok alanda kullanımı araştırılmaktadır (Tunalıoğlu ve Bektaş, 2010; Avcı, 2016; Gültepe, 2016).

Dünyada son yıllarda. zeytinyağı üretiminin artmasına paralel olarak, ortaya çıkan zeytin kara suyunun miktarı da artmaktadır. Zeytin kara suyunun arıtılması ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmakta ancak ekonomik ve başarı ile uygulanan yöntemler tam olarak geliştirilmemiştir (Kılıç, 2011).

Çeşitli mikroorganizmaların, zeytin kara suyunun ekonomik olarak değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalarda kullanımıyla ilgili kısıtlı sayıda araştırmalarda (biyogaz üretimi. polimer üretimi) incelenmiştir (Hodaifa ve ark., 2013; Kourmentza ve ark., 2015; Maragkaki, 2017).

Çizelge 1.1. Zeytin kara suyunun kimyasal bileşimi (Oruç. 2006)

Özellik	Değer
pH	4.9
Şeker	%3.94
Azot	504ppm
Fosfor	153ppm
Mangan	2.7ppm
Çinko	0.9ppm
Sodyum	67.4ppm
Bakır	0.3ppm
Demir	1837ppm
Sodyum	67.4ppm

Bacillus subtilis, *Bacillaceae* familyasına ait çubuk şeklinde bir bakteridir. *B. subtilis*. Gram (+), çoğu türü hareketli. endospor oluşturan. aerob veya fakültatif anaerob. çoğu türü katalaz pozitifdir (Ünlütürk ve ark., 1998). Peritrik flagellalı ve flagellaları hareketlidir. Aerobik ve fakültatif anaerobtur. Endospor oluşturlar. Vejetatif hücreleri 0.5x1.2µm ile 2.5x10µm boyutlarındadır. Tek tek veya uzun zincirler halinde bulunmaktadır (Ustaçelebi. 1999). Genellikle beyaz veya krem renkli kolonilere sahiptir. Bazı türlerinde sarı, pembe, portakal rengi ve siyah renklerde pigmentli koloniler de bulunmaktadır. *Bacillus* sp.'lerin termofilik, mezofilik ve psikrofilik türleri bulunur. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Genellikle 35-37°C'de ve pH 7 civarında gelişirler. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren, nitrojen kaynağı olarak da amonyum içeren besiyerlerinde çok iyi gelişirler. Gelişimlerinde yaygın olarak kullanılan besiyerleri, Nutrient Agar, Trypticase Soy Agar, Brain Heart Infusion ve Kanlı Agar'dır (Taubman, 1992). *Bacillus* sp.'ler, doğada yaygın olarak toprakta gelişmekte. ayrıca süt ve süt ürünleri, hava, su ve çeşitli gıdalarda bulunmaktadır (Ünlütürk ve ark., 1998). *Bacillus* sp.'ler, polisakkarit, nükleik asit ve lipid gibi çeşitli bileşikler parçalamaya yarayan ve hücre dışına salgılanan hidrolitik enzimler üretebilmektedirler. *Bacillus* sp.'lerin, antibiyotik, enzim ve toksin gibi ürettikleri çeşitli metabolitleri endüstriyel önemi bulunmaktadır. Ayrıca. hızlı ve kolaylıkla çeşitli ortamlarda gelişmeleri nedeniyle de endüstride tercih edilmektedirler (Rosovitz ve ark.. 1998).

Türkiye zeytin üretiminin % 9,5'u Hatay ilinde gerçekleşmektedir. Bölgede yaklaşık 100'e yakın zeytinyağı üreten işletme bulunmaktadır (Anon, 2013). Hatay iline

ait 2016-2017 sezonunda toplam zeytin ağaç sayısının, 12.500 ton zeytinyağı elde edileceği tahmin edilmiştir (Anon, 2017).

Ülkemizde zeytinyağı üretiminde açığa çıkan zeytin karasularında olduğu gibi Hatay bölgesinde de üretim esnasında açığa çıkan zeytin kara suyu atık niteliğindedir ve çeşitli çevre sorunlarının oluşmasına kaynak teşkil etmektedir. Zeytin kara suyu, atık olarak kullanıldığında çeşitli sorunlara neden olmasının yanı sıra, bileşiminde değerli organik bileşiklerin bulunması nedeniyle ekonomik anlamda değerlendirilebilecek bir üründür. Ancak, günümüze kadar henüz ticari olarak kullanılmamıştır.

Çeşitli gıda sanayi atıkları, tek hücre proteini, hücre kütlesi elde edilmesinde ya da çeşitli mikrobiyal metabolitlerin üretilmesinde besi ortamı olarak kullanılabilir (Öcal, 1977). Bu çalışmada da, metabolizmal faaliyetlerinin çeşitliliği nedeniyle yağları ve proteinleri parçalama yetenekleri çok yüksek olan ve farklı bozulmuş ve çürümüş ortamlarda kolaylıkla üreyebilen *Bacillus subtilis*'in gelişim ortamı olarak, zeytin kara suyunda gelişimi araştırılmıştır. Böylece, *Bacillus* sp.'yi kullanarak antibiyotik, enzim ve toksin gibi çeşitli metabolitler üreten endüstrilerde, zeytin kara suyunun besi ortamı olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zeytin kara suyunun mikroorganizma hücre gelişimde (biyokütle elde edilesi) yada mikroorganizma metabolitlerinin üretiminde besi ortamı olarak kullanıldığı çalışmalar kısıtlı sayıda belirlenmiştir. Bu konudaki araştırmalar aşağıda verilmiştir.

Yeşilada ve ark., (1997), yaptıkları çalışmalarında zeytinyağı fabrikası atıksuyunda, *Coriolus versicolor*, *Funaria troglia*, *Phanerochaete chrysosporium* ME446, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Lentinus tigrinus*, *Laetiporus sulphureus* funguslarının gelişimi sonucu yüksek kimyasal oksijen istemi (KOİ), fenol ve renk giderimi elde edildiğini ayrıca yüksek biyokütle verimi ve lakkaz enzimi aktivitelerini de ayrıca saptadıklarını belirtmişlerdir.

Jua'rez ve ark., (2007), yaptıkları çalışmalarında atık su zeytinyağı mevcut bileşiklerin, *Azotobakter chroococcum*'un metabolik gelişiminde kullanılabilirliğinin araştırıldığını bildirmişlerdir.

Jua'rez ve ark., (2008), zeytin kara suyunun *Azotobakter chroococcum* ile arıtımını incelediklerini açıklamışlardır.

Hodaifa ve ark., (2012), yaptıkları çalışmalarında zeytin kara suyu ve kentsel atık suyun besi ortamı olarak incelendiklerini belirtmişlerdir. Araştırma sonucunda, maksimum özgül büyüme oranının değerleri zeytin kara suyu ile saptadıklarını açıklamışlardır.

Hodaifa ve ark., (2012), yaptıkları çalışmalarında atık suyun biyolojik olarak parçalanmasında mikroalglerin biyokütle oluşumunu incelenmişlerdir. %0, %1, %2.5, %5, %10 zeytin kara suyu içeren besiyerinde *Scenedesmus obliquus* gelişimini araştırdıkları çalışmada, en yüksek büyüme oranına %5 zeytin kara suyu konsantrasyonunda elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Daâssi ve ark., (2014), yaptıkları çalışmalarında zeytin kara suyunun biyoarıtımında *Coriolopsis gallica*'yı araştırmışlardır. *C. gallica*'nın zeytin kara suyunda fenolik maddeleri karbon ve azot kaynağını kullanarak geliştirdiği ve defenolizasyon işleminin başarılı olduğunu belirtmişlerdir.

Bellou ve ark., (2014), katı besi ortamında %50'ye kadar zeytin kara suyu kullanımı, *Mortierella isabellina*, *Mortierella ramanniana*, *Cunninghamella echinulata*, *Mucor sp.*, *Thamnidium elegans* ve *Zygorhynchus moelleri* gelişimi

üzerinde olumsuz etki oluşturmadiğini belirtmişlerdir. *T. elegans* ve *Z. moelleri*'nin zeytin kara suyunda gelişerek 4.4 ve 3.5 g/L hücre kütlesi oluşturduğunu ve lipid üretme kapasitesini artırdığını belirlediklerini açıklamışlardır.

Silva, (2014), zeytin atık suyunun biyolojik olarak arıtımında *Chlorella vulgaris*'i araştırdığını ve araştırma sonunda *C. vulgaris*'in zeytin kara suyunun toksitesini azalttığını ve fenolik maddelerin ayırımında verimi artırdığını saptadıklarını açıklamıştır.

Kourmentz ve ark., (2015), yaptıkları çalışmalarında izole edilen *Pseudomonas* sp. ve çeşitli bakterilerin polihidroksialkanoatları (PHA) üretme kapasite verim ve oranları üzerinde. sentetik besiyerinde ve Zeytin kara suyu kullanılan besi ortamının etkisini araştırdıklarını belirtmişlerdir. Araştırma sonucunda Zeytin kara suyu kullanılan besi ortamında. *Pseudomonas* sp. ve çeşitli bakterilerin polihidroksialkanoatları (PHA) üretme kapasitelerinin yavaşlatmasına rağmen bazı suşlarda polihidroksialkanoatları (PHA) üretimini olumlu yönde etkilendiğini belirlediklerini açıklamışlardır.

Caprio ve ark.. (2015), yaptıkları çalışmalarında *Scenedesmus* sp.'nin zeytin kara suyunda gelişimi, biyo kütle oluşumu, ürettiği çeşitli metabolitler çeşitli analizlerin incelendiğini bildirmişlerdir.

Mann ve ark., (2015), zeytin kara suyunda *Cerrena consors*'un lakkaz enzimi üretimini araştırmışlar ve zeytin kara suyunun *Cerrena consors*'dan lakkaz üretimi için etkin olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Salgado ve ark., (2016), yaptıkları çalışmalarında, *Aspergillus ibericus*, *Aspergillus uvarum* ve *Aspergillus niger*'in zeytin atık sularının arıtımında ve çeşitli enzimlerin üretiminde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Dourou ve ark., (2016), çalışmalarında düşük maliyetli karbon kaynakları ile zenginleştirilmiş zeytin kara suyunu besi ortamı olarak kullandıklarını bildirmişlerdir. Bu besi ortamında geliştirilen *Lipomyces starkeyi* NRRL Y- 11557, *Yarrowia lipolytica*, *Candida tropicalis* LFMB, *Saccharomyces cerevisiae* MAK kültürlerini kullanarak, lipid, sitrik asit, mannitol ve etanol üretimi gerçekleştirdiklerini açıklamışlardır.

Maragkaki ve ark., (2017), yaptıkları çalışmalarında %3, %5 ve %7 oranlarında zeytin kara suyunun biyogaz üretimine etkisini inceledikleri çalışmada, %5 oranında zeytin kara suyu kullanımının biyogaz üretimini 1.2-2.7 kat arttırdığını belirlediklerini açıklamışlardır.

Meneses ve ark., (2017), zeytin kara suyunu besiyerinde kullandıkları çalışmada, *Aureobasidium thailandense* LB01 tarafından biyosüpfektan üretimini gerçekleştirdiklerini açıklamışlardır.

Zerva ve ark., (2017), *Pleurotus citrinopileatus* LGAM 28684 ve *Irpex lacteus* LGAM 238 kültürlerinin zeytin kara suyunda gelişimini araştırdıkları çalışmada, bu kültürlerden enzim glukan sentezlenmesinde zeytin kara suyunun besi ortamı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Justino ve ark., (2009), zeytin kara suyunda photo-Fenton oksidasyon işleminden sonra fungal kültürlerin (*P. sajor caju*, *P. chrysosporium*, *T. versicolor*) kullanımı ile yüksek oranda arıtımın gerçekleştiğini belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada *Bacillus subtilis*'in, üç farklı fabrikadan temin edilen ve bileşimi zenginleştirilen (glikoz, pepton) zeytin kara suyunda gelişim incelenmiştir.



Şekil 3.1. Zeytinyağı atık ürünü zeytin kara suyunun fotoğrafı

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünden temin edilmiştir. Zeytin karasuları ise Hatay ili Hassa ilçesindeki zeytinyağı üretimi yapan üç farklı fabrikadan elde edilmiştir. Fabrikadan temin edilen zeytin karasularına verilen kodlar Çizelge 3.1.'de ve yapılan zenginleştirme (glikoz, pepton ile) ortam kodları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Fabrikadan temin edilen zeytin karasularına verilen kodlar

Fabrika no	Kodlama
1	Örnek A
2	Örnek B
3	Örnek C

Çizelge 3.2. Zeytin karasularında yapılan zenginleştirme (glikoz. pepton ile) ortam kodları

Besi ortamı	Bileşimi
K	Karasu
K + P	Karasu + %0.5 Pepton
K + G	Karasu + %1 Glikoz
K + P +G	Karasu + 0.5 Pepton + %1 Glikoz
NB (Kontrol)	Nutrient Broth

3.1.1. Besiyerleri

Bu çalışmada kullanılan besiyerleri Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Besiyeri	Marka
Nutrient Broth	Merck 1.05443.0500
Nutrient Agar	Merck 1.05450.0500
Pepton	Merck 1.07214.9999
Glikoz	Merck 1.08342.1000

3.1.2. Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Maddeler	Marka
Kjeldahl Tablet	Gerhardt Code: AA16
Sodium hydroxide	Merck 1.06469.5000
Boric acid	Merck 1.00165.1000
Ethanol	Merck 1.00983.2500
n-Hexane	Merck 1.04368.2500
Phenol	Merck 1.00200.1000
Sulfuric acid	Merck 1.00713.2500

3.1.3. Alet ve Ekipmanlar

Araştırmada kullanılan alet ve ekipmanlar Çizelge 3.5.'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Araştırmada kullanılan alet ve ekipmanlar

Alet. Ekipman	Marka
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1201 (Japan)
Karıştırıcı	K MS2 minishaker 03.107100 (China)
pH Metre	Nel pH890 (Türkiye)
Etüv	Heraeus (Germany)
Otoklav	VEB (Germany)
Terazi	Scaltes (Germany)
Su Banyosu	Elektro-Mag (Türkiye)
İnkübatör	Chemap (Switzerland)

3.2. Yöntem

Zeytin karasuları. Hatay ilinin Hassa ilçesindeki üç farklı zeytinyağı üretim tesisinden temin edilmiş ve analizlerin yapılana kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Zeytin karasuları analize alınmadan önce kaba filtre kağıdı ile süzölmüştür. Zeytin karasuları. %1 glikoz ve %0.5 pepton ilave edilerek zenginleştirilmiştir (Çizelge 3.6). Zeytin kara suyunda ve hazırlanan zeytin karasularını içeren besi ortamları. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilerek pH değerleri, protein, yağ, kül ve kuru madde değerleri incelenmiştir.

Çizelge 3.6. Mikroorganizmaların gelişiminde kullanılan besi ortamları

Mikroorganizma	Kontrol Besiyeri	Zeytin Kara suyu İçeren Besi Ortamları			
<i>Bacillus subtilis</i>	Nutrient Broth	Karasu	Karasu+ %0.5pepton	Karasu+ %1 glikoz	Karasu+ %1 glikoz +0.5pepton

3.2.1. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında pH Değerlerinin Belirlenmesi

Zeytin kara suyu örneklerinin pH değeri pH metre (Nel pH890) ile belirlenmiştir. Ölçümler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır (Halkman A. K., 2005).

3.2.2. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Azot Miktarının Belirlenmesi

Karasu örneklerinde toplam azot miktarının belirlenmesi Kjeldahl yöntemi ile yapılmıştır. Bu yöntemde, organik bileşikler halindeki azotun derişik H_2SO_4 ile yaş yakılmaksı ile amonyum azotu haline dönüştürülmesi ve amonyum haline dönüştürülen azotun daha sonra kuvvetli alkali ortamda damıtılması ve sonra açığa çıkan amonyağın bir asit içerisinde tutularak titre edilmesi yöntemi esas alınmaktadır. 10 ml numune alınarak kjeldahl balonuna yerleştirilmiştir. Parçalama reaktifi, 134 g K_2SO_4 ve 7.3 g $CuSO_4$ 800 ml suda çözülmüştür ve 134 ml derişik sülfirik asit ekleyip bir litreye tamamlanarak hazırlanmıştır. 50 ml parçalama reaktifi numunenin üzerine eklenmiş ve sonra birkaç adet cam boncuk kjeldahl balonuna yerleştirildikten sonra, kjeldahl balonu parçalama cihazına konulmuş ve işlem başlatılmıştır. Yaklaşık 5 ml numune kalıncaya kadar işleme devam edilmiş ve ardından numune 300ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra 50 ml nötralizasyon ayırıcı (50g NaOH ve 25g $Na_2S_2O_3$, 1 L) çözeltisi eklenmiştir. Cam balon distilasyon cihazına yerleştirilmiş ve ayrı bir erlene 50 ml borik asit konulmuş ve distilasyon cihazına yerleştirilir. Distilasyon işlemi başlatılıp, erlende 250-300 ml arası numune toplanana kadar distilasyona devam edilmiştir. Oluşan distilat 0.02 N standart sülfirik asit çözeltisi ile soluk lavanta rengine dönünceye kadar titre edilmiştir (Nielsen, 1998; Tercan, 2009).

$$mg\ N/L = [(A-B) \times N \times 1000 \times 14 + / V (mL)$$

A = Numune için titrasyonda harcanan H_2SO_4 titrasyon çözeltisi hacmi, ml

B = Şahit için titrasyonda harcanan H_2SO_4 titrasyon çözeltisi hacmi, ml

N = H_2SO_4 titrasyon çözeltisinin normalitesi

3.2.3. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Toplam Yağ Miktarının Belirlenmesi

Besi oramların yağ içeriği. standart yağ ve gres tayini metodu 5520 B ile belirlendi. Bu analiz metodu su-atık sularda yağ ve gres miktarı tayininde uygulanan kimyasal analiz metodunu içermektedir. Numune içerisinde çözülmüş ya da emülsiyon halindeki yağ ve gresin, ayırıcı çözücülerle teması ile sudan ayrılması esasına dayanmaktadır. Çözülmüş ya da dağılmış haldeki yağ ve gres, sudan n-hekzan yardımı ile ayrılmaktadır. 2 ml numune cam huni kullanılarak ayırma hunisine alınmıştır. 3 ml n-hekzan (Merck) ilave edildi ve 2 dakika kuvvetlice çalkalandı. Faz ayrımı için bekletildi ve içerisinde az miktarda organik tabaka bulunan sulu kısım orijinal numune kabına geri alındı. Ekstraksiyon iki kez 3 ml çözücü ilavesi ile yapıldı. Cam balona aktarılan çözücü faz, hazırlanan distilasyon düzeneğinin 85°C sıcaklıktaki su banyosuna yerleştirildi. Geri kazanılan çözücü soğuk su banyosundaki erlen içerisinde biriktirildi. En az 30 dakika desikatörde bekletilerek soğutuldu ve içerisinde yağ-gres bulunan balondan mikropipetle alınarak etüvde 1.5 saat 105°C sıcaklıkta kurutularak sabit ağırlığa getirilen. darası alınarak soğutulan kurutma kablarna (M1) konulmuş ve tartılmıştır (M2). Örnekler tekrardan etüvde 1.5 saat 105°C sıcaklıkta kurutularak sabit ağırlığa (M3) ulaşana kadar bekletilmiştir ve desikatöre alınarak tartımı yapılmıştır (Nielsen, 1998).

Numunenin yağ ve gres içeriği aşağıdaki eşitlikle hesaplandı:

$$\% \text{ Yağ} = ((M3 - M1)/(M2 - M1)) \times 100$$

3.2.4. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Kül Miktarının Belirlenmesi

Minerallerin çoğu gıdalarda organik maddelere (protein, yağ, karbonhidrat vb.) bağlı olarak bulunur. Mineral bileşikler ise yakma koşullarına ve yakılan gıdanın bileşimine göre oksitler, sülfatlar, fosfatlar, silikatlar veya kloridler olarak kalıntıda kalmaktadır. Külde, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum fazla miktarda bulunurken demir, bakır, çinko, mangan, alüminyum, iyod, arsenik, fluor ve diğer iz elementler az miktarda bulunmaktadır. Numunenin, bütün organik maddelerinin yanmasını sağlayan koşullar altında (550°C), sabit ağırlığa ulaşma ilkesine

dayanmaktadır. Öncelikle, krozeler 550°C’de kül fırınında kurutulmuş ve ardından desikatörde soğutularak tartımları alınmıştır (M1). Ardından 2 gr örnek, tartımı yapılmış krooze içerisine konularak tartımı yapılmıştır (M2). Daha sonra örnekler beyaz kül oluşuncaya kadar, kül fırınında 550°C’de yakılmıştır. Kül fırınından alınan krozeler, desikatöre yerleştirilerek soğuması için bekletilmiş ardından tartımı yapılmıştır (M3) (Nielsen, 1998).

$$\% \text{ Kül} = ((M3 - M1)/(M2 - M1)) \times 100$$

3.2.5. Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi

Örneklerdeki suyun buharlaştırılarak uzaklaştırılmasından sonra geri kalanların tartılması esasına dayanmaktadır. Su uzaklaştırıldıktan sonra geri kalan kuru madde, genellikle toplam kuru madde olarak adlandırılmaktadır. Kurutma kabları 105°C’de kurutularak desikatörde alınmış ve oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiştir. Soğutulan kurutma kablarının darası alınmıştır (M1). Ardından hazırlanan örneklerden kurutma kabına 2 g örnek tartılmıştır (M2). Örnekler tekrardan etüvde 1.5 saat 105°C sıcaklıkta kurutularak sabit ağırlığa (M3) ulaşana kadar bekletilmiştir ve tartımı yapılmıştır (Nielsen, 1998).

$$\% \text{ Kuru Madde} = ((M3 - M1)/(M2 - M1)) \times 100$$

3.2.6. *Bacillus subtilis*’in Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Gelişimi ve Biyokütle Oluşumu

Bacillus subtilis’in üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularında gelişimini incelemek ve gelişim eğrisini oluşturmak 12 saat süresince spektrofotometrik ölçümle belirlenmiştir. Ayrıca örneklerde kültürel sayım yöntemi gerçekleştirilmiştir.

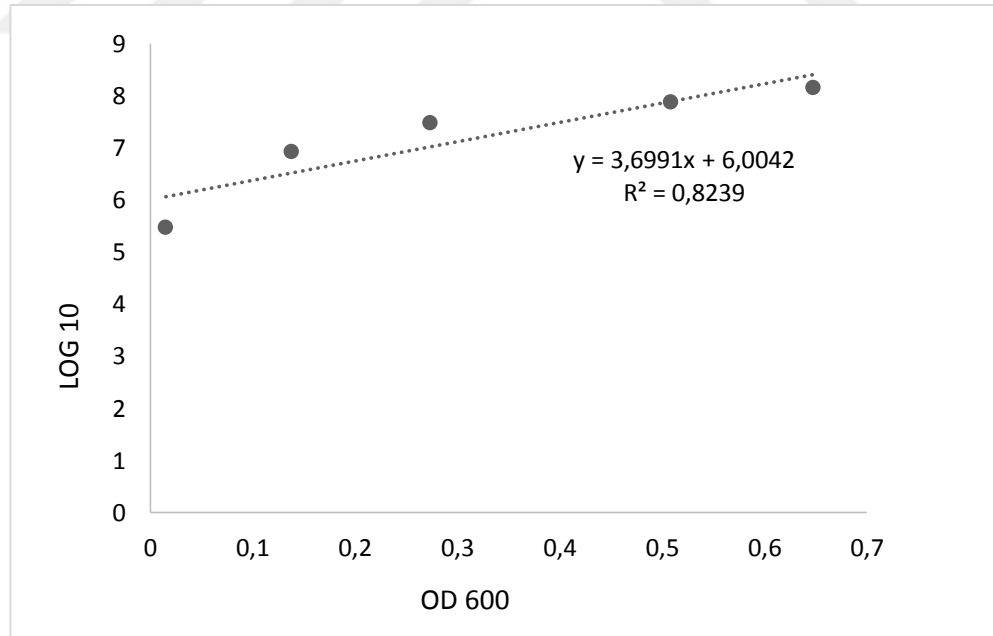
Bunun yanı sıra, hazırlanan zeytin karasularını içeren besi ortamlarında *Bacillus subtilis*’in biyokütle oluşumunda spektrofotometrik yöntemle saptanmıştır.

3.2.6.1. *Bacillus subtilis*’in Zeytin Karasularında Gelişimi Eğrisinin Belirlenmesi

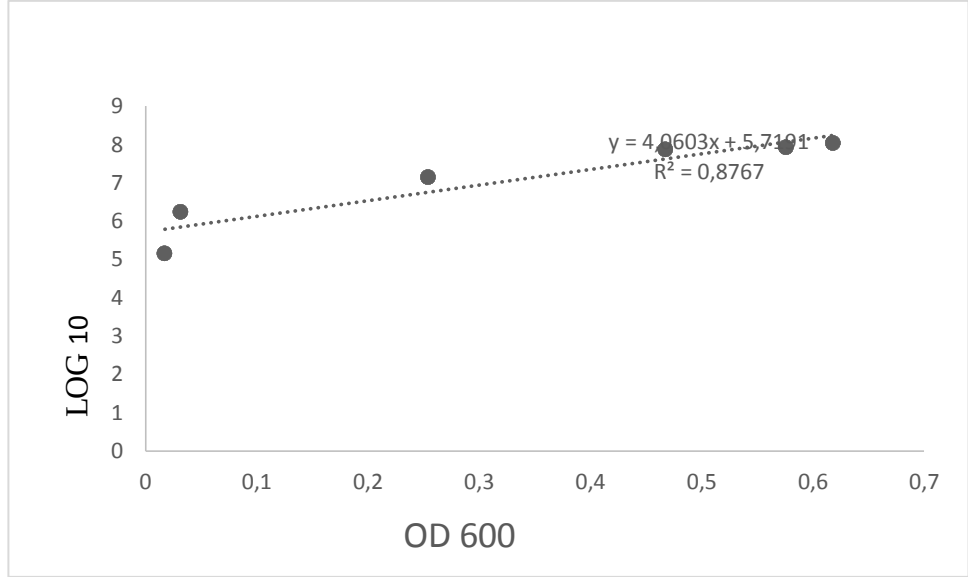
Bacillus subtilis'in üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularında gelişimini incelemek ve gelişim eğrisini oluşturmak amacıyla, inokülasyon yapılan örnekler inkübasyona bırakılmış ve bir saat aralıklarla spektrofotometrede 600nm'de ölçüm yapılmıştır (Ramasamy ve ark., 2015). Ayrıca bir saat aralıklarla alınan örneklerde kültürel sayım yöntemi gerçekleştirilmiştir. Kültürel sayım yönteminde besi ortamı olarak Nutrient Agar (Merck) kullanılarak, 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve gelişen kolonilerin sayımı yapılmıştır.

3.2.6.2. *Bacillus subtilis*'in Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Biyokütle Oluşumu

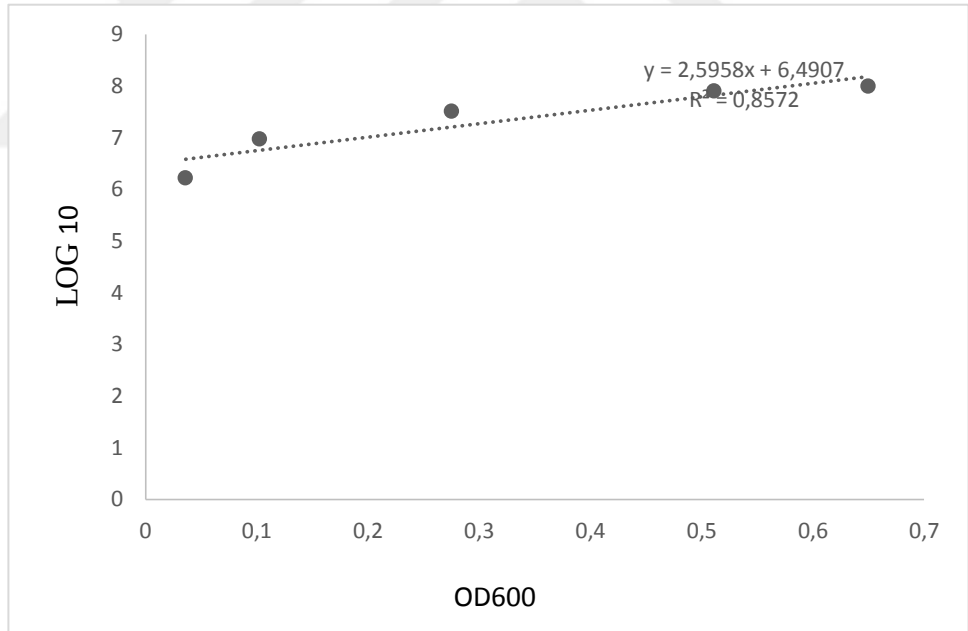
Bacillus subtilis., hazırlanan zeytin karasularını içeren besi ortamlarında (karasu, karasu+%0.5 pepton, karasu+%1 glikoz, karasu+%1 glikoz +0.5pepton) gelişerek biyokütle oluşumu spektrofotometrede 600nm'de saptanmıştır. Kontrol grubu olarak *Bacillus subtilis*'in Nutrient Broth'da gelişimi değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. *Bacillus subtilis*'in zeytin kara suyunda (Örnek A) kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.3. *Bacillus subtilis*'in zeytin kara suyunda (Örnek B) kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.4. *Bacillus subtilis*'in zeytin kara suyunda (Örnek C) kalibrasyon eğrisi

3.3.İstatistiksel Analizler

Sonuçların değerlendirilmesinde SPSS program kullanılarak varyans analizi yapılmıştır ve farklı gruplar Duncan testi ile değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bacillus subtilis'in, üç farklı fabrikadan temin edilen ve bileşimi zenginleştirilen (glikoz, pepton) zeytin kara suyunda gelişimi sonucu kimyasal bileşimdeki değişimleri ve biyokütle oluşum sonuçları incelenmiştir.

4.1. Zeytin Karasularında Kimyasal Analiz Sonuçları

Hatay ilinden temin edilen zeytin karasularının kimyasal bileşimi Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularının kimyasal bileşimi

Kimyasal Bileşim	Fabrika A	Fabrika B	Fabrika C
pH	5.44	5.45	5.39
Toplam Azot	0.09	0.06	0.07
Toplam Yağ	1.14	1.01	1.12
Kül	0.46	1.05	1.10
Kuru Madde	0.10	6.49	7.32

Araştırma sonuçlarına göre üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularının pH değerleri 5.39 ile 5.45 arasında saptanmıştır. Örneklerde toplam azot değeri 0.06 mg N/L ile 0.09 mg N/L arasında belirlenmiştir. Zeytin kara suyu örneklerinde yağ miktarı %1.01-%1.14 arasında bulunmuştur. Örneklerde kül miktarı ise, %0.46 ile %1.10 arasında saptanmış ve kuru madde oranları %0.10 ile %7.32 arasında belirlenmiştir.

4.1.1. *Bacillus subtilis* ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında pH Değerleri Sonuçları

Besi ortamı olarak hazırlanan zeytin karasularını, *Bacillus subtilis* ile inoküle edilerek, örneklerin inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonunda pH değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. *Bacillus subtilis*'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda pH değerindeki değişimleri

Karasu Örnekleri	Besi Ortamı	İnkübasyon Öncesi		İnkübasyon Sonrası	
		Ort.	Std sap.(±)	Ort.	Std sap.(±)
Örnek A	NB (Kontrol)	7.05	0.026	6.00	0.005
	K	5.44	0.005	5.36	0.005
	K + P	5.58	0.041	5.40	0.005
	K + G	5.40	0.010	5.38	0.011
	K + P +G	5.46	0.005	5.37	0.005
Örnek B	K	5.45	0.005	5.43	0.005
	K + P	5.61	0.011	5.48	0.005
	K + G	5.50	0.005	5.45	0.010
	K + P +G	5.55	0.005	5.57	0.005
Örnek C	K	5.39	0.010	5.35	0.011
	K + P	5.53	0.010	5.37	0.005
	K + G	5.41	0.0057	5.32	0.011
	K + P +G	5.50	0.0000	5.35	0.005

K: Karasu, K + P: Karasu + Pepton, K + G: Karasu + Glikoz, K + P +G : Karasu + Pepton + Glikoz, NB: Nutrient Broth

Çizelge 4.2.'de verildiği gibi zeytin karasularının inkübasyon öncesinde pH değerleri 5.39 ile 5.55 arasındadır. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında pH değerlerinin inkübasyon sonunda azaldığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında inkübasyon sonunda belirlenen pH değerleri 5.35 ile 5.57 arasındadır. Kontrol (NB) besi yerinde olduğu gibi bir pH değeri azalması saptanmamıştır. Bunun nedeni olarak zeytin kara suyu bileşimindeki tamponlayıcı bileşiklerin, pH değerindeki azalmayı önleyici olduğu söylenilebilir.

Çizelge 4.2.'deki analiz sonuçlarına göre, zeytin kara suyu örneklerinde, (NB) besi ortamı ile zeytin karasu örneklerinin (Örnek A, Örnek B, Örnek C) pH değeri arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek

A. Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının pH değerleri arasında istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Ancak kontrolün (NB) pH değeri ile zeytin karasularının pH değeri arasındaki farklılık önemli düzeyde ($P < 0.01$) belirlenmiştir. Ayrıca, farklı besi ortamlarında (K, K + P, K + G, K + P + G), pH değeri arasındaki farklılık önemsiz düzeydedir ($P > 0.05$). Ancak ortalamalar karşılaştırıldığında, (K) besi ortamı ile diğer besi ortamları (K + P, K + G, K + P + G) pH değeri arasında istatistiki olarak fark belirlenmiştir.

Ayrıca tüm besi ortamlarında inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası pH değeri arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P < 0.01$). Besi ortamlarında inkübasyondan sonra pH değerinin azaldığı saptanmıştır.

Yapılan çeşitli çalışma sonucunda zeytin kara suyu örneklerinde pH değerleri, Babadostu (2014), 4,8, Mohammed ve ark. (2005), 4,7, Azzam ve ark., (2004), 4,5, Aktaş ve ark., (2001), 4,5, Ahmadi ve ark., (2005), pH değerini 5,38 olarak bulmuşlardır. Eker (2015), yaptıkları çalışmalarda pH değeri 5.20-4.05 arasında bulmuştur. Birçok araştırmada zeytin kara suyu örneklerinde pH değeri 4,36 ile 6,0 arasında belirlemişlerdir (Borsan ve Ferrando 1996; Andreozzi ve ark., 1998; Vlyssides, 1998; Bubba ve ark., 2004; İnan ve ark., 2004; Kestioğlu ve ark., 2005; Dhouib ve ark., 2006; Keskin, 2007; Russo ve ark., 2007; Mert ve ark., 2008; Tercan, 2009; Kutluay, 2012; Kıpçak, 2013).

4.1.2. *Bacillus subtilis* ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında Toplam Azot Miktarı Sonuçları

Bacillus subtilis ile inoküle edilen zeytin kara suyu örneklerinin inkübasyon öncesi ve sonrasında toplam azot miktarı sonuçları Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3.'de verildiği gibi zeytin karasularının inkübasyon öncesinde toplam azot miktarı 0.06 mg N/L ile 0.22 mg N/L arasında bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında inkübasyon sonunda toplam azot miktarının azaldığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında inkübasyon sonunda belirlenen toplam azot miktarının 0.05 mg N/L ile 0.13 mg N/L arasında saptanmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında gelişimi esnasında çeşitli azotlu maddeleri kullanması nedeniyle, inkübasyon sonunda toplam azot miktarı azalmaktadır.

Çizelge 4.3. *Bacillus subtilis*'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda toplam azot değerindeki değişimler

Karasu Örnekleri	Besi Ortamı	İnkübasyon Öncesi		İnkübasyon Sonrası	
		(mg N/L)		(mg N/L)	
		Ort.	Std sap.(±)	Ort.	Std sap.(±)
Örnek A	NB (Kontrol)	0.12	0.003	0.08	0.006
	K	0.09	0.004	0.06	0.004
	K + P	0.24	0.006	0.13	0.003
	K + G	0.08	0.005	0.06	0.004
	K + P + G	0.21	0.004	0.10	0.003
Örnek B	K	0.06	0.002	0.07	0.005
	K + P	0.22	0.003	0.10	0.002
	K + G	0.10	0.003	0.05	0.003
	K + P + G	0.24	0.007	0.09	0.003
Örnek C	K	0.07	0.004	0.03	0.003
	K + P	0.17	0.005	0.09	0.002
	K + G	0.06	0.004	0.05	0.003
	K + P + G	0.22	0.005	0.11	0.006

K: Karasu, K + P: Karasu + Pepton, K + G: Karasu + Glikoz, K + P + G : Karasu + Pepton + Glikoz, NB: Nitruent Broth

Çizelge 4.3.'deki analiz sonuçlarına göre, zeytin kara suyu örneklerinde, Kontrol (NB) besi ortamı ile zeytin karasu örneklerinin (Örnek A, Örnek B, Örnek C) toplam azot miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek A. Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının toplam azot miktarının istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Ancak kontrolün (NB) oplam azot değeri ile zeytin karasularının toplam azot miktarı arasındaki farklılık önemli düzeyde ($P<0.01$) belirlenmiştir. Nutrient Broth besiyeri bileşimini oluşturan maddeler bu farklılığın oluşmasında etkilidir. Ayrıca besi ortamlarında (K, K + P, K +

G, K + P +G), toplam azot miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ortalamalar karşılaştırıldığında, bileşiminde pepton içeren (K + P) ve (K + P +G) besi ortamlarının toplam azot miktarı, diğer besi ortamları (K) ve (K + G) ile istatistiki olarak farklı belirlenmiştir.

Ayrıca tüm besi ortamlarında inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası toplam azot miktarı farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Besi ortamlarında inkübasyondan sonra toplam azot miktarı azaldığı saptanmıştır.

Yapılan çeşitli çalışma sonucunda zeytin kara suyu örneklerinde toplam N miktarı, Babadostu (2014), 0,623 g/L, Mohammed ve ark. (2005), 0,59 g/L, Ahmadi ve ark., (2005), 0,08 g/L olarak bulunmuştur. Eker (2015), yaptıkları çalışmalarda toplam N miktarı 767 mg/L-219 mg/L arasında bulmuştur. Birçok araştırmada zeytin kara suyu örneklerinde toplam N miktarı 0,32g/L ile 121,8 g/L arasında belirlemişlerdir (Andreozzi ve ark., 1998; Mert ve ark., 2008; Kestioğlu ve ark., 2005; Dhouib ve ark., 2006; Kutluay, 2012 Tercan, 2009).

4.1.3. *Bacillus subtilis* ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında Toplam Yağ Miktarı Sonuçları

Çizelge 4.4.'de *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen zeytin kara suyu örneklerinin inkübasyon öncesi ve sonrasında toplam yağ miktarı sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.4.'de verildiği gibi zeytin karasularının inkübasyon öncesinde toplam yağ miktarı %1.01 ile %2.17 arasında bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında inkübasyon sonunda toplam yağ miktarı azaldığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında inkübasyon sonunda belirlenen toplam yağ miktarı %0.07 ile %1.45 arasında saptanmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında gelişimi esnasında çeşitli bileşenleri kullanması nedeniyle, inkübasyon sonunda toplam yağ miktarı azalmaktadır.

Çizelge 4.4.'deki analiz sonuçlarına göre, zeytin kara suyu örneklerinde, Kontrol (NB) besi ortamı ile zeytin karasu örneklerinin (Örnek A, Örnek B, Örnek C) toplam yağ miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.05$). Nutrient Broth besiyeri bileşimini oluşturan maddeler bu farklılığın oluşmasında etkilidir. Ayrıca ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek A, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının toplam yağ miktarı istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Ayrıca besi ortamlarında (K),

(K + P), (K + G), (K + P +G), toplam yağ miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ortalamalar karşılaştırıldığında, (K) besi ortamında toplam yağ miktarı ile (K + P), (K + G) ve (K + P +G) besi ortamlarının toplam yağ miktarı arasında istatistiki olarak farklı belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. *Bacillus subtilis*'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda toplam yağ miktarındaki değişimler

Karasu Örnekleri	Besi Ortamı	İnkübasyon Öncesi log		İnkübasyon Sonrası log	
		Ort.(%)	Std sap.(±)	Ort.(%)	Std sap.(±)
Örnek A	NB (Kontrol)	0.83	0.037	0.57	0.025
	K	1.14	0.062	0.80	0.025
	K + P	1.01	0.010	0.07	0.011
	K + G	1.07	0.039	0.94	0.011
	K + P +G	1.80	0.041	0.49	0.030
Örnek B	K	1.01	0.007	0.24	0.024
	K + P	1.67	0.011	0.80	0.061
	K + G	2.17	0.012	1.45	0.022
	K + P +G	1.37	0.037	0.82	0.018
Örnek C	K	1.12	0.035	0.32	0.004
	K + P	1.98	0.010	1.19	0.019
	K + G	1.21	0.014	0.36	0.010
	K + P +G	2.07	0.021	1.00	0.027

K: Karasu, K + P: Karasu + Pepton, K + G: Karasu + Glikoz, K + P +G : Karasu + Pepton + Glikoz, NB: Nitruent Broth

Ayrıca tüm besi ortamlarında inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası toplam yağ miktarı farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$).

Babadostu (2014), yaptığı çalışma sonucu yağ içeriği 13,09 g/L, Aktaş ve ark. (2001), 6,3 g/L bulmuşlardır. Eker (2015), yaptıkları çalışmalarda yağ içeriği 7490 mg/L'dir.

4.1.4. *Bacillus subtilis* ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında Toplam Kül Miktarı Sonuçları

Bacillus subtilis ile inoküle edilen zeytin kara suyu örneklerinin inkübasyon öncesi ve sonrasında toplam kül miktarı sonuçları Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. *Bacillus subtilis*'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda kül miktarındaki değişimler

Karasu Örnekleri	Besi Ortamı	İnkübasyon Öncesi		İnkübasyon Sonrası	
		Ort.(%)	Std sap.(±)	Ort.(%)	Std sap.(±)
Örnek A	NB (Kontrol)	0.95	0.026	0.75	0.025
	K	0.46	0.038	0.39	0.022
	K + P	0.51	0.050	0.39	0.103
	K + G	0.51	0.010	0.42	0.046
	K + P +G	0.59	0.023	0.47	0.030
Örnek B	K	1.05	0.074	0.50	0.034
	K + P	1.51	0.031	1.08	0.031
	K + G	2.09	0.097	0.15	0.022
	K + P +G	2.39	0.083	1.17	0.037
Örnek C	K	1.10	0.060	0.67	0.039
	K + P	1.44	0.019	0.87	0.021
	K + G	1.47	0.024	1.06	0.051
	K + P +G	1.75	0.034	1.23	0.001

K: Karasu, K + P: Karasu + Pepton, K + G: Karasu + Glikoz, K + P +G : Karasu + Pepton + Glikoz, NB: Nitruent Broth

Çizelge 4.5.'de verildiği gibi zeytin karasularının inkübasyon öncesinde toplam kül miktarı %0.46 ile %2.39 arasında bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında inkübasyon sonunda toplam kül miktarı azaldığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında inkübasyon sonunda belirlenen toplam kül miktarı %0.39 ile %1.23

arasında saptanmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında gelişimi esnasında çeşitli bileşenleri kullanması nedeniyle, inkübasyon sonunda toplam kül miktarı azalmaktadır.

Çizelge 4.5.'deki analiz sonuçlarına göre, zeytin kara suyu örneklerinde, Kontrol (NB) ve Örnek A besi ortamı ile diğer zeytin karasu örneklerinin (Örnek B, Örnek C) toplam kül miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Örnek A zeytin kara suyu toplam kül miktarı, diğer zeytin karasu örneklerine göre daha düşüktür ve kül miktarı zeytinyağı işleme yöntemine göre değişebilmektedir. Ayrıca ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının toplam kül miktarı istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiş, Örnek A ise istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Ayrıca besi ortamlarında (K, K + P, K + G, K + P +G), toplam kül miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ortalamalar karşılaştırıldığında, (K) besi ortamında toplam kül miktarı ile (K + P), (K + G) ve (K + P +G) besi ortamlarının toplam kül miktarı arasında istatistiki olarak farklı belirlenmiştir.

Ayrıca tüm besi ortamlarında inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası toplam kül miktarı farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$).

Birçok araştırmada zeytin kara suyu örneklerinde toplam kül miktarı 2,87 g/L ile 6,912 g/L arasında belirlemişlerdir (Kutluay, 2012; Kıpçak, 2013).

4.1.5. *Bacillus subtilis* ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında Kuru Madde Miktarı Sonuçları

Çizelge 4.6.'de *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen zeytin kara suyu örneklerinin inkübasyon öncesi ve sonrasında toplam kuru madde miktarı sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.6.'de verildiği gibi zeytin karasularının inkübasyon öncesinde toplam kuru madde miktarı %0.10 ile %7.86 arasında bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında inkübasyon sonunda toplam kuru madde miktarı azaldığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında inkübasyon sonunda belirlenen toplam kuru madde miktarı %0.01 ile %6.48 arasında saptanmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında gelişimi esnasında çeşitli bileşenleri kullanması nedeniyle, inkübasyon sonunda toplam kurumadde miktarı azalmaktadır.

Çizelge 4.6. *Bacillus subtilis*'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda kuru madde miktarlarındaki değişimler

Karasu Örnekleri	Besi Ortamı	İnkübasyon Öncesi		İnkübasyon Sonrası	
		Ort.(%)	Std sap.(±)	Ort.(%)	Std sap.(±)
Örnek A	NB (Kontrol)	7.11	0.028	6.52	0.067
	K	0.10	0.007	0.01	0.000
	K + P	0.21	0.011	0.21	0.014
	K + G	0.38	0.015	0.09	0.088
	K + P +G	0.31	0.230	0.15	0.007
Örnek B	K	6.49	0.046	5.04	0.042
	K + P	6.93	0.011	2.85	0.067
	K + G	7.37	0.012	3.26	0.056
	K + P +G	7.86	0.072	6.15	0.088
Örnek C	K	7.32	0.053	5.13	0.013
	K + P	6.08	0.032	5.66	0.062
	K + G	7.35	0.075	6.48	0.124
	K + P +G	7.19	0.052	6.07	0.024

K: Karasu. K + P: Karasu + Pepton. K + G: Karasu + Glikoz. K + P +G : Karasu + Pepton + Glikoz. NB: Nitruent Broth

Çizelge 4.6.'deki analiz sonuçlarına göre, zeytin kara suyu örneklerinde, Kontrol (NB) ve Örnek A besi ortamı ile diğer zeytin karasu örneklerinin (Örnek B, Örnek C) toplam kurumadde miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Örnek A zeytin kara suyu toplam kurumadde miktarı, diğer zeytin karasu örneklerine göre daha düşüktür ve kuru madde miktarı zeytinyağı işleme yöntemine göre değişebilmektedir. Ayrıca ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının toplam kurumadde miktarı istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiş, Örnek A ise istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Ayrıca besi ortamlarında (K, K + P, K + G, K + P +G), toplam kül miktarı arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ortalamalar karşılaştırıldığında, (K) besi ortamında toplam kül miktarı ile (K + P), (K + G) ve (K + P +G) besi ortamlarının toplam kül miktarı arasında istatistiki olarak farklı belirlenmiştir.

Ayrıca tüm besi ortamlarında inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası toplam kurumadde miktarı farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$).

4.2. *Bacillus subtilis*'in Zeytin Kara suyu ile Hazırlanan Besi Ortamlarında Gelişimi ve Biyokütle Oluşumu

Bacillus subtilis'in üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularında gelişimini incelemek ve gelişim eğrisini oluşturmak 12 saat süresince spektrofotometrik ölçümle belirlenmiştir. Ayrıca örneklerde kültürel sayım yöntemi gerçekleştirilmiştir.

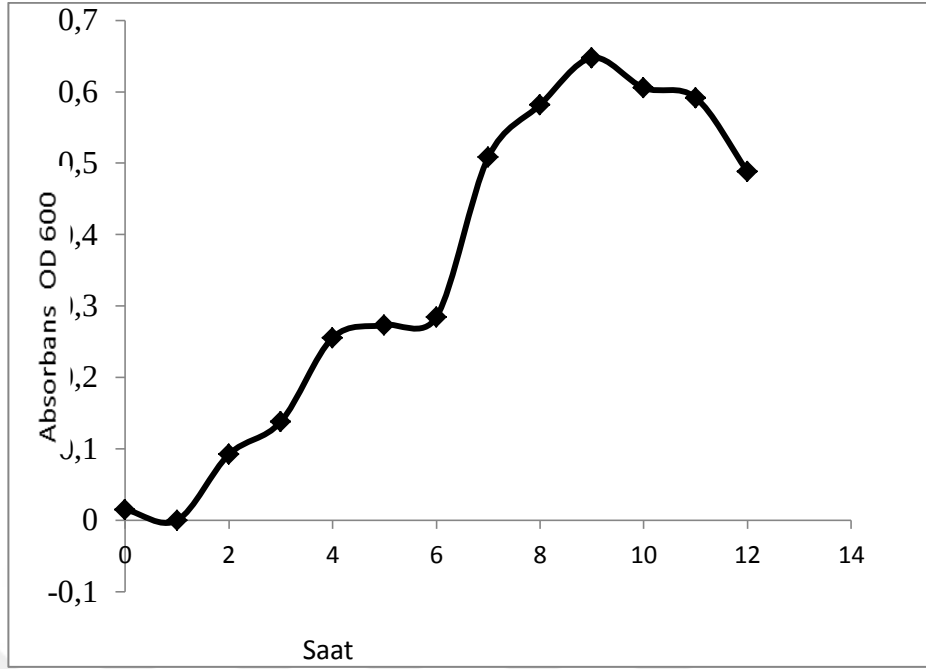
Bunun yanı sıra, hazırlanan zeytin karasularını içeren besi ortamlarında *Bacillus subtilis*'in biyokütle oluşumunda spektrofotometrik yöntemle saptanmıştır.

4.2.1. *Bacillus subtilis*'in Zeytin Karasularında Gelişimi Eğrisi

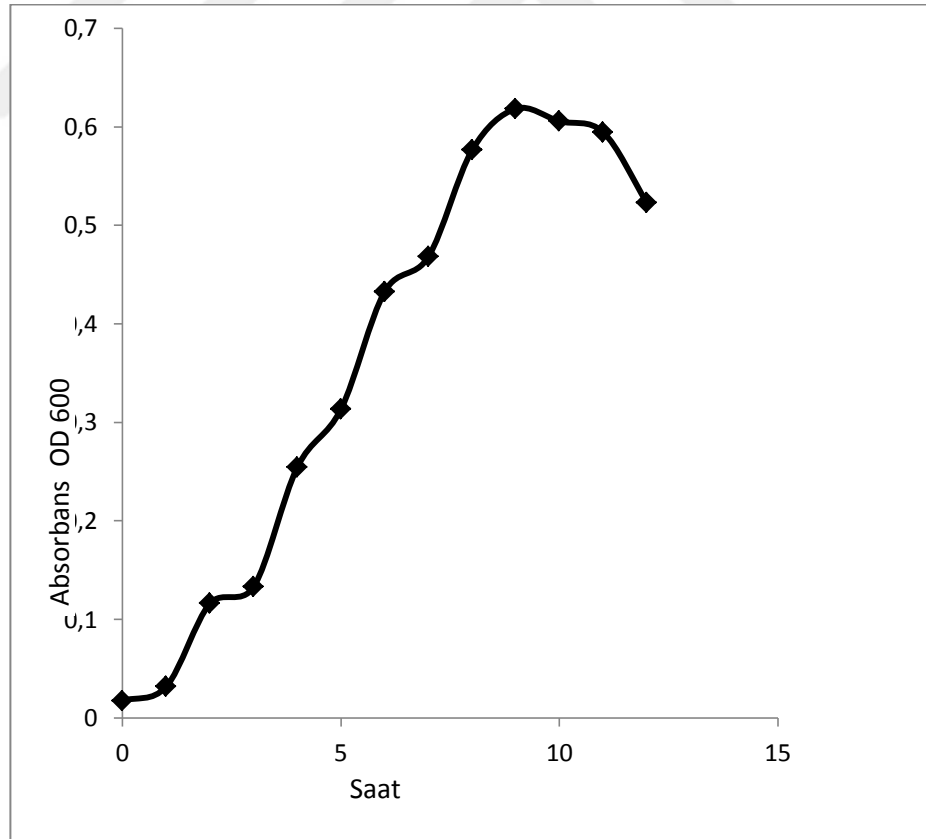
Bacillus subtilis'in üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularında gelişimini incelemek ve gelişim eğrisini oluşturmak amacıyla, inokülasyon yapılan örnekler inkübasyona bırakılmış ve bir saat aralıklarla spektrofotometrede 600nm'de ölçüm yapılmıştır. *Bacillus subtilis*'in 12 saat içinde gelişim eğrisini oluşturduğu belirlenmiştir. *Bacillus subtilis*'in zeytin kara suyunda üreme eğrisi oluşumu Şekil 4.1., 4.2. ve 4.3'de verilmiştir.

Örnek A, B ve C zeytin kara suyunda geliştirilen *Bacillus subtilis*'in 12 saatte gelişim eğrisini tamamladığı belirlenmiştir. Örnek A zeytin kara suyunda en yüksek OD₆₀₀ 9. satte 0,64762 belirlenmiştir. Örnek B zeytin kara suyunda en yüksek OD₆₀₀ 9. satte 0,61828 belirlenmiştir. Örnek C zeytin kara suyunda en yüksek OD₆₀₀ 8. satte 0,6499 belirlenmiştir.

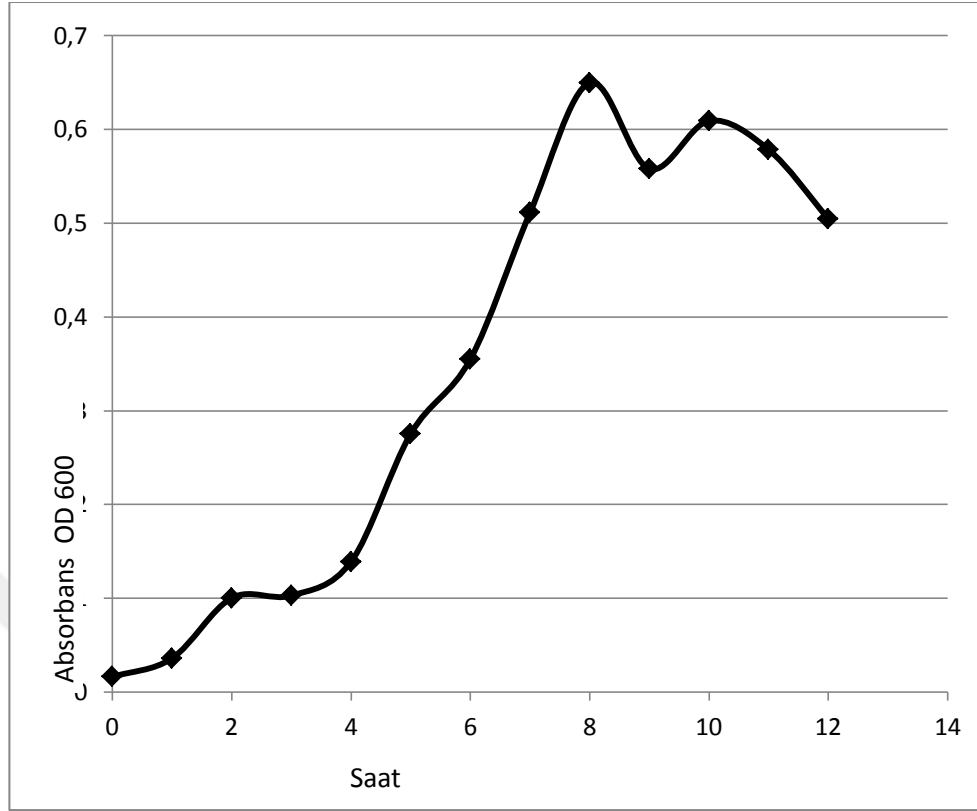
Araştırmada elde edilen sonuçlara benzer olarak, Ramasamy ve ark., (2015), Lysogeny Broth (LB)'da 37°C'de gelişen *Bacillus subtilis*'in 10 saatte gelişim eğrisini tamamladığını belirlediklerini açıklamışlardır. Sharma, P. (2013), *Bacillus subtilis*'in Luria broth'da gelişimi sonunda 14 saatte gelişim eğrisini tamamladığı belirlediklerini ve en yüksek OD₆₀₀ 11. saatte saptadıklarını açıklamışlardır. Maji ve Halder, (2017), LB besi ortamında gelişen *Bacillus subtilis*'in 13 saatte gelişim eğrisini tamamladığını belirtmişlerdir.



Şekil 4.1. Örnek A'dan elde edilen zeytin kara suyunda *Bacillus subtilis*'in üreme eğrisi



Şekil 4.2. Örnek B'den elde edilen zeytin kara suyunda *Bacillus subtilis*'in üreme eğrisi



Şekil 4.3. Örnek C'den elde edilen zeytin kara suyunda *Bacillus subtilis*'in üreme eğrisi

4.2.2. *Bacillus subtilis* ile İnoküle Edilen Zeytin Kara suyu Besi Ortamlarında Biyokütle Oluşumu

Çizelge 4.7.'de *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen zeytin kara suyu örneklerinin inkübasyon öncesi ve sonrasında gelişim sonuçları verilmiştir. Gelişim sonuçları Logaritmik (LOG_{10}) olarak verilmiştir.

Çizelge 4.7.'de verildiği gibi zeytin karasularında *Bacillus subtilis*'ün inkübasyon öncesinde hücre sayısı $5.7599 \log_{10}$ ile $6.1126 \log_{10}$ arasında bulunmuştur. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında inkübasyon sonunda hücre sayısının arttığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında inkübasyon sonunda belirlenen hücre sayısının $15.0881 \log_{10}$ ile $18.0976 \log_{10}$ arasında saptanmıştır. Çalışmada *Bacillus subtilis*'in zeytin karasularında (Örnek A, Örnek B, Örnek C) gelişim göstererek, inkübasyon sonunda hücre sayısı artmıştır.

Çizelge 4.7.'deki analiz sonuçlarına göre, zeytin kara suyu örneklerinde, Kontrol (NB) ve zeytin karasu örneklerinin (Örnek A, Örnek B, Örnek C) *Bacillus subtilis*'in hücre sayısının arasındaki farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$). Ayrıca ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek A, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının *Bacillus subtilis*'in hücre sayısının hem inkübasyon öncesi hem de inkübasyon sonunda istatistiki olarak önemli değildir. Ayrıca besi ortamlarında (K), (K + P), (K + G), (K + P + G), *Bacillus subtilis*'in hücre sayısının arasındaki farklılık önemsiz olduğu bulunmuştur ($P>0.05$).

Ayrıca tüm besi ortamlarında inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası *Bacillus subtilis*'in hücre sayısının farklılık önemli düzeydedir ($P<0.01$).

Çizelge 4.7. *Bacillus subtilis*'ün gelişimi sonucu zeytin kara suyunda gelişim miktarlarındaki değişimler

Karasu Örnekleri	Besi Ortamı	İnkübasyon Öncesi		İnkübasyon Sonrası	
		Ort ($\log_{10}$)	Std sap.($\pm$)	Ort. ($\log_{10}$)	Std sap.($\pm$)
Örnek A	NB (Kontrol)	5.7280	0.0017	7.4522	0.0131
	K	6.07868	0.0438	15.0881	0.0323
	K + P	6.05116	0.0090	16.3561	0.0044
	K + G	6.06034	0.0079	15.7345	1.0548
	K + P + G	6.04423	0.0132	16.6772	0.4746
Örnek B	K	5.7695	0.0109	15.1733	0.7567
	K + P	5.7599	0.0170	15.7963	0.0657
	K + G	5.7720	0.0074	14.3936	0.1087
	K + P + G	5.7439	0.0072	18.0976	0.1350
Örnek C	K	6.0939	0.0019	16.0250	0.1319
	K + P	6.0949	0.0101	11.1265	0.0274
	K + G	6.1076	0.0031	16.8425	0.0418
	K + P + G	6.1126	0.0009	16.7416	0.1331

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bacillus subtilis ile inoküle edilen zeytin karasularının inkübasyon öncesinde pH değerleri 5.39 ile 5.58 arasında, inkübasyon sonunda ise pH değerleri 5.32 ile 5.57 arasındadır. *Bacillus subtilis* ile inoküle edilen besi ortamlarında pH değerlerinin inkübasyon sonunda azaldığı belirlenmiştir. Ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek A, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının pH değerleri arasında istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Ayrıca, farklı besi ortamlarında (K), (K + P), (K + G), (K + P + G), pH değeri arasındaki farklılık önemsizdir ($P>0.05$).

Zeytin karasularının inkübasyon öncesinde toplam azot miktarı 0.06 mg N/L ile 0.24 mg N/L arasında, inkübasyon sonunda da toplam azot miktarının azaldığı ve 0.05 mg N/L ile 0.13 mg N/L arasında saptanmıştır. Örnek A, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının toplam azot miktarları arasında istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Besi ortamına ilave edilen pepton (K + P) ve (K + P + G), diğer besi ortamlarına (K) ve (K + G) göre toplam azot miktarını artırmıştır.

Toplam yağ miktarı zeytin karasularında inkübasyon öncesinde %1.01 ile %2.17, inkübasyon sonunda azalarak %0.07 ile %1.45 arasında saptanmıştır. Örnek A, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularının toplam yağ miktarları arasında istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Ayrıca, besiyeri bileşenleri zeytin kara suyu örneklerinde yağ miktarını etkilemiştir.

Zeytin karasularının inkübasyon öncesinde toplam kül miktarı %0.46 ile %2.39 arasında, inkübasyon sonunda azalarak %0.15 ile %1.23 arasında saptanmıştır. Farklı fabrikalardan alınan örneklerin toplam kül miktarı arasında farklılıklar saptanmıştır. Ayrıca, besiyeri bileşenleri zeytin kara suyu örneklerinde toplam kül miktarını etkilemiştir.

Toplam kuru madde miktarı zeytin karasularının inkübasyon öncesinde %0.10 ile %7.86, inkübasyon sonunda azalarak %0.01 ile %6.48 arasında saptanmıştır. Farklı fabrikalardan alınan örneklerin toplam kül miktarı arasında farklılıklar saptanmıştır. Ayrıca, besiyeri bileşenleri zeytin kara suyu örneklerinde toplam kuru madde miktarını etkilemiştir.

Örnek A, B ve C zeytin kara suyunda geliştirilen *Bacillus subtilis*'in 12 saatte gelişim eğrisini tamamladığı belirlenmiştir.

Bacillus subtilis'in zeytin karasularında inkübasyon öncesinde hücre sayısı $5.7599 \log_{10}$ ile $6.1126 \log_{10}$, inkübasyon sonunda belirlenen hücre sayısının $15.0881 \log_{10}$ ile $18.0976 \log_{10}$ arasında saptanmıştır. Ayrıca ortalamalar karşılaştırıldığında, Örnek A, Örnek B ve Örnek C'deki zeytin karasularında *Bacillus subtilis*'in hücre sayısının hem inkübasyon öncesi hem de inkübasyon sonunda istatistiki olarak önemli olmadığı saptanmıştır. Ayrıca besi ortamlarında (K), (K +P), (K + G), (K + P +G), *Bacillus subtilis*'in hücre sayısı bakımından aralarındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda üç farklı fabrikadan alınan zeytin karasularının pH değerleri, % yağ içeriği ve toplam azot miktarı açısından birbirine yakın özelliklerde olduğu, % kurumadde ve kül içeriklerinde ise bir fabrikanın değerleri daha düşük olarak saptanmıştır. Besi ortamında bileşen olarak kullanılan pepton ve glikozun, zeytin kara suyu kimyasal analiz sonuçlarında etkili olabileceği belirlenmiştir.

Bacillus subtilis'in zeytin kara suyunda gelişimi incelendiğinde, 12 saatte gelişim eğrisini oluşturduğu ve ayrıca kontrole göre daha yüksek hücre sayımlarına ulaştığı saptanmıştır. *Bacillus subtilis*'in zeytin kara suyunda gelişiminde peptone, glikoz ilavesi çok önemli bir etkisi de belirlenmemesi nedeniyle zeytin kara suyu herhangi bir bileşen ilavesi yapılmadanda kullanılabilir.

Bu nedenle *Bacillus subtilis* gelişimde besi ortamı olarak zeytin kara suyu kullanımı önerilmektedir ve çeşitli endüstrilerde besi ortamı olarak kullanımı mümkündür.

KAYNAKLAR

- Ahmadi, M., Vahabzadeh, F., Bonakdarpour, B., Mofarrah, E., Mehranian, M. 2005. Application of The Central Composite Design and Response Surface Methodology to The Advanced Treatment of Olive Oil Processing Wastewater Using Fenton's Peroxidation, **Journal of Hazardous Materials**, B123, 187-195.
- Aktaş, E.S., Imre S., Ersoy L., 2001. Characterization and Lime Treatment of Olive Mill Wastewater. **Water Research**, 35(9), 2336-2340.
- (Anon, 2013). **TUIK, 2013 Türkiye Ulusal İstatistik Kurumu.**
- (Anon, 2017). **Ulusal Zeytin ve Zeytinyağı Konseyi'nin (UZZK) 2016-2017 Üretim Sezonu Zeytin ve Zeytinyağı Rekoltesi Ulusal Resmi Tespit Heyeti Raporu**, 30 Eylül 2016-İzmir
- Andreozzi, R., Longo, G., Majone, M., Modesti, G., 1998. Integrated Treatment Of Olive Oil Mill Effluents (OME) Study Of Ozonation Coupled with Anaerobic Digestion. **Water Research**, 32, (8), 2357-2364.
- Azzam, M.O.J., Al-Malah, K.I., Abu-Lail, N.I., 2004. Dynamic Post-Treatment Response of Olive Mill Effluent Wastewater Using Activated Carbon. **Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, A39(1), 269-280.
- Babadostu A. (2014). Zeytinyağı Sanayi Atığı Olan Zeytin Kara suyu Özütünün Bazı Özelliklerinin İncelenmesi ve Ekonomik Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, **Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul.
- Basmacıoğlu Malayoğlu H., Aktaş B., 2011. Zeytin yağı işleme yan ürünlerinden zeytin yaprağı ile zeytin kara suyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri. **Hayvansal Üretim** 52(1):49-58.
- Beccari. M., Bonemazzi. E., Majone. M. ve Riccardi. C.(1996). Interactions between acidogenesis and methanogenesis in the anaerobic treatment of olive mill effluents. **Wat. Res.** 30.183- 190.
- Belloua S., Makria A., Sarris D, Michosa K., Rentoumia P., Celik A., Papanikolaou S., Aggelisa G., 2014. The olive mill wastewater as substrate for single cell oil production by Zygomycetes **Journal of Biotechnology** 170 50– 59.
- Borsani, R., Ferrando, B. 1996. Ultrafiltration plant for olive vegetation waters by polymeric membrane batteries. **Desalination**, 108: 281-286.
- Bubba, M. D., Checchini L., Pifferi C., Zanieri L. and Lepri L. 2004. Olive mill wastewater treatment by a pilot-scale subsurface horizontal flow (SSF-h) constructed wetland. **Annali di Chimica**, 94(12): 875-887.
- Caprio F., Altimari P. and Pagnanelli F., 2015. Integrated biomass production and biodegradation of olive mill wastewater by cultivation of *Scenedesmus* sp. **Elsevier Sciences Publishing Company**..9.p. 306-311.
- Celine I. Justino, Katia Duarte, Filipe Loureiro, Ruth Pereira, Sara C. Antunes, Sérgio. M. Marques, Fernando Gonçalves, Teresa A.P. Rocha-Santos, Ana C. Freitas a 2009. Toxicity and organic content characterization of olive oil mill wastewater undergoing a sequential treatment with fungi and photo-Fenton oxidation **Journal of Hazardous Materials** 172 1560–1572
- Daâssi D., Lozano-Sánchez J., Borrás-Linares I., Belbahri L., Woodward S., Zouari-Mechichi H., Mechichi T., Nasri M., Segura-Carretero A., 2014. Olive oil mill

- wastewaters: Phenolic content characterization during degradation by *Corioloropsis gallica*. **Elsevier Sciences Publishing Company**..113.p.62-70.
- Dhouib, A., Aloui, F., Hamad, N., Sayadi, S. 2006. Plot-plant treatment of olive oil mill wastewaters by *Phanerochaete chrysosporium* coupled to anaerobic digestion and ultrafiltration. **Process Biochemistry**, 41: 159-167.
- Dourou M., Kancelista A., Juszczak P., Sarris D., Bellou S., Triantaphyllidou I., Rywinska A., Papanikolaou S., Aggelis G., 2016. Bioconversion of olive mill wastewater into high-added value products. **Elsevier Sciences Publishing Company**..139.p.957-969.
- Eke E. (2013). Zeytinyağı Endüstrisi Atıksularının Darbeli Elektrik Deşarjı Kullanılarak Arıtımı, Yüksek Lisans Tezi, **Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta.
- Eker A.Ç.U. (2015). Zeytin Kara suyunun Ardışık Kesikli Anaerobik Reaktörler ile Arıtılabilirliğinde Uygun Ön Arıtım Metodunun Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Çanakkale.
- Erdem S., Yarımtepe C.C. ve Öz N. A..2015. Zeytin Kara suyunun Arıtım Yöntemleri. **Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi** 1. p.81-110.
- Ergüder. T.H., Güven. E. ve Demirel. G.N. (2000). Anaerobic treatment of olive oil mill wastes in batch reactors. **Process Biochemistry**. 36. 243-248.
- Erses Y. A. S., Orala H. V., Onaya T. T., Yenigün O., 2012. A study on olive oil mill wastewater management in Turkey: A questionnaire and experimental approach, **Resources, Conservation and Recycling** 60 (2012) 64– 71
- Gültepe İ., 2016. Zeytinyağı İşletme Atığının Biyoproseslerde Hammaddesiz Olarak Değerlendirilmesi. **Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**. Yüksek Lisans Tezi, İzmir
- Hazırbulan. S. (2006) Zeytin Kara suyunun İleri Oksidasyon ve Adsorpsiyon Yöntemleri Kullanılarak Arıtılması. **Muğla Üniversitesi**. Yüksek Lisans Tezi. Muğla.
- Hodaifa G., Martínez M.E., Órpez R., Sánchez S..2012. Inhibitory effects of industrial olive-oil mill wastewater on biomass production of *Scenedesmus obliquus*. **Elsevier Sciences Publishing Company**..42.p.30-34.
- Hodaifa G., Sánchez S., Martínez E., Órpez R..2012. Biomass production of *Scenedesmus obliquus* from mixtures of urban and olive-oil mill wastewaters used as culture medium. **Elsevier Sciences Publishing Company**..104.p.345-352.
- İnan, H., Dimoglo, A., Şimşek, H., Karpuzcu, M., 2004. Olive Oil Mill Wastewater Treatment by Means Of Electro-Coagulation. **Separation and Purification Technology**, 36, 23-31.
- İnan, H., Dimoglo, A., Şimşek, H., Karpuzcu, M., 2004. Olive Oil Mill Wastewater Treatment by Means Of Electro-Coagulation. **Separation and Purification Technology**, 36, 23-31.
- Jua'ez M.J.B., Zafra-Go'mez A., Luzo'n-Toro B., Ballesteros-Garcı'a O.A., Navalo'n A., Gonza'lez. J.Vı'lchez. J.L.. 2007. Gas chromatographic-mass spectrometric study of the degradation of phenolic compounds in wastewater olive oil by *Azotobacter Chroococcum*. **Elsevier Sciences Publishing Company**..99.p.2392-2398.
- Keskin T. (2007). Kara suyun Biyolojik Parçalanabilirliğinin Ortak Besi Maddesi Etkisi ile İyileştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, **Ege Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü**, Bornova, İzmir.

- Kestioğlu, K., Yonar, T., Azbar, N., 2005. Feasibility of Physico-Chemical Treatment and Advanced Oxidation Processes (Aops) as a Means of Pretreatment of Olive Mill Effluent (OME). **Process Biochemistry**, 40, 2409- 2416.
- Kılıç. M.Y. 2011. Zeytin Kara suyunun İleri Arıtma Yöntemleri ile Ekonomik Arıtılabilirliğinin Araştırılması. **UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü**. Doktora Tezi. 195s.. Bursa.
- Kıpçak E. (2013). Süperkritik Su Koşullarında Zeytin Kara suyundan Hidrojen ve Biyoyakıt Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, **Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul.
- Kutluay S. (2012). Süperkritik Su Ortamında Zeytin Kara suyunun PT Katalizörü Kullanılarak Hidrotermal Arıtımı ve Gazlaştırması, Yüksek Lisans Tezi, **Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul.
- M.J.B. Jua' rez b, A. Zafra-Go'mez , B. Luzo'n-Toro a, O.A. Ballesteros-Garcı'a a, A. Navalo'n a, J. Gonza'lez b, J.L. Vi'lchez a 2008Gas chromatographic–mass spectrometric study of the degradation of phenolic compounds in wastewater olive oil by Azotobacter Chroococcum **Bioresource Technology** 99 2392–2398
- Maji,K., Halder, D., 2017. 1-(2-aminophenyl)-1H-1,2,3-triazole-4-carboxylic acid: activity against Gram-positive and Gram-negative pathogens including Vibrio cholerae **Published 18 October 2017.DOI:10.1098/rsos.170684**
- Malayoğlu. H. B. Aktaş B..2011. Zeytin Yağı İşleme Yan Ürünlerinden Zeytin Yaprağı ile Zeytin Kara suyunun Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkileri. **Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Zootečni Bölümü**. Bornova. İzmir.
- Mann J., Markham J. L., Peiris P., Spooner-Hart R. N., Holford P., Nair N.G. (Tan), 2015. Use of olive mill wastewater as a suitable substrate for the production of laccase by Cerrena consors. **International Biodeterioration & Biodegradation** 9, 138e145.
- Maragkaki A.E.. Vasileiadis I.. Fountoulakis M.. Kyriakou A.. Lasaridi K.. Manios T..2017. Improving biogas production from anaerobic co-digestion of sewage sludge with a thermal dried mixture of food waste. cheese whey and olive mill wastewater. **Elsevier Sciences Publishing Company**..p.1-8.
- Menesesa D.P.. Gudiñab E.J.. Fernandes F.. Gonçálvesa L.R.B.. Rodriguesb L.R.. Rodriguessc S..2017. The yeast-like fungus *Aureobasidium thailandense* LB01 produces a new biosurfactant using olive oil mill wastewater as an inducer. **Elsevier Sciences Publishing Company**..204.p.40-47.
- Mert, B.K., Kestioğlu, K., Kılıç, M.Y., 2008. Zeytinyağı Endüstrisi Atıksularının Kimyasal Arıtma Sonrası Evsel Atıksularla Birlikte Arıtılabilirliğinin Respirometrik Yöntemle Araştırılması. **Çevkor Ekoloji**, 17, 66, 39-46.
- Mohammed, H., Soumia, A. ve Jean-Claude, R. (2005), “Structural characterization of olive mill waster-water after aerobic digestion using elemental analysis”, **FTIR and 13C NMR Process Biochemistry**, 40: 2615–2622
- Öcal Ş.. Aran N. ve Çelikkol E. 1977. Zeytin kara suyu ve peynir suyundan mikrobiyal protein elde olunması. **TÜBİTAK-MAE Beslenme ve Gıda Ünitesi Yayınları**.
- Ramasamy, M., Yi, D.K., An, S.S.A., 2015. Enhanced detection sensitivity of Escherichia coli O157:H7 usinh surface-modified gold nanorods. **Int J Nanomedicine**.; 10(Spec Iss): 179-190.
- Rozzi A.. Malpei F.. 1996. Treatment and disposal of olive mill effluents. **Int. Biodeter. Biodeg.** 38. 135–144.

- Russo, C. 2007. A new process for the selective fractionation and total recovery of polyphenols, water and organic substances from vegetation waters (VW). **Journal of Membrane Science**, 288, 239-246.
- Salgado J. M. , Abrunhosa L., Venancio A., Domínguez J. M., Belo I., 2015. Combined bioremediation and enzyme production by *Aspergillus* sp. in olive mill and winery wastewaters. **Elsevier Sciences Publishing Company**, 110, p.16-23.
- Sharma, P., 2013. Development of Improved Minimal Medium for Acetoin Metabolism by *B. subtilis* Strains. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, Volume 4, Issue 10, 641.
- Silva, O.M.X. 2014. Olive Mill Wastewaters treatment: evaluation of microalgae applicability, Mestrado em Biologia Departamento de Biologia Departamento de Biologia Faculdade de Ciências da Universidade do Porto Dissertação de Mestrado em Biologia apresentada à **Faculdade de Ciências da Universidade do Porto**
- Tercan S. (2009). Zeytinyağı Fabrikası Atıklarında Polifenol Analizi ve Isıl İşlemlerin Polifenol Eksraklarının Polifenol Konsantrasyonuna ve Antioksidan Aktivitesine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, **Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü**, Gebze.
- Tunalıoğlu R., Bektaş T. 2010. Türkiye Zeytinciliğine Karasu Sorunu. **Zeytin Bilimi Dergisi**. 1 (2) : 65-71.
- Tunalıoğlu R., G. Armağan., 2008. Aydın İlindeki Zeytinyağı İşletmelerinde Elde Edilen Yan Ürünleri Tarım-Sanayi ve Çevre İlişkileri Boyutunda Değerlendirilmesi. **Türkiye 8. Tarım Ekonomisi Kongresi. Gıda İşletmeciliği Cildi**: 135-143. Bursa.
- Ustaçelebi S., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. **Güneş Kitabevi**. Sayfa: 411-412. 624-625. (1999).
- Ünlütürk A., Turantag F. (1998). **Gıda Mikrobiyolojisi. 1. Baskı**. Mengi Tan Basımevi. 598s. İzmir.
- Vlyssides, A. 1998. Olive oil processing wastes production and their characteristics in relation to olive oil extraction methods. **Fresenius Environ Bull.**, 7: 308-313.
- Yay S. E., Oral V., Onay T., T. and Yenigün O., 2012. A study on olive oil mill wastewater management in Turkey: A questionnaire and experimental approach. **Resources. Conservation and Recycling** 60. 64-71.
- Yeşilada Ö., Şık S. And Şam M., 1997. Treatment of Olive Oil Mill Wastewater With Fungi. **Tr.J. of Biology** 23 (1999) © TÜBİTAK. p. 231-240.
- Zerva A., Georgios I. Z., Christakopoulos P., Topakas E., 2017. Degradation of olive mill wastewater by the induced extracellular ligninolytic enzymes of two wood-rot fungi Degradation of olive mill wastewater by the induced extracellular ligninolytic enzymes of two wood-rot fungi **Journal of Environmental Management** 203 791e798

ÖZGEÇMİŞ

1999 yılında kazandığı Gaziantep Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden 2006 yılında, “Gıda Mühendisi” unvanı ile mezun oldu. 2009 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2006 yılından bu yana başlamış olduğu iş hayatı ilk olarak İskenderun’da bulunan 4.Boyut Yönetim ve Danışmanlık şirketinde, daha sonra 2 sene Gaziantep Metro Cash&Carry Mağazası Kuru Gıda-Şekerleme-Konserve Bölümü’nde Gıda Mühendisi-Departman Müdür Yardımcısı, ardından 2 sene İskenderun Atlantic Marine Survey and Laboratory bünyesinde bulunan Petrol ve Gıda Laboratuvarında Uzman Gıda Mühendisi-Kalite Kontrol Müdürü, ardından 2 sene Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Sökmen Kampüsü ve Meslek Yüksek Okulları Personel ve Öğrenci Yemekhanesi’nde Sorumlu Gıda Mühendisi olarak çalıştı. 2012 Temmuz ayından bu yana İskenderun Belediye Başkanlığı’nda Gıda Mühendisi olarak görev yapmaktadır.

EK 1. PH

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sonuç

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7,186 ^a	7	1,027	51,369	,000
Intercept	1573,001	1	1573,001	78714,168	,000
karasu	5,791	3	1,930	96,595	,000
besiyeri	,112	3	,037	1,868	,143
uygulama	,486	1	,486	24,344	,000
Error	1,399	70	,020		
Total	2391,683	78			
Corrected Total	8,585	77			

a. R Squared = ,837 (Adjusted R Squared = ,821)

Karasu için Duncan Sonuçları

sonuç

	karasu	N	Subset	
			1	2
Duncan ^{a,b,c}	3,00	24	5,4021	
	1,00	24	5,4258	
	2,00	24	5,5054	
	4,00	6		6,5233
	Sig.		,074	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,020.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,714.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = 0,05.

Besiyeri için Duncan sonuçları

sonuç

			Subset	
	besiyeri	N	1	2
Duncan ^{a,b,c}	3,00	18	5,4100	
	4,00	18	5,4683	
	2,00	18	5,4967	
	1,00	24		5,6829
	Sig.		,076	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,020.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19,200.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = 0,05.

EK 2. Nitrojen

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sonuç

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,257 ^a	7	,037	46,387	,000
Intercept	,707	1	,707	892,297	,000
karasu	,011	3	,004	4,491	,006
besiyeri	,164	3	,055	69,176	,000
uygulama	,085	1	,085	107,660	,000
Error	,055	70	,001		
Total	1,292	78			
Corrected Total	,313	77			

a. R Squared = ,823 (Adjusted R Squared = ,805)

Sonuç karasu

			Subset	
	karasu	N	1	2
Duncan ^{a,b,c}	4,00	6	,0967	
	3,00	24	,1013	,1013
	2,00	24	,1154	,1154
	1,00	24		,1233
	Sig.		,104	,055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,714.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = 0,05.

Sonuç Besiyei

			Subset	
	besiyei	N	1	2
Duncan ^{a,b,c}	3,00	18	,0667	
	1,00	24	,0725	
	2,00	18		,1594
	4,00	18		,1628
	Sig.		,523	,715

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,001.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19,200.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = 0,05.

EK 3. Yağ

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sonuç

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14,727 ^a	7	2,104	16,536	,000
Intercept	54,841	1	54,841	431,023	,000
karasu	1,121	3	,374	2,936	,039
besiyeri	2,532	3	,844	6,633	,001
uygulama	10,261	1	10,261	80,643	,000
Error	8,906	70	,127		
Total	110,915	78			
Corrected Total	23,634	77			

a. R Squared = ,623 (Adjusted R Squared = ,585)

Sonuç karasu

			Subset	
	karasu	N	1	2
Duncan ^{a,b,c}	4,00	6	,6983	
	1,00	24	,9146	,9146
	3,00	24		1,1567
	2,00	24		1,1921
	Sig.		,117	,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,127.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,714.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = 0,05.

Sonuç besiyeri

			Subset	
	besiyeri	N	1	2
Duncan ^{a,b,c}	1,00	24	,7550	
	2,00	18		1,1206
	3,00	18		1,2006
	4,00	18		1,2561
	Sig.		1,000	,272

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,127.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19,200.
- b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- c. Alpha = 0,05.

EK 4. Kuru Madde

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sonuç

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	639,797 ^a	7	91,400	137,696	,000
Intercept	1111,880	1	1111,880	1675,079	,000
karasu	592,618	3	197,539	297,599	,000
besiyeri	8,522	3	2,841	4,279	,008
uygulama	33,098	1	33,098	49,863	,000
Error	46,464	70	,664		
Total	2145,993	78			
Corrected Total	686,262	77			

a. R Squared = ,932 (Adjusted R Squared = ,926)

Sonuç karasu

Duncan ^{a,b,c}	1,00	24	,2008		
	2,00	24		5,7437	
	3,00	24			6,4113
	4,00	6			6,8150
Sig.			1,000	1,000	,199

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,664.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,714.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.
Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.

Sonuç besiyeri

Duncan ^{a,b,c}	2,00	18	3,6583		
	3,00	18	4,1561	4,1561	
	4,00	18		4,6222	4,6222
	1,00	24			4,7321
Sig.			,062	,081	,677

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,664.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19,200.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.
Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.



EK 5. Kül

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sonuç

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sonuç

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	48,844	1	48,844	1291,128	,000
	Error	2,648	69,993	,038 ^a		
Karasu	Hypothesis	9,243	3	3,081	32,192	,000
	Error	6,508	68	,096 ^b		
Besiyeri	Hypothesis	2,945	3	,982	10,256	,000
	Error	6,508	68	,096 ^b		
Uygulama	Hypothesis	5,180	1	5,180	54,118	,000
	Error	6,508	68	,096 ^b		
tekerrür	Hypothesis	,003	2	,002	,017	,983
	Error	6,508	68	,096 ^b		

a. ,615 MS(tekerrür) + ,385 MS(Error)

b. MS(Error)

Sonuç karasu

Duncan ^{a,b,c}	1,00	24	,4667		
	4,00	6		,8500	
	3,00	24			1,1992
	2,00	24			1,2433
	Sig.		1,000	1,000	,710

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,096.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,714.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.

Sonuç besiyeri

Duncan ^{a,b,c}	1,00	24	,7329		
	3,00	18		,9517	
	2,00	18		,9683	
	4,00	18			1,2650
	Sig.		1,000	,868	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,096.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19,200.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used.

Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.

EK 6. Hücre Sayımı

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: sonuç

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1727,190 ^a	7	246,741	100,082	,000
Intercept	4604,170	1	4604,170	1867,519	,000
karasu	77,817	3	25,939	10,521	,000
besiyeri	17,326	3	5,775	2,343	,081
uygulama	1609,019	1	1609,019	652,642	,000
Error	172,578	70	2,465		
Total	10494,315	78			
Corrected Total	1899,767	77			

a. R Squared = ,909 (Adjusted R Squared = ,900)

Sonuç karasu

			Subset	
	karasu	N	1	2
Duncan ^{a,b,c}	4,00	6	6,5901	
	3,00	24		10,6431
	2,00	24		10,8133
	1,00	24		11,0113
	Sig.		1,000	,567

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2,465.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 13,714.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.

Sonuç besiyeri

			Subset		
	besiyeri	N	1	2	3
Duncan ^{a,b,c}	1,00	24	9,6761		
	2,00	18	10,1975	10,1975	
	3,00	18		10,8184	10,8184
	4,00	18			11,5695
	Sig.		,307	,225	,143

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 2,465.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 19,200.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = 0,05.