



**NANE VE MAYDANOZ EKSTRAKTLARI İLE SİRKENİN MARUL  
YAPRAKLARINDAKİ MİKROBİYAL YÜKE ETKİSİ**

**Büşra AYHAN**

**DOKTORA TEZİ**

**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞUBAT 2019**

Büşra AYHAN tarafından hazırlanan "NANE VE MAYDANOZ EKSTRAKTLARI İLE SİRKENİN MARUL YAPRAKLARINDAKİ MİKROBİYAL YÜKE ETKİSİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Doç. Dr. Saniye BİLİCİ

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Başkan :** Prof. Dr. Muhittin TAYFUR

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Prof. Dr. Efsun KARABUDAK

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Prof. Dr. Aylin AYZ

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



**Üye :** Doç. Dr. Yasemin AKDEVELİOĞLU

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 15/02/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Büşra AYHAN

15.02.2019

NANE VE MAYDANOZ EKSTRAKTLARI İLE SİRKENİN MARUL  
YAPRAKLARINDAKİ MİKROBİYAL YÜKE ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Büşra AYHAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2019

ÖZET

Bu çalışma; nane ve maydanoz ekstraktları ile sirke ve klorun marul yapraklarındaki mikrobiyal yüke etkisini belirlemek, araştırmacı tarafından nane ve maydanoz ekstraktları temelli geliştirilen ve organoleptik özellikleri uygun bir salata sosunun servis aşamasındaki olası bulaşlara karşı etkinliğini değerlendirmek amacıyla planlanıp yürütülmüştür. Çalışmada kontrol grubu örneklerinde sadece musluk suyu ile yıkama yapılmıştır. Çalışma örneklerinde ise yıkama sonrası marul yapraklarının dezenfeksiyonu amacıyla 5 ve 10 dakikalık sürelerde klor için 200 ppm/L, sirke, nane ve maydanoz ekstraktı için 50 mL/L uygulanmıştır. Araştırmacı tarafından geliştirilen salata sosunun antimikrobiyal etkinliğini belirlemek amacıyla marul örnekleri salata sosuna daldırılıp çıkarılmış veya 5 dakika bekletme işlemi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda; dezenfektan uygulamalarının mikrobiyal yükte görülen azalma miktarlarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Toplam bakteri yükünde en iyi azalma 15 dakika süresince uygulanan klor ve sirkede görülmüştür. *Enterobacteriaceae* yükündeki en iyi azalmayı ise 15 dakikalık nane ekstraktı uygulaması sağlamıştır. Koliform bakteri yükünde en iyi azalmayı 15 dakika sirke uygulaması sağlamıştır. Fekal koliform bakteri yükünde en etkin uygulamalar 15 dakika boyunca süren maydanoz, klor ve sirke uygulamalarıdır. *E. coli*'de ise 15 dakika maydanoz ekstraktı ile 5 ve 15 dakika klor uygulamalarında en iyi sonuç alınmıştır. Servis sırasında personel kaynaklı bulaş riski yüksek olan *S. aureus* yükünde salata sosu kullanımında 5,96 log kob/g azalma görülmüştür. Hazırlanan salata sosu ile yapılan analizlerde ise salata sosunun mikroorganizma yüklerinde neden olduğu azalma miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,00$ ). Salata sosunun organoleptik açıdan genel değerlendirmesi ise 5 puan üzerinden  $3,90 \pm 0,96$ 'dır. Çalışma sonuçları, doğal ekstraktların dezenfektan etkisinin varlığını kanıtlar niteliktedir. Ayrıca bir salata sosu olarak kullanımlarının da servis aşamasındaki mikrobiyal bulaşların azaltılmasında etkili olabileceğini göstermektedir.

Bilim Kodu : 1007

Anahtar Kelimeler : Bitki Ekstraktı, Dezenfektan, Klor, Sirke, Nane, Maydanoz

Sayfa Adedi : 98

Danışman : Doç. Dr. Saniye BİLİCİ

# THE EFFECT OF MINT AND PARSLEY EXTRACTS AND VINEGAR ON THE MICROBIAL LOAD IN LETTUCE LEAVES

(Ph. D. Thesis)

Büşra AYHAN

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

February 2019

## ABSTRACT

This study was planned to determine the effect of mint and parsley extracts and vinegar on the microbial load in lettuce leaves and also to evaluate the effectiveness of a salad dressing, produced by the researcher based on mint and parsley extracts, suitable for organoleptic properties on the possible contamination at the service process. In the study, only the tap water was washed in the control group samples. In studying group samples, after washing with tap water, 200 ppm / L for chlorine, 50 mL / L for vinegar, mint and parsley extract were used within 5 and 15 minutes. In order to determine the antimicrobial activity of the salad dressing developed by the researcher, the lettuce samples were immersed in the salad dressing or held for 5 minutes. In the results of working; it was found that the amount of reduction in the microbial load of disinfectant applications was statistically significant. ( $p < 0,05$ ). The best reduction in total bacteria load was observed in chlorine and vinegar applied for 15 minutes. The best reduction in the load of *Enterobacteriaceae* was the application of a 15-minute peppermint extract. The best reduction in coliform bacteria load was vinegar application for 15 minutes. The most effective applications in fecal coliform bacteria load are parsley, chlorine and vinegar applications for 15 minutes. In *E. coli*, the best results were obtained for 15 minutes with parsley extract and 5 and 15 minutes for chlorine applications. In the use of salad dressing, there was a decrease of 5.96 log cfu / g in the *S. aureus* load, is a high risk of personnel-related transmission during service. In the analyzes performed with the prepared salad dressing, the amount of reduction caused by the microorganism loads of the salad dressing was found statistically significant ( $p < 0,00$ ). The general evaluation of the salad sauce as organoleptic was  $3.90 \pm 0.96$  for 5 points. The results of this study showed the evidential data on the disinfectant effect of natural extracts. Also use of their as a salad dressing may be effective in reducing microbial contamination at the service process.

Science Code : 1007

Key Words : Plant Extract, Disinfectant, Chlorine, Vinegar, Mint, Parsley

Page Number : 98

Advisor : Doç. Dr. Saniye BİLİCİ

## TEŞEKKÜR

Çalışmamda bana gerek engin bilgi ve tecrübeleriyle olsun, gerekse manevi açıdan olsun her daim desteğini veren değerli danışman hocam Doç. Dr. Saniye BİLİCİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Aynı zamanda tez çalışmam süresince benden yardımını esirgemeyen Diagen Biyoteknolojik Sistemler A.Ş.'ye ve sayın Doç. Zafer CANTEKİN'e de teşekkürlerimi sunarım. Teknik ekipman konusunda sağladığı bilgi desteğinden ötürü TÜBİTAK MAM çalışanı Şaban YILMAZ'a ve salata sosunun hazırlanması aşamasında bana büyük destek veren değerli arkadaşım Süleyman KÖSE'ye de teşekkür ederim.

Araştırmama maddi olarak destek veren Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'ne verdiği katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Çalışmamda bana manevi olarak destek veren değerli arkadaşlarım Duygu AĞAGÜNDÜZ, Yasemin ERTAŞ ÖZTÜRK, Feride AYYILDIZ ve Merve Şeyda KARAÇİL ERMUMCU'ya da sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her evresinde olduğu gibi tez hazırlama aşamamda da yanımda olarak bana her zaman destek veren ve her zaman yanımda olduklarını hissettiren canım ailem; annem Gülnihal AYHAN'a, babam Talip AYHAN'a ve ablam Esra AYHAN KIZILCI'ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Meyve ve Sebzelerin Doğal Mikroflorası ve Patojenlerin Bulaş Kaynakları .....	4
2.2. Sebze ve Meyvelerin Dezenfeksiyonunda Kullanılan Yöntemler .....	10
2.3. Doğal Antimikrobiyal Bileşikler .....	12
2.4. Fenolik Bileşikler .....	15
2.5. Antimikrobiyal Etkinliği Bulunan Bazı Bitkiler .....	18
2.5.1. Maydanoz .....	18
2.5.2. Nane.....	20
2.5.3. Sirke.....	22
2.6. Bitkilerden Elde Edilen Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Açısından Aktivite Mekanizması .....	23
2.7. Doğal Bileşiklerin Antimikrobiyal Özelliklerini Etkileyen Faktörler.....	26
2.7.1. Besinin özellikleri.....	26
2.7.2. Kullanılan antimikrobiyal maddenin özellikleri.....	27
2.7.3. Mikroorganizmanın özellikleri .....	27



	<b>Sayfa</b>
2.7.4. Diğer etkenler .....	28
2.8. Aromatik Bitkilerin ve Bitki Ekstraktlarının Toksikolojisi.....	28
2.9. Bitkilerin Ekstraksiyonu ve Artırılması.....	29
<b>3. YÖNTEM</b> .....	<b>31</b>
3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi.....	31
3.2. Alınan Numunelerin Analize Hazırlanması .....	33
3.3. Araştırma Aşamaları .....	33
3.3.1. Araştırma birinci aşaması .....	33
3.3.2. Araştırma ikinci aşaması .....	35
3.3.3. Araştırma üçüncü aşaması.....	37
3.3.4. Araştırma dördüncü aşaması .....	38
3.4. Mikrobiyolojik Analizler İçin Örneklerin Homojenize Edilmesi ve Dilüsyon Serilerinin Hazırlanması.....	39
3.5. Mikrobiyolojik Analizler.....	40
3.5.1. Toplam bakteri analizi .....	40
3.5.2. <i>Enterobacteriaceae</i> ve koliform bakteri analizleri.....	40
3.5.3. Fekal koliform bakteri ve <i>E.coli</i> analizleri .....	41
3.5.4. <i>Staphylococcus aureus</i> analizi.....	41
3.6. İstatistiksel Analizler .....	42
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>43</b>
4.1. Dezenfektanların Toplam Bakteri, <i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>S. aureus</i> Üzerine Etkileri .....	43
4.2. Dezenfektanların Koliform Bakteri, Fekal Koliform Bakteri ve <i>E. coli</i> Üzerine Etkileri .....	47
4.3. Salata Sosunun Toplam Bakteri, <i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>S. aureus</i> Üzerine Etkileri .....	51

**Sayfa**

4.4. Dezenfektanların Koliform Bakteri, Fekal Koliform Bakteri ve <i>E. coli</i> Üzerine Etkileri .....	53
4.5. Salata Sosunun Duyusal Analiz Sonuçları .....	54
5. TARTIŞMA.....	57
5.1. Klorun Dezenfektan Etkinliği .....	58
5.2. Sirkenin Dezenfektan Etkinliği .....	59
5.3. Bitki Ekstraktlarının Dezenfektan Etkinliği .....	61
5.3.1. Maydanoz ekstraktının dezenfektan etkinliği.....	61
5.3.2. Nane ekstraktının dezenfektan etkinliği .....	63
5.4. Bitki Ekstraktının Kombine Kullanımları ve Duyusal Analizler .....	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	67
KAYNAKLAR .....	71
EKLER.....	81
EK-1.....	82
EK-2.....	88
EK-3.....	89
ÖZGEÇMİŞ .....	91

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. İçme sularında bulunmasına izin verilen mikroorganizmalar ve limit değerleri.....	6
Çizelge 2.2. Bir dağıtım şebekesinden ya da bir tankerden sağlanan ya da gıda üretiminde kullanılan içme-kullanma amaçlı su için minimum numune alma ve analiz sıklığı.....	7
Çizelge 2.3. Tüketime hazır gıdalar için mikrobiyolojik kriterler.....	8
Çizelge 2.4. Kaynağına göre başlıca doğal antimikrobiyal bileşikler .....	14
Çizelge 2.5. Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin sınıflandırılması .....	17
Çizelge 2.6. Bitkilerin içeriğinde bulunan ve antimikrobiyal etkinlik gösteren bileşikler.....	19
Çizelge 2.7. Ticari olarak üretilmiş maydanoza ait esansiyel yağın içeriği.....	20
Çizelge 2.8. Neden elde edilen esansiyel yağın bileşimi.....	22
Çizelge 2.9. Farklı sirke çeşitlerinin içeriğinde bulunan fenolik bileşikler.....	24
Çizelge 3.1. Sirke ile dezenfeksiyon uygulaması sonucu toplam bakteride görülen azalma miktarları.....	35
Çizelge 4.1. Kontrol grubu ile 5 ve 15 dakika dezenfektan uygulanan marul örneklerindeki toplam bakteri, <i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>S. aureus</i> yükü ortalama miktarları (kob/g) .....	44
Çizelge 4.2. Kontrol grubu ile 5 ve 15 dakika dezenfektan uygulanan marul örneklerindeki koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve <i>E. coli</i> yükü ortalama miktarları (EMS kob/g) .....	48
Çizelge 4.3. Kontrol grubu ve salata sosu ile anlık dezenfekte edilen marul örneklerindeki toplam bakteri, <i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>S. aureus</i> yükü ortalama miktarları (kob/g) .....	52
Çizelge 4.4. Kontrol grubu ve salata sosu ile anlık dezenfekte edilen marul örneklerindeki koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve <i>E. coli</i> yükü ortalama miktarları (EMS kob/g) .....	53
Çizelge 4.5. Salata sosunun puanlama testine göre duyu özelliklerinin ortalama ve standart sapma değerleri ( $\bar{x} \pm SD$ ).....	55
Çizelge 4.6. Salata sosunun sözel hedonik skala testine göre panelistler tarafından değerlendirilmesi.....	55

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Çiğ ya da ısıtılmış işlem görmeden minimum düzeyde işlenmiş salatalar için akış şeması ve kritik kontrol noktaları .....	11
Şekil 2.2. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	17
Şekil 3.1. Araştırma yönteminin özeti .....	33
Şekil 3.2. Uygulanan dezenfeksiyon çözeltilerinin konsantrasyonları ve uygulama süreleri.....	36
Şekil 3.3. Soğuk salata sosu uygulaması ve değerlendirmeleri .....	38
Şekil 3.4. Koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve <i>E. coli</i> analizleri .....	41
Şekil 4.1. Dezenfektanların kontrol grubuna göre toplam bakteri yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (log kob/g) .....	47
Şekil 4.2. Dezenfektanların kontrol grubuna göre <i>Enterobacteriaceae</i> yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (log kob/g).....	46
Şekil 4.3. Dezenfektanların kontrol grubuna göre <i>S. aureus</i> yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (log kob/g) .....	47
Şekil 4.4. Dezenfektanların kontrol grubuna göre koliform bakteri yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g) .....	49
Şekil 4.5. Dezenfektanların kontrol grubuna göre fekal koliform bakteri yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g).....	50
Şekil 4.6. Dezenfektanların kontrol grubuna göre <i>E. coli</i> yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g).....	51
Şekil 4.7. Salata sosunun kontrol grubuna göre toplam bakteri, <i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>S. aureus</i> yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (log kob/g) .....	52
Şekil 4.8. Salata sosunun kontrol grubuna göre koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve <i>E. coli</i> yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g).....	54

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklamalar</b>
<b>mL</b>	Mililitre
<b>°C</b>	Santigrat
<b>L</b>	Litre
<b>m<sup>3</sup></b>	Metreküp
<b>kob</b>	Koloni oluşturan bakteri
<b>g</b>	Gram
<b>H</b>	Hidrojen
<b>O</b>	Oksijen
<b>α</b>	Alfa
<b>β</b>	Beta
<b>γ</b>	Gama
<b>log</b>	Logaritma
<b>%</b>	Yüzde
<b>K<sub>a</sub></b>	Asit iyonlaşma sabiti
<b>OH</b>	Hidroksit
<b>Na</b>	Sodyum
<b>K<sup>+</sup></b>	Potasyum
<b>μL</b>	Mikrolitre
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>ppm</b>	Milyonda bir
<b>dk</b>	Dakika
<b>mg</b>	Miligram
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Karbon tetraklorür
<b>p</b>	Anlamlılık düzeyi
<b>S</b>	Sayı
<b>SS</b>	Standart sapma
<b><math>\bar{x}</math></b>	Ortalama

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention (Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi)
<b>EFSA</b>	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
<b>LAB</b>	Laktik Asit Bakterileri
<b>HACCP</b>	Hazard Analysis Critical Control Points (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları)
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization (Uluslararası Standartlar Teşkilâtı)
<b>KKN</b>	Kritik Kontrol Noktaları
<b>EPA</b>	United States Environmental Protection Agency (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı)
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>M.Ö.</b>	Milattan Önce
<b>FDA</b>	US Food and Drug Administration (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi)
<b>GRAS</b>	Generally Recognized as Safe (Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen)
<b>ATP</b>	Adenozintrifosfat
<b>ADI</b>	Acceptable Daily Intake (Kabul Edilebilir Günlük Alım Miktarı)
<b>TS</b>	Türk Standardı
<b>PCA</b>	Plate Count Agar
<b>VRBG</b>	Violet Red Bile Glucose Agar
<b>EMS</b>	En Muhtemel Sayı Yöntemi
<b>LST</b>	Lauryl Sulphate Tryptose Broth
<b>BGLB</b>	Brillant-Green Lactose Bile Broth
<b>BPA</b>	Baird Parker Agar
<b>TSA</b>	Tryptic Soy Agar

## 1. GİRİŞ

Besin çeşitliliği açısından oldukça geniş bir yelpazeye sahip olan ülkemizde besin ögesi içeriği zengin, sağlık üzerinde olumlu etkiler gösteren ve biyoaktif bileşenleri yüksek oranda içeren taze sebze ve meyvelerin çoğuna rahatlıkla ulaşılabilmektedir. Günümüzde bireylerin sağlıklı beslenme konusunda farkındalık ve bilgi düzeylerindeki artışa bağlı olarak meyve ve sebze tüketimlerinde artan bir eğilim görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sağlığı geliştirmek ve kronik hastalık riskini azaltmak için günlük toplam sebze ve meyve tüketim önerisini 400 g veya 5 porsiyon olarak bildirmektedir [1, 2].

Sağlık açısından çok çeşitli yararları kanıtlanmış olan meyve ve sebzelerin toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda sunumu, özellikle gıda güvenliği açısından olası risklerin değerlendirilmesini ve izlenmesini gerektirir [3]. Sebze ve meyveler üretimden çatala kadar bazı tehlikeler ile bulaşa/kontaminasyona maruz kalmaktadır. Toprak nedenli olan bulaşlarda genellikle *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* tehlikelerine sık rastlanırken, insan ve fekal kaynaklı bulaşlarda ise *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* gibi mikroorganizmalar daha sık görülmektedir [4, 5]. Bakteriyel bulaşların önlenmesi ve riskin azaltılmasında pişirilmeden servise sunulacak olan sebzelerde ayıklama, yıkama, dezenfeksiyon ve son durulama aşamaları önemli kritik kontrol noktaları olarak değerlendirilmektedir [6].

Çiğ servis edilen gıdalarda en sıklıkla kullanılan dezenfektanların başında klor ve klorlu bileşikler gelmektedir. Klor ve klorlu bileşikler, istenilen dezenfeksiyon etkisini gösterebilmeleri, ekonomik ve nispeten kolay ulaşılabilir olmaları sayesinde sıklıkla tercih edilmektedir. Bununla birlikte mutfaklarda dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasallardan kaynaklı bulaşlar da gerek besinde kalıntı bırakma gerekse de besin işleyicilerinde bazı sağlık problemlerine neden olması bakımından önemli bir tehlike oluşturabilmektedir [7]. Bu nedenle son yıllarda yapısında doğal antimikrobiyal bileşikleri içeren çeşitli baharat ve bitkilerden elde edilen ekstraksiyon sıvılarının dezenfektan amacıyla kullanımı araştırılmaktadır. Bitki ve baharatların yapısında bulunan özellikle fenolik bileşiklerin güçlü bir antimikrobiyal etkinliğinin olduğu ve klora alternatif oluşturabileceği düşünülmektedir [8].

Bu çalışma; nane ve maydanoz ekstraktları ile sirke ve klorun marul yapraklarındaki mikrobiyal yüke etkisini belirlemek, araştırmacı tarafından nane ve maydanoz ekstraktları

temelli geliştirilen ve organoleptik özellikleri uygun bir salata sosunun servis aşamasındaki olası bulaşlara karşı etkinliğini değerlendirmek amacıyla planlanıp yürütülmüştür.

Bu çalışma aşağıda verilen hipotezler ve çıkarımlar üzerine planlanmıştır:

- Maydanoz ve nane ekstraktlarından elde edilen dezenfektan sıvısı ile dezenfekte edilen marul yapraklarının mikrobiyal yükünde belirgin bir azalma görülür.
- Farklı konsantrasyon ve sürelerde kullanılan sirkenin marul yapraklarındaki mikrobiyal yük üzerinde azaltıcı etkisi vardır.
- Maydanoz ve nane ekstraktlarından elde edilen doğal dezenfektan sıvısı klora benzer şekilde toplam bakteri, *Enterobacteriaceae*, *E. coli* ve *S. aureus* miktarında (log kob/g) azalmaya neden olur.
- Doğal dezenfeksiyon sıvısının mikrobiyal yük üzerinde etkinlik sağlayacak doz ve sürede kullanımı marul yapraklarının organoleptik özelliklerinde istenmeyen değişikliklere neden olmaz.
- Doğal bitki ekstraktlarından elde edilen salata sosu anlık dezenfeksiyon sağlar.



## 2. GENEL BİLGİLER

Günümüzde kentleşmenin artması, kadının iş hayatında daha fazla yer alması, kültürel değişimler, sanayideki gelişim, beslenmenin sosyal ve kültürel etkinliğinin artması gibi nedenler son yıllarda toplu beslenme hizmet sektöründe de hızlı bir ivmelenmeye neden olmuştur [9]. Bireylerin günde en azından bir ana öğününde bu hizmetlerden yararlanması ve günlük enerji ve besin öğeleri gereksiniminin en az beşte ikisinin karşılanma gerekliliği, toplu beslenme hizmeti verilen kurumlarda kaliteli hizmet anlayışının önemini ortaya koymaktadır [10]. Kaliteli bir toplu beslenme hizmetinin ana unsurlarından biri de güvenli gıda üretiminin sağlanmasıdır.

Güvenilir gıda ya da güvenli gıda, amaçlandığı biçimde hazırlandığında fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler itibariyle tüketime uygun ve besin değerini kaybetmemiş gıda olarak tanımlanmaktadır [11]. Günümüzde gıda güvenliği; tarladan alınan ürünün tüketicinin masasına gelene kadar geçirdiği tüm aşamalarda mevzuat ve yetkili otoriteler tarafından belirlenmiş standart önlemlerin alınarak olası tehlikelerin ve risklerin en aza indirilmesine yönelik yapılan tüm faaliyetleri içermektedir. Alınan önlemler, izleme ve kontrol yöntemleri ile besinlerdeki fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik bulaşların insan sağlığına zarar vermeyecek düzeye indirilmesi ve/veya tamamen ortadan kaldırılması hedeflenmektedir [12].

Birçok ülkede besinin daha güvenli hale getirilmesi için ulusal yasal düzenlemeler ile uluslararası kabul görmüş çeşitli gıda güvenliği sistemleri uygulanmasına karşın, halen her yıl milyonlarca insanın kontamine olmuş besinleri tüketmesi nedeniyle besin kaynaklı hastalıklara maruz kaldığı bildirilmektedir [13]. Besin kaynaklı tehlikelerin, toplumda özellikle riskli gruplarda ciddi sağlık problemlerine yol açabilmesi yanında, toplumda iş veriminin düşmesine ve ekonomik kayıplar oluşmasına da neden olması önemli sorunlar arasında yer almaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklar tüm dünyada önemli bir morbidite ve ekonomik kayıp nedenidir [14].

Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi'ne (CDC) göre her yıl gıda kaynaklı etkenler nedeniyle 48 milyon hastalık meydana gelmekte, bunların 9,4 milyonu bilinen patojenlerden kaynaklanmaktadır [15]. Patojen mikroorganizmaların başlıca bulaşma kaynakları arasında bitkiler yer almaktadır. Bitkiler toprak, su, hava, gübre ve hayvan gibi değişik kaynaklardan gelen mikroorganizmalar ile bulaşabilir. Genellikle bitkilerin florasında *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Corynebacterium*

ve *Micrococcus* cinslerine ait bakterilerle fekal *Streptokoklar*, koliform ve laktik asit bakterilerine sıklıkla rastlanır. Kanalizasyon karışmış sularla sulanan sebzelerde *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, diğer *Salmonella* cinsi bakteriler, *Shigella* ve *E.coli* bulunabilir [16]. Taze meyve ve sebzelerle ilişkili bulunan zehirlenme vakalarında 1973-1987 yılları arasında ortalama %4,3'lük bir artış görülmüş, 1988-1991 yılları arasında ise bu oran %9,75'lik bir artış ile iki katına çıkmıştır [17]. Avustralya'da da, 2001-2005 yılları arasında görülen tüm gıda zehirlenmeleri arasında taze besinlerin neden olduğu salgınların oranı %4 olarak bulunmuştur [18]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)'nin 2015 raporuna göre ise 2013 yılında %4,4 olan sebze ve sebze suları kaynaklı olarak görülen gıda zehirlenmelerinin oranınının 2014 yılı itibariyle %7,1'e çıktığı belirtilmektedir [19].

Günümüzde bireylerin beslenme tercihlerinin daha fazla taze sebze ve meyve tüketimine yönelmesi ile birlikte artan talep ve tüketim nedeniyle, özellikle çiğ tüketime yönelik servis edilen ve herhangi bir ısıtma işlemine tabii tutulmayan bu ürünlerin üretim proseslerinde risk değerlendirmesine göre kontrol önlemlerinin alınması son derece önemlidir. [20, 21].

## **2.1. Meyve ve Sebzelerin Doğal Mikroflorası ve Patojenlerin Bulaş Kaynakları**

Meyve ve sebzeler normalde patojenleri içermeyen doğal bir mikrofloraya sahiptir. Meyve ve sebzelerin doğal mikroflorası genellikle *Archobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* ve laktik asit bakterilerinden (LAB) meydana gelmektedir. Bazı durumlarda ise *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* ve *Enterococcus* gibi mikroorganizmalarda bulundurulabilirler. Sebzelerin yüzeyinde ise gram negatif saprofit bakteriler genellikle doğal olarak bulunabilmektedir. Ancak toprak, su, hava, hayvanlar, böcekler ya da tarım araç-gereçleri ile işleme sırasında kullanılan çeşitli ekipmanlar ve çalışan personel nedeniyle sebzeler patojen mikroorganizmalar ile kontamine olabilirler [22].

Üretim aşaması boyunca çeşitli amaçlarla kullanılan su taze besinler için önemli kontaminasyon kaynaklarından birini oluşturmaktadır. Bu nedenle toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda mutfaklarda her aşamada içilebilir nitelikte su kullanımı önerilmektedir [23]. Bu doğrultuda toplu beslenme sistemlerinde kullanılacak suyun mikrobiyolojik kalitesine ilişkin mevzuat gereği belirlenen limit değerler Çizelge 2.1'de gösterildiği gibidir ve kullanılan suyun kalitesinin kontrolüne ilişkin önerilen analiz sıklığı Çizelge 2.2'de verildiği gibidir.

**Çizelge 2.1.** İçme sularında bulunmasına izin verilen mikroorganizmalar ve limit değerleri [23]

<b>Parametre</b>	<b>Parametrik değer sayı/mL</b>
<i>E. coli</i>	0/250 mL
Enterokok	0/250 mL
Koliform bakteri	0/250 mL
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 mL
Anaerob sporlu sülfite redükte eden bakteriler	0/50 mL
Patojen Stafilokoklar	0/100 mL
Kaynaktan alınan numunede maksimum:	
22°C’de koloni sayımı	20/mL
37°C’de koloni sayımı	5/mL
*İmalathanede ambalajlandıktan sonra alınan numunede;	
22°C’de koloni sayımı	100/mL
37°C’de koloni sayımı	20/mL
Piyasada satılan ambalajlı sulardan alınan numunede maksimum:	İmalathane için
22°C’de koloni sayımı	belirlenen sınır
37°C’de koloni sayımı	değerin on katıdır.
Parazitler	0/5 L

\*İzin verilen maksimum sınır değer olmayıp rehber değerdir.

**Çizelge 2.2.** Bir dağıtım şebekesinden ya da bir tankerden sağlanan ya da gıda üretiminde kullanılan içme-kullanma amaçlı su için minimum numune alma ve analiz sıklığı [23]

<b>Bir su şebekesi bölgesi içinde her gün dağıtılan ya da üretilen suyun miktarı (m<sup>3</sup>)</b>	<b>Her yıl için kontrol izlemesi sayısı</b>	<b>Her yıl için denetleme izlemesi sayısı</b>
≤100	2	1
(>100)-(≤1000)	4	1
(>1000)-(≤10 000)	4	1
	1000 m <sup>3</sup> üzerindeki her 1000 m <sup>3</sup> /gün için 3 kontrol izlemesi daha ilave edilecektir.	1000 m <sup>3</sup> üzerindeki her 3300 m <sup>3</sup> /gün için 1 denetim izlemesi daha ilave edilecektir.
(>10 000)-(≤100 000)	31	3
	10.000 m <sup>3</sup> üzerindeki her 1000 m <sup>3</sup> /gün için 3 kontrol izlemesi daha ilave edilecektir.	10.000 m <sup>3</sup> üzerindeki her 10 000 m <sup>3</sup> /gün için 1 denetim izlemesi daha ilave edilecektir.
>100.000	301	10
	100.000 m <sup>3</sup> üzerindeki her 1000 m <sup>3</sup> /gün için 3 kontrol izlemesi daha ilave edilecektir.	100.000 m <sup>3</sup> üzerindeki her 25 000 m <sup>3</sup> /gün için 1 denetim izlemesi daha ilave edilecektir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğine göre yıkanmış, doğrama ve paketlenme işleminden geçmiş, ayrı ayrı veya karıştırılmış çiğ sebzeler ile dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler de *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 için kriterler 0 kob/25 g'dır. Tüketime hazır doğranmış meyve ve sebzeler de bulunabilecek maksimum *E. coli* düzeyi ise 10<sup>3</sup> kob/g olarak belirtilmiştir [24] (Çizelge 2.3).

**Çizelge 2.3.** Tüketime hazır gıdalar için mikrobiyolojik kriterler [24]

Gıda	Mikroorganizmalar	Numune alma planı		Limitler (kob/g-mL)	
		n*	c*	m*	M*
Yıkanmış, doğrama ve paketleme	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
işleminde geçmiş, ayrı ayrı veya karıştırılmış çiğ sebzeler ile dondurulmuş veya kurutulmuş sebzeler	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
	<i>E. coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-mL	
Kurutulmuş veya dondurulmuş meyveler	Maya ve küf	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Reçel, marmelat ve püreler	Maya ve küf	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Konserve meyve ve sebzeler	Ticari steril	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Tüketime hazır (pişirilmiş) her türlü et ve sebze yemeği vb.	<i>E. coli</i>	5	0	<10 <sup>1</sup>	
	<i>S. aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>B. cereus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
Tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb.	<i>E. coli</i>	5	2	<10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup>
	<i>S. aureus</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
	<i>L. monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
Tüketime hazır doğranmış meyve ve sebzeler	<i>E. coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>

\*n: Numune Sayısı, c: Limitlerde belirtildiği kadar üreme görülmesi gereken numune sayısı, m: Minimum üreme, M: maksimum üreme

Gıdalarda üretim prosesinin tamamı boyunca herhangi bir bulaş olup olmadığının kontrolünün yapılması aşamasında bütün mikroorganizmaların tek tek kontrol edilmesi olası bir durum değildir. Bu nedenle gıdalarda tehlike analizi ve risk değerlendirmesi yapılarak olası indikatör mikroorganizmalar belirlenir ve belirlenen bu mikroorganizmaların varlığı/yokluğu ile kontaminasyon durumu saptanır. [22].

İndikatör mikroorganizmalardan toplam mezofilik aerobik bakteriler genel bir hijyen göstergesi olarak kullanılmaktadır. Gıdada toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının fazla olması gıdanın uygunsuz hijyenik koşullarda işlendiği, saklandığı, taşındığı ve/veya servis edildiğinin bir göstergesidir. Mezofilik aerobik bakteri sayısı özellikle tüketime hazır salatalar, dondurulmuş gıdalar ve yeniden ısıtılarak servis edilen yiyecekler gibi riskli ve fazla işlem basamağından geçen yiyecekler için bir indikatör olarak kullanılabilir [25].

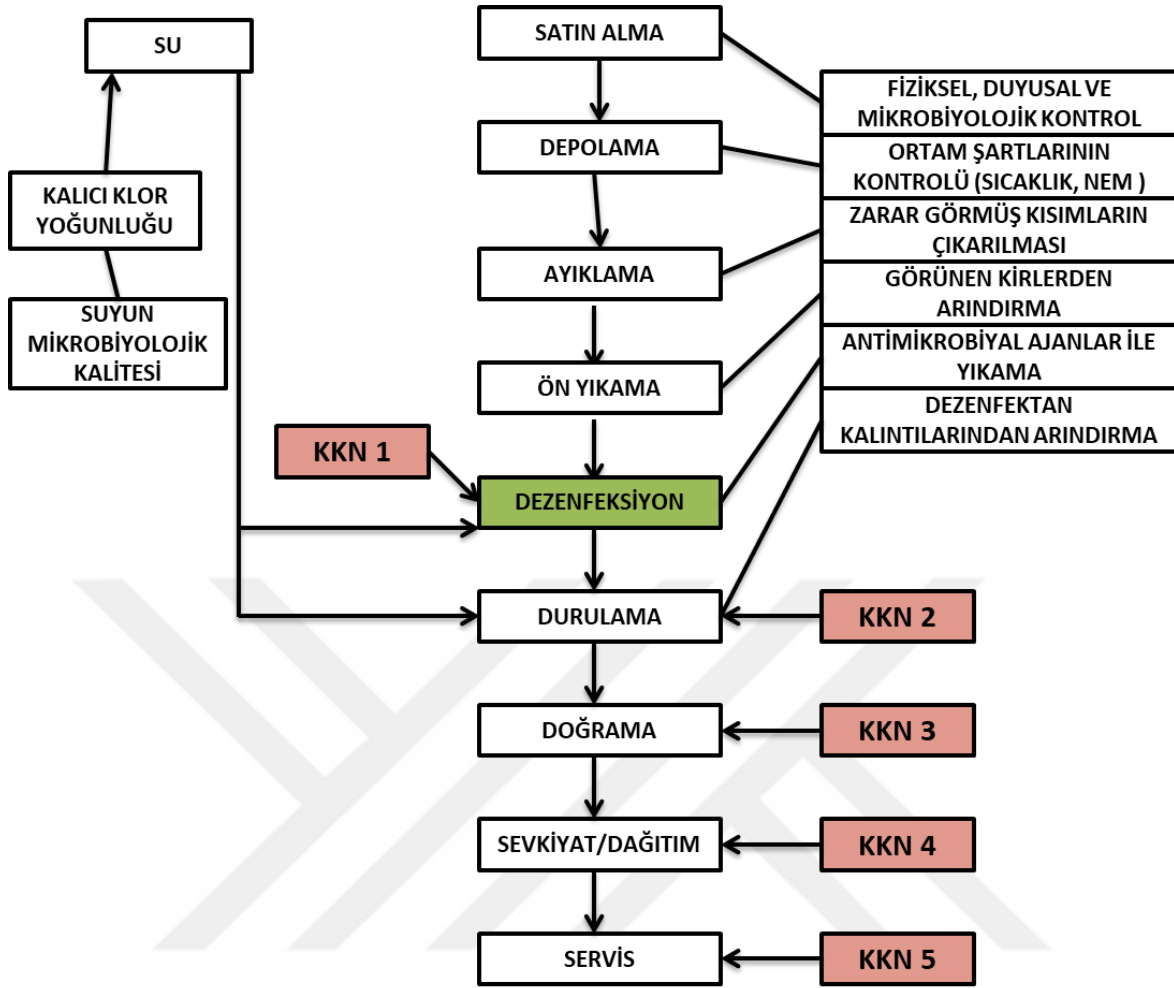
Bir diğer sıklıkla kullanılan indikatör mikroorganizma *Enterobacteriaceae* ve bu familyanın alt gruplarını oluşturan koliform bakteriler, fekal koliform bakteriler ve *E. coli*'dir. Bu bakteri grubu özellikle fekal kaynaklı bir kontaminasyonun önemli göstergeleridir. Gıdalar, hasat döneminde sulama sularının kontaminasyonundan, servis sırasında personelin yeterli hijyeni sağlayamaması nedeniyle gerçekleşebilecek kontaminasyona kadar çok geniş bir alanda fekal indikatör göstergeleri ile bulaşabilirler. Gıda üretiminin her aşamasında bu indikatörlerin kontrollerinin sağlanması ürünün hijyenik kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır [26].

Tüketime hazır gıdalarda özellikle üretim ve servis aşamasında personel kaynaklı kontaminasyonların belirlenmesinde *S. aureus* da sık kullanılan indikatör mikroorganizmalar arasında yer almaktadır. *S. aureus*, özellikle çiğ olarak tüketime sunulan ve ısıl işlem uygulanmayan sebzeler, meyveler ve salata gibi ürünlerde personel hijyen yetersizliğinin önemli bir göstergesidir [22].

Gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesinde genel olarak gıda üretiminde İyi Üretim Uygulamaları ve Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (HACCP)'nin gerekliliklerinin yerine getirilmesi, toplu yemek hizmetlerinde kişisel hijyen kurallarına uyulması ve tarladan çatala tüm gıda zincirinde hijyenik esaslara uyulması gerekmektedir [18]. Bunların yanı sıra, gıda güvenliğini sağlamak için ülkeler arası kabul edilen ve besin üretiminin her aşamasını kapsayan standartlar geliştirilmiştir. Bunlardan birisi olan ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri Standardı, gıda zinciri boyunca besin güvenliğini temin etmek için, sistem yönetimi, ön koşul programları, HACCP planları, besin güvenliği tehlikelerinin kontrolü ile sürekli iyileştirme ve yönetim sisteminin güncellenmesi dahil kabul görmüş ana unsurları birleştiren uluslararası bir standarttır [27]. Ülkemizde mevzuat gereği, HACCP sistemi, toplu besleme hizmeti veren kurumlarda hijyeni sağlamak amacıyla 2001 yılında, Avrupa Birliği komisyonu tarafından ortaklaşa

kabul edilen 2001/471/EC kararı ile üretim aşamalarında izleme ve kontrolün (kritik limitlerin) gıda güvenliğini sağlamak için zorunlu tutulduğu etkili bir gıda güvenliği yönetim sistemi olarak kabul edilmiştir [28].

HACCP, tüm gıda zinciri boyunca gıda güvenliğini sağlamaya yönelik, olası tehlikeleri önceden tanımlamak ve özellikle gıda güvenliği açısından risk teşkil eden riskli besinleri ilgili kritik noktalarda belirlenecek kontrol önlemleri ile izlemeyi amaçlayan bir sistemdir [29]. Bir toplu beslenme kurumunda HACCP sisteminin uygulamaya konulmasında izlenmesi gereken ilk yol, tehlike analizlerinin yapılmasıdır. Tehlike analizlerinin yapılması ile üretimin her aşamasında oluşabilecek potansiyel tehlikelerin tümü ortaya konmakta ve bu potansiyel tehlikelerin ortaya çıkma olasılıkları ile şiddeti göz önüne alınarak değerlendirilmesi yapılmaktadır [30]. Tehlike analizi yapıldıktan sonra kritik kontrol noktalarının belirlenmesi aşamasına geçilmektedir. Kritik kontrol noktaları (KKN), belirlenen bir tehlikenin tanımlanan kontrol ölçütleri kullanılarak önlenebildiği, azaltılabildiği ya da tamamen ortadan kaldırılabildiği aşamayı belirtmektedir. Bir basamağın kritik kontrol noktası olarak kabul edilebilmesi için gıda güvenliğini doğrudan etkilemesi gerekir [31]. Bu açıdan bakıldığında, toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda risk değerlendirme puanı ve karar ağacı verilerine dayanarak ısıtma işlem gören ürünlerde pişirme, soğutma ve yeniden ısıtma prosesleri üretim sürecinde olası tehlikeleri tamamen ortadan kaldırmak amacıyla izlenmesi gereken en önemli kritik kontrol noktalarından birisidir. Bununla birlikte ısıtma işlem uygulanmayan ve çiğ servis edilen ürünlerde ise (mevsim salataları gibi) iş akış şemalarına göre tehlike analizi yapıldığında en önemli kritik kontrol noktasının dezenfeksiyon aşaması olduğu bildirilmektedir (Şekil 2.1) [3]. Ayıklama ve yıkama proseslerinde sebzeler önce görünen fiziksel bulaşlardan arındırılır. Dezenfeksiyon aşamasında ise uygun doz ve sürelerde muamele edilen ürünlerde mikrobiyal bulaşların kabul edilmiş düzeye indirilmesi ve/veya tamamen ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır [17].



**Şekil 2.1.** Çiğ ya da ısıtılmadan işlenmiş salatalar için akış şeması ve kritik kontrol noktaları [17]

## 2.2. Sebze ve Meyvelerin Dezenfeksiyonunda Kullanılan Yöntemler

Toplu tüketim yerleri için iyi hijyen uygulamaları rehberine göre dezenfeksiyon; gıda maddelerine ve gıda ile temasta bulunan madde ve malzemelere bulaşmayı önlemek amacıyla, gıda maddelerinin ve gıda ile temasta bulunan madde ve malzemelerin özelliklerini etkilemeden fiziksel ve /veya kimyasal yollarla ortamdaki mikroorganizmaların arındırılması işlemi olarak tanımlanmaktadır. Gıda ve gıda ile temasta bulunan madde ve malzemelerin güvenilir hale getirilmesi amacıyla kullanılan dezenfektanlar Sağlık Bakanlığı'ndan onaylı olmalıdır [32].

Gıda üretimi yapan işletmelerde genel olarak kullanılan üç tip dezenfeksiyon işleminden bahsedilmektedir [33]:

- Fiziksel dezenfeksiyon
  - o Buhar ile yapılan dezenfeksiyon



- Sıcak su ile yapılan dezenfeksiyon
- Radyasyon yolu ile yapılan dezenfeksiyon
- Kimyasal dezenfeksiyon
  - Hücre zarına etki eden dezenfektanlar
  - Hücre proteinlerini denatüre eden dezenfektanlar
  - Mikroorganizmaların enzimlerinin işlevlerini bozan dezenfektanlar

Fiziksel dezenfeksiyon uygulamalarında uygulanan buhar ve sıcak su ile muamele sırasında ürünlerde yapısal olarak meydana gelen olumsuz değişiklikler nedeniyle toplu beslenme yapılan kurumlarda daha çok kimyasal dezenfeksiyon uygulamaları tercih edilmektedir. Kimyasal dezenfektanlar arasında ise en fazla tercih edilen klor ve klorlu bileşiklerdir. Uygun doz ve sürelerde kullanımda standart etkinlik göstermesinin yanı sıra geniş bir bakteriyel spektruma sahip, ucuz ve hafif kokulu olmaları da tercih edilme nedenleri arasında yer almaktadır. Bununla birlikte klor ve klorlu bileşikler aynı zamanda korozyon maddeleridir ve organik maddelerde kolay bozulurlar. Ayrıca klorinin organik bileşikleri parçalamadığı ve besin üzerinde kalıntı bıraktığı da saptanmıştır [34]. Klorun yüksek konsantrasyonda kullanıldığı dezenfeksiyon uygulamalarında çalışanların gözlerinde, deri ve akciğerlerinde tahrişe neden olduğu, ayrıca ekipmanlarda da aşınmalara ve lekelenmeye neden olabileceği bildirilmektedir. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, farklı pH ve klor konsantrasyonları 7 hafta boyunca gıda işletmelerinde kullanılan ekipman yüzeyleri üzerinde test edilmiştir. Çalışma sonucunda tüm yüzeylerde belirli oranlarda kütle kaybı varlığı belirlenmiştir. Ancak bakır ve karbon çelik yüzeylerdeki kütle kaybının alüminyum ve paslanmaz çelik yüzeylere oranla daha fazla olduğu bulunmuştur [35].

Dezenfeksiyon amaçlı kullanılan hipokloridinin, kloramin ve trihalometan gibi kalıntılar bırakarak sağlık riskleri oluşturduğu belirtilmektedir. Trihalometanların, kemirgenlerde tümör oluşumuna yol açtığı ve kanser oranlarının yükselmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiş ve Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından insanlar üzerinde kanser oluşturması muhtemel madde olarak sınıflandırılmıştır [36]. Epidemiyolojik bir çalışmada da trihalometanların konsantrasyonlarının kanser mortalite ve morbiditesi ile ilişkisi ortaya konulmuştur [37]. Muhtemel zararlı olan etkileri nedeniyle son yıllarda klora alternatif oluşturabilecek, kalıntı bırakmayan daha doğal dezenfektanların etkinlikleri üzerine odaklanılmıştır [3].

### 2.3. Doğal Antimikrobiyal Bileşikler

Doğal antimikrobiyal bileşiklerin gıdaların korunması amacıyla kullanımını ısı kaynaklı olmayan uygulamalar arasında sayılmaktadır. Mikroorganizmalarla kontamine olmuş gıdalarda doğal antimikrobiallerin kullanılması, olası sağlık risklerini ve yaşanabilecek ekonomik kayıpları azaltmak için uygun bir alternatif metot olarak görülmektedir. Doğal bitkilerden elde edilen antimikrobiyal bileşiklerin iyi bir metot olarak görülmesinin bir diğer nedeni de mikroorganizmaların bu bileşenlere karşı bir direnç mekanizması geliştirmemesidir. Tüketici talep ve beklentilerinde meydana gelen değişimlerin de toplu beslenme yapılan kurumlarda tercih edilen dezenfeksiyon uygulamalarında doğal dezenfektan kullanım eğiliminde artışa neden olacağı düşünülmektedir [38, 39].

Beslenme ile ilintili çeşitli kronik hastalıkların insidansındaki artış ile birlikte sağlık açısından bilinçli tüketicilerin önleyici ve/veya terapötik etkinliği olan besinlere olan talepleri ve bu doğrultuda doğal bileşiklerin içeriğinde bulunan biyoaktif bileşenlere olan ilgileri her geçen gün artmaktadır. Özellikle bitki ve baharatların içeriğinde bulunan polifenollerin antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve antikarsinogenik aktiviteleri son yıllarda araştırılan konular arasında yer almaktadır [40].

Antimikrobiyal bileşikler olarak adlandırılan maddeler genel olarak laboratuvarında elde edilen sentetik maddeler ve biyolojik sistemlerden elde edilen doğal antimikrobiyal bileşikler olarak iki ana grup altında sınıflandırılmaktadır [41]. Çizelge 2.4'de doğal olarak elde edilebilen antimikrobiyal maddelerin kaynağı gösterilmiştir.

**Çizelge 2.4.** Kaynağına Göre Başlıca Doğal Antimikrobiyal Bileşikler [41]

Kaynak	Örnek	Antimikrobiyal Ajan
Hayvanlar	Süt	Laktoperoksidaz, laktoferrin
	Yumurta	Lizozim, ovotransferrin, avidin
	Serum	Transferrin
Mikroorganizmalar	Laktik asit bakterileri	Nisin, pediosin, diğer bakteriosinler
	Diğer mikroorganizmalar	Pimarisin, subtilin, natamisin, diasetil Düşük molekül ağırlıklı metabolitler (etanol, reuterin, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> vb.) Organik asitler (sitrik, suksinik, tartarik, benzoik, malik vb.)
Bitkiler	Baharatlar, şifalı otlar	Alkaloidler (tomatin) Fenolik bileşikler (kafeik asit, ögenol, timol, sinamikaldehid vb.)
	Strese maruz kalan bitkiler	Fenolik bileşikler (gallotanin, ellagitanin vb.) Sülfoksitler (allisin vb.) Fitoaleksinler (Resveratrol, pisatin vb.) İsotiosiyanatlar

Bitki ve baharat ekstraktlarının özellikle esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkileri de dahil olmak üzere antik zamanlardan beri pek çok amaçla kullanıldığı bilinmektedir. Bitkilerin içeriğinde bulunan esansiyel yağların yapıları katı yağlara benzemez, genellikle oda sıcaklığında sıvı haldedir. Ancak katı yağlar gibi suda çok az çözünme yeteneğine sahiptirler. Esansiyel yağlar genellikle hoş bir kokuya ve kendine özgü tada sahiptirler. Baharatın tüm koku ve tat verici bileşenlerini içeren esansiyel yağlar, su buharı ile taşınabilen karışımlardır [42, 43]. Esansiyel yağlar genellikle distilasyon (buhar damıtma dahil), soğuk presleme veya ekstraksiyon (maserasyon) gibi koku çıkarma teknikleriyle hazırlanır. Esansiyel yağlar genellikle iki ana grup molekülde meydana gelirler. Bunlardan biri terpenler ve terpenoid kökenli moleküller diğeri ise aromatik ya da alifatik bir molekülden oluşmaktadır [44].

Esansiyel yağların etkinlik dereceleri pH, depolama sıcaklığı, oksijen düzeyi, esansiyel yağ konsantrasyonu ve içerdiği aktif bileşik miktarına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir [45, 46]. Limon ve tarçından elde edilen esansiyel yağların özellikle *S. enteritidis*, *E. coli* ve *Listeria innocua* üzerinde en etkili antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiği, hardaldan elde edilen esansiyel yağların ise *E. coli* O157:H7 ve *S. typhi* üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Keklik otunun esansiyel yağının da özellikle *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* ve *Saccharomyces cerevisiae*'ya karşı etkinlik gösterdiği belirtilmektedir [47, 48].

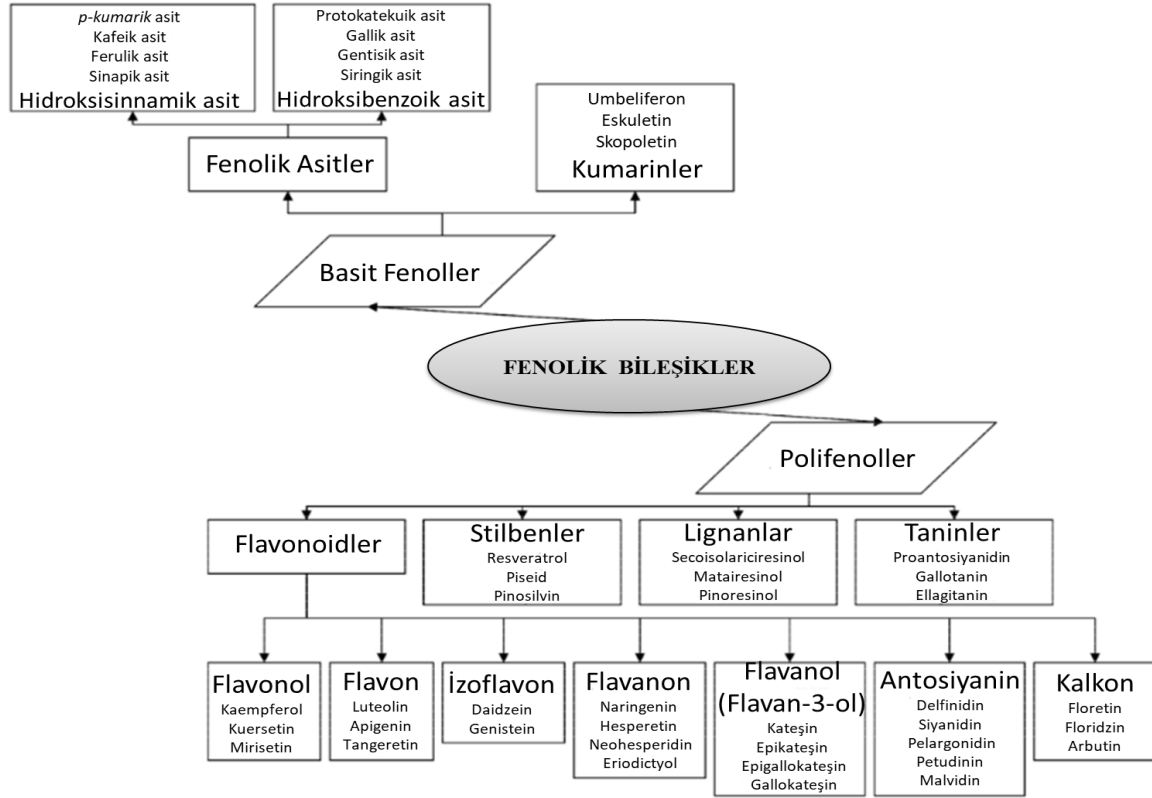
Yüzyıllardan beri antimikrobiyal etkinliği olduğu bilinen bitkilerin, ikincil metabolik ürünlerini araştıran bilimsel çalışmaların hız kazanması ile birlikte hem antioksidan hem de antimikrobiyal özelliği bulunan bileşiklerin etkinlikleri üzerinde daha sıklıkla durulmaya başlanmıştır. Kekik, karanfil, tarçın, sarımsak, kişniş, biberiye, maydanoz, limon, adaçayı ve vanilin tek başlarına ya da kombine kullanımları ile besinler üzerinde koruyucu etkinlik gösterebilmektedir [48]. Zencefil, karabiber, kırmızıbiber, kimyon ve köri tozu gibi bitkilerin ise diğer bitkilere göre daha düşük bir etkinlik gösterdiği belirtilmektedir. Bazı bitkilerin *Salmonella* ve diğer *Enterobacteriaceae* bakterileri üzerindeki etkinlik derecelerinin sınıflandırılması şu şekilde belirtilmektedir: karanfil > limon (Kaffir lime) kabuğu > kimyon > kakule > kişniş > muskat > topuz > zencefil > sarımsak > fesleğen > ıhlamur yaprakları. Keklikotu ve kekiğin esansiyel yağlarının belirgin şekilde bakterisidal ve bakteriostatik etkinliğinin olduğu ve *E. coli* O157:H7 üzerinde etkinliklerini 1 dakikalık dezenfeksiyon süresi ile gösterebildiği belirtilmektedir. Ayrıca keklikotu ve kekiğin antimikrobiyal özelliğinin defne ve karanfile göre daha fazla olduğu da belirtilmektedir [49].

Son yıllarda hayvanlardan, bitkilerden ve mikrobiyal kaynaklardan elde edilen çeşitli doğal antimikrobiyal bileşiklerin gıda endüstrisinde antimikrobiyal madde olarak kullanımı konusuna ilgi her geçen gün artmaktadır [50]. Gıda sanayii esansiyel yağların besinlerdeki koruyucu özelliklerinden pek çok alanda faydalanmaktadır. Et ürünleri, çorbalar, peynir, krema gibi ürünler, aromalandırılmış yağlar ve sirkeler, fermente sebzeler gibi ürünlerde özellikle çürükçül ve patojen mikroorganizmalara karşı gıda güvenliğini sağlamada bitkilerin esansiyel yağları veya ekstraktları sıklıkla tercih edilmektedir [51]. Diğer taraftan antimikrobiyal etkinliği oldukça yüksek olan bu ekstraktların aynı zamanda antioksidan içerikleri de oldukça yüksektir. Bu sayede özellikle oksidatif bozulmaya maruz kalarak tat ve koku bozulması oluşan ürünlerde oksidatif bozulmayı geciktireceği için gıdaların raf ömrünü uzatmaları da kullanım sıklıklarının artıran bir diğer neden olarak görülebilir [52].

Antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antiviral etkinliği olan bu esansiyel yağlar, genellikle fermantasyon, ekspresyon, ekstraksiyon veya buhar distilasyonu yoluyla bitkilerden izole edilirler. Esansiyel yağların antimikrobiyal etkinliği, mikroorganizma hücresindeki belirli spesifik hedeflere yöneliktir. Temel olarak, hidrofobik özelliği olan esansiyel yağlar, bakteri hücre membranına ve mitokondrisine penetre olarak membran yapısını ve permeabilitesini bozar. Bu durum ise mikroorganizma hücresinde iyon kaybını ve hücre içeriğinde sızıntıyı tetikleyerek kritik öneme sahip moleküllerin miktarını azaltır, bakterinin ölümüne neden olur. Esansiyel yağların içeriğindeki bileşikler arasında ise en kuvvetli antimikrobiyal etkiyi fenolik bileşiklerin gösterdiği belirtilmektedir [50].

#### **2.4. Fenolik Bileşikler**

Bitkilerin tamamı sekonder metabolitler olarak da adlandırılan ve aslında kendilerini dış etkenlerden kaynaklı zararlardan korumak amacıyla ürettikleri fenolik bileşikleri içerirler. Fenolik bileşikler genellikle bitkilerde algılanan kendine özgü tat, koku ve rengin oluşumunda etkin rol oynamaktadırlar. Bunun yanı sıra antimikrobiyal, antioksidan, antiviral etki göstermeleri ve enzim inhibisyonuna neden olmaları ve gıdalarda saflık kontrolleri sırasında kullanılmaları nedeniyle de büyük önem taşımaktadırlar. Fenolik bileşiklerin kimyasal anlamda basit sayılabilecek kimyasal yapıları vardır. Bu bileşikler genellikle tek bir fenol halkası ile bir ya da daha fazla hidroksil grubunun bir araya gelmesiyle oluşmuşlardır. Fenolik bileşiklere beslenme açısından taşıdıkları önem nedeniyle biyoflavonidler adı da verilmektedir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitleri, flavanoidleri ve esansiyel bileşikleri kapsamaktadır [40, 53]. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması Şekil 2.2’de gösterildiği gibidir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin sınıflandırılması ve kısaca aktivite mekanizmaları ise Çizelge 2.5’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması [54]

Çizelge 2.5. Bitkilerdeki fenolik bileşiklerin sınıflandırılması [55]

Fenolik bileşikler	Örnekler	Antimikrobiyal etki mekanizması
Basit fenoller	Katekol, Epikateşin	Substrat yoksunluğu Membran zararı
Fenolik asitler	Sinnamik asit	Yüksek oksidasyon yeteneği ile hücre yapısını bozma
Kinonlar	Hiperisinin	Hücre duvarının yapıları ile kompleks oluşturma, adhezine bağlanma, enzim inaktivasyonu
Flavonoidler	Krisin	Adhezine bağlanma
Flavonlar	Abyssinone	Hücre duvarının yapıları ile kompleks oluşturma Enzim inaktivasyonu HIV reversible transkriptazı inhibe etme
Flavonoller	Totarol	Bilinmiyor
Taninler	Ellagitannin	Proteinleri bağlama
Kumarinlar	Varfarin	Ökaryotik DNA ile etkileşim

Bitkilerden elde edilen bu antimikrobiyal bileşiklerin gösterdiği etkinlik, bileşiklerin kimyasal yapısına ve bileşiklerin konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bitki yapısında çok farklı kimyasal çeşitlilikte bulunabilen bileşikler arasında özellikle saponinler, flavonoidler, tiosülfınatlar, glikosinolatlar, fenolikler ve organik asitlerin antimikrobiyal etkinliği bilinmektedir. Bu maddeler arasında ise terpenler, alifatik alkoller, aldehitler, ketonlar, asitler ve isoflavanoidler gibi fenolik bileşiklerin en etkili antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Baharatlardan ve bitkilerden elde edilen antibakteriyel aktiviteye sahip 46 ekstraktta fenolik bileşiklerin varlığı kanıtlanmıştır (Çizelge 2.6) [56, 57].

Bitkilerden elde edilen ekstraktların özellikle *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella anatum* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmektedir. Antimikrobiyal etkinliği kanıtlanmış olan kırmızı lahananın bu etkisinin fenolik bir bileşik olan antosiyanin içeriğinden ileri geldiği, limondan ekstrakte edilen narenciye yağları, zeytinyağı (oleuropein), çay ağacı yağı (terpenoidler), portakal ve bergamot gibi bitkilerin de antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bildirilmektedir. Bununla birlikte son zamanlarda fenolik bileşik içermeyen ve hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı etkinlik gösterdiği belirtilen kekik, karanfil, tarçın, limon, sarımsak, kişniş, biberiye, maydanoz, misket üzümü ve adaçayı gibi bitkilerin varlığından da söz edilmektedir. Yapılan çalışmalarda alil izotiyosiyanat ve sarımsak yağı gibi bazı esansiyel yağların fenolik olmayan bileşiklerinin Gram negatif bakteriler üzerinde daha etkili olduğu bildirilmektedir [48, 58].

Saponin ve flavonoidler meyve, sebze, fındık, tohum, sap, çiçek ve yapraklarda bulunur. Bitkilerin kök, kabuk, yaprak ve odunsu kısımlarının ekstrakte edilmesi ile elde edilen saponin ve flavonoidler antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Diğer antimikrobiyal bileşiklerden tiosülfınatlar özellikle Gram negatif bakteriler üzerinde etkilidir. Hardal, lahana, karnabahar, brüksel lahanası, brokoli, turp gibi bitkilerin ikincil metabolitleri olarak kabul edilen glukozinolatların ise Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olmasının yanı sıra maya ve küfler üzerinde de antimikrobiyal etkinlik sergilediği görülmektedir [48].

**Çizelge 2.6.** Bitkilerin içeriğinde bulunan ve antimikrobiyal etkinlik gösteren bileşikler [41]

Bitki	İçerdiği antimikrobiyal bileşen
Yenibahar ( <i>Pimenta dioica</i> )	Öjanol
Fesleğen ( <i>Ocimum basilicum</i> )	d-linalol, metil kavikol
Karabiber ( <i>Piper nigrum</i> L.)	Monoterpenler, seskiterpenler
Defne ( <i>Laurus nobilis</i> L.)	Sineol
Tarçın ( <i>Cinnamomum zeylandicum</i> )	Trans – sinnamikaldehit
Karanfil ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	Öjanol, öjenil asetat
Kimyon ( <i>Cuminum cyminum</i> L.)	Kuminaldehit
Maydanoz ( <i>Petroselinum crispum</i> L.)	Alfa-pinen, fenol-eter-apiol
Hardal ( <i>Brassica hirta</i> , <i>B. nigra</i> )	Alil, izotiyosiyanat
Adaçayı ( <i>Salvia officinalis</i> L.)	Kafur, $\alpha$ -pinen, $\beta$ -pinen, 1,8-sineol, $\alpha$ -tuyon
Kekik ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Timol, karvakrol, $\gamma$ -terpinen, p-simen
Biberiye ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	$\alpha$ -pinen, bornil asetat, kafur, 1,8-sineol
Keklikotu ( <i>Origanum vulgare</i> )	Karvakrol, timol, $\gamma$ -terpinen, p-simen

## 2.5. Antimikrobiyal Etkinliği Bulunan Bazı Bitkiler

### 2.5.1. Maydanoz

Bugün Dünyanın her yerinde yaygın olarak yetiştirilebilen maydanozun esas kaynağı Akdeniz Bölgesi'dir. İçeriğinden elde edilen çeşitli özütlerle farklı alanlarda kullanımı (geleneksel tıp gibi) mevcuttur. Son yıllarda maydanozdan elde edilen ekstraktlar ve esansiyel yağ odaklı antimikrobiyal etkinliğinin üzerinde yoğun olarak durulmaktadır. Maydanozdan elde edilen esansiyel yağın temel kaynağı yaprak ve kök kısımlarıdır [59]. Yapraktan elde edilen esansiyel yağın içeriğinde  $\beta$ -elemen,  $\beta$ -karyofillen, fenilasetaldehyd,  $\gamma$ -elemene,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -thujen, toluen, kamfen, hekzanal,  $\beta$ -pinen, sabinen, 3-carene, m- ve/veya p-ksilen, mirsen,  $\alpha$ -felandren,  $\beta$ -felandren,  $\alpha$ -terpinen, limonen, 2-pentilfuran, cis- $\beta$ -osimen,  $\gamma$ -terpinen, trans- $\beta$ -osimen, p-simen,  $\alpha$ -terpinolen, p-1,3,8-menthatrien, cis-Hex-3-en-1-ol, 4-isopropenyl-1-methylbenzen,  $\alpha$ -kubeben, benzaldehit,  $\alpha$ -kopaen, kripton,  $\beta$ -bisabolen,  $\alpha$ -elemen, 2-(p-Tolil) propan-2-ol,  $\delta$ -kadinol ve elemisin bulunmaktadır [60]. Maydanozdan elde edilen ekstrakt ve esansiyel yağların özellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve



*Escherichia coli* üzerinde etkinlik gösterdiği belirtilmektedir [59]. Sığır etinden yapılan burger köfteleri üzerinde yapılan bir çalışmada, etler %1,2 oranında maydanozdan elde edilen esansiyel yağ ile muamele edilerek 4°C'de 4 gün süreyle depolanmıştır. İlk günün sonundaki ölçümlerde etlerin *E. coli* içeriğinin 2,5 log kob/mL azaldığı gözlenmiştir [61]. Nitrat ile muamele edilmiş sosislerde, 120 ppm maydanoz ekstraktı kullanımının 28 günlük bir depolama sonucunda *L. monocytogenes* gelişimini sadece nitrat içeren kontrol grubuna göre belirgin şekilde azalttığı belirtilmiştir [62].

Pek çok bitkide olduğu gibi maydanozun da antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, anti tümör ve karaciğer koruyucu etkisi gibi önemli metabolik etkinlikleri fenolik madde içeriğine dayanır. Maydanoz ekstraktı monomerlerden kompleks polimerik tanenlere kadar pek çok farklı fenolik bileşiği barındırır (Çizelge 2.7) ve ekstraktının çıkarılması aşamasında fenolik madde içeriğini de etkileyebilecek farklı işlemler uygulanır (öğütme, ekstraksiyon, konsantrasyon, hidroliz ve numune türetme işlemi gibi) [63]. Özellikle işleme sırasında uygulanan sıcaklık, işlenen ürünün parça büyüklüğü, çözücü ve çözünen madde miktarlarının oranı gibi koşullar fenolik madde içeriğini birincil derecede etkilemektedir. [64].

**Çizelge 2.7.** Ticari olarak üretilmiş maydanoza ait esansiyel yağın içeriği [63]

<b>Bileşik</b>	<b>Yapraktan elde edilen yağ (%)</b>	<b>Tohumdan elde edilen yağ (%)</b>
Apiol	0,27	18,32
Elemisin	2,71	4,84
1,3,8-p-Menta-trien	16,41	0,12
Mirisein	4,24	0,22
Miristin	11,92	39,65
$\alpha$ -Fellandren	0,51	0,12
$\beta$ -Fellandren	6,48	2,14
$\alpha$ -Pinen	26,42	15,73
$\beta$ -Pinen	18,04	10,01
Sabinen	1,1	0,64
Terpinolen	2,52	0,01
2,3,4,5-Tetrametoksialilbenzen	0,72	7,82

Maydanoz ekstraktının herhangi bir akut toksisitesi bildirilmemiştir [59]. Ancak domuzlar üzerinde, muhtemelen kumarin kaynaklı olarak, fotodermatite neden olduğu belirtilmektedir [65].

### 2.5.2. Nane

Yapılan arkeolojik araştırmalarda kurutulmuş nane yapraklarının Antik Mısır'da kullanımına rastlandığı gösterilmiştir ki; bu durum aslında nanenin çeşitli amaçlarla kullanımının M.Ö. 1000 tarihlerine kadar uzandığının bir göstergesidir. Günümüzde halen naneden elde edilen esansiyel yağ, geleneksel tıpta, antitümör, antimikrobiyal, antialerjenik olması ve böbrek üzerine olan olumlu etkileri nedeniyle sindirim bozuklukları ve sinir sistemi rahatsızlıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Modern tıpta da analjezik, anestetik, antiseptik, astringent (kan pıhtılaştırıcı), karminatif (gaz giderici), dekonjestan (kan toplanmasını giderici), balgam söktürücü, yatıştırıcı, mide koruyucu amaçlarla inflamatuvar hastalıklar, ülser ve mide problemleri başta olmak üzere pek çok alanda kullanılmaktadır. Nane esansiyel yağı, diş macunu, çiğneme tütünü, ağız spreyi, parfüm, analjezik balsam, şekerleme, öksürük şurubu, sakızlar, şekerler ve tütün endüstrisinde de hammadde olarak kullanılmaktadır [66, 67]. Bunların yanı sıra hayvanlarda büyümeyi destekleyici etkileri olduğu bildirilmektedir. Broiler tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada naneden elde edilen esansiyel yağın büyümeyi destekleyen antibiyotiklerin yerine kullanılıp kullanılamayacağı araştırılmış, çalışma sonucunda diyete eklenen nanenin büyüme performansını olumlu yönde etkilediği ve bu nedenle antibiyotikler yerine alternatif olarak kullanımının değerlendirilebileceği belirtilmiştir [68].

Nane esansiyel yağı genellikle mentol (% 50), menton (% 10-30), mentol esterleri (% 10'a kadar), diğer monoteren türevlerinden (pulegon, piperiton, menthofuran) ve fenolik bileşiklerden (flavonoidler gibi) oluşur [69] (Çizelge 2.8). Naneden elde edilen özellikle esansiyel yağın bakteriler üzerinde geniş spektrumda inhibitör etkisi ile antimikrobiyal madde olarak da kullanıldığı bildirilmektedir. Nanenin içerisinde bulunan temel antimikrobiyal maddeler olan mentol ve mentonun Gram negatif, Gram pozitif bakteriler ile maya ve küflere karşı etkinlik gösterdiği belirtilmektedir [70].

**Çizelge 2.8.** Naneden elde edilen esansiyel yağın bileşimi [66, 70]

Bileşik	Yapraktan elde edilen yağ (%)
1,8-Sineol	4,6
Menton	25,9
Mentol	35,6
Mentilasetat	3,55
Karyofillen	2,17
Karveon	3,8
Neomenthol	3,8
Limonen	3,29

Nane özellikle *Aspergillus niger*, *Rhizopus solani*, *Alternaria alternate*, *Pseudomonas syringe*, *Xanthomonas campestris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı etkin bir antimikrobiyal özellik göstermektedir. Bunun yanı sıra yapraklardan elde edilen ekstrakt ile yapılan dezenfeksiyonun gövde kısmından elde edilen ekstrakta göre özellikle Gram negatif bakteriler üzerinde daha etkili olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada naneden elde edilen esansiyel yağın *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde inhibitör etkinliğini gösterebildiği minimum dozun 1 µL/mL, *B. cereus*'a karşı ise 0,25 µL/mL olduğu bulunmuştur [70].

Tavuklu noodle ile yapılan bir çalışmada öncelikle tavuklar kıyma haline getirilmiş, sonra üzerine 1 g/100 g nane esansiyel yağı, 3 g/100 g tuz, 0,3 g/100 g tetra sodyum pirofosfat, 4 g/100 g rafine bitkisel yağ ve 40 g buğday unu eklenerek karıştırılmıştır. Sonrasında örnekler noodle şekline getirilmiş, 12 dakikalık hızlı soğutmaya tabi tutulmuş ve sonrasında da nem dengesini sağlayabilmek adına 60°C'de 9 saat boyunca bekletilmiştir. Bu prosedüre uygun şekilde hazırlanan noodle örnekleri 35°C'de 60 gün boyunca depolanmıştır. Depolama süresi sonunda herhangi bir dezenfeksiyon uygulanmamış kontrol grubuna göre nane esansiyel yağı ile dezenfekte edilen tavuklardaki toplam bakteri miktarı kıyaslandığında örneklerin toplam bakteri içeriğinin çok düşük olduğu ve 60 gün sonunda maksimum 1,63 log kob/g olduğu belirtilmiştir [71]. *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'un saf kültürleri üzerinde yapılan bir çalışmada ise 30 günlük bir depolama süreci boyunca nane esansiyel yağının antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Çalışma sonucunda 20 günü aşan bir süre içerisinde nane esansiyel yağının antibakteriyel etkinliğini koruduğu,

içerisine herhangi bir esansiyel yağ eklenmemiş kültür örneklerine göre de bakteri üremesinin anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur [72].

### 2.5.3. Sirke

Sirkenin antimikrobiyal özellikleri ile ilgili ilk bilimsel çalışmalar 19. yüzyıla kadar uzanmaktadır. Sirkenin ana bileşenlerinden olan ve antimikrobiyal etkisi çok eski yıllardan beri bilinen asetik asit, besinlerde özellikle mayalara ve bakterilere karşı koruyucu etki göstermektedir. Bunun yanı sıra sirkede bulunan fenolik bileşikler de antimikrobiyal aktiviteyi destekleyici nitelik taşımaktadır. Çizelge 2.9’da farklı sirke çeşitlerinin içeriğinde bulunan fenolik bileşikler gösterilmiştir [73]. Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından “genel olarak güvenilir/zararsız kabul edilen maddeler” (Generally Recognized As Safe (GRAS)) listesinde de yer alan asetik asidin antimikrobiyal etkinliği asit iyonlaşma sabiti ( $K_a$ ) derecesine, ortam pH’sına, ortam sıcaklığına, kullanılan diğer antimikrobiyal ajanlara ve hedef mikroorganizmanın türüne bağlı olarak değişebilmektedir [1]. Parçalanmamış formda olması ve ortam pH’sının asidik olması asetik asidin antimikrobiyal etkinliğini artırmaktadır. Ancak üründe istenmeyen tat ve koku oluşumuna neden olabileceği için genellikle besinlere %0,1-1 oranlarında ilave edilir [74].

Yapılan bir çalışmada, pH değeri 3 olan, % 6 asetik asit içeren sirke ile 5 dakika yıkanan marul örnekleri 5°C’de 7 gün boyunca modifiye atmosferde depolanmıştır. Yedi günün sonunda başlangıç yükü 5-6 log kob/g olan *E. coli* O157:H7 içeriğinin yalnızca musluk suyu ile yıkanmış marul örnekleri ile kıyaslandığında 4,3 log kob/g’a kadar azalma gösterdiği saptanmıştır [1]. Marul yaprakları üzerinde asetik asidin kullanıldığı bir başka çalışmada ise, %0.25 oranında kullanılan asetik aside 10 dakika süresince maruz bırakılan maruldaki mezofilik aerobik bakteri sayısında 5,08 log kob/g, toplam koliform bakteri sayısında ise 2,69 log kob/g azalma görülmüştür [75]. Yapılan bir başka araştırmada da %4 oranında asetik asit içeren sirke ile muamele edilen ve 5°C’de 24 saat bekletilen maydanoz örneklerinde *Salmonella* Typhimurium miktarında 1,25 log kob/g azalma olduğu görülmüştür [4].

**Çizelge 2.9.** Farklı sirke çeşitlerinin içeriğinde bulunan fenolik bileşikler [73]

Sirke çeşidi	İçerdiği fenolik bileşik
Elma Sirkesi	Gallik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kaffeik asit, <i>p</i> -kumarik asit
Üzüm Sirkesi	Gallik asit, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kaffeik asit, siringik asit, ferulik asit
Şeri Sirkesi	Gallik asit, protokateşuik asit, protokatekaldehit, tirosol, <i>p</i> -OH-benzoik asit, kateşin, <i>p</i> -OH-benzaldehit, siringik asit, vanillin, kaftarik asit, <i>cis-p</i> -koutarik asit, <i>trans-p</i> -koutarik asit, fertarik asit, kafeik asit, <i>cis-p</i> -koumarik asit, <i>trans-p</i> -koumarik asit, <i>i</i> -ferulik asit, ferulik asit
Balsemik Sirke	Furan-2-karboksilik asit, 5-hidroksifuran-2-karboksilik asit, 4-hidroksibenzoik asit, vanillik asit, protokatekuik asit, siringik asit, isoferulik asit, <i>p</i> -koumarik asit gallik asit, ferulik asit, kaffeik asit

## 2.6. Bitkilerden Elde Edilen Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Açından Aktivite

### Mekanizması

Bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal etki mekanizması temelde esansiyel yağların bakterinin hücre membranına ve mitokondrisine penetre olmasına olanak sağlayan hidrofobik yapısından ileri gelmektedir. Bu penetrasyon membran yapısını bozarak geçirgenliği artırmaktadır. Geçirgenlikte görülen bu artış sonucunda hücre içindeki iyonlar ve diğer hücre içeriği dışarı sızmaya başlar. Hücre içeriğinde büyük öneme sahip olan maddelerin dışarı sızması bakteri hücrelerinin canlılığını tehlikeye düşürür. Bitkilerin esansiyel yağlarında bu etkiye sahip en önemli maddeler olarak fenolik bileşikler gösterilmektedir [76].

Fenolik bileşikler bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin temelini oluşturur. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivite gösterdiği kanıtlanmış olmasına rağmen bunu nasıl gerçekleştirdiklerine dair mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Ancak mikrobiyal hücre permeabilitesini bozduğu ve bu şekilde hücre içinde makro molekül kaybına neden olarak

antimikrobiyal aktivite gösterdiğini savunan görüşler bulunmaktadır. Bir diğer hipotez ise fenolik bileşiklerin membran fonksiyonlarını ve membran proteinlerini etkilediği, bu şekilde membranın yapı ve fonksiyonunu bozduğu ileri sürülmektedir. Genel olarak bitkilerdeki fenolik bileşikler, mikroorganizmaların enzim sistemine zarar vermekte ya da membran geçirgenliğini (hücre içi esansiyel maddeler olan Na, glutamat, K<sup>+</sup> gibi maddelerin hücreye girişini azaltarak ya da aşırı derecede artırarak) bozmaktadır [21].

Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler içerisindeki flavonlar, flavonoidler ve flavonollerin mikrobiyal bir etkene cevap olarak salgılanan ilk bileşiklerden olduğu bilinmektedir. Bu bileşiklerin çok geniş aralıkta mikroorganizmayı etkileme yetenekleri mevcuttur. Antimikrobiyal etkilerinin bakteri hücre duvarı ve çözünür proteinleri ile kompleks oluşturabilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra diğer bir fenolik bileşik olan kinonlar, nükleofilik amino asitler ile birlikte geri dönüşsüz bir bileşik oluşturarak protein inaktivasyonuna ve fonksiyon kaybına yol açar. Bir başka fenolik bileşik olan taninler de bakteriler için toksik etki gösterebilirler. Bu etkinliğini ise hücre duvarına etki ederek hücrede büyümeyi ve proteaz aktivitesini engelleyerek gerçekleştirir [40].

Hücre duvarı ve zarına zarar verme antimikrobiyal etkinlikte en fazla gözlenen özellikler arasında yer almaktadır. Antimikrobiyal bileşikler özellikle Gram negatif bakterilerde lipopolisakkarit yapısını etkileyerek zar geçirgenliğini değiştirir ve bu sayede hücreden önemli metabolit ve ATP kaybına neden olurlar. Antimikrobiyal ajanlar hücre içinde sitoplazma membranını da benzer şekilde etkileyebilmektedir [44]. Çalışmalar incelendiğinde antimikrobiyal olarak keklikotunun bakteri hücre duvarında beyaz noktalar ya da delikler oluşturduğu gözlenmiştir [77]. Başka bir çalışmada ise keklikotunun bakteri büyümesini engellediği, hücre zarının geçirgenliğini ve membran elektrik yükünü değiştirdiği gözlenmiştir [78]. Kekik kullanımında ise bakteri hücre duvarının zarar görmesiyle hücrede sitoplazma kaybı olduğu gözlenmiştir [79].

Timol, ögenol ve karvakrolün hücre zarını bozduğu, ATP-az aktivitesini inhibe ettiği, ardından hücre içi adenosin trifosfat ve diğer hücre bileşenlerinin salındığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra karvakrol ve timolün, yağ asidi zincirleri arasındaki fosfolipid tabakanın çözünmesine neden olarak membran geçirgenliğini artırdığı belirtilmektedir [80]. Ayrıca fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etkinlik olarak aromatik yapıdaki çekirdeğe alkil eklemesi gerçekleştirebildiği de düşünülmektedir. Ancak miristin gibi daha stabil

durumdaki fenoliklerin, alkil ikamesine neden olan fenoksil radikallerinin salınımını gerçekleştirmediği için böyle bir etkiye neden olamayacağı da öne sürülmektedir[38].

Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisi ile ilgili olarak, hidroksil grupları gibi fonksiyonel grupların elektron delokalizasyonunu desteklediği, bakteriyel hücrelerin sitoplazmik membran boyunca pH'ı azaltan proton değiştiriciler olarak işlev yapabildiği de gösterilmiştir. Bu durumun da protonu harekete geçiren güçte bir azalmaya neden olacağı, ATP havuzunun tükenerek hücre ölümünü hızlandıracağı düşünülmektedir [81].

Esansiyel yağ asitlerinin hücre membranı üzerindeki bir diğer etkisi toksin salınımını inhibe etmesi yönündedir. Bu durum özellikle *S. aureus* ve *B. cereus* açısından önem taşımaktadır. Esansiyel yağ asitleri ile muamale edilen *B. cereus*'da toksin üretiminin baskılandığı [82], *S. aureus*'da ise enterotoksin üretiminin tamamen durdurulduğu belirtilmektedir [83]. Esansiyel yağ asitleri fosfolipid tabakaya zarar vererek bakterinin çevreye toksin salgılamasını sağlayan trans membran transport sistemini sınırlandırdığı için toksin salınımının da inhibe olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda hücre içinde ATP ve proton taşıyıcı sistemlerin de sınırlanması toksin üretimini engelleyen etmenler arasında yer almaktadır [44]. Bakteriler prokaryotik hücrelerdir. Prokaryotik hücrelerin özelliği olarak da enerji üretimini hem hücre duvarında hem de sitozolde glikoliz yardımıyla gerçekleştirirler. Bu nedenle hücre duvarında ve hücre zarında görülen herhangi bir bozulma hücrenin tüm enerji dengesini de bozmaktadır [84].

Esansiyel yağ asitleri ile karşılaşan bakteri hücrelerinde görülen değişimlerden bir diğeri ise pH'da görülen belirgin azalmadır ki; esansiyel yağ asitlerinin membranda protonları bloke etmesi nedeniyle kapasitesinin azalması bu duruma neden olabilmektedir. Hücrenin pek çok önemli faaliyeti gerçekleştirebilmesi için (DNA transkripsiyonu, protein sentezi, enzimatik aktivasyon) pH'nın belirli bir dengede tutulması gerekliliği düşünüldüğünde pH'da yaşanan bu düşüş bakteri canlılığını olumsuz yönde etkilemektedir [44].

Çeşitli fenolik bileşiklerin kombine şekilde kullanımının sinerjik etkiye neden olacağı ve tek başına kullanıma göre daha etkin bir antimikrobiyal aktiviteye neden olacağı belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada aktif durumdaki laktoferrinin biberiye ile birlikte kullanımında antimikrobiyal etkinliğinin 2-3 kat arttığı gözlenmiştir [21]. Başka bir çalışma ise keklkotuna eklenecek kekiğin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkinliği destekleyici bir özelliğinin olduğu belirtilmiştir [85]. Fenolik bileşiklerin etkinliği

kullanılan konsantrasyon düzeyine bağlı olarak değişiklik göstermektedir Düşük konsantrasyonda kullanıldığı zaman fenolik bileşikler enzimler üzerinde aktivite gösterirken, yüksek konsantrasyonda kullanıldığında ise protein denatürasyonuna neden olmaktadır [55].

## 2.7. Doğal Bileşiklerin Antimikrobiyal Özelliklerini Etkileyen Faktörler

Doğal bileşiklerin antimikrobiyal özellikleri botanik kaynağı, hasat zamanı, bitkinin gelişim evresi, ekstraksiyon metodu, bitkinin bileşimi, yapısı ve içeriğindeki doğal bileşikler de dahil olmak üzere pek çok etkenden etkilenmektedir.

### 2.7.1. Besinin özellikleri

Besin bileşimi, besinin gördüğü işlemler ve depolama koşulları antimikrobiyal bileşiklerin özelliklerini etkileyen en önemli etmenler arasında yer almaktadır. Örneğin, kekik, karanfil ve yenibahardan elde edilen esansiyel yağların peptonlu suda *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal özelliği bulunmasına karşın, besindeki uygulamasına bakıldığında besin bileşiminin antimikrobiyal olarak kullanılan madde ile etkileşime girmesi nedeniyle bu etkinin azalabildiği bildirilmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda esansiyel yağların *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *B. cereus* ve *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal özellik gösterdiği bununla birlikte besinlerde çok daha yüksek konsantrasyonlarda esansiyel yağlar kullanıldığında bu etkilerin gözlenebildiği ortaya konmuştur [86-88].

Besinlerin içerdiği makro ve mikro besin öğeleri de antimikrobiyal özelliği etkileyebilmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle et ve balıklarda ürünlerin yağ içeriği arttıkça kullanılan antimikrobiyal ajanların etkinliğinin azaldığı gösterilmiştir [89, 90]. Peynirlerin üzerinde esansiyel yağlar ile yapılan bir çalışmada da, düşük yağlı peynirlerde görülen antimikrobiyal etkinliğin yüksek yağlı peynirlere göre daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır [91]. Yağ içeriğinin düşük olması nedeniyle özellikle esansiyel yağların en iyi antimikrobiyal etkinliğinin sebzeler üzerinde görülebileceği de belirtilmektedir. Protein içeriği yüksek besinlerde ise kullanılan antimikrobiyal maddenin proteinler ile kompleks yapabileceği öngörüldüğü için yeterli dezenfeksiyon etkisi sağlanamayacağı düşünölmektedir [86].

Bunun yanı sıra özellikle sıvı yapıdaki gıdalarda mikrobiyal yükün dağılımı da homojen bir yapı gösterdiği için antimikrobiyal bileşiklerin çok daha iyi etkinlik gösterdikleri belirlenmiştir. Besinlerin daha heterojen bir yapıya sahip olmaları ise hem besinin her



yerindeki mikrobiyal yükün aynı olmamasına neden olduğu, hem de pH dengesini değiştirdiği için antimikrobiyal ajanın etkinlik derecesini de azaltabileceği düşünülmektedir [41].

### 2.7.2. Kullanılan antimikrobiyal maddenin özellikleri

Kullanılan antimikrobiyal maddelerin birbirleri ile ya da organik asitler ile kombine şekilde kullanımının tek başlarına kullanımına göre daha iyi bir etki gösterdiği belirtilmektedir [1, 45]. Bununla birlikte yapılan bir başka çalışmada selamotu/kekik ve fesleğen/kekik ekstratlarının kombine şekilde kullanımlarında antagonist bir etki gösterdiği belirlenmiştir [92]. Bitkinin içerisinde bulunan belirli fenolik bileşiklerin ayrıştırılarak tek başına kullanımındansa bitkinin içerisinde bulunan fenolik bileşiklerin kombine şekilde kullanımının antimikrobiyal ve antioksidan etki açısından daha etkin olduğu da belirtilmektedir [93].

### 2.7.3. Mikroorganizmanın özellikleri

Bitkilerin antimikrobiyal özellikleri incelendiğinde, Gram pozitif bakteriler üzerinde olan inhibitör etkinin Gram negatif bakterilere göre çok daha yüksek olduğu görülmektedir [48]. Buna neden olarak ise Gram negatif mikroorganizmaların hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit tabakanın koruyuculuğu gösterilmektedir. Gram negatif bakterilerin sahip oldukları bu tabakanın makromoleküllerin ve hidrofobik bileşiklerin penetrasyonunu engelleyebildiği düşünülmektedir. Esansiyel yağların hidrofobik bileşikler olduğu göz önüne alındığında, Gram negatif bakterilerin esansiyel yağlara karşı kendilerini daha fazla koruyabildikleri bilinmektedir [8, 94]. Fesleğen, kekik, rezene, maydanoz, biberiye gibi birçok bitkiden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, *L. monocytogenes*'in esansiyel yağlara karşı en fazla hassasiyeti gösterdiği, buna karşın *Pseudomonas spp.*'in en fazla direnç gösteren mikroorganizmalar olduğu belirlenmiştir [7].

Bazı bitkisel ekstraktlar özellikle belirli mikroorganizmalar üzerinde etkili olmaktadır. Örneğin; yapılan bir çalışmada fesleğen, zencefil ve rezenenin *S. aureus*'a karşı, yine zencefil ve rezenenin *E. coli*'ye karşı da antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada antimikrobiyal etkinliğin her mikroorganizmada farklı konsantrasyonlarda gerçekleştiği, *E. coli* için kekik yağının minimum inhibitör konsantrasyonunun 0,93 µL/mL, *S. aureus* için ise 3,75 µL/mL olduğu gösterilmiştir [95].

#### 2.7.4. Diğer etkenler

Doğal antimikrobiyal bileşikler üzerinde pH değeri etkili olmaktadır. Düşük pH değerleri (< pH 5) doğal antimikrobiyal bileşiklerin özellikle *L. monocytogenes* üzerinde en iyi etkiyi gösterebilmesini sağlar. pH değerlerinin düşmesi esansiyel yağların hidrofobik özelliklerini artırır ve bu durum hedef bakterilerin hücre zarındaki lipidlerin çözünmesini kolaylaştırır [45].

Bazı durumlarda ortam koşullarının esansiyel yağın elde edilen miktarını azaltabileceği ve yağın içeriğini de değiştirebileceği söylenmektedir. Ortamın NaCl içeriğinin fenolik bileşiklerin miktarını olumlu ya da olumsuz etkileyeceği belirtilmektedir. Polifenol sentezi genellikle ortamın tuzluluk derecesi gibi stres faktörleri nedeniyle uyarılmaktadır. Özellikle tuzlu ortama toleransı yüksek olan bitkilerde sekonder polifenol sentezinin artacağı belirtilmektedir. Diğer taraftan ise tuzlu ortama toleransı düşük olan bitkilerde durum tersine dönecek ve polifenol sentezi olumsuz yönde etkilenecektir [96, 97].

Antimikrobiyal etkinliği etkileyen bir diğer faktör ise ortam sıcaklığı ve oksijen miktarıdır. Yapılan bir çalışmada özellikle 37°C'de doğal antimikrobiyal bileşiklerin 4°C ve 21°C'ye göre en iyi performansı gösterdiği bulunmuştur [98]. Ortam oksijen miktarının özellikle esansiyel yağlarda oksidasyonu etkilemesi nedeniyle antimikrobiyal etkinlikle ters orantılı olduğu söylenmektedir. Düşük oksijenli ortamlarda esansiyel yağda gerçekleşecek oksidasyon reaksiyonları daha az olacağı için oksidatif değişikliklerin de azalacağı ve dolayısıyla esansiyel yağın antimikrobiyal etkinliğinin de daha yüksek olacağı belirtilmektedir [95].

Ekstraksiyonu yapılan bitkinin coğrafi orijini, yetiştiği bölgenin iklim koşulları, toprağın bileşimi, ekstraksiyonun yapıldığı bitki kısmı, bitkinin yaşı veya yetiştiği mevsim gibi pek çok etken de antimikrobiyal özelliği etkilemektedir [99].

#### 2.8. Aromatik Bitkilerin ve Bitki Ekstraktlarının Toksikolojisi

Aromatik bitkiler, uzun zamandan beri, gıdaların hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmalarına rağmen, henüz kabul edilebilir günlük alım miktarı (ADI) veya gözlenen olumsuz etki gibi tipik toksikolojik bulguları yoktur [100]. Bitkilerden elde edilen ve ikincil metabolit olarak adlandırılan esansiyel yağlar, GRAS listesindeki bileşikler arasında kabul edilmektedir. Bu nedenle doğal antimikrobiyal bileşikler, dezenfeksiyon amacıyla kimyasal ajanların kullanımına karşın iyi bir alternatif olarak düşünülmektedir [101, 102].

## 2.9. Bitkilerin Ekstraksiyonu ve Arıtılması

Doğal antimikrobiyal ajanların kullanımında özellikle gıdaların raf ömrünün uzatılması ve patojen mikroorganizmaların sayısının azaltılması veya elimine edilmesi amaçlanmakta ve bu sayede gıdalarda kalite artırılmaya çalışılmaktadır. Ancak bu doğal antimikrobiyal ajanların kullanımlarında daha fazla etkinlik gösterebilmeleri için iyi bir ekstraksiyona ve arıtmaya tabi tutulmaları gerekmektedir. Bu amaçla sıklıkla kullanılan yöntemler buhar distilasyonu ya da hidrodistilasyondur. Bunun yanı sıra, iyi bir çözünürlük sağlayan süper kritik akışkan ekstraksiyonu gibi alternatif metotlar da bulunmaktadır. Meyve ya da sebzeler üzerinde uygulanacak işlemlerde basit bir yöntem olan direkt ekstraksiyon yöntemi tercih edilirken, diğer bir basit yöntem olan su ekstraksiyonu ise tohum ve yapraklardan fenolik maddelerin ayrılması amacıyla sıklıkla kullanılır. Ekstrakt çıkarma aşamasında yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılan yöntemlerden birkaç tanesi aşağıda özetlenmiştir [86, 103, 104].

**Demleme ile Ekstraksiyon:** Yıkılarak temizlenmiş 5 g bitki örneği 100 mL kaynar suya konular ve 5 dakika boyunca karışıma ısı uygulanmadan oda sıcaklığında bırakılır. 5 dakikanın sonunda suyun üzerinde kalan parçacıklar Whatman no.1 filtresi ile süzülür. Hazırlanan ekstrakt kullanılabildiği kadar 4°C’de muhafaza edilir.

**Hidrasol ile Ekstraksiyon:** Yıkayıp temizlenmiş 10 g bitki örneği küçük parçalar halinde doğranır. Doğranan bitki örnekleri 2 kez distile edilmiş 100 mL suyun içerisine konular ve 1 saat boyunca hidrodistilasyona tabi tutulur. Bir saatin sonunda bitkideki esansiyel yağ ayırtmak amacıyla soğutma buharı kullanılır. Ayrılan esansiyel yağ karışımı filtreden geçirilerek, steril ve ışık almayan bir şişe içerisinde 4°C’de depolanır.

**Kaynatılarak Ekstraksiyon:** Yıkayıp temizlenmiş 10 g bitki, tekrar soğutma sisteminin kullanıldığı bir düzenek ile 100 mL su içerisinde 1 saat boyunca kaynatılır. Bir saatin sonunda hazırlanan karışım filtreden geçirilir. Yeterli soğutma işlemi uygulandıktan sonra 4°C’de depolanır.

**Çözücü (Solvent) Ekstraksiyon:** Bir katı-sıvı ekstraksiyon yöntemidir. Çözücü olarak metanol, etanol ve hekzan kullanılabilir. Genellikle bitkilerden alınan 100 g örnek yıkayıp kurutulduktan sonra organik çözücünün içerisine atılır. İyi bir süspansiyon elde edebilmek için 48 saat boyunca bir çalkalayıcıda bekletilir. 48 saatin sonunda kurutma

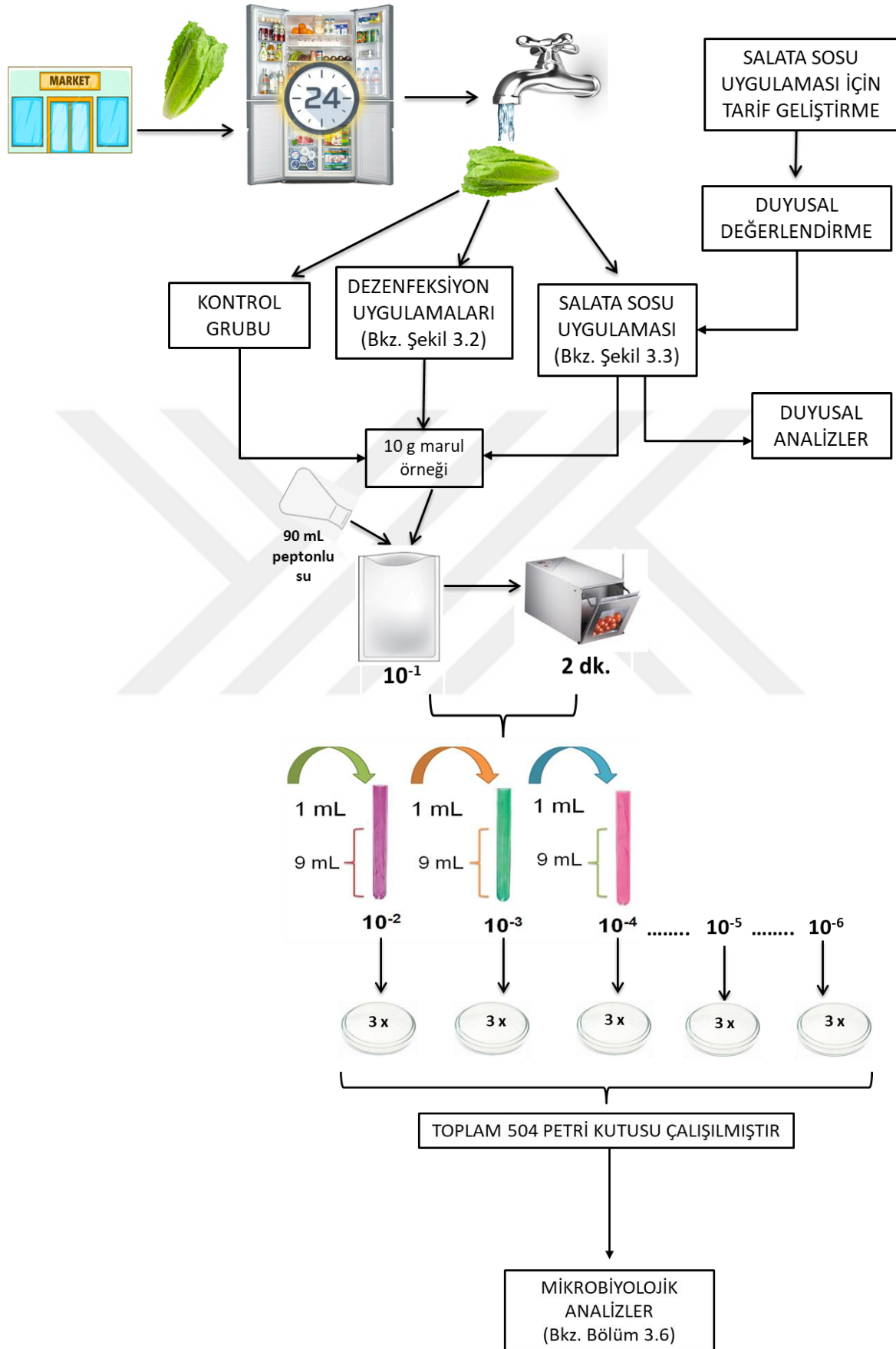
kağıdında süzülür. Kalan çözücüü uzaklaştırabilmek için evaporatör kullanılır. İşlem tamamlandıktan sonra distile su içerisinde tekrar süspanse edilerek 4°C’de saklanır.



### 3. YÖNTEM

#### 3.1. Araştırma Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

Araştırma kapsamında dezenfeksiyon uygulamalarının yapılacağı besin örneği olarak marul seçilmiştir. Toplu beslenme sistemlerinde marul minimum işleme tabi tutularak, sıklıkla salata olarak servis edilen ve kurumlarda dezenfeksiyonu amacıyla genellikle klor kullanılan bir üründür. Analizi yapılacak olan marul örneklerinin analizler öncesinde temin edilmesi ve analizlerin gerçekleştirilmesi Şubat 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında yapılmıştır. Araştırma süresince yapılan işlemlerin özeti Şekil 3.1'de verilmiştir. Marul örnekleri herhangi bir ayırım gözetmeksizin bizzat araştırmacı tarafından yerel bir marketten temin edilmiştir. Çalışma öncesinde yerel marketten bir kök marul (*Lactuca sativa* L. Var. *Longifolia* - Romaine cinsi) alınmış örneklerin seçiminde TS ISO 874'de (Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standardı) belirtilen numune alma kriterleri göz önünde bulundurulmuştur (EK-1). Satın alma işlemi sırasında marullarda bulunan mevcut mikrobiyal yükü değiştirmemek için lateks tek kullanımlık steril eldivenler kullanılmış ve örnekler hava almayan steril plastik torbalar içerisinde konularak, laboratuvara soğutucu çantalar içerisinde mümkün olan en kısa sürede taşınmıştır. Araştırma analizleri Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırma yönteminin özeti

### 3.2. Alınan Numunelerin Analize Hazırlanması

Satın alınarak en kısa sürede laboratuvara ulaştırılan marul örnekleri analize kadar en fazla 24 saat süresince 4°C sıcaklığındaki buzdolabında saklanmıştır. Marul örneklerinde çapraz bulaşı önlemek için örneklerin depolandığı buzdolabında başka herhangi bir ürün depolanmamıştır. Dezenfeksiyon işlemi öncesinde zedelenmiş yapraklarından ayıklanan marul örnekleri musluk suyu ile yıkanmıştır. Sonra analize alınacak olan marul örneklerinin her birinden 10 g tartılmıştır. Örneklerin tartım işlemleri Tetra Precisa XB serisi marka, 0.0001 g duyarlı hassas terazide yapılmıştır. Kontrol grubu örneklerinde musluk suyu ile yıkama sonrası herhangi bir ile yapılmamıştır. Diğer örnekler ticari olarak satın alınan bitki ekstraktları (nane ve maydanoz), sirke ve klor çözültisi ile dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmuştur.

### 3.3. Araştırma Aşamaları

Araştırma 4 aşamalı yürütülmüştür:

#### 3.3.1. Araştırma birinci aşaması

Birinci aşamada dezenfeksiyon sıvılarının uygulama doz ve sürelerinin belirlenmesine yönelik bir ön çalışma yürütülmüştür. Çalışmanın dezenfeksiyon süre ve dozlarının belirlendiği başlangıç aşamasında sirkenin piyasada bulunan %2, %4 ve %6 asetik asit içeren 3 farklı formu kullanılmıştır. Bu amaçla farklı asetik asit içeren sirkeler ile bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Ön çalışma sonucuna göre; %2'lik asetik asit içeren sirkede 5 dakikalık uygulama ile toplam bakteri miktarında 3,27 log kob/g, 15 dakikalık uygulama ile ise 3,05 log kob/g azalma görülmüştür. Uygulama %4'lük asetik asit içeren sirke ile yapıldığında 5 dakikada 2,99 log kob/g, 15 dakikada 2,89 log kob/g azalma görülmüştür. Asetik asit içeriği %6 olan sirkede ise 5 dakika sonunda toplam bakteri miktarının 2,87 log kob/g, 15 dakika sonunda da 3,02 log kob/g azaldığı belirlenmiştir. Asetik asit içerikleri farklı sirkeler ile yapılan dezenfeksiyon uygulamaları sonucunda toplam bakteri miktarında görülen azalma düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ( $p=0,36$ ) (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Sirke ile dezenfeksiyon uygulaması sonucu toplam bakteride görülen azalma miktarları

Uygulama		Toplam bakteri miktarı (kob/g)	Toplam bakteri miktarı (log kob/g)	Toplam bakteri miktarında azalma (log kob/g)
<b>%2 asetik asit içeren sirke</b>	Kontrol	$2,43 \times 10^7$	7,38	-
	5 dakika	$1,30 \times 10^4$	4,11	-3,27
	15 dakika	$2,14 \times 10^4$	4,33	-3,05
<b>%4 asetik asit içeren sirke</b>	Kontrol	$5,82 \times 10^5$	5,76	-
	5 dakika	$6,00 \times 10^2$	2,78	-2,99
	15 dakika	$7,50 \times 10^2$	2,87	-2,89
<b>%6 asetik asit içeren sirke</b>	Kontrol	$3,19 \times 10^5$	5,50	-
	5 dakika	$4,27 \times 10^2$	2,63	-2,87
	15 dakika	$3,02 \times 10^2$	2,48	-3,02

Bu ön çalışma sonuçlarına göre araştırmanın ilk aşamasında, alınan marul numunelerinin dezenfeksiyonu amacıyla, piyasada en sık bulunan sirkelerden %4 asetik asit içeren sirkenin kullanılmasına karar verilmiştir. Sirke uygulama miktarı 50 mL/L olarak belirlenmiştir.

Klor için daha önce araştırmacı tarafından yapılan bir çalışmada [105] etkinliği kanıtlanmış olan 200 ppm/L uygulama dozu seçilmiştir. Bu doz uygulaması ayrıca sahada sıklıkla tercih edilen uygulama miktarıdır.

Dezenfektan amacıyla kullanılan, solvent ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanmış nane ve maydanoz ekstraktları ticari olarak satın alınmışlardır. Antimikrobiyal etkinlikleri için seçilen miktarlar 50 mL/L olup, bu miktarların seçilmesinde daha önceden konuyla ilgili yapılmış çalışmalar referans alınmıştır [75, 106]. Literatür bilgileri doğrultusunda uygulamaların yapılmasına karar verilmiştir.

Dezenfektanların tamamının belirtilen dozları kullanılarak 5 ve 15 dakika süreyle kullanılmasına karar verilmiş, süre uygulamalarında da yine daha önce yapılmış araştırmalardan yararlanılmıştır [106, 107].



### 3.3.2. Araştırma ikinci aşaması

Çalışmanın ikinci aşamasında dezenfeksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Marul örneklerinin dezenfeksiyonunu sağlamak amacıyla klor, nane ekstraktı, maydanoz ekstraktı ve sirke olmak üzere dört farklı dezenfektan kullanılmıştır. Dezenfeksiyon işlemleri sırasında her bir çalışma için 10 g marul örneği kullanılmıştır. Tüm dezenfeksiyon işlemleri yanan bek alevi etrafında yapılmıştır. İşlemler sırasında hazırlanan tüm dezenfeksiyon sıvılarının pH ölçümleri HORİBA LAQUAtwin marka pH metre yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

#### Kullanılan Dezenfektanlar

**Toz klor:** Araştırmada dezenfektan olarak ECOLAB marka toz klor kullanılmıştır. Toplu beslenme yapan kurumlarda kullanım kolaylığı sağlaması açısından daha sıklıkla toz klor tercih edilmektedir. Kullanılan toz klorun ürün bileşiminde %5-15 klor bazlı ağartıcı ve fosfat bulunmakta olup pH 7,5-8,5'dir. Klor çözeltileri 200 ppm konsantrasyonda hazırlanmıştır. Yüz gramlık hazır toz klor paketinden Tetra Precisa XB serisi marka, 0,0001 g duyarlı hassas terazide 200 ppm klor tartılmıştır. Tartılan toz klor, önceden %70'lik alkol ile dezenfekte edilen cam kabın içerisine alınarak 1 litreye tamamlanmıştır. Dezenfeksiyon işlemi 200 ppm dozda 5 ve 15 dakika olmak üzere iki farklı sürede gerçekleştirilmiştir.

**Maydanoz ekstraktı:** Maydanoz ekstresi suda çözünür şekliyle ticari (Alfasol®) olarak satın alınmıştır. Maydanoz ekstraktının solvent ekstraksiyon (hekzan) yöntemi ile hazırlandığı firma beyanından öğrenilmiştir. Üretici firmadan maydanoz ekstraktının içerdiği fenolik madde içeriği ile ilgili bir bilgi alınamamıştır. Dezenfeksiyon amacıyla 50 mL maydanoz ekstraktı mezür yardımıyla alınarak %70'lik alkol ile dezenfekte edilen cam kabın içerisinde bulunan 1 litre suya eklenmiştir. Dezenfeksiyon işlemi 5 ve 15 dakika olmak üzere iki farklı sürede gerçekleştirilmiştir.

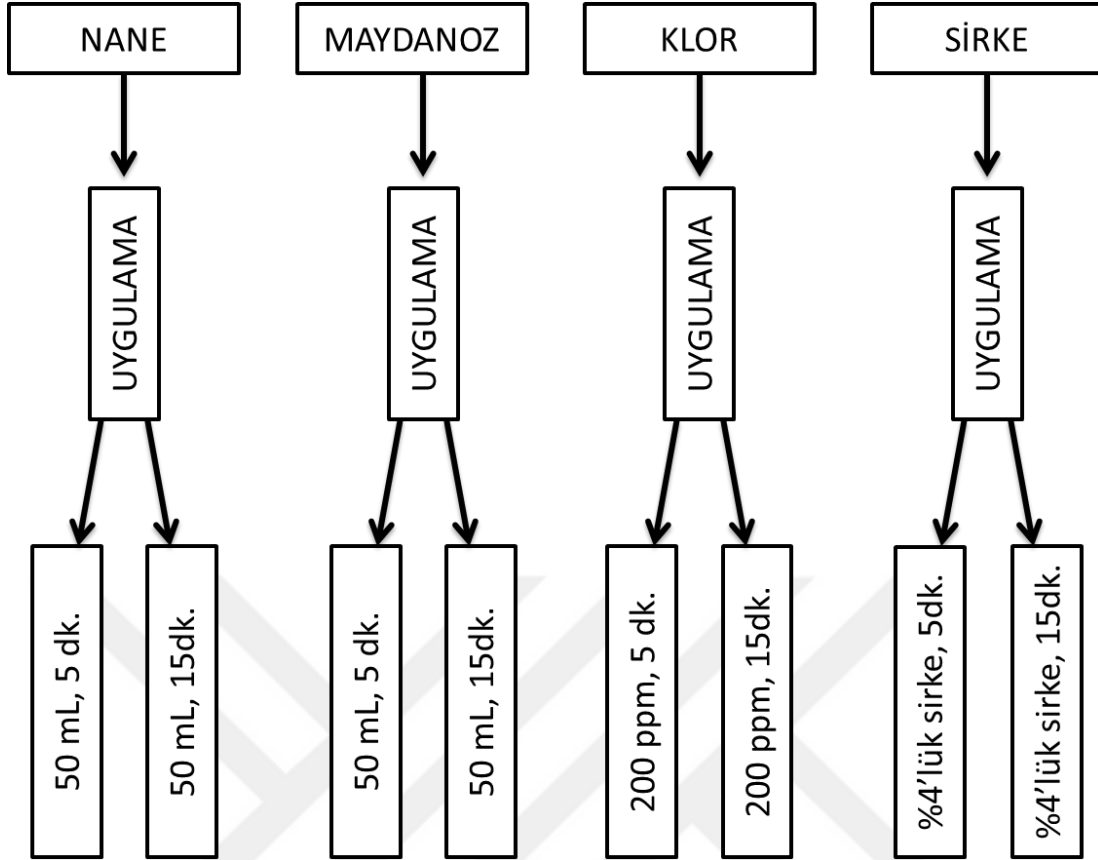
**Nane ekstraktı:** Nane ekstresi suda çözünür şekliyle ticari (Alfasol®) olarak satın alınmıştır. Nane ekstraktının solvent ekstraksiyon (hekzan) yöntemi ile hazırlandığı firma beyanından öğrenilmiştir. Üretici firmadan nane ekstraktının içerdiği fenolik madde içeriği ile ilgili bir bilgi alınamamıştır. Dezenfeksiyon amacıyla 50 mL nane ekstraktı mezür yardımıyla alınarak %70'lik alkol ile dezenfekte edilen cam kabın içerisinde bulunan 1

litre suya eklenmiştir. Dezenfeksiyon işlemi 5 ve 15 dakika olmak üzere iki farklı sürede gerçekleştirilmiştir.

**Sirke:** Asetik asit içeriği %4 olan ve ticari olarak satılan üzüm sirkesi çalışmada dezenfektan olarak kullanılmıştır. Dezenfeksiyon amacıyla 50 mL sirke mezür yardımıyla alınarak %70'lik alkol ile dezenfekte edilen cam kabın içerisinde bulunan 1 litre suyu eklenmiştir. Dezenfeksiyon işlemi 5 ve 15 dakika olmak üzere iki farklı sürede gerçekleştirilmiştir.

### Dezenfeksiyon İşlemleri

Araştırma örneklerinde çalışma grubu olarak farklı dezenfeksiyon sıvıları (nane, maydanoz, klor ve sirke) kullanılmış, farklı süre ve dozda olmak üzere toplam 8 çalışma grubu hazırlanmıştır (bkz. 3.5. Mikrobiyolojik Analizler İçin Örneklerin Homojenize Edilmesi ve Dilüsyon Serilerinin Hazırlanması). Çalışma grubundaki marul örnekleri musluk suyu ile yıkama işlemi uygulandıktan sonra Şekil 3.2'de belirtildiği ve yukarıda anlatıldığı gibi dezenfeksiyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Kontrol grubu örneklerinde ise sadece muslukla yıkama işlemi uygulanmıştır. İşlemler sonrasında kontrol grubundaki ve çalışma gruplarındaki marullarda toplam bakteri, *Enterobacteriaceae*, koliform bakteri, fekal koliform bakteri, *E. coli*, *S. aureus* analizleri yapılmıştır (bkz. 3.6. Mikrobiyolojik Analizler).



**Şekil 3.2.** Uygulanan dezenfeksiyon çözeltilerinin konsantrasyonları ve uygulama süreleri

### 3.3.3. Araştırma üçüncü aşaması

Çalışmanın üçüncü aşamasında nane ve maydanoz ekstraktlarından elde edilen ve organoleptik özellikleri duyuşal analiz değerlendirmesi ile belirlenen serviste kullanılabilir bir sos üretimi yapılmıştır. Kendisine has keskin tadı, kokusu ve yüksek asitliği nedeniyle sos üretiminde sirke kullanılmamıştır. Doğrudan tüketilebilir bir doz elde etme düşüncesi nedeniyle de sosta klor dışlanmıştır.

Çalışma öncesinde sosun içerisine konulacak nane ve maydanoz ekstraktları miktarlarının çalışmanın ikinci aşamasında kullanılan miktarlar olması planlanmıştır. Bu doğrultuda ilk sos denemeleri yapılmış ve akademik düzeyde çalışan 5 uzman diyetisyen tarafından tadımı yapılmıştır. Tadım sırasında maydanoz ekstraktının keskin kokusu ve metalik tadının marulun tüketilebilirliğini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Sos üretiminin bundan sonraki aşamalarında maydanoz ekstraktı nedeniyle yaşanan bu olumsuz durum giderilmeye çalışılmış, bu nedenle sos; tarçın, şeker ve nar ekşisi eklenerek tüketilebilir duruma getirilmeye çalışılmıştır. Nane ekstraktı ile ilgili herhangi olumsuz bir durum görülmediği için nane ekstraktının miktarı dezenfeksiyon işlemlerinde kullanılan

düzeyinde bırakılmıştır. Devam eden süreçte, pek çok kez tekrarlayan sos üretimi denemelerine devam edilmiş ve elde edilen tüm soslar 5 kişilik uzman diyetisyenler grubu tarafından da her seferinde tadılarak organoleptik açıdan değerlendirilmiştir. Yapılan denemeler ve tadımlar sonucunda organoleptik açıdan en beğenilen sos içeriği aşağıda belirtildiği gibidir:

### **Üretilen Salata Sosunun İçeriği**

4 mL maydanoz ekstraktı

50 mL nane ekstraktı

50 mL nar ekşisi

4 g şeker

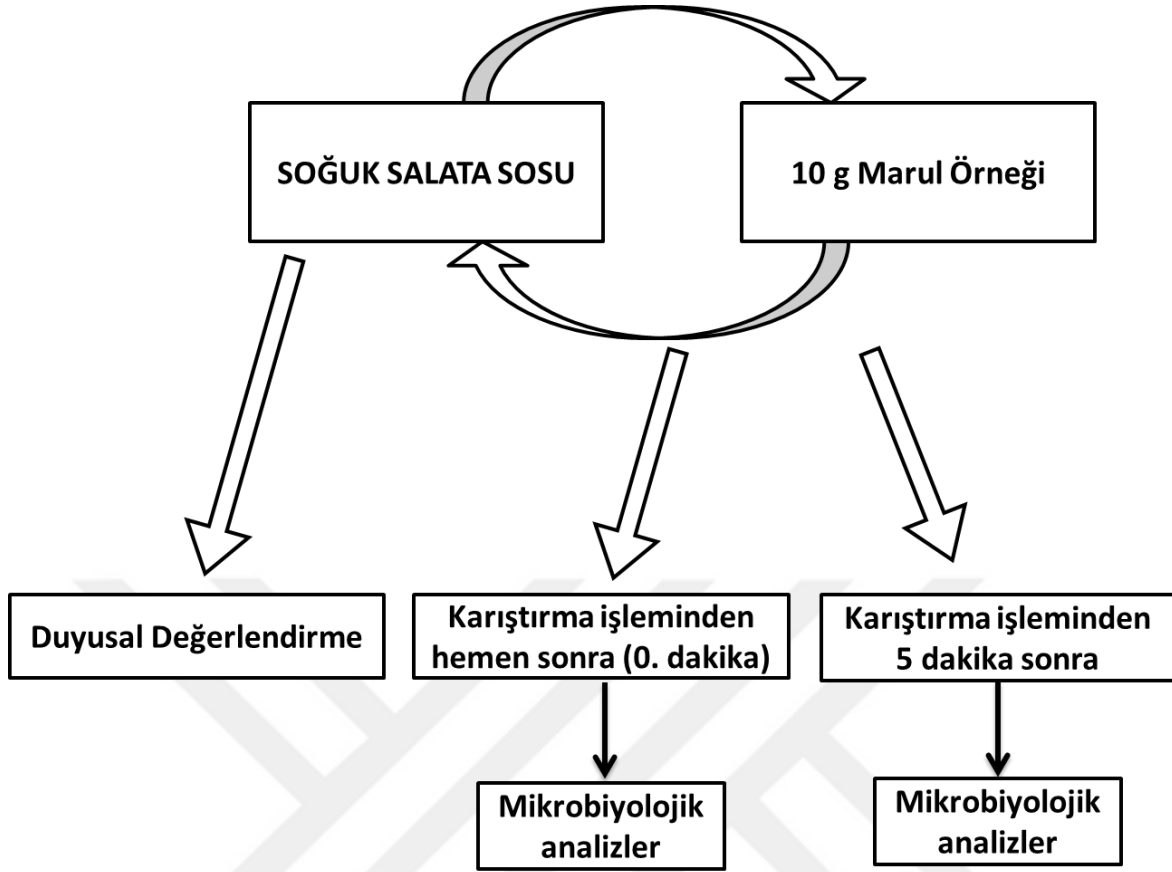
10 tane çubuk tarçın

Yukarıda verilen malzemeler karıştırılarak 24 saat bekletildikten sonra çubuk tarçın çıkarılmıştır. Servisten önce sos süzölmüş ve soğuk olarak servis edilmiştir.

### **3.3.4. Araştırma dördüncü aşaması**

Çalışmanın son aşamasında ise elde edilen sosun antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesine yönelik analizler yürütölmüştür. Yukarıda belirtilen miktarlara uygun olarak hazırlanan sos içerisine 10 g marul örneğinin daldırılıp çıkarılması işleminden hemen sonra (0. dakikada) ve sos içerisinde 5 dakika bekletme olmak üzere iki örnek alınarak mikrobiyolojik analizler (toplam bakteri, *Enterobacteriaceae*, koliform bakteri, fekal koliform bakteri, *E. coli*, *S. aureus*) yapılmıştır (Şekil 3.3) (bkz. 3.6. Mikrobiyolojik Analizler).

Duyusal analizler için ise, yapılan dezenfeksiyon işlemlerinde kullanılan dezenfeksiyon sıvıları ile hazırlanmış soğuk salata sosu, 10 g marul örneği üzerine eklendikten sonra 16 kişiden oluşan konusunda uzman bir panelist grubuna tattırılmıştır. Duyusal analizler sırasında panelistlerin birbirlerini görmeleri engellenerek, birbirlerinden etkilenme düzeyleri minimuma düşürölmüştür. Panelistlerin “Sözöl Hedonik Skala Testi” ve “Puanlama Testi” ne göre dezenfekte edilmiş marul örneklerinin organoleptik özelliklerini değerlendirmeleri istenmiştir (EK-2).



Şekil 3.3. Soğuk salata sosu uygulaması ve değerlendirmeleri

#### 3.4. Mikrobiyolojik Analizler İçin Örneklerin Homojenize Edilmesi ve Dilüsyon Serilerinin Hazırlanması

Dezenfeksiyon işleminin sonunda marul örnekleri stomacher poşetlerinin içerisine alınarak üzerine 90 mL sterilize edilmiş peptonlu su eklenerek, stomacher'da 2 dakika sürecinde homojenize edilmiştir.

Homojenizasyon işleminin sonunda elde edilen  $10^{-1}$ 'lik dilüsyondan yararlanarak  $10^{-6}$ 'ya kadar dilüsyon serisi hazırlanmıştır. Araştırma kapsamında çalışmanın güvenilirliğini artırmak için tüm örnekler dublike olarak çalışılmış ve aynı metodoloji kullanılarak çalışma farklı zamanlarda iki kere tekrarlanmıştır. Çalışma sonucunda toplam 504 örnek analiz edilmiştir.

### 3.5. Mikrobiyolojik Analizler

#### 3.5.1. Toplam bakteri analizi

Toplam bakteri sayımı dökme plak yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla hazırlanan dilüsyon serilerinin her birinden üçer tane örnek steril durumdaki boş petri kutularına 1 mL olacak şekilde aktarılmıştır. Sonrasında firma beyanına uygun olarak araştırmacı tarafından hazırlanmış PCA (Plate Count Agar) besiyeri örneklerin üzerine dökülmüştür. Besiyeri ve örneğin iyi karışabilmesi için petri kutularına yavaş salınım hareketleri yaptırılmıştır. Besiyerlerinin iyice katılaştığından emin olunduktan sonra petri kutuları ters çevrilerek 35°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinin üzerinde görülen koloniler sayılarak besin örneğinin toplam bakteri yükü belirlenmiştir.

#### 3.5.2. *Enterobacteriaceae* ve koliform bakteri analizleri

Homojenizasyon işleminin sonunda hazırlanan dilüsyon serilerinden alınan örnekler firma beyanına uygun olarak hazırlanarak uygun katılığa getirilmiş olan VRBG (Violet Red Bile Glukose Agar) besiyeri ile çift tabaka dökme yöntemi yardımıyla 1 mL örnek besiyerine inoküle edilmiştir.

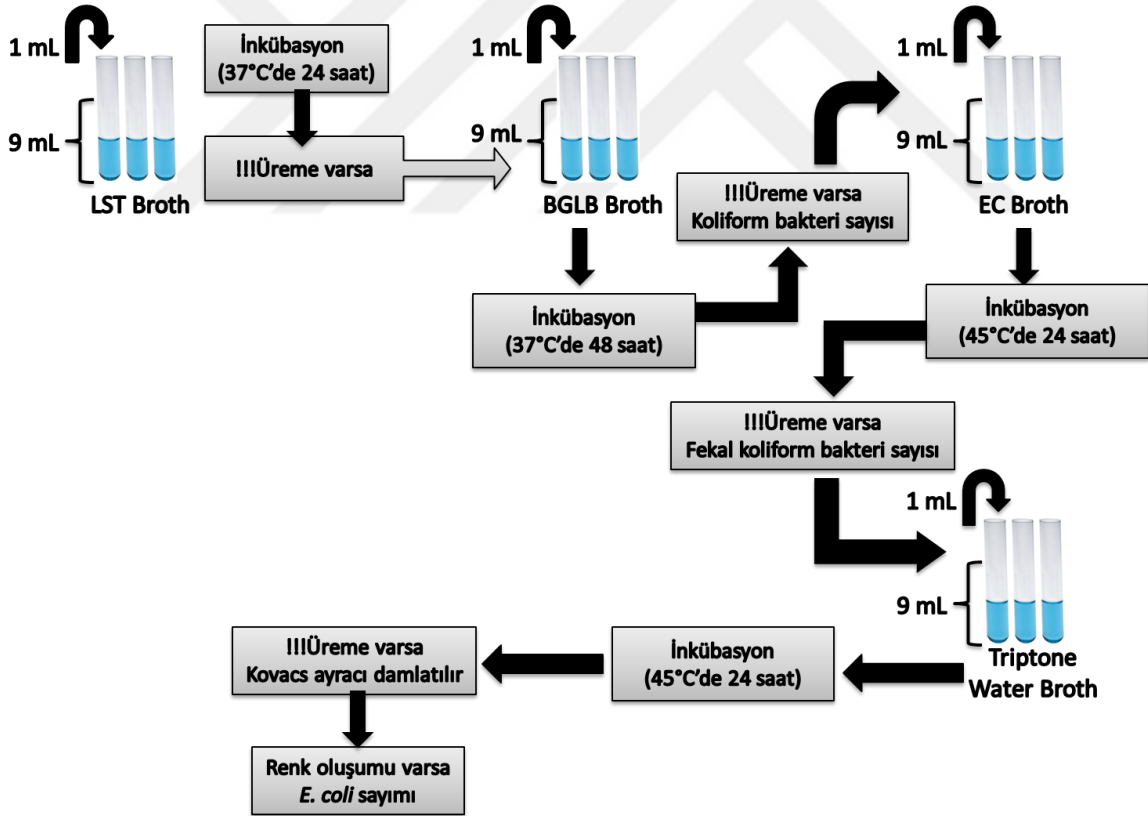
Yapılan ekim işleminden sonra besiyerleri 37°C’de 24 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda oluşan koloniler arasında kırmızı renkli ve mor zone oluşturan bakterilere oksidaz testi uygulanmıştır. Oksidaz testinde negatif sonuç veren koloniler *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteriler olarak kabul edilerek sayıları hesaplanmıştır.

*Enterobacteriaceae* familyasına ait olduğu belirlenen kolonilerden alınan bakteri örneklerinde bir sonraki aşamada “En Muhtemel Sayı Yöntemi (EMS)” ile koliform bakteri analizi yapılmıştır. EMS yöntemine göre; firma beyanına uygun şekilde bizzat araştırmacı tarafından hazırlanan LST (Lauryl Sulphate Tryptose Broth) besiyeri bulunan 3 tüpe *Enterobacteriaceae* kolonilerinden ekim yapılmış ve 37°C’de 24 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda üreme gözlenen tüplerden alınan koloniler bu sefer, firma beyanına göre hazırlanmış BGLB (Brillant-Green Lactose Bile) Broth besiyeri bulunan 3 tüpe inoküle edilmiştir. Tüpler 37°C’de 48 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonucunda üreme gözlenen tüplerin sayısına bakılarak EMS yöntemi için hazırlanan çizelgelere göre örneklerdeki koliform bakteri miktarı hesaplanmıştır (EK-3) (Şekil 3.4.).

### 3.5.3. Fekal koliform bakteri ve *E.coli* analizleri

Koliform bakteri analizi sonrasında BGLB Broth besiyerinde gaz oluşumu gözlenen tüplerden alınan örneklerden EC (*Escherichia coli*) Broth besiyerine ekim yapılmıştır. Ekim işlemi sonrasında tüpler  $45\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonrasında gaz oluşumu gözlenen tüpler pozitif üreme olarak kabul edilmiş ve EMS çizelgelerinden faydalanılarak fekal koliform sayısı hesaplanmıştır (Şekil 3.4.).

Fekal koliform bakteri üremesi gözlemlenen gaz oluşmuş EC Broth besiyerlerinden örnek alınarak bu sefer Tryptone Water besiyerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler  $45\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda bulanıklık gözlenen tüplerin üzerine 3-4 damla Kovacs ayracı eklenmiştir. Ayrac eklendikten sonra üst kısımda pembe renk oluşumu gözlenen tüpler pozitif üreme olarak kabul edilmiş ve EMS tablolarından yararlanılarak *E. coli* sayısı hesaplanmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* analizleri

### 3.5.4. *Staphylococcus aureus* analizi

Analiz firma beyanına uygun olarak bizzat araştırmacı tarafından hazırlanmış olan BPA (Baird Parker Agar) besiyerinde yayma plak yöntemi ile yapılmıştır. Besin maddelerinde *S.*

*aureus* düzeyleri genellikle düşük bulunmaktadır. Bu nedenle dezenfektanların etkinliğini daha iyi belirleyebilmek adına Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nde *S. aureus* suşları temin edilmiştir. Croyo kitleri içerisinde laboratuvara getirilen *S. aureus* suşları öncelikle Triptik Soy Agar (TSA)'a ekim yapılarak canlandırılmıştır. Sonrasında içinde peptonlu su bulunan steril püskürtme kaplarına öze ile alınarak karıştırılmıştır. Püskürtme yöntemiyle *S. aureus* kontrol ve dezenfeksiyon yapılacak tüm marul örneklerine inoküle edilmiştir. Ayrıca salata sosu ile anlık dezenfeksiyon yapılacak marul örneklerine de püskürtme yapılmıştır.

1. dilüsyon olarak hazırlanmış ve homojenize edilmiş gıda örneğinden 3 farklı besiyeri üzerine sırasıyla 0,4 mL, 0,3 mL ve 0,3 mL olacak şekilde (toplam 1 mL) inokülasyon yapılmıştır. Diğer dilüsyonlardan ise 0,1 mL olacak şekilde besiyerlerine inokülasyon yapılmıştır. İnokülasyon yapılan besin örnekleri steril drigalski spatülü yardımıyla besiyerinin üzerine iyice yayılmıştır. Besiyeri üzerine yayılan besin örneklerinin tam emilimi gerçekleştiğinden sonra, petri kutuları 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda siyah renkli, parlak, çevresinde şeffaf zone oluşmuş olan kolonilere koagülaz testi ile doğrulama işlemi uygulanmıştır. Koagülaz pozitif olan koloniler *S. aureus* kolonileri olarak kabul edilmiş ve sayımı yapılmıştır.

### **3.6. İstatistiksel Analizler**

Yapılan çalışma sonuçları farklı zamanlarda yürütülen iki laboratuvar çalışması sonunda elde edilen verilerin ortalama değerleri verilmiştir. Logaritmik azalma Microsoft Office Excel 2007'de hesaplanmıştır.

Verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics 21 paket programı kullanılmıştır. Ön çalışma değerlendirmeleri için anlamlılık düzeyinin analizinde Kruskal-Wallis Varyans Analizi kullanılmıştır. Çalışmada dezenfekte edilen marul örneklerinde görülen azalma miktarlarının istatistiksel değerlendirilmesinde Wilcoxon Testi uygulanmıştır. Çalışmanın tamamında istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak değerlendirilmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Dezenfektanların Toplam Bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* Üzerine Etkileri

Çalışma kapsamında 4 farklı dezenfektan maddenin (sirke, klor, nane ve maydanoz ekstraktı) ve anlık dezenfeksiyon amacıyla servis aşamasında kullanılabilecek nane ve maydanoz ekstraktından elde edilen bir salata sosunun marul yapraklarındaki mikrobiyal yük üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada toplamda 504 örnek analiz edilmiştir. Kullanılan dezenfektanların marullarda toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yükleri üzerindeki dezenfeksiyon etkisine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Başlangıçtaki toplam bakteri yükü  $1,99 \times 10^6$  kob/g olan marullar, 5 dakika süresinde nane ekstraktı ile muamele edildiğinde bakteri yükü  $3,23 \times 10^5$  kob/g’a, maydanoz ekstraktı uygulaması sonucu  $1,90 \times 10^6$  kob/g’a, klor uygulaması sonucu  $2,94 \times 10^5$  kob/g’a ve sirke uygulaması sonucu ise  $1,86 \times 10^5$  kob/g’a düşmüştür. Dezenfektanların uygulanma süresi 15 dakikaya çıkarıldığında ise toplam bakteri miktarları nane ekstraktında  $1,93 \times 10^5$  kob/g, maydanoz ekstraktında  $8,33 \times 10^5$  kob/g, klorda  $3,79 \times 10^4$  kob/g ve sirkede  $9,93 \times 10^4$  kob/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

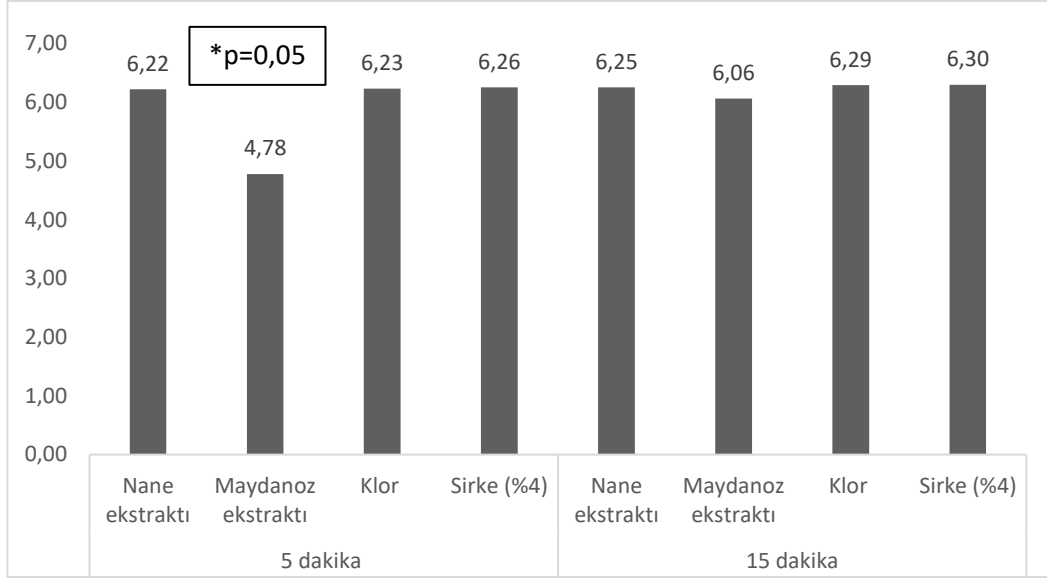
Marullarda öncesinde  $4,96 \times 10^4$  kob/g olan *Enterobacteriaceae* yükü, 5 dakika boyunca dezenfeksiyon uygulanması sonrasında nane ekstraktında  $3,83 \times 10^3$  kob/g, maydanoz ekstraktında  $1,51 \times 10^4$  kob/g, klorda  $4,70 \times 10^4$  kob/g ve sirkede  $1,56 \times 10^4$  kob/g’a düşmüştür. Aynı dezenfektanlar 15 dakika uygulandığında ise *Enterobacteriaceae* yükü sırasıyla,  $3,05 \times 10^3$  kob/g,  $5,86 \times 10^3$  kob/g,  $5,46 \times 10^3$  kob/g ve  $1,36 \times 10^4$  kob/g’a düşmüştür (Çizelge 4.1).

*S. aureus* miktarı başlangıçta  $2,66 \times 10^4$  kob/g olarak belirlenen marul örnekleri 5 dakika boyunca dezenfeksiyon sıvıları ile muamele edildiğinde ise *S. aureus* yükü nane ekstraktında  $1,29 \times 10^4$  kob/g’a, maydanoz ekstraktında  $2,40 \times 10^3$  kob/g’a, klorda  $1,75 \times 10^3$  kob/g’a ve sirkede  $3,85 \times 10^3$  kob/g’a düşmüştür. Uygulama süresi 15 dakikaya çıkarıldığında da *S. aureus* yükleri sırasıyla,  $8,45 \times 10^3$  kob/g,  $2,15 \times 10^3$  kob/g,  $0,70 \times 10^3$  kob/g ve  $0,65 \times 10^3$  kob/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Kontrol grubu ile 5 ve 15 dakika dezenfektan uygulanan marul örneklerindeki toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yükü ortalama miktarları (kob/g)

Yöntem	Süre	Dezenfektan pH değeri	Toplam bakteri	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>S. aureus</i>
<b>Kontrol</b>	-	-	$1,99 \times 10^6$	$4,96 \times 10^4$	$2,66 \times 10^4$
<b>Nane ekstraktı</b>	5 dakika	4,8	$3,23 \times 10^5$	$3,83 \times 10^3$	$1,29 \times 10^4$
	15 dakika		$1,93 \times 10^5$	$3,05 \times 10^3$	$8,45 \times 10^3$
<b>Maydanoz ekstraktı</b>	5 dakika	4,9	$1,90 \times 10^6$	$1,51 \times 10^4$	$2,40 \times 10^3$
	15 dakika		$8,33 \times 10^5$	$5,86 \times 10^3$	$2,15 \times 10^3$
<b>Klor</b>	5 dakika	4,8	$2,94 \times 10^5$	$4,70 \times 10^4$	$1,75 \times 10^3$
	15 dakika		$3,79 \times 10^4$	$5,46 \times 10^3$	$0,70 \times 10^3$
<b>Sirke</b>	5 dakika	3,8	$1,86 \times 10^5$	$1,56 \times 10^4$	$3,85 \times 10^3$
	15 dakika		$9,93 \times 10^4$	$1,36 \times 10^4$	$0,65 \times 10^3$

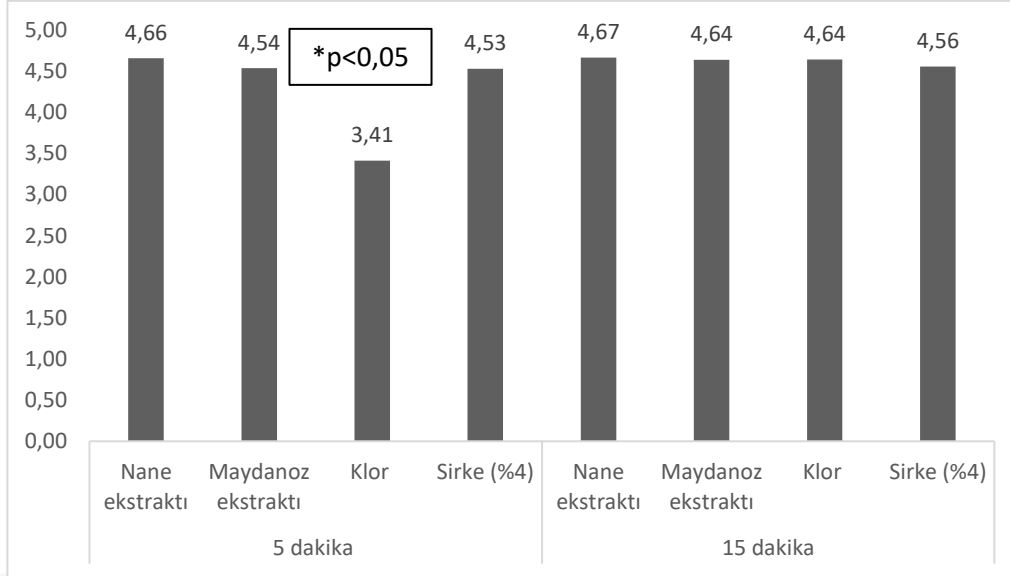
Uygulamada kullanılan dezenfektanların marullarda kontrol grubuna göre toplam bakteri yükünde neden oldukları azalma düzeyleri Şekil 4.1’de log kob/g cinsinden verilmiştir. Buna göre 5 dakika uygulama sonunda nane ekstraktı toplam bakteride 6,22 log kob/g, maydanoz ekstraktı 4,78 log kob/g, klor 6,23 log kob/g ve sirke 6,26 log kob/g azalmaya neden olmuştur. Uygulama süre 15 dakikaya çıkarıldığında ise toplam bakteride nane ekstraktında 6,25 log kob/g, maydanoz ekstraktında 6,06 log kob/g, klorda 6,29 log kob/g ve sirkede 6,30 log kob/g azalma görülmüştür. Kullanılan dezenfektanların marulun toplam bakteri yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubuna göre maruldaki toplam bakteri miktarında neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, yalnızca maydanoz ekstraktının 5 dakika süresince uygulanmasında anlamlı bir azalma belirlenememiş ( $p = 0,12$ ), diğer uygulamalarda görülen azalma düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve toplam bakteri yükünde en iyi azalma 15 dakika süresince uygulanan klor ve sirkede görülmüştür ( $p = 0,01$ ).



\*p: Kontrol grubuna göre uygulama örneklerinde görülen azalma miktarları anlamlıdır.

**Şekil 4.1.** Kontrol grubuna göre dezenfektan uygulanan marul örneklerinin toplam bakteri yükünde saptanan ortalama azalma miktarları (log kob/g)

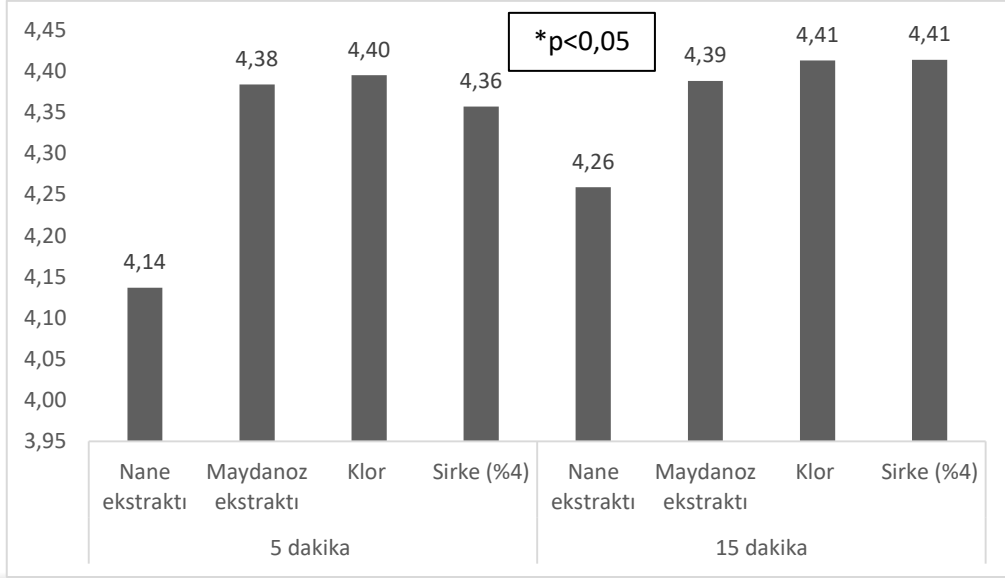
Kullanılan dezenfektanların marullarda kontrol grubuna göre *Enterobacteriaceae* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri Şekil 4.2’de log kob/g cinsinden verilmiştir. Dezenfektanların 5 dakika uygulanması sonunda nane ekstraktı *Enterobacteriaceae* 4,66 log kob/g, maydanoz ekstraktı 4,54 log kob/g, klor 3,41 log kob/g ve sirke 4,53 log kob/g azalmaya neden olmuştur. 15 dakika dezenfeksiyonda ise *Enterobacteriaceae* yükü nane ekstraktında 4,67 log kob/g, maydanoz ekstraktında 4,64 log kob/g, klorda 4,64 log kob/g ve sirkede 4,56 log kob/g azalmıştır. Dezenfektanların *Enterobacteriaceae* yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubuna göre maruldaki *Enterobacteriaceae* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, klorun 5 dakika uygulanmasında anlamlı bir azalma belirlenememiş ( $p=0,12$ ), diğer uygulamalarda görülen azalma düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve *Enterobacteriaceae* yükündeki en iyi azalmayı 15 dakikalık nane ekstraktı uygulaması sağlamıştır ( $p=0,01$ ).



\*p: Kontrol grubuna göre uygulama örneklerinde görülen azalma miktarları anlamlıdır.

**Şekil 4.2.** Kontrol grubuna göre dezenfektanların *Enterobacteriaceae* yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (log kob/g)

Dezenfektanların, marullarda kontrol grubuna göre *S. aureus* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri Şekil 4.3’de log kob/g cinsinden verilmiştir. 5 dakika uygulanma sonunda nane ekstraktı *S. aureus* 4,14 log kob/g, maydanoz ekstraktı 4,38 log kob/g, klor 4,40 log kob/g ve sirke 4,36 log kob/g azalmaya neden olmuştur. 15 dakika dezenfeksiyonda ise *S. aureus* yükü nane ekstraktında 4,26 log kob/g, maydanoz ekstraktında 4,39 log kob/g, klorda 4,41 log kob/g ve sirkede 4,41 log kob/g azalmıştır. Dezenfektanların *S. aureus* yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kontrol grubuna göre *S. aureus* ‘da neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalarda görülen azalma düzeyinin hepsi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve *S. aureus* yükünde en iyi azalma 15 dakika süresince uygulanan klor ve sirkede görülmüştür ( $p=0,01$ ).



\*p: Kontrol grubuna göre uygulama örneklerinde görülen azalma miktarları anlamlıdır.

**Şekil 4.3.** Kontrol grubuna göre dezenfektanların *S. aureus* yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (log kob/g)

Dezenfektanların sağladığı mikrobiyal yükteki azalma miktarı ile pH arasındaki ilişki incelendiğinde ise, toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* 'da görülen azalma ile pH arasında istatistiksel olarak bir anlamlı farklılık belirlenememiştir ( $p > 0,05$ ).

#### 4.2. Dezenfektanların Koliform Bakteri, Fekal Koliform Bakteri ve *E. coli* Üzerine Etkileri

Kullanılan dezenfektanların marullarda koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükleri üzerindeki dezenfektan etkisine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Başlangıçta koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g olan marullar, 5 dakika süresinde nane ekstraktı ile muamele edildiğinde bakteri yükü  $21 \times 10$  EMS kob/g'a, maydanoz ekstraktı uygulaması sonucu  $2,3 \times 10$  EMS kob/g'a, klor uygulaması sonucu  $1,5 \times 10$  EMS kob/g'a ve sirke uygulaması sonucu ise  $9,3 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür. Dezenfektanların uygulanma süresi 15 dakikaya çıkarıldığında ise koliform bakteri yükleri nane ekstraktında  $15 \times 10$  EMS kob/g, maydanoz ekstraktında  $1,5 \times 10$  EMS kob/g, klorda  $1,5 \times 10$  EMS kob/g ve sirkede sıfır olarak belirlenmiştir.

Marullarda  $2,9 \times 10$  EMS kob/g olan fekal koliform bakteri yükü, 5 dakika boyunca dezenfeksiyon uygulanması sonrasında nane ekstraktında  $2,1 \times 10$  EMS kob/g, maydanoz ekstraktında  $0,92 \times 10$  EMS kob/g, klorda  $0,36 \times 10$  EMS kob/g ve sirkede  $2,1 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür. Aynı dezenfektanlar 15 dakika uygulandığında ise fekal koliform

bakteri yükü sırasıyla,  $1,1 \times 10$  EMS kob/g,  $0,36 \times 10$  EMS kob/g,  $0,92 \times 10$  EMS kob/g ve  $0,36 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür (Çizelge 4.2).

*E. coli* miktarı başlangıçta  $2,8 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenen marul örnekleri 5 dakika boyunca dezenfeksiyon sıvıları ile muamele edildiğinde ise *E. coli* yükü nane ekstraktında  $1,1 \times 10$  EMS kob/g'a, maydanoz ekstraktında  $0,74 \times 10$  EMS kob/g'a, klorida  $0,03 \times 10$  EMS kob/g'a ve sirkede  $0,2 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür. Uygulama süresi 15 dakikaya çıkarıldığında da *E. coli* yükleri sırasıyla,  $0,62 \times 10$  EMS kob/g,  $0,03 \times 10$  EMS kob/g,  $0,03 \times 10$  EMS kob/g ve  $0,15 \times 10$  EMS kob/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

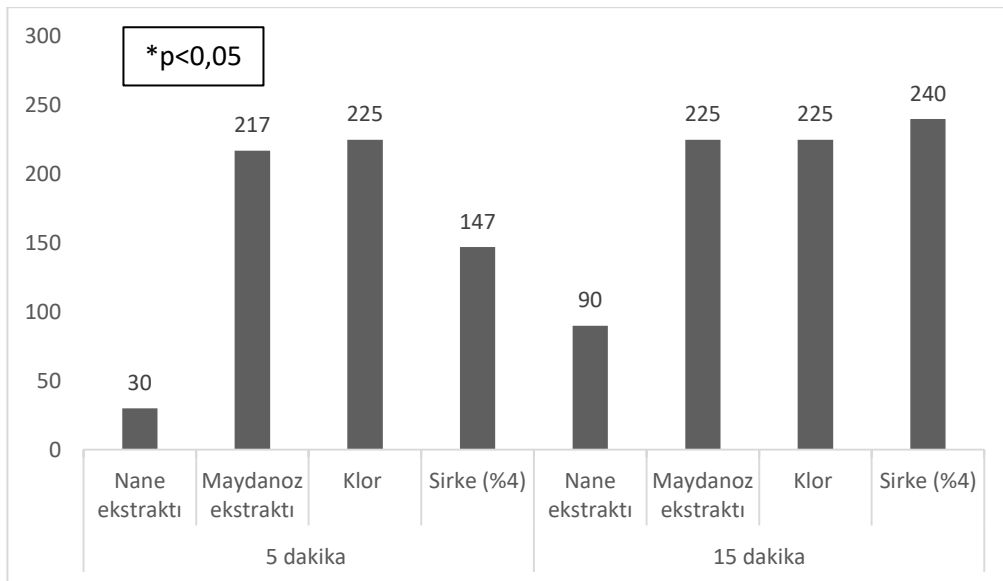
**Çizelge 4.2.** Kontrol grubu ile 5 ve 15 dakika dezenfektan uygulanan marul örneklerindeki koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükü ortalama miktarları (EMS kob/g)

Yöntem	Süre	Dezenfektan pH değeri	Koliform bakteri	Fekal koliform bakteri	<i>E. coli</i>
<b>Kontrol</b>	-	-	$24,00 \times 10$	$2,90 \times 10$	$2,80 \times 10$
<b>Nane ekstraktı</b>	5 dakika	5,24	$21,00 \times 10$	$2,10 \times 10$	$1,10 \times 10$
	15 dakika		$15,00 \times 10$	$1,10 \times 10$	$0,62 \times 10$
<b>Maydanoz ekstraktı</b>	5 dakika	4,07	$2,30 \times 10$	$0,92 \times 10$	$0,74 \times 10$
	15 dakika		$1,50 \times 10$	$0,36 \times 10$	$0,03 \times 10$
<b>Klor</b>	5 dakika	5,26	$1,50 \times 10$	$0,36 \times 10$	$0,03 \times 10$
	15 dakika		$1,50 \times 10$	$0,92 \times 10$	$0,03 \times 10$
<b>Sirke</b>	5 dakika	4,24	$9,30 \times 10$	$2,10 \times 10$	$0,20 \times 10$
	15 dakika		0	$0,36 \times 10$	$0,15 \times 10$

Uygulamada kullanılan dezenfektanların marullarda kontrol grubuna göre koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli*'de neden oldukları azalma düzeyleri ise Şekil 4.2'de EMS kob/g cinsinden verilmiştir. Buna göre nane ekstraktı 5 dakika uygulandıktan sonra koliform bakteride  $30$  EMS kob/g, fekal koliform bakteride  $8$  EMS kob/g ve *E. coli*'de  $17$  EMS kob/g azalmaya neden olmuştur. 15 dakika uygulandığında ise bakteri yüklerinde sırasıyla  $90$  EMS kob/g,  $18$  EMS kob/g ve  $21,8$  EMS kob/g azalmaya neden olmuştur. Maydanoz ekstraktı 5 dakika uygulandığında koliform bakteride  $217$  EMS kob/g, fekal koliform bakteride  $19,8$  EMS kob/g ve *E. coli*'de  $20,6$  EMS kob/g azalma görülmüştür. 15 dakika uygulanmada da bakteri yükleri sırasıyla  $225$  EMS kob/g,  $25,4$  EMS kob/g ve  $27,7$  EMS kob/g olarak belirlenmiştir. Klorun 5 dakika uygulanması sonrasında koliform

bakteride 225 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 19,8 EMS kob/g ve *E. coli*'de 27,7 EMS kob/g azalma görülmüştür. 15 dakikalık uygulamayla ise azalma düzeyleri sırasıyla 225 EMS kob/g, 25,4 EMS kob/g ve 27,7 EMS kob/g olarak bulunmuştur. Sirkenin 5 dakika uygulanması koliform bakteride 147 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 8 EMS kob/g ve *E. coli*'de 26 EMS kob/g azalmaya neden olmuştur. Sirke 15 dakika uygulandığında ise bakteri yüklerinde sırasıyla 240 EMS kob/g, 25,4 EMS kob/g ve 26,5 EMS kob/g azalmaya neden olmuştur.

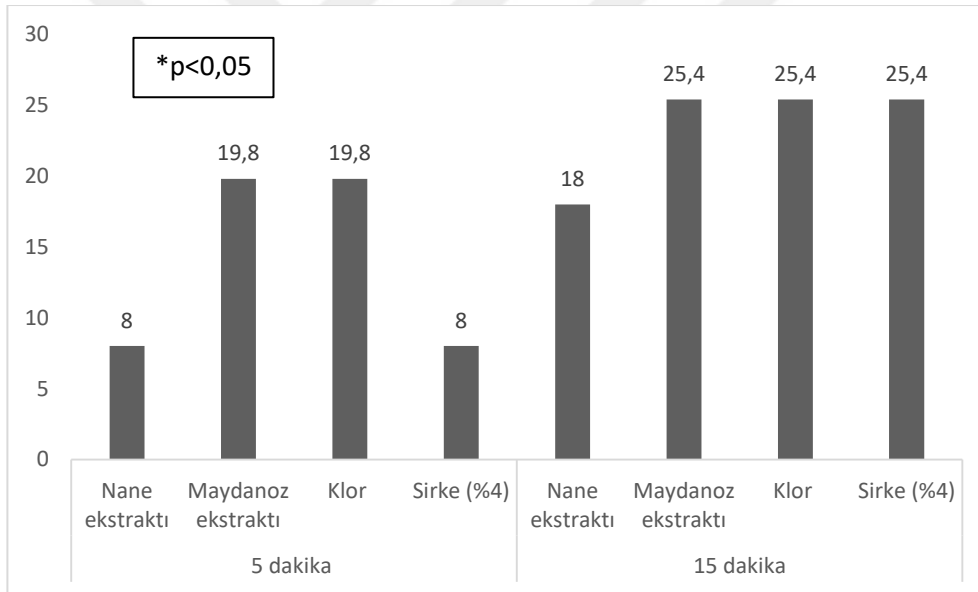
Uygulamada kullanılan dezenfektanların marullarda kontrol grubuna göre koliform bakteri yükünde neden oldukları azalma düzeyleri ise Şekil 4.4'de EMS kob/g cinsinde verilmiştir. Buna göre 5 dakika uygulama sonunda nane ekstraktı koliform bakteride 30 EMS kob/g, maydanoz ekstraktı 217 EMS kob/g, klor 225 EMS kob/g ve sirke 147 EMS kob/g azalmaya neden olmuştur. Uygulama süre 15 dakikaya çıkarıldığında ise koliform bakteride nane ekstraktında 90 EMS kob/g, maydanoz ekstraktında 225 EMS kob/g, klorda 225 EMS kob/g ve sirkede 240 EMS kob/g azalma görülmüştür. Dezenfektanların koliform bakteri yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kontrol gruplarına göre koliform bakteri yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalar arasında görülen azalma düzeyi tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve koliform bakteri yükünde en iyi azalmayı 15 dakika sirke uygulaması sağlamıştır ( $p = 0,005$ ).



\*p: Kontrol grubuna göre uygulama örneklerinde görülen azalma miktarları anlamlıdır.

**Şekil 4.4.** Kontrol grubuna göre dezenfektanların koliform bakteri yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g)

Kullanılan dezenfektanların marullarda kontrol grubuna göre fekal koliform bakteri yükünde neden oldukları azalma düzeyleri Şekil 4.5’de EMS kob/g cinsinden verilmiştir. Dezenfektanların 5 dakika uygulanması sonunda nane ekstraktı fekal koliform bakteride 8 EMS kob/g, maydanoz ekstraktı 19,8 EMS kob/g, klor 19,8 EMS kob/g ve sirke 8 EMS kob/g azalmaya neden olmuştur. 15 dakika dezenfeksiyonda ise fekal koliform bakteri yükü nane ekstraktında 18 EMS kob/g, maydanoz ekstraktında 25,4 EMS kob/g, klorda 25,4 EMS kob/g ve sirkede 25,4 EMS kob/g azalmıştır. Dezenfektanların fekal koliform bakteri yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kontrol gruplarına göre fekal koliform bakteri yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalar arasında görülen azalma düzeyi tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve fekal koliform bakteri yükünde 15 dakika boyunca süren maydanoz, klor ve sirke en etkin uygulamalardır ( $p=0,005$ ).



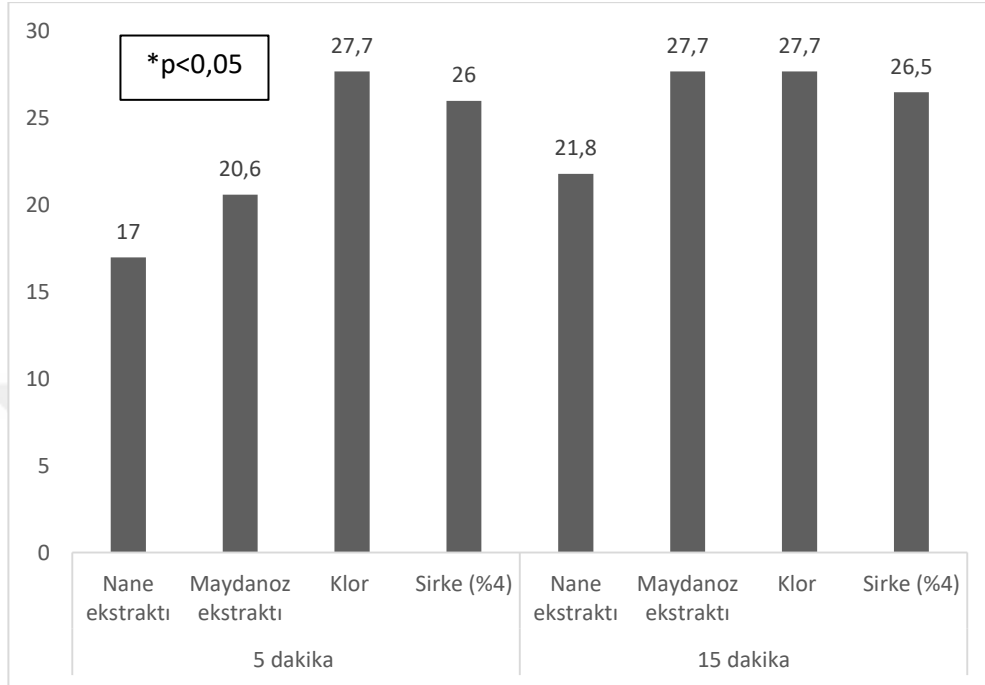
\*p: Kontrol grubuna göre uygulama örneklerinde görülen azalma miktarları anlamlıdır.

**Şekil 4.5.** Kontrol grubuna göre dezenfektanların fekal koliform bakteri yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g)

Dezenfektanların, marullarda kontrol grubuna göre *E. coli* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri Şekil 4.6’da EMS kob/g cinsinden verilmiştir. Beş dakika uygulanma sonunda nane ekstraktı *E. coli* 17 EMS kob/g, maydanoz ekstraktı 20,6 EMS kob/g, klor 27,7 EMS kob/g ve sirke 266 EMS kob/g azalmaya neden olmuştur. 15 dakika dezenfeksiyonda ise *E. coli* yükü nane ekstraktında 21,8 EMS kob/g, maydanoz ekstraktında 27,7 EMS kob/g, klorda 27,7 EMS kob/g ve sirkede 26,5 EMS kob/g azalmıştır. Dezenfektanların *E. coli* yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kontrol gruplarına göre *E. coli* yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri



karşılaştırıldığında, uygulamalar arasında görülen azalma düzeyi tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve *E. coli* 'de ise 15 dakika maydanoz ekstraktı ile 5 ve 15 dakika klor uygulamalarında en iyi sonuç alınmıştır ( $p=0,005$ ).



\*p: Kontrol grubuna göre uygulama örneklerinde görülen azalma miktarları anlamlıdır.

**Şekil 4.6.** Kontrol grubuna göre dezenfektanların *E. coli* yükünde neden oldukları ortalama azalma miktarları (EMS kob/g)

Dezenfektanların neden olduğu azalma miktarı ile pH arasındaki ilişkiye bakıldığında; koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* 'de görülen azalma ile pH arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık belirlenememiştir ( $p>0,05$ ).

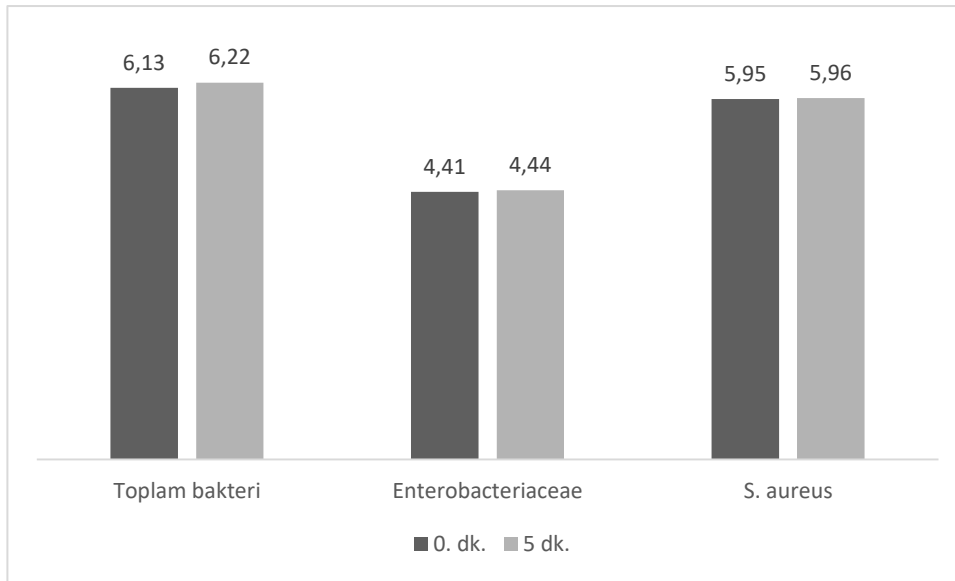
### 4.3. Salata Sosunun Toplam Bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* Üzerine Etkileri

Salata sosun kullanımı sonrasında toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yüklerinde görülen değişim Çizelge 4.3'de görülmektedir. Buna göre başlangıçta  $1,66 \times 10^6$  kob/g olan toplam bakteri yükü hazırlanan salata sosuna daldırılıp çıkarıldıktan sonra  $3,05 \times 10^5$  kob/g'a düşmüş, salata sosunda 5 dakika bekletildikten sonra ise  $7,85 \times 10^3$  kob/g olarak belirlenmiştir. *Enterobacteriaceae* yükü başlangıçta  $2,90 \times 10^4$  kob/g iken, sosa daldırılıp çıkarıldıktan sonra  $3,00 \times 10^3$  kob/g, 5 dakika sonra  $1,40 \times 10^3$  kob/g olmuştur. Başlangıçta *S. aureus* düzeyi  $9,45 \times 10^5$  kob/g olarak belirlenmiş, bu düzey sosa daldırıldıktan sonra  $6,10 \times 10^4$  kob/g'a, 5 dakika bekletildikten sonra ise  $2,35 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür.

**Çizelge 4.3.** Salata sosu ile anlık dezenfekte edilen marul örneklerindeki toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yükü ortalama miktarları (kob/g)

Yöntem	Salata sosunun pH değeri	Toplam bakteri	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>S. aureus</i>
<b>Kontrol</b>	-	$1,66 \times 10^6$	$2,90 \times 10^4$	$9,45 \times 10^5$
<b>Uygulamadan hemen sonra</b>		$3,05 \times 10^5$	$3,00 \times 10^3$	$6,10 \times 10^4$
<b>Uygulamadan 5 dakika sonra</b>	4,14	$7,85 \times 10^3$	$1,40 \times 10^3$	$2,35 \times 10^4$

Hazırlanan salata sosunun marulun kontrol grubuna göre toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri ise Şekil 4.7'de log kob/g cinsinden verilmiştir. Toplam bakteri yükünde sosa daldırılıp çıkarılma sonunda 6,13 log kob/g, 5 dakika bekletilme sonucunda da 6,22 log kob/g azalma görülmüştür. *Enterobacteriaceae* yükünde daldırılma sonrasında 4,41 log kob/g, 5 dakika bekletilme sonrasında 4,44 log kob/g azalma görülürken, *S. aureus* yükünde aynı uygulamalar sonrasında sırasıyla 5,95 log kob/g ve 5,96 log kob/g azalma görülmüştür.



**Şekil 4.7.** Kontrol grubuna göre salata sosu ile anlık dezenfekte edilen marul örneklerinde saptanan toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yükündeki ortalama azalma miktarları (log kob/g)

Hazırlanan salata sosunun marulun toplam bakterisi, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yüklerinde neden olduğu azalma düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubuna göre 0 ve 5 dakika salata sosu uygulamalarının maruldaki toplam bakterisi, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* miktarındaki azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalarda görülen azalma düzeyi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve salata sosunda 5 dakika bekletilme uygulamasının üç bakteri türünün düzeyinde de daha iyi bir azalma sağladığı belirlenmiştir ( $p = 0,01$ ).

#### 4.4. Dezenfektanların Koliform Bakteri, Fekal Koliform Bakteri ve *E. coli* Üzerine Etkileri

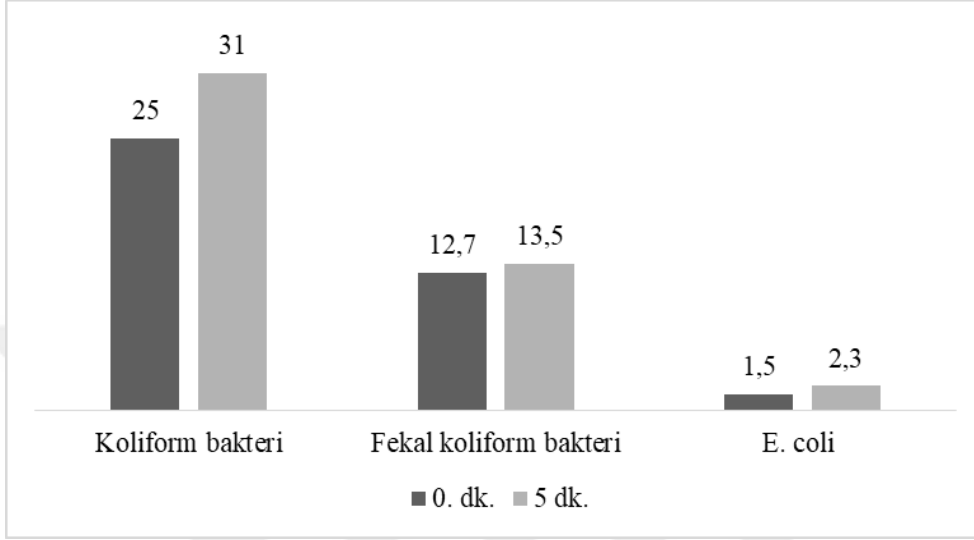
Salata sosunun marulun başlangıç yükü üzerinden koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükünde sağladığı azalma düzeyleri de Çizelge 4.4’de EMS kob/g cinsinden verilmiştir.  $4,6 \times 10$  EMS kob/g olan koliform bakteri yükü salata sosuna daldırıldıktan sonra  $2,1 \times 10$  EMS kob/g’ a düşmüş, salata sosunda 5 dakika bekletildikten sonra ise  $1,5 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenmiştir. Fekal koliform bakteri yükü başlangıçta  $1,5 \times 10$  EMS kob/g iken, sosa daldırılıp çıkarıldıktan sonra  $0,23 \times 10$  EMS kob/g, 5 dakika sonra  $0,15 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenmiştir. Başlangıçta *E. coli* düzeyi  $0,43 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenmiş, bu düzey sosa daldırıldıktan sonra  $0,28 \times 10$  EMS kob/g’ a, 5 dakika bekletildikten sonra ise  $0,2 \times 10$  EMS kob/g’ a düşmüştür.

**Çizelge 4.4.** Kontrol grubu ve salata sosu ile anlık dezenfekte edilen marul örneklerindeki koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükü ortalama miktarları (EMS kob/g)

Yöntem	pH	Koliform bakteri	Fekal koliform bakteri	<i>E. coli</i>
<b>Kontrol</b>	-	$4,60 \times 10$	$1,50 \times 10$	$0,43 \times 10$
<b>Uygulamadan hemen sonra</b>	3,57	$2,10 \times 10$	$0,23 \times 10$	$0,28 \times 10$
<b>Uygulamadan 5 dakika sonra</b>		$1,50 \times 10$	$0,15 \times 10$	$0,20 \times 10$

Hazırlanan salata sosunun marulun kontrol grubuna göre koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri ise Şekil 4.8’de EMS kob/g cinsinden verilmiştir. Koliform bakteri yükünde sosa daldırılıp çıkarılma sonunda 25 EMS

kob/g, 5 dakika bekletilme sonucunda da 31 EMS kob/g azalma görülmüştür. Fekal koliform bakteri yükünde daldırılma sonrasında 12,7 EMS kob/g, 5 dakika bekletilme sonrasında 13,5 EMS kob/g azalma görülürken, *E. coli* yükünde aynı uygulamalar sonrasında sırasıyla 1,5 EMS kob/g ve 2,3 EMS kob/g azalma görülmüştür.



**Şekil 4.8.** Kontrol grubuna göre salata sosu ile anlık dezenfekte edilen marul örneklerinde saptanan koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükündeki ortalama azalma miktarları (EMS kob/g)

Salata sosunun koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yüklerinde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kontrol gruplarına göre 0 ve 5 dakika salata sosu uygulaması sonunda koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalarda görülen azalma düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükleri için, salata sosunda 5 dakika bekletilme uygulamasının daha iyi bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ( $p = 0,005$ ).

#### 4.5. Salata Sosunun Duyusal Analiz Sonuçları

Hazırlanan salata sosunun duyusal değerlendirmesine yönelik ortalama puan ve standart sapma değerleri (5 puan üzerinden) Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. Buna göre salata sosunun renk değerlendirilmesi ortalama  $4,62 \pm 0,80$  olarak bulunmuştur. Salata sosunun diğer özelliklerinden kıvam  $3,87 \pm 1,02$ , aroma  $3,56 \pm 1,03$ , tat  $3,56 \pm 0,96$  ve koku  $3,81 \pm 0,98$  şeklinde değerlendirilmiştir. Salata sosu ile ilgili genel değerlendirme ise 5 puan üzerinden  $3,90 \pm 0,96$ ’dır.

**Çizelge 4.5.** Salata sosunun puanlama testine göre duyuşal özelliklerinin ortalama ve standart sapma değerleri ( $\bar{x} \pm SS$ )

<b>Kalite kriterleri</b>	$\bar{x} \pm SS$
Renk	4,62 $\pm$ 0,80
Kıvam	3,87 $\pm$ 1,02
Aroma	3,56 $\pm$ 1,03
Tat	3,56 $\pm$ 0,96
Koku	3,81 $\pm$ 0,98
Genel değerlendirme	3,90 $\pm$ 0,96

Salata sosu için uygulanan hedonik skaladan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Skalada salata sosunun tadını, kokusunu ve kıvamını en iyi tanımlayan sözcüğün seçilmesi istenmiş ve bireylerin %25,0'i sosu hafif %37,5'i kuvvetli olarak tanımlamıştır.

**Çizelge 4.6.** Salata sosunun sözel hedonik skala testine göre panelistler tarafından değerlendirilmesi (n=16)

<b>Tanımlama</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Fark edilmiyor	1	6,3
Hafif	4	25,0
Orta	5	31,2
Kuvvetli	6	37,5



## 5. TARTIŞMA

Toplu beslenme hizmetlerinde müşteri memnuniyetini etkileyen etmenlerden belki de en önemlisi yemeğin organoleptik özellikleridir. Bununla birlikte son yıllarda tüketicilerin en önemli beklentileri arasında toplu beslenme hizmeti veren kurumun temiz, güvenilir ve sağlıklı ürün üretmesinin yer aldığı görülmektedir. Güvenilir gıda üretiminin temel ilkelerinin başında besin, ekipman ve personel hijyeninin sağlanması bulunmaktadır. Özellikle endüstriyel mutfaklarda çapraz bulaş kaynakları güvenilir gıda üretimini tehdit etmektedir ki; çapraz bulaş açısından en önemli risk teşkil eden bulaş kaynaklarının başında da ekipman ve personel gelmektedir. Çapraz bulaş riskini önlemede personel hijyeni sağlanmalı, ekipmanlar her kullanımdan sonra uygun şekilde temizlenmeli ve gerekli durumlarda da (özellikle potansiyel riskli besinlerle temastan sonra) mutlaka dezenfeksiyon uygulanmalıdır [108]. Temizlik ve dezenfeksiyon toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda yalnızca ekipmanlar ve gıda ile temas eden yüzeyler için değil, aynı zamanda gıda maddelerinin arındırılması için de kullanılan işlemlerdir. Günümüzde bireylerin sağlıklı beslenme konusunda farkındalık ve bilgi düzeylerindeki artışa bağlı olarak meyve ve sebze tüketimlerinde artan bir eğilim görülmektedir [1, 2]. Bununla birlikte meyve ve sebzelerin toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda sunumu, özellikle gıda güvenliği açısından olası risklerin değerlendirilmesini ve izlenmesini gerektirir [3]. Sebze ve meyveler üretimden çatala kadar bazı tehlikeler ile bulaş/kontaminasyona maruz kalmaktadır. Brezilya’da marul, ıspanak, lahana, maydanoz gibi çiğ servis edilen tüketime hazır ürünlerin mikrobiyal içerikleri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarında gıdaların %96,7’sinin psikrotrofik aerobik bakteri sayısı, %81,5’inin ise koliform bakteri sayısı  $>5$  log kob/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin %53,1’inin *E. coli*, %3,7’sinin *Listeria* spp. ve %1,2’sinin ise *Salmonella* spp. içerdiği belirlenmiştir [109].

Toplu beslenme hizmetlerinde pişirilmeden servise sunulacak olan sebzelerde bakteriyel bulaşların önlenmesi ve riskin azaltılmasında özellikle yıkama ve usulüne uygun dezenfeksiyon işlemleri büyük önem taşır. Çoğu zaman sebze ve meyvelerin sadece musluk suyu ile yıkanması bakteriyel tehlikelerin tamamen ortadan kaldırılması açısından yetersiz kalabilmektedir. Kontrol grubu olarak musluk suyu ile yıkanmış maydanozların kullanıldığı bir çalışmada  $10^4$ - $10^6$  kob/mL düzeylerinde *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* inoküle edilmiştir. Musluk suyu ile yıkama sonucunda maydanozlarda  $3.99 \pm 0.08$  log kob/g *E. coli* O157:H7,  $4.71 \pm 0.18$  log kob/g *S. aureus* düzeyi belirlenmiştir. Çalışma sonucunda sadece musluk suyu ile yıkamanın mikroorganizmalar üzerinde yeterli azalmayı

sağlayamadığı belirtilmiştir [110]. Dolayısıyla, riskin azaltılmasında özellikle çiğ olarak servise sunulacak olan sebze ve meyvelerde ürünün cinsine ve niteliğine göre uygun dezenfeksiyon işlemleri önerilmektedir.

Bu çalışmada kontrol grubu olarak musluk suyu ile yıkanmış örnekler alınmıştır. Çalışmada musluk suyu ile yıkama sonucunda toplam bakteri ve *S. aureus* yüklerinin yönetmeliğe uygun olmadığı görülmektedir [24]. Çiğ servis edilen gıdalarda en sıklıkla kullanılan dezenfektanların başında ekonomik ve nispeten kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle klor ve klorlu bileşikler gelmektedir. Türkiye’de de klorlama 1932 yılından itibaren başlamış ve günümüzde yemek sektöründe yaygın olarak kullanım alanı bulmuştur [111]. Bununla birlikte son yıllarda trihalometanlar haloasetik asitler (monokloroasetik asit, dikloroasetik asit, trikloroasetik asit, monobromoasetik asit, dibromoasetik asit) gibi dezenfeksiyon yan ürünlerinin olası sağlık etkileri nedeniyle klor alternatifi ürünlerin kullanımına eğilimler de artmaktadır [112].

### 5.1. Klorun Dezenfektan Etkinliği

Klorun gıdalar üzerinde dezenfektan etkinliği gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır. Iceberg marullar üzerinde yapılan bir çalışmada 5 mg/L klor eklenmesinden 1 dakika sonrasında *E. coli* yükünün >5 log kob/g olduğu belirlenmiştir [113]. Marullar üzerinde yapılan bir başka çalışmada klor dozu 100 ppm kullanılıp 20 dakika boyunca bekletildikten sonra yapılan analizlerde toplam bakteri ve koliform bakteri düzeylerinde 3,5-4 log kob/g azalma belirlenmiştir [114]. Bu çalışmada klor ile 5 dakikalık dezenfeksiyon uygulamasında toplam bakteride 6,23 , *Enterobacteriaceae*’da 3,41 ve *S. aureus*’da 4,40 log kob/g azalma, koliform bakteride 225 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 19,8 EMS kob/g ve *E. coli*’de 27,7 EMS kob/g azalma görülmüştür. Uygulama süresi 15 dakikaya çıkarıldığında toplam bakteride 6,29 log kob/g, *Enterobacteriaceae*’da 4,64 log kob/g ve *S. aureus*’da 4,41 log kob/g olarak bulunmuş, koliform bakteride 225 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 25,4 EMS kob/g ve *E. coli*’de 27,7 EMS kob/g azalma bulunmuştur. Belirlenen azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Sonuçlar incelendiğinde yapılan bu çalışmada da görüldüğü gibi mikroorganizma düzeylerinin azalma miktarları farklılık gösterebilmektedir. Bu durum bakterilerin başlangıç miktarları ve çalışmanın yapıldığı ortam koşullarının farklılığı ile ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte çalışma sonuçları uygun doz ve sürede klor ile dezenfeksiyon işlemlerinin etkinliğini göstermektedir.



Olumlu sonuçların yanı sıra klorun neden olduğu kalıntı düzeylerinin belirlendiği çalışmalarda bulunmaktadır. Marullar üzerinde yapılan bir çalışmada dezenfektan olarak klor dioksit kullanılmış ve çalışma sonucunda klorun hem mikrobiyal yük üzerine etkisi hem de klor kalıntı miktarı incelenmiştir. Marul örnekleri 5 mg/L dozundaki klor içerisinde 2 dakika bekletildikten sonra toplam bakteri miktarında 3 log kob/g azalma, 0,40 mg/L'de klor kalıntısı belirlenmiştir. Aynı dozda 3 dakika bekletildiklerinde ise *E. coli* miktarında 5 log kob/g azalma görülmüştür. Uygulanan doz miktarı 70 mg/L'ye çıkarıldığında 2 dakika sonunda mikroorganizma düzeyi belirlenebilen miktarın altında bulunmuş, ancak klor kalıntı düzeyi de 1,7 mg/L olarak belirlenmiştir [115]. Ispanaklar üzerine yapılan bir başka çalışmada ise 5 mg/L klor eklenmiş suda 1 saat bekletilen ıspanaklarda başlangıçta 5 log kob/mg *E. coli* O157: H7 düzeyinin sıfıra indiği gösterilmiş, ancak >1000 µg/L trihalometan kalıntısı olduğu da belirlenmiştir [116]. Klorlu su ile yıkandığı belirlenen piyasadaki 115 sebze üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise analizler sonucunda ortalama 76,7 ng/g trihalometan varlığı tespit edilmiştir [117]. Kanıtlanmış etkinliği ve yaygın kullanımını nedeniyle bu çalışmada klor dezenfektan olarak tercih edilmiş bunun yanı sıra kalıntı bırakma endişeleri nedeniyle de alternatif doğal dezenfektanlar olarak organik asit ve bitki ekstraktları kullanılmıştır.

## 5.2. Sirkenin Dezenfektan Etkinliği

Meyve ve sebzelerin yapısında doğal olarak bulunan organik asitlerden, sirkedeki asetik asit evlerdeki bireysel kullanım alanları da dahil olmak üzere dezenfektan olarak en sık kullanılan organik asitlerin başında gelmektedir [107]. Bir Kore yemeği olan sirkeli yeşil yosun salatası üzerinde sirkenin antimikrobiyal özelliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, %6 oranında asetik asit içeren sirkenin %5, %10 ve %15'lik konsantrasyonları üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada sirke ile muamele edilen salata 7 gün boyunca 4°C'de depolanmış ve *E. coli* miktarı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda 7 günlük depolama boyunca *E. coli* miktarı sirke eklenmemiş kontrol grubuna göre belirgin olarak ( $p < 0,05$ ) daha düşük seviye bulunmuştur. Bir günlük depolama süresinde bile %10 ve %15 konsantrasyonlarında sirke kullanılan örneklerde *E. coli* miktarında 2 log kob/g azalma olduğu görülmüştür [118]. Maydanoz örnekleri üzerinde çeşitli dezenfektanların etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada *S. Typhimurium* miktarı incelenmiştir. Çalışmada %4 asetik asit içeren ve pH'ı 2,9 olan sirke dezenfektan amacıyla kullanılmıştır. Başlangıçtaki seviyesi 6,2 log kob/g olan maydanoz örneklerindeki *S. Typhimurium* miktarı 4 saat boyunca 200 mL sirke içeren sıvıda bekletildiğinde 5,12 log kob/g'ye düştüğü görülmüştür ve bu azalmanın istatistiksel

olarak da anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ) [4]. Marul örnekleri üzerinde çalışılan bir araştırmada %5 oranında asetik asit içeren sirkenin (pH 3,0) dezenfeksiyon etkisi incelenmiştir. Çalışmada marullarda başlangıçta 7 log kob/g miktarında *E. coli* O157:H7 bulunduğu belirtilmiştir. Marullara 40 mL sirke içerisinde 5 dakika muameleme edildiğinde *E. coli* O157:H7 miktarının 3 log kob/g azaldığı belirlenmiştir. Ancak asetik asit konsantrasyonunun %0,5 (pH 3,26)'den daha az olduğu durumlarda bakteri miktarında 1 log kob/g'dan daha az azalma mevcutsa, 5 dakika bekletilme sonucunda bu kaybın geri kazanıldığı görülmüştür [107]. Bu çalışmada sirke (%4 asetik asit içeren) ile 5 dakika dezenfekte edilen marul örneklerinde toplam bakteri miktarı 6,26 , *Enterobacteriaceae* 4,53 ve *S. aureus* 4,36 log kob/g azalırken, koliform bakteride 147, fekal koliform bakteride 8 ve *E. coli*'de 26 EMS kob/g azalma görülmüştür. Sirke 15 dakika uygulandığında ise toplam bakteri miktarı 6,30 , *Enterobacteriaceae* 4,56 ve *S. aureus* 4,41 log kob/g azalmış, koliform bakteri 240, fekal koliform bakteride 25,4 ve *E. coli* 26,5 EMS kob/g azalmıştır. Çalışma boyunca sirkenin pH'ı 3,8 olarak belirlenmiştir. Diğer dezenfektanların azalma düzeyleri ile karşılaştırıldığında ise koliform bakteri ve fekal koliform bakteriler üzerinde en etkin azalma 15 dakikalık sirke uygulamasında görülmüştür. Mikrobiyal yükteki azalma düzeylerinin her çalışmada farklılık göstermesinin temelinde yatan pek çok neden bulunduğu bilinmektedir. Ortam koşulları, başlangıç mikroorganizma düzeyi ilk akla gelebilecek neden arasında yer alır. Çalışmalar da hemen hemen benzer asetik asit içerikli sirkelerin kullanılmasına rağmen ortaya çıkan farklılıklar, etki düzeylerinde yaşanan farklılıklar ile ilişkili olabilirler ki; asetik asit içeriğinin düşmesi dezenfektanın etkinliğinin de düşmesi ile paralellik göstermektedir.

Sirkenin dezenfeksiyon etkinliğinin var olup olmadığının yanı sıra kullanılması gerekli olan doz miktarına yönelik de bir standartın olmaması, bu amaçla kullanımına yönelik özellikle toplu beslenme kurumlarında etkin dezenfeksiyonu sağlayıp sağlayamaması konusunda şüphe duyulmasına neden olmaktadır [119]. Fakat yapılan bu çalışmanın sonuçları %4 oranında asetik asit içeren sirkenin 50 mL/L 15 dakika süresince uygulanmasının genel hijyen göstergesi olan mikroorganizmaların yanı sıra personel kaynaklı bir kontaminant varlığının göstergesi olan *S. aureus* miktarının da azaltılmasında etkili olduğunu göstermektedir.

### 5.3. Bitki Ekstraktlarının Dezenfektan Etkinliği

Kimyasal dezenfektanlara alternatif olarak antimikrobiyal etkinliği bulunan bitkilerden elde edilen doğal bitki ekstraktları sıklıkla gündeme gelmektedir. Bitki ekstraktları son yıllarda çok amaçlı kullanımları nedeniyle oldukça popüler hale gelmiştir. Bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar ve ekstraktların kullanıldığı çalışmaların konusu oldukça geniş bir aralık göstermektedir. Bazı çalışmalarda bu bitkilerin kimyasallardan koruyucu etkileri, böbrek ve bağırsak fonksiyonlarını düzenleyebilme özellikleri irdelenmiştir [120, 121]. Bazıların ise bu doğal bileşiklerin antioksidan özelliği üzerine yoğunlaşmış DNA hasarını, mutajeniteyi ve karsinogenezi önleme özellikleri üzerinde durulmuştur [81, 122].

Bitkilerden elde edilen doğal bileşiklerin antimikrobiyal özellikleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Görülen besin zehirlenme vakalarının yarısına yakınının nedeni olarak meyve ve sebzelerin gösterilmesinden dolayı da antimikrobiyal özelliklerinin meyve ve sebzelerde dezenfektan etki gösterip göstermediği ile ilgili çalışmalara yoğunlaşmaktadır [123].

Bitki ve baharatlardan elde edilen ekstraktlar, en az bitkiler kadar çeşitlilik göstermektedir. Ancak çalışmaların özellikle yeşil yapraklı bitkilerden elde edilen ekstraktlar üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu çalışmada da Türk mutfağında sıklıkla kullanılan ve keskin tadı, kokusu olmadığı için salata sosu yapımında kullanılabilen maydanoz ve nane ekstraktları seçilmiştir.

#### 5.3.1. Maydanoz ekstraktının dezenfektan etkinliği

Etlер üzerinde yapılan bir çalışmada maydanoz ekstraktı 1,07; 2,14 ve 4,29 g miktarlarında kullanılmıştır. Çalışmada özellikle *L. monocytogenes* üzerinde çalışılmış ve etlerde ekstraktın dezenfeksiyon etkisine bakılmıştır. Çalışma sonunda *L. monocytogenes* bakımından kontrol grubu ile belirgin bir farkın olmadığı belirlenmiştir [62]. Dana köfteleri üzerinde yapılan bir çalışmada *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* üzerinde çeşitli doğa bitki ekstraktlarının etkisi incelenmiştir. %0,3 , %0,6 ve %1,2 oranında uygulanan maydanoz ekstraktları arasından özellikle %0,6 ve %1,2 konsantrasyonlarında belirgin bir dezenfeksiyon etkinin varlığı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bu mikroorganizmalar arasında etkin bir azalmanın görülebilmesi için özellikle *S. enterica* ve *E. coli* için *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'a göre daha yüksek konsantrasyonlardaki uygulamalara ihtiyaç duyulduğundan bahsedilmektedir.

%1,2 konsantrasyonunda kullanılan maydanoz ekstraktında *E. coli*'de 2,5 log kob/g'dan fazla azalma olduğu da belirtilmektedir [61]. Bitki ekstraktları üzerinde yapılan bir başka çalışmada maydanoz ve kişniş kullanılmış ve bunlardan elde edilen ekstraktlar *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus flavus*, *Mucor spp.* ve *Emericella nidulans* üzerinde test edilmiştir. 50 µL düzeyinde kullanılan maydanoz ekstraktının tüm mikroorganizmalar üzerinde anlamlı düzeyde azalmaya neden olabildiği belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). *Salmonella typhi* üzerinde %60, *Staphylococcus aureus* 'da %33, *Candida tropicalis* 'da %20, *Aspergillus flavus* 'da %47, *Mucor spp.* 'de %28 ve *Emericella nidulans* 'da %36 oranında azalmaya neden olduğu belirlenirken, *Mucor spp.* 'in maydanoz ekstraktına en dayanıklı mikroorganizma olduğu da vurgulanmıştır [124]. Peynirler üzerinde yapılan bir çalışmada ise bitki ekstraktların *S. aureus* üzerine olan etkinliği incelenmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında genel hijyen değerlendirmesi açısından toplam bakteri ve koliform bakteri miktarlarına da bakılmıştır. Çalışmada maydanoz ekstraktı %3, %6 ve %9 oranlarında kullanılmıştır. Çalışma sonucunda %6 ve %9 oranında maydanoz ekstraktı kullanımının peynirdeki *S. aureus* düzeyini belirgin şekilde azalttığı belirtilmektedir ( $p<0,01$ ). Peynirde başlangıçta  $2 \times 10^6$  kob/mL olarak tespit edilen toplam bakteri düzeyinin de maydanoz ekstraktının tüm konsantrasyonlarının kullanımında belirgin düzeyde azaldığı ( $p<0,05$ ), bu etkinin de 4 saate kadar devam ettiği belirlenmiştir. Başlangıçta  $1,3 \times 10^5$  kob/mL olarak belirlenen koliform bakteri miktarında ise %6 ve %9 konsantrasyonlarında bakteri üremesinin tamamen inhibe olduğu belirtilmiştir [125]. Bu çalışmaların yanı sıra maydanoz ekstraktının sıcak ve soğuk olarak iki farklı formda kullanılması da antimikrobiyal özelliği değiştirebilmektedir. Ekstraktların 100 mL olarak kullanıldığı bir çalışmanın sonucunda kontrol grubunda 9,6 kob/mL olan *E. coli* miktarı ekstraktın sıcak kullanımı sonucunda 2,4 kob/mL'ye düşerken, ekstraktın soğuk kullanımıyla bu miktar 0,6 kob/mL'ye düşmüştür. Buna göre *E. coli*'nin sıcak ekstrakt uygulaması sonrasındaki gelişimi %25, soğuk ekstrakt uygulaması sonrasındaki gelişimi ise %6 olarak hesaplanmıştır [126].

Bu çalışmada maydanoz ekstraktı 5 dakika uygulandığında marul örneklerindeki toplam bakteride 4,78 log kob/g, *Enterobacteriaceae*'da 4,54 log kob/g ve *S. aureus*'da 4,38 log kob/g azalma, koliform bakteride 217 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 19,8 EMS kob/g ve *E. coli*'de 20,6 EMS kob/g azalma görülmüştür. Maydanoz ekstraktının 15 dakikalık uygulamasında ise azalma miktarları toplam bakteride 6,06 log kob/g, *Enterobacteriaceae*'da 4,64 log kob/g ve *S. aureus*'da 4,39 log kob/g, koliform bakteride

225 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 25,4 EMS kob/g ve *E. coli*'de 27,7 EMS kob/g olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda maydanoz ekstraktının 50 µl - 0,1 g/mL arasında kullanımının özellikle *E. coli*, *S. aureus* ve *Bacillus* spp. üzerinde anlamlı düzeyde azalmalara neden olduğu vurgulanmaktadır. pH düzeyleri ise çalışmalarda farklılıklar göstermesine rağmen genellikle 4,05 - 6,29 arasında bulunmuştur [7, 127-130]. Bu çalışma sırasında ise maydanoz ekstraktının pH'ı 4,07-4,90 olarak bulunmuştur. Maydanoz ekstraktının pH değişimlerinin bekletilme sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir. Ancak bitki ekstraktlarının yapımı için kullanılabilen pek çok ekstraksiyon yönteminin var olması, yöntem farklılıklarının da göz önünde bulundurulması gerektiğini akla getirmektedir. Çalışmalar incelendiğinde birçoğunda farklı uygulama ve ortam koşulları özellikle göze çarpmaktadır. Belirli bir otorite tarafından henüz kesinleşmiş bir kullanım uygulaması mevcut olmayan bitki ekstraktları için çalışmalarda farklı uygulamaların görülmesi ve farklı azalma miktarlarının saptanması maydanoz ekstrakt yöntemleri, bitki türleri ve fenolik madde içerik farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmada bitki ekstraktlarının fenolik madde içeriklerinin belirlenememiş olmasının yarattığı sınırlılıklara rağmen çalışmadan elde edilen sonuçlar maydanoz ekstraktının iyi bir dezenfektan etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

### 5.3.2. Nane ekstraktının dezenfektan etkinliği

İn vivo olarak nane esansiyel yağının *L. monocytogenes* ve *S. aureus* üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada nanenin *S. aureus* üzerinde daha etkin bir azalamaya neden olduğu belirtilmiştir. %0,5 yoğunlukta nane esansiyel yağı direkt *S. aureus* üzerine uygulandığında 3 saat içerisinde  $10^1$  kob/mL azalmaya neden olduğu, etkisinin 24 saat boyunca devam ettiği ve toplamda 24 saat içerisinde  $10^5$  kob/mL azalmaya neden olduğu bulunmuştur [72]. Direkt olarak etkinliğin belirlediği bir çalışmada mikroorganizmalar bitki ekstraktlarının %2'lik konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. 10 dakika boyunca nane ekstraktına maruz bırakılan *E. coli* O157:H7'de 0,4 log kob/mL, *S. aureus*'da 4,2 log kob/mL azalma olduğu görülmüştür [131]. Bitki ekstraktlarının etkinliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada başlangıçta 300 kob/mL miktarında bulunan *E. coli*'nin naneyle elde edilen esansiyel yağa 4 saat boyunca maruz bırakıldığında %66,8 oranında azaldığı görülmüştür. Süre 12 saate çıktığında ise %85 oranında bir azalma belirlenmiştir [132].

Bu çalışmada nane ekstraktı 5 dakika uygulandığında toplam bakteride 6,22 log kob/g, *Enterobacteriaceae*'da 4,66 log kob/g ve *S. aureus*'da 4,14 log kob/g, koliform bakteride

30 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 8 EMS kob/g ve *E. coli*'de 17 EMS kob/g azalma sağlanmıştır. Nane ekstraktının 15 dakikalık uygulaması sonrasında toplam bakteride 6,25 log kob/g, *Enterobacteriaceae*'da 4,7 log kob/g ve *S. aureus*'da 4,26 log kob/g, koliform bakteride 90 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 18 EMS kob/g ve *E. coli*'de 21,8 EMS kob/g azalma olduğu saptanmıştır. Uygulamalar sırasında nane ekstraktının pH değerleri 4,8-5,24 arasında değişmiştir. Nane ekstraktı ile yapılan çalışmalara bakıldığında bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer olarak özellikle *S. aureus* sayısında azalma düzeyi dikkat çekicidir [72, 131, 132]. Toplu besleme hizmeti veren kurumlarda, insan kaynaklı bulaşların bir göstergesi olarak görülen *S. aureus* üzerindeki bu etkinlik, özellikle servis sırasında personel kaynaklı yaşanabilecek kontaminasyon riskinin tamamen ortadan kaldırılması ve/veya en aza indirilmesinde önemlidir.

#### **5.4. Bitki Ekstraktının Kombine Kullanımları ve Duyusal Analizler**

Daha sık rastlanılabilen mikrobiyal etkinlik araştırmalarına karşın bitki ekstraktları ile ilgili yapılan duyusal analiz çalışmalarının çok seyrek olduğu göze çarpmaktadır [71]. Tavuk eti üzerinde nane ekstraktı kullanılarak yapılan bir araştırmada, dezenfeksiyon uygulanmış örneklerin tamamında koliform bakteri ve *S. aureus* üremesi olmadığı vurgulanmıştır. Aynı çalışmada pH'ı 6,11 olan nane esansiyel yağının, tavuk etinin duyusal özellikleri üzerine etkisi de incelenmiştir. En yüksek 8 puan üzerinden yapılan değerlendirmelerde nane esansiyel yağı ile muamele edilen tavuk etinin rengi ve görünüşü için 6,69 , tadı için 6,25 , yapısı için 6,25 , ağızda kalan tadı için 5,86 , hissedilen tat yoğunluğu için 5,86 ve genel kabul edilebilirliği için ise 5,97 puan verilmiştir [71]. Bu çalışmada da kullanılan bitki ekstraktları ile bir salata sosu yapılmış ve mikrobiyal yüke etkinliği değerlendirilmeden önce kullanılabilirliğinin belirlenmesi açısından duyusal analiz değerlendirmesi yapılmıştır. Duyusal analiz çalışması sonucunda toplamda 5 puan üzerinden yapılan değerlendirmeden salata sosunun genel izlenimi 3,9 puan almıştır. Salata sosunun yapımında nane ekstraktı tek başına kullanılmamıştır. Ancak miktar belirleme aşamasında nane ekstraktının organoleptik özellikleri ile ilgili bir sorun yaşanmamış, bu nedenle dezenfektan olarak kullanılan dozu direkt olarak salata sosunda da kullanılabilmiştir. Bu nedenle nane ekstraktı kullanımının gıdaların duyusal özellikleri üzerinde de olumsuz bir etkiye neden olacağı düşünülmemektedir.

Yapılan çalışmalar bitki ekstraktlarının kombine kullanımlarının tek başına kullanımına kıyasla daha etkin olduklarını göstermektedir [133, 134]. Yapılan bir çalışmada tarçın ve

tarçın kabuğu ile tarçın ve bergamottan elde edilen esansiyel yağ asitlerinin kombine olarak dezenfektan etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda bu esansiyel yağ asitlerinin tek başlarına olan dezenfektan etkilerine göre kıyaslandığında, tarçın ve tarçın kabuğu kombinasyonunun 0,64 kat, tarçın ve bergamot kombinasyonunun ise 1,29 kat daha iyi aktivite gösterdiği belirtilmiştir [133]. 12 farklı bitkiden elde edilen esansiyel yağların kullanıldığı bir başka çalışmada da esansiyel yağların hem bireysel hem de kombine olarak dezenfektan etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda maydanozun tek başına anlamlı bir dezenfeksiyon etkisi bulunamamıştır. Ancak rezene ve maydanoz ekstraktının kombine olarak kullanımının *S. aureus*, *Y. enterocolitica* ve funguslar üzerinde güçlü, *Salmonella Typhimurium* üzerinde ise orta düzeyde bir antimikrobiyal etkiye neden olduğu belirlenmiştir [134].

Yapılan bu çalışmada dezenfektan olarak kullanılan bitki ekstraktları bir araya getirilerek gıda güvenliğinde kritik kontrol noktası olan servis aşamasında salatalarda anlık dezenfeksiyon amaçlı ve tüketilebilir bir sos oluşturulması amaçlanmıştır. Çalışmada, hazırlanan salata sosuna daldırılıp çıkarılma sonucunda toplam bakteride 6,13 log kob/g, *Enterobacteriaceae* yükünde 4,41 log kob/g, *S. aureus* yükünde 5,95 log kob/g, koliform bakteride 25 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 12,7 EMS kob/g, *E. coli*'de 1,5 EMS kob/g azalma görülmüştür. Marul örnekleri sosun için 5 dakika bekletilip çıkarıldığında ise toplam bakteride 6,22 log kob/g, *Enterobacteriaceae* yükünde 4,44 log kob/g, *S. aureus* yükünde 5,96 log kob/g, koliform bakteride 31 EMS kob/g, fekal koliform bakteride 13,5 EMS kob/g, *E. coli*'de 2,3 EMS kob/g azalma görülmüştür. Ekstraktların, dezenfektan olarak tek başlarına kullanımlarında görülen mikroorganizma azalma miktarı ile kıyaslandığında, salata sosunun neden olduğu mikroorganizma azalma düzeyinin daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumda salata sosunun yapımı sırasında kullanılan maydanoz ekstraktının çok keskin olan tadı ve kokusu nedeniyle kullanım miktarının sınırlandırılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.





## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma; sirke, nane ve maydanoz ekstraktları ile araştırmacı tarafından bu ekstraktlardan oluşturulan ve organoleptik özellikleri uygun bir salata sosunun servis aşamasındaki olası bulaşlara karşı etkinliğini değerlendirmek amacıyla planlanıp yürütülmüştür. Çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- 5 dakika klor uygulaması sonucu toplam bakteri yükü  $1,99 \times 10^6$  kob/g 'dan  $2,94 \times 10^5$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,23 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika sirke uygulaması sonucu toplam bakteri yükü  $1,99 \times 10^6$  kob/g 'dan  $1,86 \times 10^5$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,26 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika süresinde nane ekstraktı ile muamele edilen marullarda başlangıçtaki toplam bakteri yükü  $1,99 \times 10^6$  kob/g 'dan  $3,23 \times 10^5$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,22 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika maydanoz ekstraktı uygulaması sonucu toplam bakteri yükü  $1,99 \times 10^6$  kob/g 'dan  $1,90 \times 10^6$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,78 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika nane ekstraktı uygulaması ile toplam bakteri miktarları  $1,99 \times 10^6$  kob/g'dan  $1,93 \times 10^5$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,25 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika maydanoz ekstraktında toplam bakteri miktarları  $1,99 \times 10^6$  kob/g'dan  $8,33 \times 10^5$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,06 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika süreyle klorda bekletilen toplam bakteri miktarları  $1,99 \times 10^6$  kob/g'dan  $3,79 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,29 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika sirkede bekletilen marul örneklerinde toplam bakteri miktarlarında  $1,99 \times 10^6$  kob/g  $9,93 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 6,30 log kob/g azalma görülmüştür.
- Kullanılan dezenfektanların marulun toplam bakteri yükünde oluşturduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol grubuna göre maruldaki toplam bakteri miktarında oluşturduğu azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, yalnızca maydanoz ekstraktının 5 dakika süresince uygulanmasında anlamlı bir azalma belirlenememiş ( $p = 0,12$ ), diğer uygulamalarda görülen azalma düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve toplam

bakteri yükünde en yüksek düzeyde azalma miktarı 15 dakika süresince uygulanan klor ve sirke de görülmüştür. ( $p=0,01$ ).

- Marullarda öncesinde  $4,96 \times 10^4$  kob/g olan *Enterobacteriaceae* yükü, 5 dakika boyunca nane ekstraktı uygulanması sonrasında  $3,83 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,66 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika maydanoz ekstraktında *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $1,51 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,54 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika klorda *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $4,70 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 3,41 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika sirke de *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $1,56 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,53 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika nane ekstraktı uygulandığında *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $3,05 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,67 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika maydanoz ekstraktı uygulandığında *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $5,86 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,64 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika klor uygulandığında *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $5,46 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,64 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika sirke uygulandığında *Enterobacteriaceae* yükü  $4,96 \times 10^4$  kob/g'dan  $1,36 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,56 log kob/g azalma görülmüştür.
- Dezenfektanların *Enterobacteriaceae* yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- Kontrol grubuna göre maruldaki *Enterobacteriaceae* yükünde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, klorun 5 dakika uygulanmasında anlamlı bir azalma belirlenememiş ( $p=0,12$ ), diğer uygulamalarda görülen azalma düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve *Enterobacteriaceae* yükündeki en iyi azalmayı 15 dakikalık nane ekstraktı uygulaması sağlamıştır. ( $p=0,01$ ).
- *S. aureus* miktarı başlangıçta  $2,66 \times 10^4$  kob/g olarak belirlenen marul örnekleri 5 dakika boyunca nane ekstraktı ile muamele edildiğinde  $1,29 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,14 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika maydanoz ekstraktında *S. aureus* miktarı  $2,66 \times 10^4$  kob/g'dan  $2,40 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,38 log kob/g azalma görülmüştür.

- 5 dakika klorda *S. aureus* miktarı  $2,66 \times 10^4$  kob/g'dan  $1,75 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,40 log kob/g azalma görülmüştür.
- 5 dakika sirkede *S. aureus* miktarı  $2,66 \times 10^4$  kob/g'dan  $3,85 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,36 log kob/g azalma görülmüştür.
- Uygulama süresi 15 dakikaya çıkarıldığında *S. aureus* yükü nane ekstraktında  $2,66 \times 10^4$  kob/g'da,  $8,45 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,26 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika maydanoz ekstraktında *S. aureus* yükü  $2,66 \times 10^4$  kob/g'dan  $2,15 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,39 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika klor uygulamasında *S. aureus* yükü  $2,66 \times 10^4$  kob/g'dan  $0,70 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,41 log kob/g azalma görülmüştür.
- 15 dakika sirke uygulamasında *S. aureus* yükü  $2,66 \times 10^4$  kob/g'dan  $0,65 \times 10^3$  kob/g'a düşmüştür. Toplamda 4,41 log kob/g azalma görülmüştür.
- Dezenfektanların *S. aureus* yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol grubuna göre *S. aureus* 'da neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalarda görülen azalma düzeyinin hepsi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve *S. aureus* yükünde en iyi azalma 15 dakika süresince uygulanan klor ve sirkede görülmüştür. ( $p = 0,01$ ).
- Dezenfektanların neden olduğu azalma miktarı ile pH arasındaki ilişkiye bakıldığında ise, toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* 'da görülen azalma ile pH arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık belirlenememiştir ( $p > 0,05$ ).
- Başlangıçta koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g olan marullar, 5 dakika süresinde nane ekstraktı ile muamele edildiğinde bakteri yükü  $21 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika maydanoz ekstraktı uygulaması sonucunda koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g'dan  $2,3 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika klor uygulaması sonucu koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g'dan  $1,5 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika sirke uygulaması sonucu koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g'dan  $9,3 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakikaya nane ekstraktı uygulandığında koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g'dan  $15 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.

- 15 dakika maydanoz ekstraktında koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g'dan  $1,5 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika klorda koliform bakteri yükü  $24 \times 10$  EMS kob/g'dan  $1,5 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika sirkede koliform bakteri yükü sıfır olarak belirlenmiştir.
- Dezenfektanların koliform bakteri yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol gruplarına göre koliform bakteri yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalar arasında görülen azalma düzeyi tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve koliform bakteri yükünde en iyi azalmayı 15 dakika sirke uygulaması sağlamıştır. ( $p = 0,005$ ).
- Marullarda  $2,9 \times 10$  EMS kob/g olan fekal koliform bakteri yükü, 5 dakika boyunca nane ekstraktı uygulanması sonrasında  $2,1 \times 10$  EMS kob/g' düşmüştür.
- 5 dakika maydanoz ekstraktında fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,92 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika klorda fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,36 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika sirkede fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $2,1 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika nane ekstraktı uygulandığında fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $1,1 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika maydanoz ekstraktında fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,36 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika klorda fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,92 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika sirkede fekal koliform bakteri yükü  $2,9 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,36 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- Dezenfektanların fekal koliform bakteri yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol gruplarına göre fekal koliform bakteri yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalar arasında görülen azalma düzeyi tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve fekal koliform bakteri yükünde 15 dakika boyunca süren maydanoz, klor ve sirke en etkin uygulamalardır. ( $p = 0,005$ ).

- *E. coli* miktarı başlangıçta  $2,8 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenen marul örnekleri 5 dakika boyunca nane ekstraktında ile muamele edildiğinde *E. coli* yükü  $1,1 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika maydanoz ekstraktında *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,74 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika klorda *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,03 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 5 dakika sirkede *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,2 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakikaya nane ekstraktı uygulandığında *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,62 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika maydanoz ekstraktında *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,03 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika klorda *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,03 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- 15 dakika sirkede *E. coli* yükü  $2,8 \times 10$  EMS kob/g'dan  $0,15 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- Dezenfektanların *E. coli* yükünde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol gruplarına göre *E. coli* yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalar arasında görülen azalma düzeyi tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve *E. coli* 'de ise 15 dakika maydanoz ekstraktı ile 5 ve 15 dakika klor uygulamalarında en iyi sonuç alınmıştır. ( $p = 0,005$ ).
- Dezenfektanların neden olduğu azalma miktarı ile pH arasındaki ilişkiye bakıldığında; koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* 'de görülen azalma ile pH arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık belirlenememiştir ( $p > 0,05$ ).
- *Enterobacteriaceae* yükündeki en iyi azalmayı 15 dakikalık nane ekstraktı uygulaması sağlamıştır.
- Fekal koliform bakteri yükünde 15 dakika boyunca süren maydanoz ekstraktı uygulaması da en etkin uygulamalardan biridir.
- *E. coli* 'de 15 dakika maydanoz ekstraktı uygulaması ile de en iyi sonuçlardan biri alınmıştır.

- Klor uygulamalarında meydana gelen azalma düzeyleri ile karşılaştırıldığında, maydanoz ve nane ekstraktının da benzer miktarda azalmayı sağlayabildikleri görülmektedir.
- Koliform bakteri yükünde en iyi azalmayı 15 dakika sirke uygulaması sağlamıştır.
- Fekal koliform bakteri yükünde 15 dakika boyunca süren sirke uygulaması da en etkili uygulamalar arasında yer almaktadır.
- Toplam bakteri ve *S. aureus* yüklerinde en iyi azalmayı sağlayan uygulamalardan biri 15 dakika süresince uygulanan sirkedir.
- Salata sosun kullanımını sonrasında başlangıçta  $1,66 \times 10^6$  kob/g olan toplam bakteri yükü sosa daldırılıp çıkarıldıktan sonra  $3,05 \times 10^5$  kob/g'a düşmüştür. Salata sosunda 5 dakika bekletildikten sonra başlangıçta  $1,66 \times 10^6$  kob/g olan toplam bakteri yükü  $7,85 \times 10^3$  kob/g olarak belirlenmiştir. Toplam bakteri yükünde sosa daldırılıp çıkarılma sonunda 6,13 log kob/g, 5 dakika bekletilme sonucunda da 6,22 log kob/g azalma görülmüştür.
- *Enterobacteriaceae* yükü başlangıçta  $2,90 \times 10^4$  kob/g iken, sosa daldırılıp çıkarıldıktan sonra  $3,00 \times 10^3$  kob/g, 5 dakika sonra  $1,40 \times 10^3$  kob/g olmuştur. *Enterobacteriaceae* yükünde daldırılma sonrasında 4,41 log kob/g, 5 dakika bekletilme sonrasında 4,44 log kob/g azalma görülmüştür.
- Başlangıçta *S. aureus* düzeyi  $9,45 \times 10^5$  kob/g olarak belirlenmiş, bu düzey sosa daldırıldıktan sonra  $6,10 \times 10^4$  kob/g'a, 5 dakika bekletildikten sonra ise  $2,35 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. *S. aureus* yükünde daldırılma sonrasında 5,95 log kob/g, 5 dakika bekletilme sonrasında 5,96 log kob/g azalma görülmüştür.
- Hazırlanan salata sosunun marulun toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* yüklerinde neden olduğu azalma düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol grubuna göre 0 ve 5 dakika salata sosu uygulamalarının maruldaki toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* ve *S. aureus* miktarındaki azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalarda görülen azalma düzeyi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve 3 bakteri grubu içinde salata sosunda 5 dakika bekletilme uygulamasının daha iyi bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. ( $p = 0,01$ ).
- $4,6 \times 10$  EMS kob/g olan koliform bakteri yükü salata sosuna daldırıldıktan sonra  $2,1 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüş, salata sosunda 5 dakika bekletildikten sonra ise  $1,5 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenmiştir.

- Fekal koliform bakteri yükü başlangıçta  $1,5 \times 10$  EMS kob/g iken, sosa daldırılıp çıkarıldıktan sonra  $0,23 \times 10$  EMS kob/g, 5 dakika sonra  $0,15 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenmiştir.
- Başlangıçta *E. coli* düzeyi  $0,43 \times 10$  EMS kob/g olarak belirlenmiş, bu düzey sosa daldırıldıktan sonra  $0,28 \times 10$  EMS kob/g'a, 5 dakika bekletildikten sonra ise  $0,2 \times 10$  EMS kob/g'a düşmüştür.
- Salata sosunun koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yüklerinde neden olduğu azalma düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Kontrol gruplarına göre 0 ve 5 dakika salata sosu uygulaması sonunda koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yüklerinde neden oldukları azalma düzeyleri karşılaştırıldığında, uygulamalarda görülen azalma düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve koliform bakteri, fekal koliform bakteri ve *E. coli* yükleri için, salata sosunda 5 dakika bekletilme uygulamasının daha iyi bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. ( $p = 0,005$ ).
- Salata sosunun renk değerlendirilmesi ortalama  $4,62 \pm 0,80$  olarak bulunmuştur. Salata sosunun diğer özelliklerinden kıvam  $3,87 \pm 1,02$ , aroma  $3,56 \pm 1,03$ , tat  $3,56 \pm 0,96$  ve koku  $3,81 \pm 0,98$  şeklinde değerlendirilmiştir. Salata sosu ile ilgili genel değerlendirme ise 5 puan üzerinden  $3,90 \pm 0,96$ 'dır.
- Skalada salata sosunun tadını, kokusunu ve kıvamını en iyi tanımlayan sözcüğün seçilmesi istenmiş ve bireylerin %25,0'i sosu hafif %37,5'i kuvvetli olarak tanımlamıştır.

Toplu beslenme hizmet sektörüne talebin her geçen gün artması bu alanlarda halk sağlığının korunması ve geliştirilmesi açısından gıda güvenliği uygulamalarının önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Gıda zehirlenmelerinde aracı besinlerin başında salatalar gibi tüketime çiğ olarak sunulan ve ısı işleme uygulanmayan ürünlerin yer alması nedeniyle bu tür gıdaların dezenfeksiyonu önem taşımaktadır. Bu amaçla sıklıkla klor kullanımı tercih edilmektedir. Klor kullanımında kalıntı riskinin en aza indirilmesi ve dezenfeksiyon etkinliğinin sağlanması açısından personel tarafından kullanım talimatlarına uyumun izlenmesi, objektif olarak klor kiti aracılığıyla klor dozunun uygunluğu ve kalıntı düzeyinin kontrolü rutin olarak sağlanmalıdır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar klor alternatifi olarak kullanılabilen bitki ekstraktlarının etkinliğini destekler niteliktedir. Bununla birlikte klor alternatifi olan bitki ekstraktlarının üretiminde kullanılan bitkilerin standartlaştırılmaması bu çalışmanın

sınırlılıklarından birini oluşturmaktadır. Bitkilerin yetiştirilme koşulları, hasat zamanı gibi pek çok etkenin fenolik madde içeriğinde farklılaşmaya neden olabileceği bilinmektedir. Bu durum da kullanılan ekstraktların fenolik madde içeriğinin standart hale getirilememesine neden olmaktadır. Çalışmanın diğer bir sınırlılığı ise kullanılan ekstraktların fenolik madde içeriklerine bakılamamış olmasıdır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bitki ekstraktlarının etkinliğinin belirlenmesinde fenolik madde içeriğinin saptanması önerilir.

Doğal bir bitki asidi içeren ve gerek evlerde gerekse de toplu beslenme hizmeti veren kurumlarda hala sıklıkla kullanılan sirke, klora alternatif oluşturabileceği düşünülen maddelerden birisidir. Bu çalışmada sirke için içerdiği asetik asit miktarına göre bir ön araştırma yapılmış ve ön araştırma sonunda %4 asetik asit içeriğine sahip sirkenin dezenfektan olarak kullanılabilmesine karar verilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre ise mikroorganizmalar üzerinde en iyi azalma gösteren sirke dozu olarak belirlenen 50 mL/L'de 15 dakika %4'lük sirke uygulaması yeşil yapraklı sebzelerin dezenfeksiyonunda önerilebilir dozdur.

Gıda güvenliğinde kritik kontrol noktası olarak değerlendirilen servis aşamasında yapılacak anlık dezenfeksiyon işlemleri başta *S.aureus* riski olmak üzere pek çok mikrobiyal kontaminasyon riskinin azaltılması ve/veya en aza indirilmesi açısından önem taşımaktadır. Bu nedenle bu çalışmada elde edilen salata sosunun servis aşamasında kullanımı önerilebilir. Bununla birlikte salata sosunda kullanılacak bitki ekstraktlarının organoleptik özelliklerinin üst düzeyde olması hem tüketilebilirliğin hem de etkinliğin artırılması bakımından yarar sağlayacaktır. Bu doğrultuda sonraki çalışmalarda maydanoz ekstraktı yerine diğer bitki ekstraktlarının değerlendirilmesi önerilmektedir.

Her alanda kimyasal içerikli ürün kullanımının azaltılmaya başlandığı günümüzde klora alternatif oluşturabilecek özellikle doğal ürünler üzerinde yapılan çalışmalar sürekli artmaktadır. Çalışmalarda görülen sonuçlar doğal ürünlerin dezenfektan etkisinin varlığını kanıtlar niteliktedir. Ancak bu ürünlerin yetkili bir kurum ya da kuruluş tarafından onaylanmış kullanım talimatlarının bulunmamasıdır. Bu durum ürünlerle ilgili çok farklı kullanım şekillerine sebebiyet vermekte ve bir standardın oluşmasına engel teşkil etmektedir. Bu eksikliğin giderilebilmesi adına yetkili kurum ve kuruluşlara kaynak teşkil edebilecek daha fazla çalışmaya ve bu çalışmalar ışığında oluşturulabilecek bir standart kullanım talimatına ihtiyaç duyulmaktadır.



## KAYNAKLAR

1. Poimenidou, S. V., Bikouli, V. C., Gardeli, C., Mitsi, C., Tarantilis, P. A., Nychas, G. J. and Skandamis, P. N. (2016). Effect of single or combined chemical and natural antimicrobial interventions on *Escherichia coli* O157:H7, total microbiota and color of packaged spinach and lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 6-18.
2. World Health Organization (WHO). (2003). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*. World Health Organization Technical Report Series, 30-46.
3. Bachelli, M. L., Amaral, R. D. and Benedetti, B. C. (2013). Alternative sanitization methods for minimally processed lettuce in comparison to sodium hypochlorite. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 673-678.
4. Faour-Klingbeil, D., Kuri, V. and Todd, E. C. (2016). The influence of pre-wash chopping and storage conditions of parsley on the efficacy of disinfection against *S. Typhimurium*. *Food Control*, 65, 121-131.
5. Fröder, H., Martins, C. G., De Souza, K. L., Landgraf, M., Franco, B. D. and Destro, M. T. (2007). Minimally processed vegetable salads: microbial quality evaluation. *Journal of Food Protection*, 70(5), 1277-1280.
6. Bhargava, K., Conti, D. S., da Rocha, S. R. and Zhang, Y. (2015). Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food Microbiology*, 47, 69-73.
7. Gutierrez, J., Rodriguez, G., Barry-Ryan, C. and Bourke, P. (2008). Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: antimicrobial and sensory screening. *Journal of Food Protection*, 71(9), 1846-1854.
8. Kim, S.Y., Kang, D. H., Kim, J. K., Ha, Y. G., Hwang, J. Y., Kim, T. and Lee, S. H. (2011). Antimicrobial activity of plant extracts against *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157: H7, and *Listeria monocytogenes* on fresh lettuce. *Journal of Food Science*, 76(1), 41-46.
9. Çakır, B. (2007). *Ankara'da Yemek Fabrikalarının Sorumlu Yöneticilerinin Beslenme Bilgi Düzeylerinin ve Yönetimsel Bilgi/Yaklaşımlarının Belirlenmesi*, Yayınlanmış Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 9-20.
10. Beyhan, Y. ve Ciğerim, N. (1995). *Toplu beslenme sistemlerinde menü yönetimi ve denetimi*. Ankara: Kök Yayıncılık, 18-32.
11. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı. (2010). *Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu (Kanun No 5996)*. Resmi Gazete Sayı 27610, 49 (5), 3-20.
12. Giray, H. ve Soysal, A. (2007). Türkiye'de gıda güvenliği ve mevzuatı. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(6), 485-490.

13. Özay, İ. (2016). *Sağlık Çalışanlarının Gıda Güvenliğine İlişkin Bilgi Düzeylerinin Saptanması*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Halk Sağlığı Programı, İstanbul, 7-26.
14. Atay, E. ve Metintaş, S. (2018). Bruselloz ve ekonomik yüzü. *Eskişehir Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Halk Sağlığı Dergisi*, 3(3), 71-84.
15. Centers for disease Control and Prevention (CDC). (2014). *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 321-338.
16. Turgay, Ö. (2017). *Gıda Mikrobiyolojisi*. İzmir: Sidas Yayınları, 56-75.
17. Varzakas, T. H. and Arvanitoyannis, I. S. (2008). Application of ISO 22000 and comparison to HACCP for processing of ready to eat vegetables: Part I. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(10), 1729-1741.
18. Lynch, M. F., Tauxe, R. V., and Hedberg, C.W. (2009). The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. *Epidemiology & Infection*, 137(3), 307-315.
19. European Food Safety Authority (EFSA). (2013). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013*. EFSA Journal, 13, 3991-3992.
20. Köseoğlu, V. K. (2007). *Model sistemlerde laktik asit bakterilerinin bazı patojenler üzerine antibakteriyel etkilerinin incelenmesi*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 14-32.
21. Eroğlu, E. (2008). *Efficacy of natural antimicrobials on food-borne pathogens and their applications*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İzmir Institute of Technology, İzmir, 6-12.
22. Erkmen, O. ve Bozoglu, T.F. (2008). *Food Microbiology I: Microorganisms in Foods, Microbial Growth, Foodborne Diseases and Detection of Microorganisms and their Toxins*. Ankara: İlke Publishing Company, 46-51.
23. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. (2005, Şubat 17). *İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik*. Resmi Gazete Sayısı 25730, 5-18.
24. Türk Gıda Kodeksi. (2011, Aralık 29). *Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği*. Resmi Gazete Sayısı 28157, 3-20.
25. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (1998). *Gıda Mikrobiyolojisi*. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 45-82.
26. Pichhardt, K. (2004). *Gıda Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Literatür Yayıncılık, 904-975.
27. Sipahi-Didem, A. ve Enginoğlu, G. (2013). Bilgi yönetimi ve kalite yönetim sistemleri arasındaki ilişkinin açıklanmasına yönelik bir araştırma. *Sosyal ve Beşeri Bilimler Dergisi*, 5(1), 290-299.
28. Ryan, J. (2007). On-line real time aid to the verification of CCP compliance in beef slaughter HACCP systems. *Food Control*, 18(6), 689-696.

29. Erkan, B. ve Bilgin, Ü. C. (2008). Bir Hazır yemek işletmesinde HACCP sisteminin kurulması. *JOTAF/Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(3), 267-281.
30. Başoğlu, F. (2011). *Gıda Kalite Kontrolünün Esasları ve Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri*. Bursa: Dora Basım Yayın, 36-48.
31. Topoyan, M. (2003). *Gıda Sektöründe Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri (HACCP) ve ISO 9001: 2000 Kalite Yönetim Sistemi İlişkisinin İncelenmesi*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İzmir, 8-35.
32. Türkiye Cumhuriyeti Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. (2011). *Toplu tüketim Yerleri İçin İyi Hijyen Uygulamaları Rehberi*. Kılavuz No 5, 9-29.
33. Şenel, Y. ve Başoğlu, F. (2002). Gıda işletmelerinde kullanılan bazı dezenfektanların mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16, 105-115.
34. Sedlak, D. L. and von Gunten, U. (2011). The chlorine dilemma. *Science*, 331(6013), 42-43.
35. Waters, B. W., Tatum, J. M., and Hung, Y. C. (2014). Effect of chlorine-based sanitizers properties on corrosion of metals commonly found in food processing environment. *Journal of Food Engineering*, 121, 159-165.
36. Sanz, S., Giménez, M., Olarte, C., Lomas, C. and Portu, J. (2002). Effectiveness of chlorine washing disinfection and effects on the appearance of artichoke and borage. *Journal of Applied Microbiology*, 93(6), 986-993.
37. Bari, M., Nazuka, E., Sabina, Y., Todoriki, S. and Isshiki, K. (2003). Chemical and irradiation treatments for killing *Escherichia coli* O157: H7 on alfalfa, radish, and mung bean seeds. *Journal of Food Protection*, 66(5), 767-774.
38. Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, NK. and Mathe, E. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922-935.
39. Yagnik, D., Serafin, V., and Shah, A. J. (2018). Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*; downregulating cytokine and microbial protein expression. *Scientific Reports*, 8(1), 1732-1744.
40. Aytul, K. K. (2010). *Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İzmir Institute of Technology, İzmir, 3-15.
41. Şahin, E. (2006). *Bitkisel kaynaklı antimikrobiklerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 6-25.
42. Calo, J. R., Crandalla, P. G., O'Bryan, C. A. and Rickea, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. *Food Control*, 54, 111-119.

43. Arın, B. (2009). *Et ürünlerinde kullanılan bazı baharatların antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
44. Faleiro, M. (2011). *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances* (İkinci basım). Badajoz: Formatex Research Center, 1143-1156.
45. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. and Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1), 91-97.
46. Du, W., Olsen, C. W., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., Levin, C. E., Mandrell, R. and Friedman, M. (2009). Antibacterial effects of allspice, garlic, and oregano essential oils in tomato films determined by overlay and vapor-phase methods. *Journal of Food Science*, 74(7), 390-397.
47. Lv, F., Liang, H., Yuan, Q. and Li, C. (2011). In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, 44(9), 3057-3064.
48. Hayek, S. A., Gyawali, R. and Ibrahim, S. A. (2013). Antimicrobial natural products. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*, 2, 910-921.
49. Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. (2005). Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonellae and other enterobacteria. *Journal of Science Technology*, 5(3), 527-538.
50. Huang, M. (2014). *Screening of Natural Antimicrobial Agents and Antimicrobial-Resistant Bacteria Using a Soleris System*, in *Nutrition and Food Science*. Detroit, Michigan: Wayne State University, 8-23.
51. Marín, I., Sayas-Barberá, E., Viuda-Martos, M., Navarro, C. and Sendra, E. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from organic fennel, parsley, and lavender from Spain. *Foods*, 5(1), 18-28.
52. Çoban, Ö. E. ve Patır, B. (2010). Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2), 7-19.
53. Acar, J. ve Gökmen, V. (2016). *Gıda Kimyası: Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri* (Altıncı Baskı). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 12-32.
54. Soto, M., Falqué, E., and Domínguez, H. (2015). Relevance of natural phenolics from grape and derivative products in the formulation of cosmetics. *Cosmetics*, 2(3), 259-276.
55. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
56. Tiwari, B.K., Valdramidis, V.P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P. and Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 5987-6000.

57. Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D. and Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117(1), 112-119.
58. Hafidh, R.R., Abdulmir, A. S., Vern, L. S., Abu Bakar, F., Abas, F., Jahanshiri, F. and Sekawi, Z. (2011). Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. *The Open Microbiology Journal*, 5(1), 96-106.
59. Farzaei, M. H., Abbasabadi, Z., Ardekani, M. R. S., Rahimi, R. and Farzaei, F. (2013). Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 33(6), 815-826.
60. MacLeod, A. J., Snyder C. H., and Subramanian, G. (1985). Volatile aroma constituents of parsley leaves. *Phytochemistry*, 24(11), 2623-2627.
61. Alsaqali, M., El-Shibiny, A. A., Adel, M., Abdel-Samie, M. and Ghoneim, S. (2016). Use of some essential oils as antimicrobial agents to control pathogenic bacteria in beef burger. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 11(1), 109-120.
62. Riel, G., Boulaaba, A., Popp, J. and Klein, G. (2017). Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages—Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat Science*, 131, 166-175.
63. Daradkeh, G. and Essa, M. M. (2016). Parsley, in *Leafy Medicinal Herbs: Botany, Chemistry, Postharvest Technology and Uses*. Boston, USA: CAB International, 12-15.
64. Luthria, D.L., Mukhopadhyay, S., Robbins, R.J., Finley, J.W., Banuelos, G.S. and Harnly, J. M. (2008). UV spectral fingerprinting and analysis of variance-principal component analysis: a useful tool for characterizing sources of variance in plant materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5457-5462.
65. Griffiths, I. and Douglas, R. (2000). Phytophotodermatitis in pigs exposed to parsley (*Petroselinum crispum*). *Veterinary Record*, 146(3), 73-74.
66. Khalil, A. F., Elkatry, H. O. and El Mehairy, H. F. (2015). Protective effect of peppermint and parsley leaves oils against hepatotoxicity on experimental rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 353-359.
67. Thosar, N., Chandak, M., Bhat, M. and Basak, S. (2016). In vitro antimicrobial efficacy of zinc oxide with peppermint oil in comparison to zinc oxide eugenol against four root canal microorganisms. *Journal of Medical and Dental Science Research*, 3(9), 53-58.
68. Gurbuz, Y. and Ismael I.A. (2016). Effect of peppermint and basil as feed additive on broiler performance and carcass characteristics. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(1), 149-156.
69. Saeidnia, S., Gohari, A., Yassa, N. and Shafiee, A. (2005). Composition of the volatile oil of *Achillea conferta* DC. from Iran. *DARU. Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 34-36.

70. Mahboubi, M. and Kazempour, N. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. *Songklanakarin Journal Science and Technology*, 36(1), 83-87.
71. Khare, A. K., Biswas, A. K. and Sahoo, J. (2014). Comparison study of chitosan, EDTA, eugenol and peppermint oil for antioxidant and antimicrobial potentials in chicken noodles and their effect on colour and oxidative stability at ambient temperature storage. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 286-293.
72. Liang, R., Xu, S., Shoemaker, C. F., Li, Y., Zhong, F. and Huang, Q. (2012). Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7548-7555.
73. Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K. and Guzel-Seydim, Z. B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5), 757-764.
74. Chen, H., Chen, T., Giudici, P. and Chen, F. (2016). Vinegar functions on health: Constituents, sources, and formation mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1124-1138.
75. Temiz, A., Bağcı, U. and Toğay, S.Ö. (2011). Efficacy of different decontamination treatments on microbial population of leafy vegetables. *Gıda*, 36, 9-15.
76. Huang, M. (2014). *Screening of natural antimicrobial agents and antimicrobial-resistant bacteria using a soleris system, in nutrition and food science*. Detroit, Michigan: Wayne State University, 72-89.
77. Gaunt, L., Higgins, S., and Hughes, J. (2005). Decontamination of surface borne bacteria by ionized antimicrobial vapours. *Journal of Electrostatics*, 63(6-10), 809-814.
78. Bouhdid, S., Abrini, J., Zhiri, A., Espuny, M. J. and Manresa, A. (2009). Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Origanum compactum* essential oil. *Journal of Applied Microbiology*, 106(5), 1558-1568.
79. Rasooli, I., Rezaei, M. B., and Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Infectious Diseases*, 10(3), 236-241.
80. Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, 156(1), 7-17.
81. Gyawali, R. and Ibrahim S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412-429.
82. Ultee, A. and Smid, E. (2001). Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 64(3), 373-378.
83. de Souza, E. L., de Barros, J. C., de Oliveira, C. E. and da Conceição, M. L. (2010). Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production,

- membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3), 308-311.
84. Turgis, M., Han, J., Caillet, S. and Lacroix, M. (2009). Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*, 20(12), 1073-1079.
  85. Lambert, R., Skandamis, P. N., Coote, P. J. and Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462.
  86. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
  87. Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A. K. and Singh, N. (2003). Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *LWT-Food Science and Technology*, 36(8), 787-794.
  88. Cosentino, S., Tuberoso, C. I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E. and Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29(2), 130-135.
  89. Mejlholm, O. and Dalgaard, P. (2002). Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 34(1), 27-31.
  90. Gill, A., Delaquis, P., Russo, P. and Holley, R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Journal of Food Microbiology*, 73(1), 83-92.
  91. Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. (2001). The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18(4), 463-470.
  92. Semeniuc, C. A., Pop, C. R., and Rotar, A. M. (2017). Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 403-408.
  93. Lee, O. H. and Lee, B. Y. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101, 3751-3754.
  94. Ravichandran, M., Hettiarachchy, N. S., Ganesh V., Ricke, S. C. and Singh, S. (2011). Enhancement of antimicrobial activities of naturally occurring phenolic compounds by nanoscale delivery against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella Typhimurium* in broth and chicken meat system. *Journal of Food Safety*, 31(4), 462-471.
  95. Turhan, D. (2015). *Bazı Esansiyel Yağların Staphylococcus Aureus Ve Escherichia Coli Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 12-34.

96. Gil, A., De La Fuente, E. B., Lenardis, A. E., López Pereira, M., Suárez, S. A., Bandoni, A., Van Baren, C., Di Leo Lira, P. and Ghersa, C. M. (2002). Coriander essential oil composition from two genotypes grown in different environmental conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 2870-2877.
97. Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B. and Rowshanb, V. (2014). Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *South African Journal of Botany*, 93, 92-97.
98. Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E. and Mandrell, R. E. (2004). Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(19), 6042-6048.
99. Radaellia, M., da Silva, B. P., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., da Costa, L. A. and Ethur, E. M. (2016). Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 424-430.
100. Gouvea, F. S., Rosenthal, A. and Ferreira, E. H. R. (2017). Plant extract and essential oils added as antimicrobials to cheeses: A review. *Ciência Rural*, 47(8), 1-9.
101. Kalembe, D. and Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829.
102. Food and Drug Administration (FDA). (2016). *Substances Generally Recognized as Safe. Eletronic code of federal regulations: part 182*. USA: U.S. Government Publishing Office, 1131-1781.
103. Yorulmaz Salman, S., Kara, N., and Öz, O. (2015). Bazı bitkilerin hekzan, ethanol ve metanollü ekstraktlarının leptinotarsa decemlineata SAY (coleoptera: chrysomelidae)'nın farklı dönemleri üzerine kontakt toksisiteleri. *Journal of Natural & Applied Sciences*, 19(1), 124-130.
104. Sevindik, O. and Selli S. (2017). Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri. *Gıda*, 42(1), 95-103.
105. Ayhan, B. (2013). *Toplu Beslenme Sistemlerinde Kullanılan Farklı Dezenfektanların Çiğ Servis Edilen Sebzelerin Mikrobiyal Yüküne Etkisi*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Ana Bilim Dalı. Gazi Üniversitesi, Ankara.
106. Gündüz, G.T., Niemira, B. A., Gönül, S. A. and Karapinar, M. (2012). Antimicrobial activity of oregano oil on Iceberg lettuce with different attachment conditions. *Journal of Food Science*, 77(7), 412-415.
107. Chang, J. M. and Fang, T.J. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157: H7. *Food Microbiology*, 24(7-8), 745-751.
108. Tayfur, M. (2009). *Gıda Hijyeni, Gıda Kaynaklı Enfeksiyonlar ve Zehirlenmeler*. Ankara: Kuban Matbaacılık Yayıncılık, 33-41.



109. De Oliveira, M. A., de Souza, V. M., Bergamini, A. M. M. and De Martinis, E. C. P. (2011). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, 22(8), 1400-1403.
110. Törnük, F. and Dertli E. (2015). Decontamination of *Escherichia coli* O 157:H7 and *Staphylococcus aureus* from fresh-cut parsley with natural plant hydrosols. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 1587-1594.
111. Oğur, R., Tekbaş, Ö.F. and Hasde, M. (2004). *Klorlama Rehberi (İçme ve Kullanma Sularının Klorlanması)*, Gülhane Askeri Tıp akademisi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Yayını, 19-28.
112. American Chemistry Council. (2018). *Drinking water chlorination: A review of disinfectio practices and issues*, Canadian Chlorine Coordinating Committee, 6-30.
113. Banach, J., van Overbeek, L. S., Nierop Groot, M. N., van der Zouwen, P. S. and van der Fels-Klerx, H. J. (2018). Efficacy of chlorine dioxide on *Escherichia coli* inactivation during pilot-scale fresh-cut lettuce processing. *International Journal of Food Microbiology*, 269, 128-136.
114. Chung, C.-C., Huang, T., Yu, C., Shen, F. and Chen, H. (2011). Bactericidal effects of fresh-cut vegetables and fruits after subsequent washing with chlorine dioxide. *International Proceedings of Chemical, Biological & Environmental Engineering*, 9, 107-112.
115. Van Haute, S., Tryland, I., Escudero, Vannestea, C. M. and Sampers, I. (2017). Chlorine dioxide as water disinfectant during fresh-cut iceberg lettuce washing: disinfectant demand, disinfection efficiency, and chlorite formation. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 301-304.
116. Gómez-López, V.M., Ann-Sophie, L., María G. and Ana, A. (2014). Minimum free chlorine residual level required for the inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and trihalomethane generation during dynamic washing of fresh-cut spinach. *Food Control*, 42, 132-138.
117. Coroneo, V., Carraro, V., Marras, B., Marrucci, A., Succa, S., Meloni, B., Pinna, A., Angioni, A., Sanna, A. and Schintu, M. (2017). Presence of trihalomethanes in ready-to-eat vegetables disinfected with chlorine. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(12), 2111-2117.
118. Park, S. Y., Kang, S. and Ha, S. D. (2016). Antimicrobial effects of vinegar against norovirus and *Escherichia coli* in the traditional Korean vinegared green laver (*Enteromorpha intestinalis*) salad during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 208-214.
119. Elhan, S. (2014). *Farkli sirke çeşitleri ve konsantrasyonlarının salata bileşenlerinin dezenfeksiyonunda kullanım imkanlarının araştırılması*, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 4-23.
120. Keifer, D., Ulbricht, C., Rae Abrams, T., Basch, E., Giese, N., Giles, M., Kirkwood, C., Miranda, M. and Woods, J. (2008). Peppermint (*mentha x piperita*) an evidence-based systematic review by the natural standard research collaboration. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 7(2), 91-143.

121. Kline, R.M., Kline, M.D., Palma, J.D., Barbero, G.J. (2001). Enteric-coated, pH-dependent peppermint oil capsules for the treatment of irritable bowel syndrome in children. *The Journal of Pediatrics*, 138(1), 125-128.
122. Ghrairi, T., Hani, K. (2015). Enhanced bactericidal effect of enterocin A in combination with thyme essential oils against *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2148-2156.
123. Painter, J.A., Hoekstra, R. M., Ayers, T., Tauxe, R. V., Braden, C. R., Angulo, F. J. and Griffin, P. M. (2013). Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998–2008. *Emerging Infectious Diseases*, 19(3), 407-415.
124. Farah, H., Elbadrawy, E. and Al-Atoom, A.A. (2015). Evaluation of anti-oxidant and antimicrobial activities of ethanolic extracts of parsley (*Petroselinum erispum*) and coriander (*Coriandrum sativum*) plants grown in Saudi Arabia. *International Journal of Advanced Research*, 3, 1244-1255.
125. Wahba, N. M., Ahmed, A. S. and Ebraheim, Z. Z. (2010). Antimicrobial effects of pepper, parsley, and dill and their roles in the microbiological quality enhancement of traditional Egyptian Kareish cheese. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(4), 411-418.
126. Mohammad, M.H. (2014). Study the effect of cold and hot water extracts of parsley plant *Petroselinum crispum* on the growth of some *Enterobacteriaceae*. *Journal of Al-Nahrain University-Science*, 17(1), 148-154.
127. Wong, P. Y. and Kitts, D. D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*, 97(3), 505-515.
128. El Astal, Z., Ashour, A. and Kerrit, A. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. *West African Journal of Pharmacology and Drug Research*, 21(2), 187-193.
129. Seyyednejad, S., Maleki, S., Damabi, N. and Motamedi, H. (2008). Antibacterial activity of *Prunus mahaleb* and Parsley (*Petroselinum crispum*) against some pathogen. *Asian Journal of Biological Sciences*, 1(1), 51-55.
130. Mulugeta, T., Unnithan, C. and Tesfay, D. (2015). Phytochemical screening, characterization and biological activities of *Petroselinum crispum* (Parsley) leaf oil. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4, 142-151.
131. Aydın, B. (2008). Bazı tıbbi bitki ve baharatların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 14(1), 83-87.
132. Tyagi, A. K. and Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22(11), 1707-1714.
133. Ghabraie, M., Vu, K. D., Tata, L., Salmieri, S. and Lacroix, M. (2016). Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their

effect on sensorial quality of ground meat. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 332-339.

134. Elgayyar, M., Draughon, F. A , Golden, D. A. and Mount, J. R. (2001). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64(7), 1019-1024.







**EKLER**

EK-1. TS ISO 874 Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standardı



**TÜRK STANDARDI**

TURKISH STANDARD

**Bu standard metni 27 Şubat 2007 tarihli TSE Teknik Kurul toplantısında kabul edilerek yürürlüğe girmiş olup metin üzerindeki redaksiyonel düzeltmeler devam etmektedir.**

**TS ISO 874**

ICS 67.080

---

**YAŞ MEYVE VE SEBZELER - NUMUNE ALMA**

Fresh fruits and vegetables - Sampling

---

**TÜRK STANDARDLARI ENSTİTÜSÜ**  
Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/ANKARA

## EK-1.(devam) TS ISO 874 Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standard

ICS 67.080

TÜRK STANDARDI

TS ISO 874

**Ön söz**

- Bu tasarı; ISO tarafından kabul edilen ISO 874 (1980) standardı esas alınarak, TSE Ziraat İhtisas Grubu'nca hazırlanmıştır.
- Bu standardda kullanılan bazı kelime ve/veya ifadeler patent haklarına konu olabilir. Böyle bir patent hakkının belirlenmesi durumunda TSE sorumlu tutulamaz.



## EK-1.(devam) TS ISO 874 Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standard

ICS 67.080

TÜRK STANDARDI

TS ISO 874

**Yaş meyve ve sebzeler - Numune alma****0 Giriş**

Doğru numune alma, çok dikkat gerektiren zor bir süreçtir. Ürünü temsil edecek bir numune alınması çok büyük önem arz eder. Dikkatsizce ve yanlış bir şekilde yapılan numune alma işlemi yanlış anlamaya ve haksız mali ayarlamalar yapılmasına yol açar.

Bu standarda verilen işlem, iyi bir uygulama olarak kabul edilir ve uygulanabilir olduğu durumlarda takip edilmesi özellikle tavsiye edilir. Uygulama zorluğu olan durumlarda kısmi şartlar arzu edilen şekilde değiştirilebilir.

Bu standardda belirtilen metod özellikle iki partinin uyuşmadığı durumlarda kullanılır.

**1 Konu ve kapsam**

Bu standard, uluslararası piyasalara arz olunan yaş meyve ve sebzelerin, satış sözleşmelerinde yer alacak özelliklerini tayin için taraflar arasında varılacak anlaşma gereğince veya taraflar arasında herhangi bir anlaşmazlık olması halinde başvurulacak numune alma metodunu kapsar.

**2 Tarifler****2.1 Sevkıyat (Mal)**

Belirli bir anlaşma veya bir irsaliye belgesine göre bir seferde sevk edilen veya teslim alınan meyve ve sebze miktarı.

**2.2 Parti**

Sevkıyattan alınan, özeliğini tayine imkân verecek olan çeşit, olgunluk derecesi, ambalaj vb. gibi özelliklerinin aynı olduğu kabul olunan miktar.

**2.3 İlk numune**

Partinin bir yerinden alınan az miktardaki numune. Partinin çeşitli yerlerinden yaklaşık olarak aynı miktarda ilk numuneler alınır.

**2.4 Paçal numune**

İlk numunelerin bir araya getirilmesi ve ürün elverişli ise bunların karıştırılması suretiyle elde olunan numune.

**2.5 Temsili numune**

Gerekirse paçal numune içinden alınan ve partiyi temsil eden az miktardaki numune.

**2.6 Laboratuvar numunesi**

Paçal veya temsili numunenin, analiz veya diğer deneyler için kullanılacak olan belirli miktar numune.

**3 Genel**

**3.1** Numune, ürünün bulunduğu yerde düzenli muayenesi veya özelliklerini tespit amacıyla laboratuvar muayenesi için alınır. Her iki halde de numuneler rastgele alınmalıdır. Bununla beraber bazı hallerde, örneğin değişik bir çeşidin varlığını veya herhangi bir kusuru tespit amacıyla yönelik seçme suretiyle de numune alınabilir. Bu durumda numune rastgele alınmaz. Bu bakımdan numune almadan önce amacın saptanması, yani muayene edilecek niteliklerin belirtilmesi gerekir.

**3.2** Numune alma; numunelerin partinin bütün özelliklerini temsil edecek şekilde yapılmalıdır. Partinin zarar görmüş kısımları (sandık, çuval vb.) ayrıldıktan sonra, hem sağlam hem de zarara uğramış kısımlardan ayrı ayrı numuneler alınmalıdır.

**3.3** Numune alma işlemi tamamlandığında bir rapor hazırlanmalıdır (Madde 6).



## EK-1.(devam) TS ISO 874 Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standard

ICS 67.080

TÜRK STANDARDI

TS ISO 874

**4 Numune alma metodu****4.1 Numune alma için partinin hazırlanması**

Parti, numune almayı geciktirmeyecek ve engellemeyecek biçimde hazırlanmalıdır. Numuneler, ilgili taraflar veya resmi yetkililer tarafından alınmalıdır. Numune alma işlemi, her parti için ayrı ayrı uygulanmalıdır. Ancak, parti taşıma esnasında hasar görmüşse, partinin bu kısımları (sandık, çuval vb.) ayrılmalı ve sağlam kısımlardan numune ayrı ayrı alınmalıdır.

Aynı şekilde sevkiyatın, teslim alan tarafından bir örnek olduğu kabul edilmezse, bu husus sevkiyatı gönderen tarafından belirtilmemiş olsa dahi, gönderilen ürün bir örnek partilere bölünmeli ve aksine bir karar yoksa anlaşmaya uygun şekilde her partiden ayrı ayrı numuneler alınmalıdır.

**4.2 İlk numuneler**

İlk numuneler, partinin değişik sıralarından ve çeşitli yerlerinden rastgele alınmalıdır.

**4.2.1 Ambalajlı ürünler**

Ürünler, tahta sandıklar, karton kutular, çuvalar vb. gibi ambalajlar içindeyse numuneler Çizelge 1'e göre rastgele alınır.

Çizelge 1 - Ambalajlı ürünlerden numune alma

Partideki benzer ambalaj sayısı	İçinden ilk numune alınmak üzere ayrılacak ambalaj sayısı
100'e kadar	5
101 – 300	7
301 – 500	9
501 – 1000	10
1000'den çok	15 (en az)

**4.2.2 Dökme ürünler**

Dökme ürünlerden numuneler, toplam dökme ürün kütlesi veya toplam demet sayısı göz önünde tutularak her partiden en az 5 ilk numune olacak şekilde Çizelge 2'ye göre alınır.

Çizelge 2 - Dökme ürünlerden numune

Partideki dökme ürün kütlesi (kg) veya partideki toplam demet sayısı	Partiden ayrılacak toplam ilk numune kütlesi (kg) veya toplam demet sayısı
200'e kadar	10
200 — 500	20
501 — 1000	30
1001 — 5000	60
5000'den çok	100 (en az)

Her biri 2 kg'dan fazla olan meyve ve sebzelerden alınacak ilk numunelerin sayısı 5'den az olmamalıdır

## EK-1.(devam) TS ISO 874 Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standardı

ICS 67.080

TÜRK STANDARDI

TS ISO 874

**4.3 Paçal numune veya temsili numunenin hazırlanması**

Paçal numune, ilk numunelerden, gerekirse bir araya getirilerek ve mümkünse karıştırılarak meydana getirilir. Temsili numune gerekirse paçal numunenin azaltılması ile elde edilir. Yerinde yapılacak muayene, paçal veya temsili numune üzerinde ve muayene edilecek özelliklerde herhangi bir değişikliğe meydan vermemek için numune alınır alınmaz yapılmalıdır.

**4.4 Laboratuvar numunelerinin miktarı**

Laboratuvar numunelerinin miktarı, anlaşmada kayıtlı laboratuvar deneylerinin sayısına bağlıdır. Çizelge 3'te bunların en az miktarı gösterilmiştir

Çizelge 3 - Laboratuvar numunelerinin miktarı

Ürünler	Laboratuvar numunesi miktarı
Küçük meyveler, muşmula, ceviz, fındık, badem, kestane ve aşağıda belirtilenlerin dışında kalan sebzeler	1 kg
Kiraz, vişne, erik	2 kg
Kayısı, muz, ayva, narenciye, şeftali, elma, armut, üzüm, avokado, sarımsak, patlıcan, kök pancar, hıyar, şalgam, lahana, köklü sebzeler, soğan, biber, turp, domates	3 kg
Balkabağı, kavun, karpuz, ananas	5 tane
Lahana, karnabahar, kırmızı lahana, marul	10 baş
Tatlı mısır	10 koçan
Demet halindeki sebzeler	10 demet

**5 Laboratuvar numunelerinin ambalajlanması ve yollanması****5.1 Ambalajlama**

Yerinde muayene edilmeyen laboratuvar numuneleri bozulmalarının sağlanması amacıyla iyi bir şekilde ambalajlanmalı ve içlerine konuldukları kaplar sızdırmaz yapılmalıdır.

**5.2 İşaretleme**

Yollanacak numuneler değiştirilemeyecek biçimde işaretlenmeli (etiketlenmeli)'dir.

Etiket üzerine aşağıdaki bilgiler okunaklı ve silinmeyecek şekilde yazılmalı veya basılmalıdır;

- Ürünün adı, çeşidi, sınıfı,
- İhracatçının adı,
- Numunenin alındığı yer,
- Numune alma tarihi ve bozulabilir ürünler için numunenin alındığı saat,
- Partinin ve numunenin işareti veya numarası (yollama notu, taşıtın numarası, depolama yeri),
- Numune alma raporunun numarası,
- Numune alanın adı ve imzası,
- Gerekirse yapılacak laboratuvar muayenelerinin listesi.

**5.3 Taşıma ve muhafaza**

Laboratuvar numunesi hazırlanır hazırlanmaz gideceği yere derhal ve en seri taşıtla gönderilmelidir. Laboratuvar numunesi, üründe herhangi bir değişiklik yapmayacak koşullar altında muhafaza edilmeli ve taşınmalı ve bu nedenle muayene, numune alındıktan hemen sonra yapılmalıdır.

**6 Numune alma raporu**

Numaralanmış ve bir laboratuvar numunesi iliştilmiş olan numune alma raporunda, yerine göre, aşağıdaki bilgiler bulunmalıdır:

- Ürünün adı ve gerekirse çeşidi ve sınıfı,
- Alicının adı,
- Yollama ve alma tarihi ve yeri,
- İhracatçının adı ve adresi,
- Partinin bulunduğu yer, depolama süresi ve koşulları ulaştırma aracının çeşidi ve taşıt numarası,

## EK-1.(devam) TS ISO 874 Yaş Meyve ve Sebzeler - Numune Alma Standard

ICS 67.080

TÜRK STANDARDI

TS ISO 874

- f) Numunenin istendiği tarih ve saat,
- g) Numunenin alındığı tarih ve saat,
- h) Numune alınma sırasındaki ortam koşulları (sıcaklık vb.),
- i) Partinin büyüklüğü ve ambalaj sayısı,
- j) Numune ile birlikte partiyi tanıttıcı işaret (ambalaj cinsi, etiket vb.),
- k) Numune almanın amacı ve normal koşullarda numune alma ile muayene arasında geçecek zaman,
- l) Taşıtın veya deponun durumu (temizlik, yabancı koku ve taşıt hakkında mekanik koşullar, hava geçirmezliği vb.),
- m) Partinin birömekliği, ıslanmış veya diğer şekillerde zarara uğramış kısımlar,
- n) Partinin temizliği,
- o) Ambalaj tipi ve kalitesi ve ürünün ambalaj içindeki durumu,
- p) Ürünün iç sıcaklığı (veya taşıtın veya deponun sıcaklığı),
- q) Buz miktarı (veya kuru buz miktarı) ve frigorifik araç içindeki vantilatörlerin mekanik durumu,
- r) Soğuğa karşı ambalajlamanın durumu ve özelliği,
- s) Partideki ambalajın darası,
- t) Numune almada bulunan ilgililerin ad ve soyadları,
- u) Laboratuvar numunesi sayısı,
- v) Numune alanların ad ve soyadları.

Raporda aynı zamanda bu standardda belirtilmiş olandan farklı bir tekniğin uygulanıp uygulanmadığı da gösterilmelidir.

## EK-2. Sözel Hedonik Skala Testi ve Puanlama Testi

**PUANLAMA TESTİ**

Adı Soyadı:		Tarih: ...../...../20...			
<b>Açıklama:</b> Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen kodlu örneklerin her birini ayrı ayrı olma üzere 5 puan üzerinden değerlendiriniz.					
<b>Kalite kriterleri</b>					
<b>Renk</b>					
<b>Kıvam</b>					
<b>Aroma</b>					
<b>Tat</b>					
<b>Koku</b>					
<b>Genel izlenim</b>					
Puanlama ile ilgili açıklama:	<b>1 puan</b> Çok kötü	<b>2 puan</b> Kötü	<b>3 puan</b> Orta	<b>4 puan</b> İyi	<b>5 puan</b> Çok iyi
<b>Kalite kriterleri ile ilgili açıklamalar:</b>					
<b><u>İstenen Özellikler:</u></b>			<b><u>İstenmeyen Özellikler:</u></b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Yüzeysel ve görsel kıvam</li> <li>✓ Kendine has tat</li> <li>✓ Pürüzsüz yapı</li> <li>✓ Sağlamlık, dayanıklılık</li> <li>✓ Yeşil renk</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Yapışkanlık</li> <li>✓ Sıvı ya da su ayrılması</li> <li>✓ Pörsümüş, kendini bırakmış yapı</li> <li>✓ Çok ekşi, tatlı, acı, tuzlu, metalik veya alkali tat</li> <li>✓ Küf, kükürt, yem kokusu, yabancı koku, zayıf aroma ya da nötr tat</li> </ul>		

**SÖZEL HEDONİK SKALA TESTİ**

Adı Soyadı:		Tarih: ...../...../20...	
<p><b>Açıklama:</b> Size verilen ürünün tadı, kokusu ve dokusu ile ilgili hissettiğiniz değişikliği en iyi tanımlayan kelimelerin karşısındaki kutuyu işaretleyiniz.</p>		<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 10px;"> <input type="checkbox"/> <div style="margin-left: 10px;">Fark edilemiyor</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 10px;"> <input type="checkbox"/> <div style="margin-left: 10px;">Hafif</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 10px;"> <input type="checkbox"/> <div style="margin-left: 10px;">Orta</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 10px;"> <input type="checkbox"/> <div style="margin-left: 10px;">Kuvvetli</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> <input type="checkbox"/> <div style="margin-left: 10px;">Çok kuvvetli</div> </div> </div>	

EK-3. En Muhtemel Sayı (EMS) Çizelgesi

Pozitif Tüpler			Sayı ve Kategori		% 95 Güvenlik Sınırı		%99 Güvenlik Sınırı	
1 ml	0,1 ml	0,01 ml	EMS	Kategori	Alt	Üst	Alt	Üst
0	0	0	< 0,30	-	0,00	0,94	0,00	1,40
0	1	0	0,30	2	0,01	1,00	0,00	1,60
0	2	0	0,62	3	0,12	1,70	0,05	2,50
1	0	0	0,36	1	0,02	1,70	0,01	2,50
1	1	0	0,74	1	0,13	2,00	0,06	2,70
1	1	1	1,10	3	0,40	3,50	0,20	4,60
1	2	0	1,10	2	0,40	3,50	0,20	4,60
1	2	1	1,50	3	0,50	3,80	0,20	5,20
1	3	0	1,60	3	0,50	3,80	0,2	5,20
2	0	0	0,92	1	0,15	3,50	0,07	4,60
2	0	1	1,40	2	0,40	3,50	0,20	4,60
2	1	0	1,50	1	0,40	3,80	0,20	5,20
2	1	1	2,00	2	0,50	3,80	0,20	5,20
2	2	0	2,10	1	0,50	4,00	0,20	5,60
2	2	1	2,80	3	0,90	9,40	0,50	14,20
2	3	0	2,90	3	0,90	9,40	0,50	14,20
3	0	0	2,30	1	0,50	9,40	0,30	14,20
3	0	1	3,80	2	0,90	10,40	0,50	15,70
3	0	2	6,40	3	1,60	18,10	1,00	25,00
3	1	0	4,30	1	0,90	18,10	0,50	25,00
3	1	1	7,50	1	1,70	19,90	1,10	27,00

## EK-3.(devam) En Muhtemel Sayı (EMS) Çizelgesi

3	1	2	12,00	3	3,00	36,00	2,00	44,00
3	2	0	9,30	1	1,80	36,00	1,20	43,00
3	2	1	15,00	1	3,00	38,00	2,00	52,00
3	2	2	21,00	2	3,00	40,00	2,00	56,00
3	2	3	29,00	3	9,00	99,00	5,00	152,00
3	3	0	24,00	1	4,00	99,00	3,00	152,00
3	3	1	46,00	1	9,00	198,00	5,00	283,00
3	3	2	110,00	1	20,00	400,00	10,00	570,00
3	3	3	>110,00					

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Ayhan, Büşra  
 Uyuğu : Türkiye Cumhuriyeti  
 Doğum tarihi ve yeri : 12.01.1989, Çankırı  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : +90 544 2977962  
 Faks : +90 312 2162636  
 e-mail : busraayhan989@gmail.com



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik ABD	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik ABD	2013
Lisans	Başkent Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2011
Lise	Çankırı Süleyman Demirel Fen Lisesi	2006

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011- Devam ediyor	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Araştırma Görevlisi

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayımlar

1. Acar Tek, N., Ağagündüz, D. and Ayhan, B. (2018). Effect of Green Coffee Consumption on Resting Energy Expenditure, Blood Pressure, and Body Temperature

- in Healthy Women: A Pilot Study. *Journal of the American College of Nutrition* 37(8), 691-700.
2. Ayhan, B. ve Bilici, S. (2017). Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan farklı dezenfektanların çiğ servis edilen marulun mikrobiyal yüküne etkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*. 45(2), 145-152
  3. Türközü, D., Ayhan, B. and Köksal, E. (2017). The nutrition transition in Turkey: trends in energy and macronutrients supply from 1961 to 2011. *Gazi Medical Journal*. 28, 283-288
  4. Bilici, S., Mortaş, H., Köse, S., Varlı, S. N. and Ayhan, B. (2017). Are restaurant menus vectors of bacterial cross contamination? A pilot study in Turkey. *British Food Journal*. 119(2), 401-410
  5. Ayhan, B. ve Bilici, S. (2016). Tedarik zincirinde biyojen aminlerin varlığı ve kontrolü. *Türkiye Klinikleri Beslenme ve Diyetetik Özel Dergisi*, 2(3), 7-13
  6. Ayhan, B. and Şanlıer, N. A. (2015). Renewable natural bioactive polysaccharide: an overview to chitosan. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4(5), 541-548
  7. Ayhan, B. ve Bilici, S. (2015). Toplu beslenme sistemlerinde kullanılan gıda dezenfektanları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(4), 323 - 336
  8. Şanlıer, N., Ayhan, B. ve Ayyıldız, F. (2015). Beslenme ve diyetetik alanında sıklıkla kullanılan ölççekler. *Uluslararası Hakemli Beslenme Araştırmaları Dergisi*. 5, 47-68
  9. Şanlıer, N. ve Ayhan, B. (2017). *Sağlığın Geliştirilmesi. Beslenme ve Sağlığın Geliştirilmesi*. Ankara: Hedef Yayıncılık.
  10. Mortaş, H., Karaçil Ermumcu, M. Ş., Ayhan, B. ve Akbulut, G. (2015). *Tıbbi Beslenme Tedavisinde Güncel Uygulamalar-IV. Nörolojik Hastalıklarda Tıbbi Beslenme Tedavisi*. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.
  11. Ayhan, B., Karaçil Ermumcu, M.Ş., Mortaş, H. ve Akbulut, G. (2015). *Tıbbi Beslenme Tedavisinde Güncel Uygulamalar-V. Psikiyatrik ve Mental Hastalıklarda Tıbbi Beslenme Tedavisi*. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.

## Hobiler

Seyahat etmek, Tiyatro, Kitap okumak, Flüt çalmak





*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..*