

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(DOKTORA TEZİ)

ENGELLEME TEKNOLOJİSİNİN SEBZELEERDE
PATOJEN İNAKTİVASYONU VE RAF ÖMRÜ
AÇISINDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 614.02.00

Sunuş Tarihi: 02.06.2008

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şahika AKTUĞ GÖNÜL

Bornova- İZMİR

Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ tarafından doktora tezi olarak sunulan “Engelleme teknolojisinin sebzelerde patojen inaktivasyonu ve raf ömrü açısından etkilerinin araştırılması” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 02.06.2008 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

-

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :Doç. Dr. Şahika AKTUĞ GÖNÜL

Raportör Üye: Prof. Dr. İsmail KARABOZ

Üye: Prof. Dr. Semra KAYAARDI

Üye: Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Duygu KIŞLA

ÖZET**ENGELLEME TEKNOLOJİSİNİN SEBZELERDE PATOJEN İNAKTİVASYONU VE RAF ÖMRÜ AÇISINDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TİRYAKİ GÜNDÜZ, Gülten

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Şahika AKTUĞ GÖNÜL

Haziran, 2008, 211 sayfa

Bu çalışmada, doğranmış marulların ve bütün haldeki domateslerin farklı konsantrasyonlarda oregano veya sumak ekstraktları ile 5, 10, 15 ve 20 dakika yıkanmasının *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 üzerine antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Beş farklı *Salmonella* suşu inoküle edilmiş sebzeler, farklı konsantrasyonlarda oregano veya sumak ekstraktları ile yıkanıp, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenmiş ve 4°C veya 10°C sıcaklıklarda 10 günlük depolama süresi boyunca sebzelerde bulunan *Salmonella* spp. sayılarındaki değişim incelenmiştir. *Salmonella* spp. için belirlenen etkin baharat konsantrasyonlarında, sebzelerin doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmaların depolama süresince sayılarındaki değişim belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda, yıkama süresinin 5 dakikadan, 20 dakikaya yükseltilmesinin istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklara yol

VI

açmadığı, baharat ekstraktı konsantrasyonları yükseltildikçe *S.typhimurium* ATCC 13311 sayısındaki azalmanın arttığı tespit edilmiştir. Baharat ekstraktlarının *Salmonella* spp. üzerine antimikrobiyal etkisinin olduğu, ancak yüksek konsantrasyonlarda sebzelerin organoleptik özelliklerinde bozulmalara yol açtığı ortaya konmuştur. 1000 ppm oregano ile 5,10 logaritmik birim azalma sağlanmış olmasına rağmen yüksek baharat konsantrasyonlarının domates dokularına zarar verdiği gözlenmiştir.

Depolama süresi boyunca modifiye atmosferde ve açık hava koşullarında paketlenme işlemleri arasında istatistiksel açıdan farklılık tespit edilmemiştir. 4°C veya 10°C’de depolanan marullardaki *Salmonella* spp. sayıları arasında fark olmadığı, ancak domateslerde iki depolama sıcaklığı arasında fark olduğu ortaya konmuştur. 4°C veya 10°C’de depolama işlemleri arasında laktik asit bakterileri, aerobik mezofilik ve psikrotrof bakteri sayıları açısından fark olmadığı gözlenmiş, ancak küf ve maya sayılarının 4°C ile karşılaştırıldığında, 10°C’de depolananlarda daha yüksek olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar sözcükler: *Salmonella*, minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler, doğal antimikrobiyal maddeler, sumak, oregano, modifiye atmosferde paketlenme, engelleme teknolojisi

VII

ABSTRACT

A RESEARCH ON THE EFFECTS OF HURDLE TECHNOLOGIES IN PATHOGEN INACTIVATION AND SHELF-LIFE OF FRESH PRODUCE

TİRYAKİ GÜNDÜZ, Gülten

Ph.D. in Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Şahika AKTUĞ GÖNÜL

June, 2008, 211 pages

The antimicrobial activities of oregano and sumac extracts on shredded iceberg lettuce and whole tomatoes inoculated with *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 were investigated. Iceberg lettuce and tomatoes were treated with three different washing procedures for 5, 10, 15 and 20 minutes. Five strain mixtures of *Salmonella* spp. were inoculated to shredded lettuce and whole tomatoes were treated with different concentrations of oregano and sumac extracts and packaged in air or in passive modified atmosphere conditions. Packaged produce were stored at 4°C or 10°C for 10 days and the numbers of *Salmonella* spp. were determined in 0., 1., 3., 7. and 10. days of storage. The change in natural microflora of produce was also investigated within storage period.

VIII

The results show that there was no istatistical difference between treatment times. Increase in natural extract concentrations caused the increase in reduction of *S.typhimurium* ATCC 13311. Results showed that sumac and oregano extracts can substantially reduce *Salmonella* spp. counts in produce, however increase in extract concentrations cause undesirable changes in the flavour and color of produce. Treatment of tomatoes with 1000 ppm oregano for 10 min caused a reduction of 5,10 log cfu/tomato, however decolorization of tomatoes was observed during treatment.

Passive modified atmosphere packaging had no significant effect on the aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria, mold and yeast, lactic acid bacteria and *Salmonella* spp. counts, when compared to the control. While there was not any substantial difference in *Salmonella* spp. numbers on lettuce stored 4°C or 10°C, significant difference between storage temperatures was observed in tomatoes. Lactic acid bacteria, aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria counts were not significant in different storage temperatures. Mold and yeast counts at 4°C were significantly less than stored at 10°C.

Keywords: *Salmonella*, minimally processed fruits and vegetables, natural antimicrobials, sumac, oregano, modified atmosphere packaging, hurdle technology

IX

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamalarında bilgilerinden yararlandığım tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Şahika Aktuğ Gönül'e, değerli görüşlerinden yararlandığım ve emekli oluncaya kadar tez danışmanlığımı yürüten Sayın Prof. Dr. Mehmet Karapınar'a, tezin tüm aşamalarını titizlikle takip eden tez izleme komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. İsmail Karaboz'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nural Karagözlü'ye, laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Sayın Tekn. Tülay Üzel'e, araştırmalarımın bir bölümünü tamamladığım A.B.D Tarım Bakanlığı Eastern Reagional Research Center'da çalışma imkanı sağlayan Sayın Dr. William Fett'e, görüşlerinden yararlandığım Sayın Dr. Brendan Niemira'ya, gaz analizlerinin yapılmasında yol gösteren Sayın Dr. Xuetong Fan'a, desteklerinden dolayı Sayın Tekn. Figen Becerik'e, kullandığım laboratuvar malzemelerinin geri dönüşümünü sağlayan Sayın Fatma Dayan'a, analizlerin hazırlık aşamalarında yardım eden öğrencilerimizden Fuat Ay ve Aybüke Yazar'a, bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde destek sağlayan E.Ü. Rektörlüğü Araştırma Fon Saymanlığına, çalışmalarımın tüm aşamalarında beni her zaman destekleyen aileme, bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen eşim Atalay Gündüz'e, Kasım 2007'de aramıza katılarak hayatımızı renklendiren biricik kızım Alara Gündüz'e varlığından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XVII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1 Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzeler.....	4
2.2 Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzelerin Mikroflorası.....	6
2.2.1 Bozulmaya neden olan mikroorganizmalar.....	9
2.2.2 Meyve ve sebzelerde bulunan patojenler.....	11
2.3 Meyve ve Sebzelerin Dezenfeksiyonunda Kullanılan Yöntemler....	16
2.3.1 Su.....	17
2.3.2 Klor.....	17

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.3 Klordioksit.....	19
2.3.4 Elektrolize su.....	21
2.3.5 Ozon.....	22
2.3.6 Hidrojen peroksit.....	22
2.3.7 Organik asitler.....	23
2.3.8 İyonize radyasyon uygulaması.....	24
2.3.8. Diğer maddeler.....	25
2.4 Engelleme (Hurdle) Teknolojisi.....	26
2.5 Baharat ve Baharat Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi.....	31
2.5.1 Baharatlar.....	31
2.5.2 Esansiyel yağların gıdalarda kullanımı.....	41
2.5.3 Baharatların antimikrobiyal etki mekanizması.....	44
2.6 Modifiye Atmosferde Paketleme.....	45
3. MATERYAL VE METOT.....	52
3.1 Materyal.....	52
3.1.1 Deney kültürleri.....	52

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1.2 Besiyerleri.....	53
3.1.3 Sebze örnekleri.....	54
3.1.4 Antimikrobiyal maddeler.....	54
3.1.4 Ambalajlama materyalleri.....	56
3.2 Metot.....	56
3.2.1 Sebzelerin hazırlanması.....	56
3.2.2 Antimikrobiyal maddelerin hazırlanması.....	57
3.2.3 <i>Salmonella</i> spp.'in nalidiksik aside direnç kazandırılması.....	58
3.2.4 İnokulum hazırlanması.....	59
3.2.5 Sebzelere inokülasyon yönteminin ve besiyerinin belirlenmesi....	60
3.2.6 Antimikrobiyal maddelerin seçimi için yapılan ön denemeler.....	62
3.2.7 Antimikrobiyal maddelerin sebzelere inoküle edilmiş <i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 üzerine etkisinin belirlenmesi.....	64
3.2.8 Oregano ve sumanın etkin konsantrasyonunun belirlenmesi.....	65
3.2.9 Iceberg maruluna inoküle edilmiş <i>Salmonella</i> spp.'in tutundurma yöntemlerinin karşılaştırılması	66
3.2.10 Antimikrobiyal maddelerin farklı marul türleri üzerindeki etkisinin araştırılması.....	67
3.2.11 Depolama işlemi uygulanacak sebzelere <i>Salmonella</i> spp. inokülasyonu.....	68

XIII

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.12 Depolanacak sebzelere antimikrobiyal madde uygulanması.....	69
3.2.13 Sebzelerin paketlenmesi ve depolanması.....	70
3.2.14 Mikrobiyolojik analizler.....	71
3.2.15 Gaz analizleri.....	73
3.2.16 İstatistiksel analizler.....	74
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	75
4.1 Mikroorganizmaların Sebzelere İnokülasyon Yönteminin, Besiyerinin ve Marul Türlerinin Belirlenmesi.....	75
4.2 Antimikrobiyal Maddelerin Seçilmesi.....	80
4.3 Antimikrobiyal Maddelerin Sebzelerdeki <i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 Üzerine Etkileri.....	86
4.3.1 Oregano ve klorun iceberg marullarındaki <i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 üzerine etkisi.....	86
4.3.2 Sumağın ve oreganonun domateslerdeki <i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 üzerine etkisi.....	93
4.4 Iceberg Marulları İçin Oregano ve Sumağın Etkin Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	106

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.5 Iceberg Marullarına İnoküle Edilmiş <i>Salmonella</i> spp.'in Tutundurma Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	109
4.6 Antimikrobiyal Maddelerin Farklı Marul Türleri Üzerindeki Etkisinin Araştırılması.....	114
4.7 Sebzelerin Depolanması Sırasında <i>Salmonella</i> spp. Sayısındaki Değişmeler.....	118
4.7.1 Marulların depolanması.....	118
4.7.2 Domateslerin depolanması.....	127
4.8 Sebzelerin Depolanması Sırasında Doğal Mikrofloradaki Değişmeler.....	140
4.8.1 Marulların depolanması sırasında mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişim.....	140
4.8.2 Marulların depolanması sırasında psikrotrof aerobik bakteri sayısındaki değişim.....	147
4.8.3 Domateslerin depolanması sırasında mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişim.....	154
4.8.4 Domateslerin depolanması sırasında psikrotrof aerobik bakteri sayısındaki değişim.....	160
4.8.5 Domateslerin depolanması sırasında laktik asit bakteri sayısındaki değişim.....	164
4.8.6 Domateslerin depolanması sırasında küf sayısındaki değişim....	168

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.8.7 Domateslerin depolanması sırasında maya sayısındaki değişim.	173
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	180
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	185
ÖZGEÇMİŞ.....	211

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Minimal işlem görmüş sebzelerin akım şeması.....	5
2.2 Taze sebzelerin patojen bakterilerle bulaşma mekanizması.....	7
2.3 Gıda kaynaklı hastalıklara yol açan meyve ve sebzelerin gruplandırılması.....	15
2.4 Meyve ve sebzelerden kaynaklanan hastalıklara neden olan ajanlar.....	15
2.5 Meyveleri saklama işleminde kullanılan engellerin şematik gösterimi.....	29
2.6 Esansiyel yağ bileşenlerinin hücre içinde etkilediği bölgeler.....	44
4.1 Pasif modifiye atmosferde paketlenen marulların paket içerisindeki gaz kompozisyonu.....	124

XVII

ÇİZELGELER DİZİNİ

Cizelge

Sayfa

- 2.1 Tüketime hazır çiğ sebzeler (yıkamış, doğrama ve paketleme işlemlerinden geçmiş) için uygulanan mikrobiyolojik kriterler.....9
- 2.2 Meyve ve Sebzelerden Kaynaklanan Mikrobiyal Hastalıklar..... 12
- 2.3 1990- 2004 yılları arasında gıda kaynaklı hastalıklara neden olan gıda grupları.....14
- 2.4 Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler için uygulanan hurdle teknolojilerinin etkisi..... 30
- 2.5 Bazı baharatlarda bulunan esansiyel yağlar.....34
- 2.6 Baharatların in vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonları.....37
- 2.7 Baharat esansiyel yağlarının in vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonları.....39
- 2.8 MAP'ın patojen mikroorganizmalar üzerine etkisi..... 48
- 2.9 MAP'ın bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerine etkisi.. 49

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Marul türlerinin, inokülasyon metodunun ve besiyerinin belirlenmesi için uygulanan deneme planı.....	62
3.2 Oregano ve sumağın marullara inoküle edilmiş <i>Salmonella</i> spp. üzerindeki etkin konsantrasyonun belirlenmesi için uygulanan deneme planı.....	66
3.3 Iceberg marullarına inoküle edilmiş <i>Salmonella</i> spp.'in tutundurma yöntemlerinin karşılaştırılması için uygulanan deneme planı.....	67
4.1 Farklı inokülasyon yöntemleri ile iki farklı besiyerinde marullara tutunan <i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 sayılarının belirlenmesi.....	75
4.2 Baharat ekstraktlarının besiyerindeki <i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 üzerine antimikrobiyal etkisi.....	81
4.3 Baharat ekstraktlarının 20°C'de besiyerindeki <i>Pseudomonas fluorescens</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	83
4.4 Baharat ekstraktlarının 20°C'de besiyerindeki <i>Erwinia carotovora</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	84
4.5 Baharat ekstraktlarının 20°C'de besiyerindeki <i>Saccharomyces cerevisiae</i> üzerine antimikrobiyal etkisi.....	85
4.6 <i>S.typhimurium</i> inoküle edilmiş marulların oregano ve klor ile farklı süreler ve koşullarda yıkanması.....	87

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.7 Marulların yıkandığı destile suda, oregano ekstraktında ve klor çözeltisinde kalan <i>S.typhimurium</i> sayıları.....	92
4.8 <i>S.typhimurium</i> inoküle edilmiş domateslerin sumak ile farklı süreler ve koşullarda yıkanması.....	94
4.9 <i>S.typhimurium</i> inoküle edilmiş domateslerin oregano ile farklı süreler ve koşullarda yıkanması.....	97
4.10 Domateslerin yıkandığı sumak ekstraktında kalan <i>S.typhimurium</i> sayıları.....	103
4.11 Domateslerin yıkandığı oregano ekstraktında kalan <i>S.typhimurium</i> sayıları.....	105
4.12 Farklı temas süresi ve farklı konsantrasyondaki oregano ve sumağın marullara inoküle edilmiş <i>Salmonella</i> spp. üzerindeki etkisi.....	107
4.13 Farklı temas süresi ve farklı konsantrasyondaki oregano ve sumağın marul dokularına ve rengine etkisi.....	108
4.14 Farklı tutundurma koşullarında ve 500 ppm oregano yağı ile yıkama sonunda maruldaki <i>Salmonella</i> spp. sayıları.....	110
4.15 500 ppm oregano yağı ile yıkanan iceberg marullarında gözlenen değişimler.....	111

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.16 Oregano ve oregano- sumak karışımının farklı marul türlerine inoküle edilmiş <i>Salmonella</i> spp. sayısı üzerine etkileri.....	115
4.17 Oregano ve oregano-sumak karışımının farklı marul türleri üzerine etkilerinin görsel olarak değerlendirilmesi.....	117
4.18 Su ile yıkanan marulların depolanması sırasında <i>Salmonella</i> spp. sayısındaki değişimler.....	119
4.19 Sumak ekstraktı ile yıkanan marulların depolanması sırasında <i>Salmonella</i> spp. sayısındaki değişimler.....	121
4.20 Oregano yağı ile yıkanan marulların depolanması sırasında <i>Salmonella</i> spp. sayısındaki değişimler.....	123
4.21 Destile su ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında <i>Salmonella</i> spp. sayısındaki değişimler.....	129
4.22 Sumak ekstraktları ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında <i>Salmonella</i> spp. sayısındaki değişimler.....	131
4.23 Oregano yağları ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında <i>Salmonella</i> spp. sayısındaki değişimler.....	133
4.24 Steril destile su ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	141

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.25 % 4 Sumak ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	142
4.26 500 ppm oregano yağı ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	143
4.27 Su ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	148
4.28 % 4 sumak ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	150
4.29 500 ppm oregano yağı ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	151
4.30 Destile su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	155
4.31 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	156
4.32 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	157
4.33 Destile su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	161

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.34 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	162
4.35 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.....	163
4.36 Su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde laktik asit bakteri sayılarındaki değişim.....	164
4.37 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde laktik asit bakteri sayılarındaki değişim.....	165
4.38 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde laktik asit bakteri sayılarındaki değişim.....	166
4.39 Su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde küf sayılarındaki değişim.....	169
4.40 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde küf sayılarındaki değişim.....	170
4.41 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde küf sayılarındaki değişim.....	171
4.42 Su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde maya sayılarındaki değişim.....	174

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Cizelge

Sayfa

4.43 % 8 Sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde maya sayılarındaki değişim.....	175
4.44 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde maya sayılarındaki değişim.....	176

1. GİRİŞ

Meyve ve sebzeler sağlıklı bir diyetin önemli bir parçası olup, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türleri gibi hastalıkları önlemeye yardımcı olmaktadır. Meyve ve sebzeler yeterli düzeyde tüketildiğinde, yılda 2,7 milyon insan hayatının kurtarılabilceği tahmin edilmektedir. WHO/FAO raporu ile, kalp hastalıkları, kanser, diyabet, obezite gibi kronik hastalıkların önlenmesi, az gelişmiş ülkelerdeki mikro besin elementleri eksikliklerinin azaltılması ve önlenmesi için günlük olarak en az 400 g meyve ve sebze (patates ve diğer nişastalı yumru köklü sebzeler hariç) tüketimi önerilmektedir (WHO, 2003). Bu nedenlerle, son yıllarda meyve ve sebze tüketiminden kaynaklanan salgınlarda artış gözlenmektedir (Weissinger et al., 2000). 1990- 2004 yılları arasında ABD’de tespit edilen gıda kaynaklı hastalık salgınları arasında meyve ve sebze kaynaklı hastalıklar üçüncü sırada, vaka sayısı açısından değerlendirildiğinde ise birinci sırada yer almaktadır. Meyve ve sebzelerin kaynak teşkil ettiği gıda kaynaklı hastalıklara en sık neden olan patojen bakterilerin *Salmonella* spp. olduğu belirlenmiştir (CSPI, 2006a) .

Dezenfeksiyon, yıkama işleminden sonra patojen bakterilerin azaltılması için uygulanan bir işlem olup, dezenfeksiyon işlemi ile aynı zamanda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların da uzaklaşması sağlanmaktadır. Dezenfeksiyon işleminin ürünün kalitesi ve raf ömrü üzerinde olumlu etkisi olduğu belirtilmektedir (Ibarra-Sánchez et al., 2004). Taze meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda genel olarak 50-200

ppm klor 1 - 2 dakika süreyle uygulanmaktadır (FDA, 2001). Yapılan çalışmalarda klorun mikroorganizma sayısını 2,0 logaritmik birimden daha fazla azaltmadığı ortaya konmuştur (Zhuang et al., 1995; Sapers, 2003). Mikroorganizmaların kontrolünde klor kullanımı ile oluşan zararlı bileşikler (Richardson et al., 1998) ve klorun yeteri kadar etkili olmaması gibi nedenlerle klor kullanımı sınırlandırılmaya çalışılmakta olup, klor yerine kullanılabilir alternatif dezenfektan arayışına başlanmıştır. Kimyasal maddelerin karsinojenik, teratojenik etkileri ve toksik kalıntıları olabildiği için, son zamanlarda kimyasal koruyucu kullanımının güvenilirliği tartışılmaktadır. Bu nedenle tüketiciler kimyasal koruyuculara şüphe ile yaklaşmaya başlamış ve doğal koruyuculara olan ilgi artmıştır.

Bazı baharatlarda bulunan esansiyel yağların koruyucu etkisinin olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir. Esansiyel yağlar, doğal antimikrobiyal özellikleri nedeniyle, tek başına veya diğer koruyucu ajanlarla birlikte kullanıldığında gıdaların raf ömrünü uzatabilmektedir. Baharatların in vitro koşullarda bakteriler (Aktuğ and Karapınar, 1986; Karapınar and Aktuğ, 1987; Kim et al., 1995), küf ve mayalar (Karapınar, 1990; Ryu and Holt, 1993) üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olduğu ortaya konmuştur. Ancak, baharatların veya baharat ekstraktlarının meyve ve sebzelerdeki patojen veya bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri konusunda çok az çalışmaya rastlanmıştır (Reddy et al., 1998; Singh et al., 2002).

Yapılan bu çalışmanın amacı, klora alternatif doğal antimikrobiyal maddeler, modifiye atmosferde paketlenme ve farklı sıcaklıklarda depolama yöntemlerinin kombinasyonunun, taze sebzelerde gıda enfeksiyonlarına yol açan, *Salmonella* suşlarının gelişimi üzerine etkilerinin araştırılması ve sebzelerin raf ömrü boyunca doğal mikrofloradaki değişimlerin belirlenmesidir.

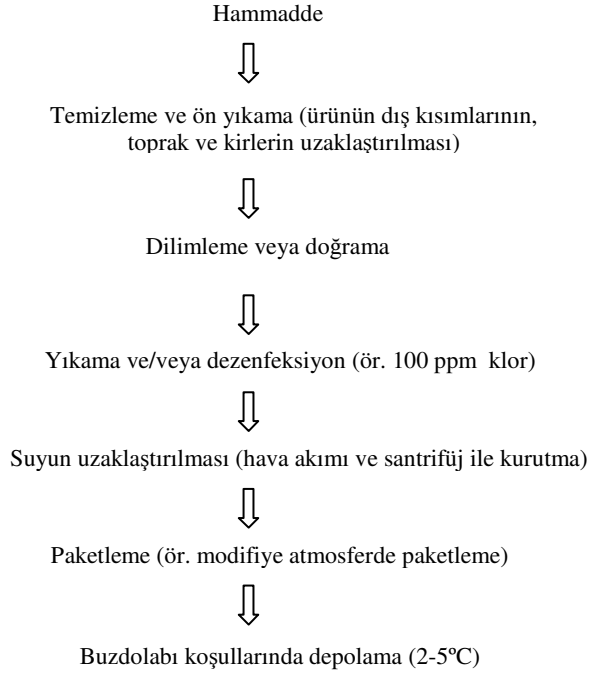
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzeler

Tazelik özelliklerini önemli düzeyde değiştirmeksizin, fonksiyonelliği artırılmış taze meyve ve sebzeler minimal işlem görmüş meyve ve sebze olarak isimlendirilmektedir. Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelere uygulanan işlemler ürün tipine göre farklılık göstermekle birlikte, bu tip ürünlere genel olarak yıkama, boyut küçültme, karıştırma ve paketleme gibi işlemler uygulanır (Şekil 2.1). Bu ürünlerin ortak özelliği katkı maddesi içermemesi, taze ve kullanımının kolay olmasıdır (Ragaert et al., 2004). Minimal işlem görmüş sebzeler ilk olarak ABD’de, yaklaşık 40 yıl önce, toplu yemek ve fast-food sektörleri için üretilmeye başlanmıştır.

Sebzelerin % 99’undan fazlasını su oluşturmakta ve hücre içi pH değerleri 4,9 - 6,5 arasında değişmekte olup, mikroorganizmaların üreyebileceği ortamı sağlamaktadır. Doğal koşullarda, bitki dokularının dış katmanı hidrofobik özellikte olup, mikroorganizmalar için doğal bariyer oluşturmaktadır (Ragert et al., 2007). Ancak, sebzelere uygulanan boyut küçültme işlemleri ile açığa çıkan besin elementleri mikroorganizmaların gelişmesi için uygun olan ortamı sağlamaktadır. Kesilmiş yüzeylerin veya hasar görmüş bitki dokularının bulunması, minimal işlemin ürünün stabilitesini sağlamayan ve steril hale getirmeyen bir işlem olması, bitki doku mekanizmasının aktif olması ve ürünün kapalı ambalajda olması gibi nedenlerle minimal işlem görmüş meyve ve

sebzeler mikroorganizmaların gelişebilmesi için iyi bir ortam oluşturmaktadır (Nguyen-the and Carlin, 1994).



Şekil 2.1 Minimal işlem görmüş sebzelerin akım şeması (Francis et al., 1999).

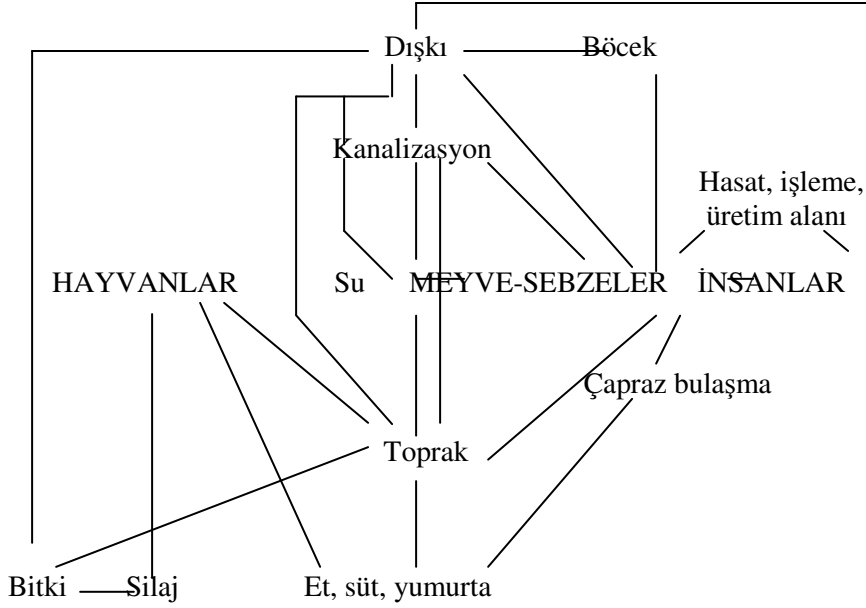
Kullanıma hazır, taze, kaliteli ve güvenli olarak hazırlanmış meyve ve sebzelere olan ilgi dünya çapında artış göstermekte, ancak kullanımı belirli bölgelerde sınırlı kalmaktadır. Diğer yandan, en az işlem görmüş gıdaların hammaddesi mevsimlik olup, genellikle kazanım ve kalitenin optimize edildiği bölgelerde üretilmektedir. Çiğ meyve ve sebzelerin

kalitesi ve raf ömrü hasat öncesi, hasat ve hasat sonrası koşullara bağlıdır. Bu koşullar ise; tohumun genetik faktörleri, iklim koşulları (ışık, sıcaklık, bağıl nem, rüzgar, yağmur vb.), toprak koşulları (toprağın türü, pH, nem, mikroflora, mineral içeriği), tarım uygulamaları (gübre, pestisit, hormon kullanımı, sulama vb.) ve hasat tekniğidir. Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler üç farklı şekilde üretilmektedir (Yıldız, 1994).

- 1- Kullanıma hazır (bütün veya dilimlenmiş soğan, kesilmiş taze fasulye, dilimlenmiş mantar vb.)
- 2- Pişirmeye hazır (ıspanak, doğranmış patates, kesilmiş patlıcan vb.)
- 3- Tüketilmeye hazır (dilimlenmiş mandalina, meyve kokteyli, dilimlenmiş kayısı, dilimlenmiş şeftali vb.)

2.2 Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzelerin Mikroflorası

Bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ve patojenler hasat öncesi ve sonrasında birçok farklı yoldan meyve ve sebzelere bulaşmaktadır (Şekil 2.2). *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* gibi patojen bakteriler topraktan, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli* ve *Campylobacter* spp. gibi patojenler ise dışkı, kanalizasyon, işlenmemiş sulama suları veya yüzey sularından sebzelere bulaşabilmektedir. Virüsler ve parazitler de dışkı, kanalizasyon ve sulama suları ile temas sonucu meyve ve sebzelere bulaşabilmektedir (Beuchat, 1998).



Şekil 2.2 Taze sebzelerin patojen bakterilerle bulaşma mekanizması (Beuchat, 1996).

Mikroorganizmalar hasat öncesinde topraktan, dışkıdan, sulama sularından, tarım ilaçlarının uygulanmasında kullanılan sulardan, tozlardan, böceklerden, yabani ve evcil hayvanlardan, yeterli düzeyde yanmamış hayvan gübrelere, personelden meyve ve sebzelere bulaşabilmektedir. Toprağın ıslahında kullanılan hayvan gübrelere ve sulama suları, meyve ve sebzelere patojen mikroorganizmaların bulaşmasına neden olan potansiyel kaynaklardır. Kompost edilmemiş veya yetersiz kompost edilmiş gübreler ve yüzey sularına karışan hayvan dışkıları patojen mikroorganizmaları içerebilmekte ve bu patojenler meyve ve sebzelere bulaşabilmektedir (Beuchat, 2002). Guo et al. (2001) yaptıkları çalışma ile domates bitkisine inoküle edilen *Salmonella*

türlerinin, bitkinin gelişimi, çiçek açması, meyvenin oluşumu ve olgunlaşması aşamalarında canlı kaldığı ve domateslerin % 37'sinden izole edildiğini ortaya koymuşlardır. *Salmonella* türleri bitkinin çiçeklerine inoküle edildiğinde, domateslerin % 25'inden *Salmonella* izole edilmiştir. Yapılan çalışmada Montevideo serotipinin en fazla canlı kaldığı ve inokülasyondan 49 gün sonra izole edilebildiği belirtilmiştir (Guo et al., 2001). *Salmonella* spp. inoküle edilmiş ıslak toprak ile temas eden domateslerde ise 20°C'de 4 günde sayı 2,5 log artış göstermiş ve 14. güne kadar sabit kalmıştır (Guo et al., 2002). Yapılan bir çalışmada *E.coli* O157:H7 inoküle edilmiş gübre ile zenginleştirilen toprakta marul ve maydanoz yetiştirilmiş, *E.coli* O157:H7'nin toprakta 154 ve 217 gün canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Bitki fideleri dikildikten sonra üç hafta boyunca *E.coli* O157:H7 inoküle edilmiş su ile sulandığında, marullardan en az 77 gün, maydanozlardan ise en az 177 gün boyunca izole edildiği belirtilmiştir (Islam et al., 2004). Hasat sonrasında ise dışkılarından, personelin elinden, hasat makinalarından, taşıma kaplarından, yabancı ve evcil hayvanlardan, böceklerden, tozlardan, yıkama sularından, buzlardan, taşıma araçlarından ve işleme makinalarından mikroorganizmalar bulaşmaktadır. Garg et al. (1990) yaptıkları çalışma ile marulların kesilmesi ve soğanların dilimlenmesi sırasında aerobik mezofilik bakteri sayısının 2,0 logaritmik birim arttığını tespit etmişlerdir.

Avrupa Birliği'nin hazırlamış olduğu mikrobiyolojik kriterler tebliğine (No: 2073/2005) göre yenmeye hazır, minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerden analize alınan beş örneğin hiçbiri 25 gramında

Salmonella spp. içermemelidir (EU, 2005). T.C Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine (Anon, 2001) göre “Tüketime hazır çiğ sebzeler (yıkanmış, doğrama ve paketleme işlemlerinden geçmiş)” için uygulanan mikrobiyolojik kriterler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Tüketime hazır çiğ sebzeler (yıkanmış, doğrama ve paketleme işlemlerinden geçmiş) için uygulanan mikrobiyolojik kriterler.

	n	c	m	M
Koliform*	5	2	95	210
<i>E.coli</i> *	5	2	9	95
<i>Salmonella</i> spp.	10	0	25 g’da bulunmayacak	

* EMS tablosuna göre (/g)

n : Analize alınacak numune sayısını,

c : “M” değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısını,

m : (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değeri,

M : “c” sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değeri,

EMS : En muhtemel sayıyı ifade etmektedir.

2.2.1 Bozulmaya neden olan mikroorganizmalar

Düşük sıcaklıkta depolanan sebzelerde Pseudomonadaceae (bu familyaya ait türlerin % 50 – 90’ı *Pseudomonas fluorescens*’tir) ve Enterobacteriaceae (en çok bulunan türler *Enterobacter agglomerans*, *Erwinia herbicola*, *Rahnella aquatilis*) familyasına ait bakterilerin yanında bazı laktik asit bakterileri (*Leuconostoc mesenteroides*,

Lactobacillus spp.) hakim florayı oluşturmaktadır. Bu tür ürünlerde bulunabilen diğer bakteriler ise *Flavobacterium* spp., *Xanthomonas* spp., *Chromobacterium* spp., *Chryseomonas* spp., *Serratia* spp., *Alcaligenes* spp. ve *Bacillus* türleridir (Nguyen-the and Carlin, 1994; Zagory, 1999; Ragaert et al., 2007). Taze sebzelerde mezofilik bakteri sayısı 10^3 - 10^9 kob/g düzeyindedir. Minimal işlem görmüş sebzelerdeki sayı ise 10^3 - 10^6 kob/g düzeyinde değişmektedir (Zagory, 1999). Johnston et al. (2006), 310 örneği ABD’de üretilen ve 129 örneği Meksika’dan ithal edilen 10 farklı taze sebzenin mikrobiyal yükünü belirlemişlerdir. Bu çalışmaya göre örneklerdeki toplam aerobik bakteri sayısının 4,0 – 7,9 log, koliform sayısının <1,0 – 4,5 log, *E.coli* sayısının <1,0 – 4,0 log, *Enterococcus* türlerinin <1,0 – 5,4 log kob/g düzeyleri arasında olduğu ifade edilmiştir.

Meyve ve sebzelerde bulunabilen mayalar *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Pichia* ve *Torulaspora* türleridir (Nguyen-the and Carlin, 1994; Ragaert et al., 2007). Küfler ise daha az sıklıkla izole edilmekte olup, *Sclerotinia*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Phoma* ve *Rhizopus* türleri izole edilebilmektedir (Nguyen-the and Carlin, 1994). Minimal işlem görmüş sebzelerin mikroflorasının araştırıldığı bir çalışmada, 39 tüketime hazır salata, 29 taze sebze ve 116 filiz örneklerinde küf ve maya sayısı belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre, mayaların $<10^2$ ve 4.0×10^8 aralığında, küflerin ise $<10^2$ ve 4.0×10^4 aralığında olduğu ve bu tip ürünlerde en çok bulunan küflerin, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* ve daha az sıklıkla *Geotrichum* türleri olduğu ortaya konmuştur (Tournas, 2005).

2.2.2 Meyve ve sebzelerde bulunan patojenler

Meyve ve sebzelerin mikroflorasında bozulmaya neden olan bakteri, küf ve mayalar hakim florayı oluşturmasına rağmen, daha az sıklıkla bulunan ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojen bakteriler, parazitler ve virüsler de bulunabilmektedir. *Aeromonas* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* ve bazı sporlu bakteriler (*Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Cl.perfringens*) minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerde bulunabilen patojen bakterilerdir. Meyve ve sebzelerde bulunabilen diğer patojen mikroorganizmalar ise virüsler (Hepatit A virüsü, Calicivirus, Norwalk-like virus) ve parazitlerdir (*Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Giardia lamblia*) (FDA, 2001).

Geçmişte, taze meyve ve sebzelerin çiğ olarak tüketimi güvenli olarak kabul edilmiştir. Ancak, günümüzde patojen mikroorganizmaların meyve ve sebzelerin içinde veya üzerinde bulunabileceği bilinmektedir. 3852 adet paketlenmiş tüketime hazır taze salatanın mikrobiyolojik kalitesinin araştırıldığı bir çalışmada, örneklerin % 4,3'ünden *Listeria* spp., % 2,3'ünden *Listeria monocytogenes* izole edilmiştir. *Campylobacter* spp. ve *E.coli* O157:H7 izole edilmezken, salataların % 0,1'inden *Salmonella* spp. izole edilmiştir (Sagoo et al., 2003). Johnston et al. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, 439 adet meyve-sebze örneğinin hiçbirinden *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *E.coli* O157:H7 izole edilmemiş, ancak üç lahanadan örneğinden *L.monocytogenes*

izole edilmiştir. Diğer bir çalışmada Johnston et al. (2005) analiz ettikleri kavun örneklerinin % 3,3'ünden *Salmonella* Montevideo izole etmişlerdir.

Minimal işlem görmüş, sağlıklı ve hazırlanması kolay gıdalara olan ilginin artması ile birlikte, meyve ve sebze tüketiminde son yıllarda önemli düzeyde artış gözlenmektedir. Tüketim artışına paralel olarak, meyve ve sebzelerden kaynaklanan mikrobiyal hastalıklar da artmıştır (Çizelge 2.2). Tarımsal üretim ve işlemedeki değişimler, uluslararası ticaret ve dağıtımın gelişmesi, bağışıklık sistemi zayıf tüketici sayısındaki artış ve ortaya çıkan yeni patojenler gibi nedenler ile çiğ veya minimal işlem görmüş meyve-sebze tüketiminden kaynaklanan enfeksiyonlar artış göstermiştir (Beuchat, 2002).

Çizelge 2.2 Meyve ve Sebzelerden Kaynaklanan Mikrobiyal Hastalıklar.

Ürün	Patojen	Ülke	Yıl	Vaka Sayısı	Ölü Sayısı	Kaynak
Kavun	<i>Salmonella</i> <i>Chester</i>	ABD	1989 1990	>245	2	FDA, 2001
Kavun	<i>Salmonella</i> <i>Poona</i>	ABD	2001	50	2	CDC, 2002
Kavun	<i>Salmonella</i> <i>Poona</i>	ABD	2002	10	0	CDC, 2002
Marul, iceberg	<i>E.coli</i> O157:H7	Kanada	1995	23	0	FDA, 2001

Çizelge 2.2 Meyve ve Sebzelerden Kaynaklanan Mikrobiyal Hastalıklar
(devam ediyor).

Ürün	Patojen	Ülke	Yıl	Vaka Sayısı	Ölü Sayısı	Kaynak
Marul, iceberg	<i>E.coli</i> O121:H19	ABD	2006	73	0	CSPI, 2006b
Marul	<i>E.coli</i> O157:H7	ABD	2006	71	0	CSPI, 2006b
Marul	<i>E.coli</i> O157:H7	ABD	2006	81	0	CSPI, 2006b
Marul	<i>Salmonella</i> Newport	İngiltere	2004	144	0	Anon, 2004
Domates	<i>Salmonella</i> Baildon	ABD	1998 1999	85	3	FDA, 2001
Domates	<i>Salmonella</i> Javiana	ABD	1990	174	0	FDA, 2001
Domates	<i>Salmonella</i> spp.	ABD ve Kanada	2004	561	0	CDC, 2005
Domates	<i>Salmonella typhimurium</i>	ABD	2006	183	0	CDC, 2006a
Domates	<i>Salmonella</i> Newport	ABD	2006	98	0	CSPI, 2006b
Ispanak	<i>E.coli</i> O157:H7	ABD	2006	205	3	CDC, 2006b
Salata	<i>C.jejuni</i>	Kanada	1984	330	0	FDA, 2001
Meyve Salatası	<i>E.coli</i> O157:H7	ABD	1998	47	0	FDA, 2001

1990- 2004 yılları arasında saptanabilen, toplam 5000 gıda kaynaklı hastalıkta vaka sayısı 152.097 olarak kayıtlara geçmiştir (CSPI,

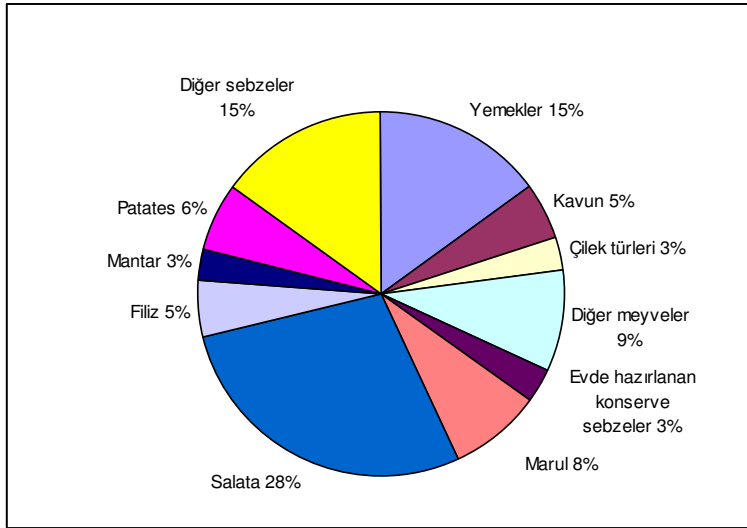
2006a). Belirtilen yıllar arasında görülen gıda kaynaklı hastalık salgınlarına kaynak teşkil eden gıda grupları Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3 1990- 2004 yılları arasında gıda kaynaklı hastalıklara neden olan gıda grupları (CSPI, 2006a).

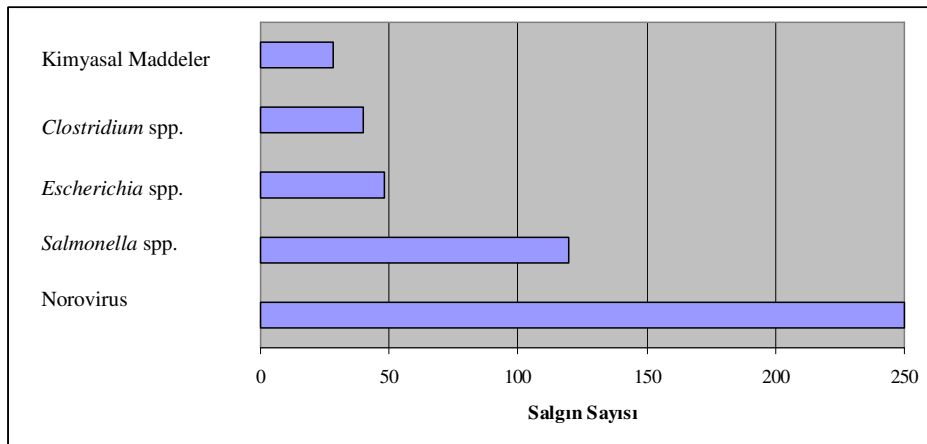
Gıda	Salgın Sayısı	Vaka sayısı
Deniz ürünleri	984	9.969
Birçok malzemeden oluşan gıdalar (salata, pizza, sandviç vb.)	948	27.812
Meyve ve sebzeler	639	31.496
Tavuk	541	16.280
Et	467	13.220
Yumurta	341	11.027

Gıda kaynaklı hastalık salgınları arasında meyve ve sebzeler üçüncü sırada bulunmasına rağmen, hastalanan kişi sayısına göre değerlendirildiğinde ise birinci sırada yer almaktadır. Hastalığa yol açan meyve ve sebze grupları Şekil 2.3'te verilmiştir.

Meyve ve sebzelerden kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıklara sıklıkla neden olan mikroorganizmalar *Salmonella* spp., Norovirus ve patojen *Escherichia* türleri olup, bu mikroorganizmalardan kaynaklanan salgın sayıları Şekil 2.4'te verilmektedir.



Şekil 2.3 Gıda kaynaklı hastalıklara yol açan meyve ve sebzelerin gruplandırılması (CSPI, 2006a).



Şekil 2.4 Meyve ve sebzelerden kaynaklanan hastalıklara neden olan ajanlar (CSPI, 2006a).

2.3 Meyve ve Sebzelerin Dezenfeksiyonunda Kullanılan Yöntemler

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerdeki mikroorganizmaların inaktivasyonu veya uzaklaştırılması için birçok metot kullanılmaktadır. Her bir metodun ürünün tipine ve mikroorganizmalar üzerindeki etkilerine bağlı olarak avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. FDA, meyve ve sebzelerin sanitasyonunu şu şekilde tanımlamaktadır: Halk sağlığını tehdit eden ve istenmeyen diğer mikroorganizmaların inaktivasyonu veya sayılarının azaltılması için uygulanan, ürünün kalitesini bozmayan veya tüketiciler için ürünü riskli hale getirmeyen işlemlerdir (FDA, 2001). Uygulanan sanitasyon metodunun etkinliği işlemin türüne, hedef mikroorganizmaların cinsine, ürün yüzeyinin karakteristiğine (çatlak, yarık, hidrofobik özellik, doku), uygulanan dezenfektana (konsantrasyon, uygulama süresi, pH ve sıcaklık) bağlı olarak değişmektedir. Meyve ve sebzeler için kullanılan dezenfektanlar; halojenler (klor, klordioksit), iyonik bileşikler (organik asitler), aktif oksijen (hidrojen peroksit, perasetik asit, ozon), yeni teknolojiler (radyasyon, pulsed light, yenilebilir film ile kaplama) ve engelleme teknolojileri kullanılmaktadır (FDA, 2001). Minimal işlem görmüş ürünlerin dezenfeksiyonunda kullanılan kimyasal dezenfektanlar patojenleri tamamen inaktif hale getirememektedir, dezenfektan konsantrasyonları arttırıldığında ise ürünlerin kalitesinde bozulmalar görülmektedir (Beuchat, 1998).

2.3.1 Su

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin işlenmesindeki ilk aşama genellikle su ile yıkamadır. Toz, toprak, böcek ve bitki kalıntılarının uzaklaştırılması dışında, su ile yıkama işleminin ürünün mikroflorası üzerinde önemli bir etkisi yoktur (Nguyen-the and Carlin, 1994). Yapılan çalışmalarda su ile yıkanan meyve ve sebzelerin mikrobiyal florasındaki azalmaların 1 logaritmik birimden daha az olduğu tespit edilmiştir. Iceberg marulları destile su ile yıkandığında doğal floradaki azalma 0,2 logaritmik birim olarak tespit edilmiştir (Kondo et al., 2006). Doğanmış marulların 4°C'deki su ile 1,5 dakika yıkanması sonucunda mezofilik aerobik bakteri sayısında 0,5 logaritmik birim düzeyinde azalma görülmüştür (Baur et al., 2004). Su ile yıkanan enginarlardaki toplam mezofilik bakteri sayısı 0,4 logaritmik birim azalmıştır (Sanz et al., 2002).

2.3.2 Klor

Klor gıda endüstrisinde en geniş kullanım alanı olan dezenfektan olup, sıvı klorür ve hipoklorit şeklinde kullanılmaktadır. Taze meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonu için sıvı klorür ve hipoklorit 50 ile 200 ppm arası konsantrasyonlarda 1-2 dakika uygulanmaktadır. Klorun antimikrobiyal aktivitesi mikrobiyal hücrelerle temas edecek olan su içerisindeki serbest klor (hipoklorik asit, HOCl) miktarına bağlıdır. Hipoklorik asidin ortamda dağılması, ortamın pH'sına bağlıdır ve

ortamda bulunan organik bileşikler kloru inaktif hale getirmektedir. Düşük pH değerlerinde klorun aktivitesi daha yüksek olmasına rağmen, ekipman yüzeylerinde korozyon oluşturduğu için, pH 6,0 - 7,5 yaygın olarak kullanılmaktadır. pH 4'ün altında toksik klorür gazı (Cl_2) oluşmakta, sıcaklık artırıldığında ise klor buharlaşmaktadır. Klor organik madde, hava, ışık ve metal ile temas ettiğinde aktivitesini kaybetmektedir. Personelin uzun süreli olarak klora maruz kalması, deride ve solunum sisteminde tahrişe yol açmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, klora maruz kalma sınırı (maksimum 15 dakika) 1 ppm'dir. Tehlikeli organoklorür bileşiklerinin oluşumu da klor kullanımının dezavantajı olarak kabul edilmiştir (Beuchat, 1998). İçme sularının klorlanması ile ortaya çıkan bazı kimyasalların kobaylar üzerinde kanserojen etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur. Bu kimyasalların en önemlileri kloroform, bromodiklorometan ve MX [3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone] olarak bilinen maddelerdir (Richardson et al., 1998).

200 ppm klor ile yıkanan marullarda doğal florada 0,9 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir. Iceberg marullarına inokule edilen *Salmonella* Typhimurium DT104, 200 ppm klor ile yıkandığında 1,2 – 1,4 log azalma tespit edilmiştir (Kondo et al., 2006). Doğanmış marulların 4°C'deki 100 ppm klorlu su ile 1,5 dakika yıkanması sonucunda mezofilik aerobik bakteri sayısının 0,7 - 1,5 log kob/g azaldığı tespit edilmiştir (Baur et al., 2004). 200 mg/l klor ile 22°C'de 5 dakika yıkanan marullarda görünüş veya dokuda herhangi bir etkiye rastlanmazken, yüzeydeki *E.coli* O157:H7 sayısında 0,7 log, kesilmiş

kenarında ise 1,0 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir (Takeuchi and Frank, 2000). Yapılan diğer bir çalışmada 100 -200 ppm klor ile yıkanan *S.typhimurium* inoküle edilmiş maydonozlarda, su ile yıkamaya kıyasla 1,0 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir. Klor konsantrasyonu 800 - 1600 ppm'e yükseltildiğinde, 2,0 logaritmik birim daha fazla azalma tespit edilmiştir (Lapidot et al., 2006). 100 ppm klor ile 22°C'de 10 dakika yıkanan marullarda *Yersinia enterocolitica* sayısı 2,36 – 2,68 logaritmik birim düzeyinde azalmıştır (Escudero et al., 1999).

Klorlanmamış su ve 100 ppm klorlu su ile 4°C'de yıkanan marullarda toplam mikroorganizma sayısındaki azalma 1,0 logaritmik birimden daha azdır. 50°C'de su ile yıkanan marullardaki mikroorganizma sayısı 1,5 logaritmik birim, 100 ppm klorlu su ile yıkanan marullarda ise 2,0 logaritmik birim azalma olmuştur (Delaquis et al., 2004). 200 ppm klor ile yıkanan enginarlardaki toplam mezofilik bakteri sayısı 2,4 logaritmik birim azalmıştır (Sanz et al., 2002).

2.3.3 Klordioksit (ClO₂)

Klordioksitin minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda kullanılacak sulara antimikrobiyal madde olarak ilave edilmesine izin verilmekte, ancak yıkama işleminden sonra içilebilir kalitede su ile durulanması ve kalıntı klordioksit seviyesinin 3 ppm'i geçmemesi istenmektedir (FDA, 2006). Klordioksit, sıvı klordan farklı olarak pH değişiklikleri ve ortamda bulunan organik asitlerden daha az etkilenmektedir. Klordioksitin dezavantajı ise dayanıklı olmamasıdır;

üretildiği yerde kullanılması gerekir ve konsantr edildiğinde patlama tehlikesi vardır. Işığa maruz kaldığında 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yapısı bozulmaktadır. Dezenfektan olarak kullanımı son yıllardaki gelişen taşıma teknolojilerindeki yenilikler sayesinde artış göstermiştir (Beuchat, 1998). Klor ile karşılaştırıldığında 3 – 5 kat daha az zararlı yan ürünlerin oluştuğu tespit edilmiştir (Richardson et al., 1998).

Klordioksit ile dezenfekte edilen marul ve elmalarda yüksek oranda kalıntı bulunduğu belirlenmiştir. Üç dakika yıkanan marullarda % 80'in üzerinde, 10 dakika yıkananlarda ise % 70'ten fazla kalıntı klordioksit kaldığı tespit edilmiştir (Huang et al., 2006). $10^6 - 10^8$ kob/g düzeyinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium* inoküle edildikten sonra 30 dakika, 1 saat ve 3 saat süreyle klordioksit gazı altında bekletilen marullarda, mikroorganizma sayılarında 4,3 ile 5,4 logaritmik birim düzeyinde azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Lee et al., 2004). Yapılan diğer bir çalışmada, 4,1 mg/l klordioksit ile 30,8 dakika işlem uygulanan marullarda *Salmonella* spp. sayısında 1,58 log kob/g düzeyinde azalma görülürken, *Listeria monocytogenes* sayısında 29,3 dakikada 1,53 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir. Ancak, marulun rengi kahverengiye dönüşmüştür. 1,4 mg/l klordioksit ile yıkanan marullarda 0,64 - 1,14 logaritmik birim azalma görülmüş ve ürün görünüm, renk ve tüm izlenim açısından kabul edilemez duruma gelmiştir. 4,1 mg/l klordioksit ile 25 dakika işlem uygulanan domateslerde *Salmonella* spp. sayısı 4,33 logaritmik birim azalmıştır. Bu işlemin domates kalitesini etkilemediği belirtilmiştir. Yapılan bu çalışma ile klordioksitin taze kesilmiş lahana, havuç, bütün elma, domates ve

şeftali için uygun dezenfektan olabileceği ancak, kesilmiş marul ve bütün soğan için uygun olmadığı ortaya konmuştur (Sy et al., 2005).

2.3.4 Elektrolize su

Elektrolize su, seyreltik sodyum klorür çözeltisinin elektrolizi ile asidik, alkali ve nötr gibi farklı özelliklerde üretilebilmekte ve son yıllarda farklı gıdalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Asidik elektrolize suyun, düşük pH değerleri (pH 2 - 4), yüksek oksidasyon redüksiyon potansiyeli (>1000 mV) ve hipoklorik asit içermesi gibi nedenlerle, patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerine bakterisidal etkisinin bulunduğu ifade edilmektedir (Deza et al., 2003).

Elektrolize su (20 ppm klor) ile yıkanan taze sebzelerdeki mikroorganizma sayısında yaklaşık 0,8 ve 2,1 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir (Izumi, 1999). 20°C'deki asidik elektrolize su (40 ppm serbest klor) ile bir dakika yıkanan marullardaki *Salmonella* ve *E.coli* O157:H7 sayılarında sırası ile 0,6 ve 0,9 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir. 50°C'de yıkanan marullardaki her iki mikroorganizma sayısındaki azalma 2,7 - 3,0 logaritmik birim olmuştur (Koseki et al., 2004). Asidik elektrolize su (50 ppm klor) ile 9 dakika yıkanan ıspanaklardaki aerobik mezofilik toplam canlı sayısı 1,7 logaritmik birim azalmıştır (Lin et al., 2005).

2.3.5 Ozon

Tavuk eti ve kırmızı etler dahil, gıdaların işlenmesinde ve saklanmasında ozonun antimikrobiyal madde olarak kullanımına izin verilmiştir (FDA, 2006). 5,2 ml/l oranında ozon içeren su ile 1, 5, 10 ve 15 dakika yıkanan marullarda *E.coli* O157:H7 sayısında önemli bir farklılık görülmezken, 10 dakika yıkanan küçük havuçlarda mikroorganizma sayısında önemli farklılık tespit edilmiştir. 9,7 ve 16,5 mg/l konsantrasyonlarda ozonlu su ile 10 dakikalık işlem sonucunda *E.coli* O157:H7 sayısı marullarda 1,41 ve 1,42 log kob/g, havuçlarda ise 1,68 ve 1,8 log kob/g düzeyinde azalma tespit edilmiştir (Singh et al., 2002). Marulların ozonlu su (1 mg/l ozon) ile iki dakika yıkanması sonucunda aerobik mezofilik bakteri sayısındaki azalma su ile yıkamadan farklı bulunmamıştır (Baur et al., 2004). Yonca filizlerinin 23,2 ppm ozonlu su ile iki dakika yıkanması ile *Listeria monocytogenes* sayısında 0,91 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir (Wade et al., 2003).

2.3.6 Hidrojen peroksit

FDA, meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda hidrojen peroksitin asetik asit ile birlikte kullanılması gerektiğini ifade etmekte ve yıkama suyundaki maksimum değerin 59 ppm olmasına izin vermektedir (FDA, 2006). EPA (Environmental Protection Agency), meyve, sebze, kuru yemiş ve tahıl tanelerine direkt uygulanan hidrojen peroksitin, 120

ppm'den fazla kalıntı bırakmasına izin vermemektedir (Venkitanarayanan et al., 2002).

Feline Calicivirus (FCV) inoküle edilen çilek ve marullar, üretici firma tarafından önerilen doz olan 55 ppm hidrojen peroksit ile yıkandığında, virus sayısında bir değişme olmamış, konsantrasyon dört katına çıkarıldığında ise 3,0 logaritmik birim azalma sağlanmıştır (Gulati et al., 2001). Domateslere, 6 – 7 logaritmik birim düzeyinde *Salmonella* Enteritidis, *E.coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* kültürleri inoküle edilip, % 1,5 laktik asit ve % 1,5 hidrojen peroksit karışımı ile 40°C'de 15 dakika süreyle yıkandığında, patojen mikroorganizma sayıları belirleme limitinin (1,7 log) altına düşmüştür. Aynı koşullardaki su ile yıkanan domateslerdeki sayı en fazla 1,1 logaritmik birim azalmıştır. Laktik asit veya hidrojen peroksit aynı konsantrasyonda tek başına kullanıldığında ise aynı düzeyde azalmanın sağlanamadığı tespit edilmiştir (Venkitanarayanan et al., 2002).

2.3.7 Organik asitler

Organik asitler birçok meyve ve sebzenin yapısında doğal olarak bulunmakta ve bazı mikroorganizmaların gelişimini geciktirirken, bazı mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir. Asetik, sitrik, suksinik, malik, tartarik, benzoik, propanoik ve sorbik asitler organik asitlerdir ve özellikle organik ürünlerin dezenfeksiyonunda kullanımı popüler olmaya başlamıştır (Seymour and Appleton, 2001). % 0,2 askorbik asit ve % 0,02 sitrik asit solüsyonu ile beş dakika yıkanan *L.monocytogenes* ve

E.coli O157:H7 bulaştırılmış enginarlardaki mikroorganizma sayısı sırasıya 0,6 ve 0,3 logaritmik birim azalmıştır (Sanz et al., 2003). *S.Typhimurium* ve *E.coli* O157:H7 inoküle edilmiş domatesler 4°C'deki % 2'lik laktik asite daldırılıp, 15 saniye süreyle yavaşça çalkalandığında mikroorganizma sayısındaki azalma 1,0 logaritmik birim olmuştur. Sıcaklık 25°C'ye yükseltildiğinde ise sayıdaki azalma yaklaşık olarak 3,0 logaritmik birim olmuştur. Bu nedenle organik asit uygulamalarının soğuk koşullarda yapılması önerilmemektedir (Ibarra-Sánchez et al., 2004). Marulların çeşme suyu, % 13 limon suyu veya % 5 sirke çözeltilerinde iki dakika bekletildikten sonra 15 saniye akan su altında durulanması ile *Listeria innocua* sayısında 1,72 – 1,88 log kob/g düzeyinde azalma olmuştur. Suda bekletme ile limonlu veya sirkeli suda bekletme arasında istatistiksel açıdan fark görülmemiştir. İki dakika veya 30 dakika çeşme suyunda bekletme arasında da istatistiksel açıdan fark görülmemiştir (Kilonzo-Nthenge et al., 2006). 5,73 log kob/g düzeyinde *S.typhimurium* inoküle edilen havuçlar, 15 dakika limon suyunda (% 4,46 sitrik asit) bekletildiğinde, mikroorganizma sayısında 2,68 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir (Sengün and Karapinar, 2004).

2.3.8 İyonize radyasyon uygulaması

A.B.D'de taze meyve ve sebzeler için maksimum 1 kGy doza kadar iyonize radyasyona izin verilmektedir. Radyasyonun kullanımı eklem bacaklı zararlı böceklerin inaktivasyonu, ürünlerin olgunlaşması veya büyümesinin engellenmesi gibi spesifik kullanımlar için sınırlandırılmıştır. İyonize radyasyon ürünlerin raf ömrünü uzatmakta ve

patojen mikroorganizmaları inaktif hale getirmektedir (Niemira, 2003). Yeşil soğanlara uygulanan 1 kGy radyasyon uygulaması ile 4,6 log/g düzeyinde olan toplam canlı sayısı belirleme limitinin (2,1 log kob/g) altına düşmüştür. 14 günlük depolama periyodunun sonunda sayı kontrol örneklerinden 0,8 logaritmik birim daha azdır. 2-3 kGy dozlarda radyasyon uygulandığında ise depolama süresi boyunca toplam canlı sayısı belirleme limitinin altında çıkmış olmasına rağmen, bu ürünlerde bazı kalite kayıpları görülmüştür (Fan et al., 2003).

2.3.8. Diğer maddeler

Son yıllarda taze meyve sebzelerin yıkanmasında kullanılmak üzere ticari dezenfektanlar üretilmektedir. Bu dezenfektanların etkinliğinin belirlenmesi konusunda bazı çalışmalar mevcuttur. Burnett et al. (2004) yaptıkları çalışmada *L.monocytogenes* inoküle edilmiş marulları üretici firmanın önerisine göre hazırlanmış FIT solüsyonu ile yıkamışlardır. FIT solüsyonu ile beş dakika yıkanan marullardaki *L.monocytogenes* sayısında 1,51 logaritmik birim azalma olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir ticari dezenfektan olan Veggie Wash çözeltisinde 2 dakika bekletildikten sonra, 15 saniye akan su altında durulanan domateslerde *L.innocua* sayısı 2,89 log kob/g düzeyinde azalmıştır (Kilonzo-Nthenge et al., 2006).

22°C'de ve 40°C'de su, sodyum lauril sülfat ve Tween 80 ile yıkanan marullarda ve domateslerde uzaklaşan *Salmonella* ve *Shigella* sayıları farklı bulunmamıştır (Raiden et al., 2003).

2.4 Engelleme (Hurdle) Teknolojisi

Taze ve kaliteli gıdalara tüketicilerin ilgisinin artması, üreticileri en az işlem görmüş gıda üretimine yöneltmiştir. Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler çiğ olmaları nedeni ile canlı dokulara sahip ve solunum yapmakta olup, bu tür ürünlerde hızlı olgunlaşma ve/veya kalite kayıplarına neden olan biyokimyasal reaksiyonlar devam etmektedir. Minimal işlem görmüş ürünlerde mikrobiyal üreme, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler temel bozulma mekanizmasını oluşturmaktadır. Birçok durumda minimal işlem görmüş ürünler, üretildiği hammaddeye kıyasla daha kısa sürede bozulmaktadır (FAO, 2003). Gıdaların, mikrobiyal açıdan güvenliği ve dayanıklılığı ile ilgili kalite özelliklerinin yanında, duyuşal ve besinsel kalitesi de birleştirilmiş engelleyici faktörlerin (hurdle etki) uygulanmasına bağılıdır. Engelleme teknolojisi, gıdanın mikrobiyal stabilitesinin, duyuşal özelliklerinin, besin kalitesinin ve ekonomik özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla engellerin birlikte kullanılması ile sağlanmaktadır. Bu nedenle engelleme teknolojisinde, engellerin uygun bir biçimde kombinasyonu ile gıdanın toplam kalitesinin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır (Leistner, 2000).

Gıdaların saklanması için kullanılan engelleyici faktörler (Leistner, 1994):

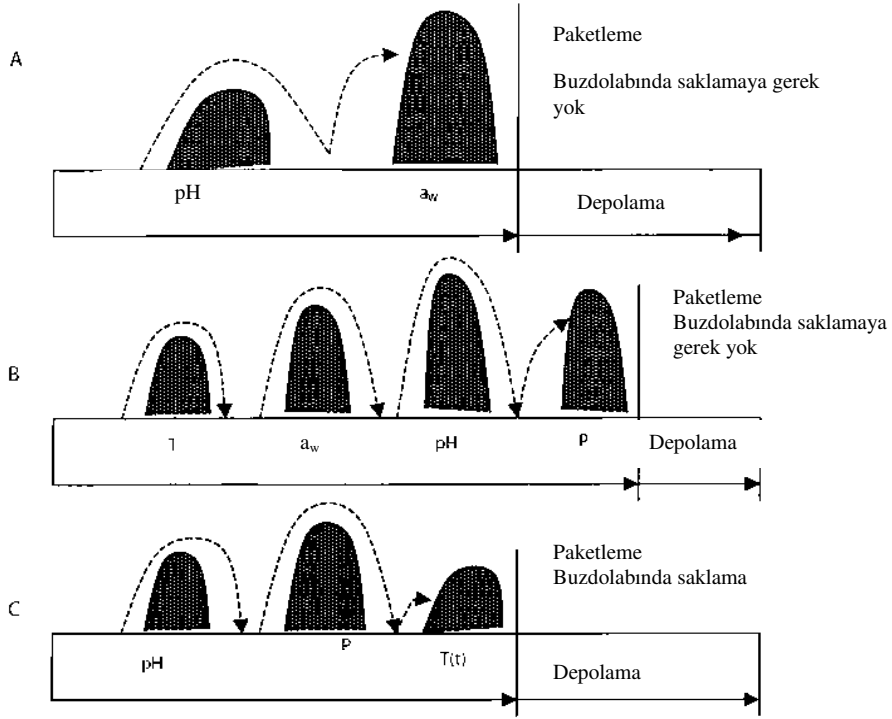
- Sıcaklık, pH, su aktivitesi, redoks potansiyeli (düşük veya yüksek)
- Modifiye atmosfer (karbondioksit, oksijen, azot)
- Paketleme (vakum paketleme, aktif paketleme, aseptik paketleme, yenilebilen filmlerle kaplama)

- Basınç uygulamaları (düşük veya yüksek)
- Radyasyon (UV, mikrodalga, gamma radyasyonu)
- Diğer fiziksel işlemler (ohmic ısıtma, yüksek elektrik alan, radyofrekans enerjisi, titreşimli manyetik alan, fotodinamik inaktivasyon, ultrasonik uygulamalar)
- Mikroyapı (emülsiyon, katı kültür fermantasyonu)
- Rekabetçi flora (laktik asit bakterileri)
- Koruyucular (organik asitler, laktat, asetat, sorbat, askorbat, izoaskorbat, glukono delta lakton, polifosfat, propilen glikol, difenil, çitosan, serbest yağ asitleri, fenol, monolarin, şelat ajanları, maillard reaksiyon ürünleri, etanol, baharatlar, nitrit, nitrat, sülfid, tütsü, ozon, hipoklorit, pimarisin, lizozim, laktoperoksidaz, nisin, bakteriyosin)

Bazı engelleyici faktörler gıdanın güvenliğini artırırken, aynı zamanda duyu özelliklerini de iyileştirebilmektedir. Engelleyici faktörün yoğunluğuna bağlı olarak pozitif veya negatif etkisi olabilir. Örneğin, bazı bitkisel materyallerin uygun olmayan sıcaklıklarda depolanması ile soğuk zararı görülebilmektedir. Belirli bir engelleyici faktörün gıda kalitesine olumsuz bir etkisi yok ise, yoğunluk güçlendirilmeli; olumsuz etkisi varsa, o faktörün yoğunluğu azaltılmalıdır. Bu düzenleme ile, gıda güvenliği ve kalitesinin, dolayısıyla toplam kalitenin dikkate alınarak, gıda içerisindeki engelleyici faktörlerin optimum aralıkta tutulması sağlanacaktır (Leistner, 2000).

Orta nemli meyve ürünleri (A), nem oranı yüksek meyve ürünleri (B) ve minimal işlem görmüş meyveler (C) için uygulanan engelleme

teknolojileri Şekil 2.5'te görülmektedir. Orta nemli meyve örneğinde (A) pH ve su aktivitesi olmak üzere iki engel uygulanmış ve mikroorganizmalar bu engelleri aşamamışlardır, dolayısı ile ürün mikrobiyolojik açıdan stabildir. Su aktivitesinin düşük olması, orta nemli gıdadaki mikroorganizmaların üremesinin önlenmesinde en etkili engel olarak tanımlanmıştır. Nem oranı yüksek meyve ürünleri (B) için uygulanan engelleme teknolojisinde ise su aktivitesinin çok etkili olmadığı, pH'nın mikroflora üzerinde önemli baskı uyguladığı ve eklenen koruyucularla ürünün stabil hale getirildiği belirtilmiştir. Her iki durumda da (A ve B) ürünü buzdolabında muhafaza etmeye gerek kalmamıştır. Minimal işlem görmüş meyve ürünü (C) örneğinde ise hafif ısısal işlem, koruyucular ve buzdolabında muhafaza ile üründeki mikroorganizmalar kontrol altına alınmıştır (FAO, 2003).



Şekil 2.5 Meyveleri saklama işleminde kullanılan engellerin şematik gösterimi: su aktivitesi (a_w), pH, koruyucular (P), ve hafif ısısal işlem, T(t). (A) orta nemli meyve ürünü; (B) nem oranı yüksek meyve ürünü; (C) minimal işlem görmüş soğutulmuş meyve ürünü (FAO, 2003).

Meyve ve sebzelere uygulanan engelleme teknolojileri ile doğal mikroflora veya inoküle edilmiş patojen mikroorganizmaların üzerine etkileri Çizelge 2.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 2.4 Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler için uygulanan engelleme teknolojilerinin etkisi.

Uygulanan işlem	Ürün	Mikroorganizma sayısındaki azalma	Kaynak
200 ppm klor ve 0,7 kGy radyasyon uygulaması	Iceberg marulu	<i>Salmonella</i> spp., 4 log kob/g	Goularte et al., 2004
2 kGy radyasyon uygulaması ve modifiye atmosferde paketleme (4°C/ 14 gün)	Lahana	Aerobik mezofilik bakteri, 4 log kob/g	Ahn et al., 2005
Antimikrobiyal madde ile kaplama ve modifiye atmosferde paketleme (4°C/ 14 gün)	Küçük havuç	<i>Listeria innocua</i> >1,6 log kob/g	Caillet et al., 2006
Yüksek basınç uygulaması (550MPa) ve hafif ısısız işlem (30 °C/ 5 dakika)	Portakal suyu	<i>E.coli</i> O157:H7, >6 log kob/ml	Linton et al., 1999

2.5 Baharat ve Baharat Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

2.5.1 Baharatlar

Bitkilerin çok sayıda aromatik maddeleri sentezleme yetenekleri bulunmaktadır. Bu aromatik maddelerin çoğu fenoller veya oksijenli fenol türevleridir. Bu şekilde en az 12000 sekonder metabolit izole edilmiş olmasına rağmen, bu sayının toplam sayının % 10'undan az olduğu tahmin edilmektedir. Bitkiler birçok durumda ürettiği sekonder metabolitleri mikroorganizmalar, böcekler ve bitki zararlılarına karşı üretmektedir. Terpenoidler gibi maddeler bitkiye has kokunun üretilmesini, kinon ve tanenler ise pigment oluşumunu sağlamaktadır (Cowan, 1999).

Baharatlar bitkilerin farklı bölgelerinden elde edilmektedir. Baharatlar aromatik bitkilerin meyvelerinden (kırmızıbiber, karabiber, kakule), tohumlarından (anason, karaman kimyonu, kişniş, kimyon, rezene, çemen, hardal), rizomlarından veya köklerinden (zencefil), yaprağından (defne, mercanköşk, maydonoz, adaçayı, kekik), kabuğundan (tarçın), çiçeklerinden (safran, karanfil) ve soğanlarından (soğan, sarımsak) elde edilmektedir (Pruthi, 1980).

Sumak (*Rhus coriaria*) Kanarya Adaları ve Akdeniz kıyılarından başlayarak İran ve Afganistan'a kadar olan bölgede yetişmektedir. Türkiye'de Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesine özgü bir bitkidir. Meyveleri kırmızı renklidir ve bir çekirdek içermektedir. Kurutulmuş

meyve ve tuz karışımının öğütülmesi ile elde edilmekte olup, kebablar, ızgara etler ve salatalarda baharat olarak kullanılmaktadır. Halk arasında hazımsızlık, iştahsızlık, diyare, kanama ve hiperglisemi gibi rahatsızlıkların iyileştirilmesinde kullanılmaktadır (Nasar-Abbas and Halkman, 2004). Meyve suyunun pH'sı 2,5 olup, sitrik, malik, tannik, gallik asitler, az miktarda esansiyel yağ ve renk maddeleri içermektedir (Bayram et al., 2005). Sumağın antioksidant kapasitesinin belirlendiği bir çalışmada, sumak ekstraktının temel fenolik maddesinin gallik asit olduğu ve antosiyanin fraksiyonunda siyanidin, peonidin, pelargonidin, petunidin ve delfinidin glikozitleri ve kumarat içerdiği tespit edilmiştir (Kosar et al., 2007).

Sumak ekstraktının altı Gram pozitif ve altı Gram negatif bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkisinin belirlendiği bir çalışmada, sumağın Gram pozitif bakteriler üzerinde en fazla etkili olduğu, denenen altı gram pozitif bakteri içerisinde *Listeria monocytogenes*'in en dirençli, *Bacillus* türlerinin ise en hassas olduğu tespit edilmiştir. Altı Gram negatif tür arasında ise *Salmonella enteritidis*'in en dirençli, *Citrobacter freundii*'nin ise en hassas olduğu belirlenmiştir. Yapılan araştırma ile sumağın olgunlaşmış (kahverengi-kırmızı) ve yeteri kadar olgunlaşmamış (yeşil) taneleri ayrılmış ve ayrı ayrı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Antimikrobiyal etkinin konsantrasyona bağlı olduğu ve olgunlaşma safhasına bağlı olmadığı tespit edilmiştir (Nasar-Abbas and Halkman, 2004).

Oregano (yabani mercanköşk) (*Origanum onites*, *O.vulgare*) adı altında bilinen altı farklı familyaya ait 17 cins ve buna bağlı en az 61 tür olduğu bilinmektedir. En bilinen oregano türleri (Türk ve Yunan türleri) Lamiaceae familyasına dahildir. Oregano türlerinin büyük bir çoğunluğu Akdeniz ülkelerinde yetişmektedir. Avrupa Birliği 1999 yılında bin tondan fazla oregano ithal etmiştir. Dünya çapında on bin ton oregano üretildiği tahmin edilmekte olup, Türkiye en fazla oregano üreten ülke konumundadır ve 1995 yılında ABD'ye 3392 ton oregano ihraç etmiştir. Oregano yağı veya reçineleri gıda, içecek ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Et yemeklerinde, sosislerde, salatalarda, güveçlerde, soslarda ve çorbalarda kullanılmaktadır. Birçok çalışmada oreganonun insan sağlığına faydaları ortaya konmuştur. Oregano geleneksel olarak, öksürük ve bronşit gibi solunum sistemi rahatsızlıkları, sindirim sistemi rahatsızlıkları (kolera, sindirimi kolaylaştırıcı, spazm çözücü), ağız antiseptiği, idrar yolu rahatsızlıkları (diüretik ve antiseptik), dermatolojik rahatsızlıklar (kaşıntı, yanma, böcek sokmaları) ve viral enfeksiyonlar gibi birçok rahatsızlığın iyileştirilmesinde kullanılmaktadır (Kintzios, 2004). Baydar et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada, oregano esansiyal yağının kimyasal bileşiminin karvakrol (% 86,9), timol (% 0,2), borneol (% 0,6), bornylacetate (% 0,4), p-cymene (% 2,9), γ-terpinen (% 3,9), α-terpinen (% 0,9), myrcene (% 1,3)'den oluştuğu belirtilmiştir. Oreganonun antioksidan (Capecka et al., 2005; Su et al., 2007) ve antimikrobiyal (Hammer et al., 1999; Elgayyar et al., 2001) etkileri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur.

Gıdalarda bulunan antimikrobiyal bileşikler, mikroorganizmaların üreme hızını azaltarak veya mikroorganizmaları inaktif hale getirerek gıdaların raf ömrünü uzatabilmektedir (Holley and Patel, 2005). Baharatın antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde, bileşimi, yapısı ve fonksiyonel grupları önemli rol oynamaktadır. Baharatların antimikrobiyal etkisi genellikle esansiyel yağ fraksiyonunda olup, bu bileşikler baharatların karakteristik tat ve aromasından sorumludur (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5 Bazı baharatlarda bulunan esansiyel yağlar (Snyder, 1997).

Baharat	Esansiyel yağ oranı (%)	Esansiyel yağ
Yenibahar	3 – 5	Öjenol, Metil öjenol
Karanfil	16 – 19	Öjenol, Öjenol asetat
Kimyon	0,5 – 1	Sinnamik aldehit
Sarımsak	0,3 – 0,5	Alil sülfanol, Alil sülfid
Hardal	0,5 – 1	Alil isotiyosiyanat
Oregano	0,2 – 0,8	Timol, Karvakrol
Adaçayı	0,7 – 2	Timol, Öjenol
Kekik	2,5	Timol, Karvakrol

Baharat esansiyel yağları öğütülmüş baharatların sıkılması, fermantasyonu, yağda bekletilmesi veya buhar destilasyonu yöntemleri ile elde edilmiş uçucu aromatik bileşiklerdir (Burt, 2004). Baharat

oleoresinleri ise hekzan ve etilen diklorit gibi çözümlenirler kullanılmak suretiyle ekstrakte edilen uçucu veya uçucu olmayan reçinelerdir. Alkolde çözünmekte, suda sınırlı oranda çözünebilmektedir. Esansiyel yağlar büyük oranda terpenoid karışımlarından oluşmakta olup bunun yanında düşük moleküler ağırlıklı alifatik hidrokarbonlar (lineer, dallanmış, doymuş ve doymamış), asitler, alkoller, aldehitler, halkalı yapıda olmayan esterler veya laktonlar, azot ve kükürt içeren bileşikler ve fenilpropanoid homologları içerebilmektedir (Dormans and Deans, 2000). Esansiyel yağlar ve bileşenlerinin antibakteriyal, antiviral, antimikotik, antitoksijenik, antiparazitik ve insektisidal özelliklerinin olduğu bilinmektedir (Burt, 2004). Karvakrol, öjenol ve timol gibi fenolik bileşikler esansiyel yağların temel antimikrobiyal maddeleridir (Holley and Patel, 2005). Baharatlar arasında kimyon, karanfil ve hardal birçok mikroorganizma için en güçlü antimikrobiyal etkiyi göstermektedir. Yenibahar, defne yaprağı, kişniş, karaman kimyonu, kimyon, oregano, biberiye, adaçayı ve kekiğin de önemi düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Diğer yandan, kırmızı biber, zencefil ve karabiberin en az antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Zaika, 1988). Baharatların antimikrobiyal etkisi antik çağlardan beri bilinmekte olup, geçmişte bu konu ile ilgili derleme çalışmaları yapılmıştır. Ancak, son dönemlerde yeşil gıda tüketiminin öneminin artması ile birlikte doğal antimikrobiyal maddelere olan ilgi artmış ve bu konuda yapılan çalışmalar hız kazanmıştır.

Esansiyel yağlarda bulunan fenolik bileşikler antimikrobiyal etki göstermektedir ve bunlardan bazıları GRAS (Generally Recognized as

Safe) olarak sınıflandırılmıştır. Bu nedenle bu maddeler gıdanın doğal florasında bulunan veya sonradan bulaşan mikroorganizmaların hasat sonrasında gelişimini engellemek amacıyla kullanılabilir. Esansiyel yağlar GRAS olarak sınıflandırılmakta ise de, bıraktığı koku nedeniyle gıdalarda koruyucu olarak kullanımı sınırlanmaktadır. Bu nedenle, duyuşal kabul edilebilirlik ile antimikrobiyal etkinlik arasında dengeyi sağlamak amacı ile baharatların minimum inhibitör konsantrasyonlarının belirlenmesi konusunda çalışmalar yapılmaktadır (Lambert et al., 2001). Baharatların minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) çeşitli kaynaklarda farklı şekillerde tanımlanmıştır. Parish and Davidson (1993) minimum inhibitör konsantrasyonu mikroorganizmaların gelişimini engelleyen en düşük konsantrasyon olarak tanımlarken, Consentino et al. (1999), mikroorganizma sayısında % 90'dan daha fazla azalma sağlayan en düşük konsantrasyon olarak tanımlamaktadır. Minimum bakterisidal konsantrasyon ise mikroorganizma sayısını % 99,9 veya daha fazla oranda azaltan konsantrasyon olarak belirtilmiştir (Parish and Davidson, 1993; Consentino et al., 1999). Baharat esansiyel yağlarının ve aktif bileşenlerinin minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MIC) belirlenmesi konusunda yapılan bazı çalışmalar sırasıyla Çizelge 2.6 ve 2.7'de verilmiştir.

Çizelge 2.6 Baharatların in vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonları.

Baharat	Mikroorganizmalar	MIC (µg/ml)	Kaynak
Kekik	<i>Salmonella typhimurium</i>	450 – >20000	Aktuğ and Karapınar, 1986; Consentino et al., 1999; Hammer et al., 1999
	<i>Staphylococcus aureus</i>	200 – 2500	Aktuğ and Karapınar, 1986; Consentino et al., 1999; Hammer et al., 1999
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	500-20000	Aktuğ and Karapınar, 1986; Yano et al., 2006
	<i>Listeria monocytogenes</i>	156 - 450	Consentino et al., 1999; Smith-Palmer et al., 1998
	<i>Escherichia coli</i>	450 – 1250	Consentino et al., 1999; Hammer et al., 1999
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	40000	Karapınar, 1990
Oregano	<i>S.typhimurium</i>	1200	Hammer et al., 1999
	<i>S.aureus</i>	400– 1200	Hammer et al., 1999; Prudent et al., 1995; Elgayyar et al., 2001
	<i>E.coli</i>	500- 18000	Hammer et al., 1999; Prudent et al., 1995; Moreira et al., 2005
	<i>E.coli</i> O157:H7	625	Burt and Reinders, 2003
	<i>L.monocytogenes</i>	6250	Elgayyar et al., 2001
	<i>Aspergillus niger, Aspergillus flavus</i>	110-220	Viuda-Martos et al., 2007

Çizelge 2.6 Baharatların in vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonları (devam ediyor).

Baharat	Mikroorganizmalar	MIC (µg/ml)	Kaynak
Karanfil	<i>S.typhimurium</i>	>20000	Hammer et al., 1999
	<i>S.aureus</i>	400 - 2500	Farag et al., 1989; Smith-Palmer et al., 1998
	<i>E.coli</i>	400 - 2500	Farag et al., 1989; Smith-Palmer et al., 1998; Moreira et al., 2005
	<i>V.parahaemolyticus</i>	1250	Yano et al., 2006
	<i>A.flavus</i>	220-1250	Patkar et al., 1993; Viuda-Martos et al., 2007
Nane	<i>S.typhimurium</i>	10000 - 50000	Aktuğ and Karapınar, 1986; Hammer et al., 1999
	<i>S.aureus</i>	1000 - 50000	Aktuğ and Karapınar, 1986; Hammer et al., 1999
	<i>V.parahaemolyticus</i>	5000 - 10000	Aktuğ and Karapınar, 1986; Hammer et al., 1999
	<i>E.coli</i>	5000 - 20000	Hammer et al., 1999; Moreira et al., 2005
Adaçayı	<i>S.typhimurium</i>	20000	Hammer et al., 1999
	<i>S.aureus</i>	10000	Hammer et al., 1999
	<i>E.coli</i>	5000	Hammer et al., 1999

Çizelge 2.7 Baharat esansiyel yağlarının in vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonları.

Antimikrobiyal bileşik	Mikroorganizmalar	MIC (µg/ml)	Kaynak
Öjenol	<i>Salmonella typhimurium</i>	100 – 500	Karapınar and Aktuğ, 1987; Kim et al., 1995
	<i>Staphylococcus aureus</i>	100	Karapınar and Aktuğ, 1987
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	50	Karapınar and Aktuğ, 1987
	<i>Listeria monocytogenes</i>	>1000	Kim et al., 1995
	<i>Escherichia coli</i>	1000	Kim et al., 1995
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	300	Karapınar, 1990
	<i>Aspergillus flavus</i>	500 - 600	López-Malo et al., 2005
	<i>Penicillium expansum</i>	3000	Ryu and Holt, 1993
Timol	<i>S.typhimurium</i>	56 – 500	Karapınar and Aktuğ, 1987; Consentino et al., 1999
	<i>S.aureus</i>	225 – 500	Karapınar and Aktuğ, 1987; Consentino et al., 1999
	<i>V.parahaemolyticus</i>	75	Karapınar and Aktuğ, 1987
	<i>L.monocytogenes</i>	450	Consentino et al., 1999
	<i>E.coli</i> O157:H7	450	Consentino et al., 1999
	<i>A. flavus</i>	300 -400	López-Malo et al., 2005

Çizelge 2.7 Baharat esansiyel yağlarının in vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonları (devam ediyor).

Antimikrobiyal bileşik	Mikroorganizmalar	MIC (µg/ml)	Kaynak
Mentol	<i>S. typhimurium</i>	500	Karapınar and Aktuğ, 1987
	<i>Salmonella enteritidis</i>	2000	Tassou et al., 1995
	<i>S.aureus</i>	500 - >1000	Karapınar and Aktuğ, 1987; Moleyar and Narasimhan, 1992
	<i>V.parahaemolyticus</i>	50	Karapınar and Aktuğ, 1987
	<i>L.monocytogenes</i>	2000	Moleyar and Narasimhan, 1992
Karvakrol	<i>S.typhimurium</i>	225 – 250	Kim et al., 1995; Cosentino et al., 1999
	<i>S.aureus</i>	175 – 450	Cosentino et al., 1999; Lambert et al., 2001
	<i>L.monocytogenes</i>	450 –500	Kim et al., 1995; Cosentino et al., 1999
	<i>E.coli, E.coli 0157:H7</i>	225 – 500	Kim et al., 1995; Cosentino et al., 1999
Sinamaldehyt	<i>Staphylococcus spp.</i>	500	Moleyar and Narasimhan, 1992
	<i>Bacillus spp.</i>	500	Moleyar and Narasimhan, 1992
	<i>P.expansum</i>	1000	Ryu and Holt, 1993
Vanilin	<i>Salmonella Newport</i>	2738	Rupasinghe et al., 2006
	<i>A.flavus</i>	1100 -1300	López-Malo et al., 2005

2.5.2 Esansiyel yağların gıdalarda kullanımı

Bazı baharatlarda bulunan esansiyel yağların koruyucu etkisinin olduğu eski çağlardan beri bilinmektedir. Kimyon, karanfil ve sinemaki ekstraktlarının Eski Mısır'da mumyalama işlemlerinde kullanıldığı belirtilmektedir. Esansiyel yağların doğal antimikrobiyal özellikleri nedeniyle, tek başına veya diğer koruyucu ajanlarla birlikte kullanıldığında gıdaların raf ömrünü uzatabilmektedir. Ancak, esansiyel yağların gıdalarda koruyucu olarak kullanımı sınırlıdır. Etkin dozlarda kullanıldığında keskin koku bırakmakta, ayrıca gıdalarda kullanıldığında besiyerinde gösterdiği antimikrobiyal etkiyi sağlayamamaktadır. Esansiyel yağların doğal antimikrobiyal madde olarak teknolojiye kullanılabilmesi için optimum konsantrasyonlar, patojenlerin hassasiyeti, temas süresi gibi faktörlerin optimize edilmesi gerekmektedir (Moreira et al., 2005).

Baharat ve baharat ekstraktları gibi doğal antimikrobiyal maddeler patojen veya bozulmaya neden olan mikroorganizmaların inaktivasyonunda kullanılabilir. Patlıcan salatasına ilave edilen % 0,7 oranındaki oregano yağının düşük pH ve sıcaklıklarda *E.coli* O157:H7 üzerinde etkili, organoleptik açıdan da kabul edilebilir olduğu tespit edilmiştir. En yüksek inaktivasyon düşük pH seviyelerinde görülmüştür. Bunun nedeni ise esansiyel yağların düşük pH'larda hidrofobitesinin artmasıyla hücre zarının lipid fazında daha iyi çözünmesi ve ilave edilen limon suyu ile sinerjistik etkinin artmasıdır (Skandamis and Nychas, 2000).

% 1 oranında timol ve karvakrol karışımı içerisinde 15 dakika bekletilen sazan balığındaki toplam canlı sayısı kontrole göre 2,12 log kob/g düzeyinde azalmıştır. 12 günlük depolama süresinin sonunda ise kontrole göre sayı 4 log kob/g daha düşük bulunmuştur. Balıkların 5°C'deki raf ömrü 4 günden 12 güne uzatılmıştır (Mahmoud et al., 2004).

Wan et al. (1998) yaptıkları çalışmada % 0,1 astragol (fesleğen esansiyel yağının etken maddesi) ile 10 dakika yıkanan marulların doğal florasındaki toplam canlı ve kanıtlanmamış *Pseudomonas*, *Aeromonas* ve Enterobacteriaceae sayılarının 2 logaritmik birim azaldığını ortaya koymuşlardır. Marul eksraktına inoküle edilen *Aeromonas hydrophila* sayısı, % 0,1 ve % 1 oranında astragol ile bir saat içinde sırasıyla 10^5 , ten 3 ve <1 kob/ml düzeyine düşmüştür. 14 günlük depolama süresinde her iki konsantrasyonda da *Aeromonas hydrophila* sayısı belirleme limitinin altına düşerken, *Pseudomonas fluorescens* sayısı 3 logaritmik birim azalmıştır.

Tarçın esansiyel yağı (5 µl) içeren havuç suyuna inoküle edilen *Bacillus cereus* sporlarının çimlenmesi en az 60 gün geciktirilmiştir (Valero and Salmeron, 2003).

0,1 ml/l oranında kekik yağı ile yıkanan marul ve küçük havuçlardaki *E.coli* O157:H7 sayısında önemli bir azalma tespit edilememiştir. 1,0 ml/l oranında kekik yağı ile beş dakika yıkanan marullarda 1,65 log kob/g, havuçlarda ise 1,90 log kob/g düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Yıkama süresinin 10 veya 15 dakikaya

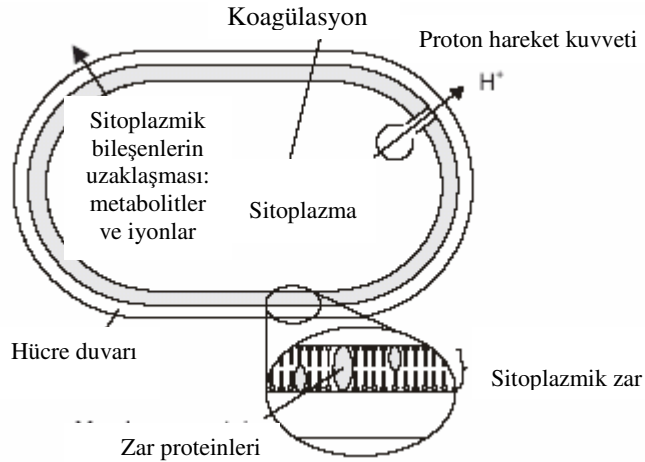
yükseltilmesiyle sayıda önemli bir farklılık belirlenmemiştir (Singh et al., 2002).

Çileklerde gri küf ve yumuşak çürüme etmeni olan *Botrytis cinerea* ve *Rhizopus stolonifer*'in gelişimi kekik uçucu yağları ile dört gün geciktirilmiştir. 13°C'de 14 günlük depolama süresinin sonunda *B.cinerea* ve *R.stolonifer*'in gelişimi % 70 oranında azalmıştır (Reddy et al., 1998).

Yonca filizlerine inoküle edilen *Salmonella* türlerinin 200-500 mg/l konsantrasyonundaki alil izotiyosiyonat içeren hava ile teması sonucunda iki gün içinde en az 7 logaritmik birim azalma olduğu, ürünün duyuşal özelliklerinin ise değişmediği tespit edilmiştir (Weissinger et al., 2001). Lin et al. (2000) tarafından yapılan çalışmada 400 µl alil izotiyosiyonat ile marullara inoküle edilmiş *Salmonella montevideo* sayısında 2,6 logaritmik birim azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak, yüksek dozlardaki alil izotiyosiyonatin marul dokusuna zarar verdiği görülmüş, ürünün duyuşal özelliklerini bozmamak için modifiye atmosferle birlikte kullanılmasında yarar olacağı konusu üzerinde durulmuştur. Modifiye atmosferde paketlenen kirazlara öjenol, timol ve mentol ilave edildiğinde ağırlık kaybı, yumuşama, renk değişimi ve sap bozulmalarının azaldığı tespit edilmiştir. 14 günlük depolama süresi sonunda küf ve maya sayısı 1,5 logaritmik birimin altına düşerken, kontrol örneklerinde ise sayı 4,9 log kob/g'a yükselmiştir (Serrano et al., 2005).

2.5.3 Baharatların antimikrobiyal etki mekanizması

Esansiyel yağ bileşenlerinin antimikrobiyal etkisi, bileşiğin hidrofobitesine ve mikroorganizmanın sitoplazmik zarlarında ve mitokondride dağılmasına bağlıdır. Aromatik ve fenolik bileşikler sitoplazmik zarın yapısını ve fonksiyonunu değiştirmektedir. Potasyum iyonlarının dışarı çıkması ilk sinyal olup, bunu ATP gibi sitoplazmik bileşiklerin çıkışı izlemektedir. Sitoplazmik zarın seçici geçirgenlik özelliğinin kaybolması ile birlikte hücre inaktif hale gelmektedir (Holey and Patel, 2005). Antimikrobiyal maddelerin hücre içerisinde etki ettiği bölgeler Şekil 2.6'da görülmektedir. Bu mekanizmaların hepsi ayrı birer hedef olmayıp, bir hedefin diğerlerini etkilemesi sonucunda oluşmaktadır (Burt, 2004).



Şekil 2.6 Esansiyel yağ bileşenlerinin hücre içinde etkilediği bölgeler (Burt, 2004).

Bazı moleküllerin zar üzerindeki aktiviteleri spesifik iyonların uzaklaşmasına neden olmakta ve bu da proton hareket kuvvetini etkileyerek hücre içi ATP içeriğinin ve turgor basıncının kontrolü, çözünen madde transferi ve regulasyon metabolizması gibi hücrenin aktivitelerinin azalmasına neden olmaktadır (Lanciotti et al., 2004). Oregano esansiyel yağı *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* hücre zarlarının geçirgenliğini etkileyerek, fosfat ve potasyum iyonlarının hücre dışına sızmasına neden olmaktadır (Lambert et al., 2001).

2.6 Modifiye Atmosferde Paketleme (MAP)

Ürünün kalitesini arttırmak ve raf ömrünü uzatmak amacı ile normal hava kompozisyonunu değiştirerek optimum atmosferin sağlanması modifiye atmosferde paketleme olarak tanımlanmaktadır. Modifiye atmosferde paketleme yöntemleri aktif ve pasif olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilmektedir. Aktif modifiye atmosferde paketleme işleminde, gıdanın ambalajlandığı paketin içindeki gaz alınarak, istenen gaz karışımı pakete verilmekte ve paket kapatılmaktadır. Pasif modifiye atmosferde paketleme işleminde ise seçilen belirli özellikteki film ile gıda paketlenir. İstenilen atmosfer koşulları ürünün solunumu ve gazların filminden geçişi ile sağlanmaktadır (FDA, 2001). Modifiye atmosferde paketleme ve buzdolabında depolama işlemi minimal işlem görmüş sebzeler için kullanılan saklama tekniğidir. Bu tür ürünlerde solunum devam ettiği için, gaz geçirmez paketlerde ambalajlandığında, ambalaj içindeki hava modifiye edilir. Bu şekilde gerçekleştirilen doğal atmosfer

modifikasyonu ürünün raf ömrünü uzatabilir. Sebzelerin modifiye atmosferde paketlenmesi ile bozulmaya neden olan aerobik mikroorganizmaların gelişimi sınırlanmakta, oksidasyon, enzimatik reaksiyon ve su kaybı hızı yavaşlamakta, turgor basıncının sabit kalması sağlanarak, dokudaki bozulmalar geciktirilmektedir (Lilly et al., 1996). Meyve ve sebzelerin MAP ile depolanmasında aşağıda belirtilen koşulların yerine getirilmesi gerekmektedir (Dilley, 1990; Jayas and Jeyamkondan, 2002'den).

- Solunum hızını ve olgunlaşmayı azaltmak için, ürüne zarar vermeyecek en düşük oksijen seviyesi
- Solunum hızını ve olgunlaşmayı azaltmak için, ürüne zarar vermeyen en yüksek karbondioksit seviyesi
- Tazeliği korumak ve nem kaybını azaltmak için en yüksek bağıl nem
- Solunum hızını düşürecek en düşük sıcaklık (soğuk zararına yol açmamalı)
- Olgunlaşmayı baskılamak için en düşük etilen seviyesi

Meyve ve sebzeler canlı olmaları nedeniyle solunum yapmakta olup, meyve ve sebzelerin solunum hızı ile raf ömürleri arasında ters orantı bulunmaktadır. Kesilmiş meyve ve sebzelerin solunum hızı daha fazla olduğu için raf ömürleri kısalmaktadır. Bu nedenle modifiye atmosferde paketlenmenin hedefi ürünün solunum hızını yavaşlatmak olup, bu hedefe ulaşabilmek için düşük oksijen seviyelerinin (% 1 - 5) sağlanması ve ürünlerin buzdolabı koşullarında depolanması gerekmektedir (Farber et al., 2003). Düşük oksijen konsantrasyonları (<% 1) anaerobik solunumun gerçekleşmesine ve dolayısı ile dokuların

bozulmasına, kötü koku ve tadın oluşumuna yol açmaktadır. Ayrıca, *Clostridium botulinum* gibi anaerobik gıda kaynaklı patojenlerin de gelişimine olanak sağlamaktadır (FDA, 2001).

Modifiye atmosferde paketlemenin temel amacı ürünün raf ömrünü uzatmaktır. Modifiye atmosferde paketlenme ile meyve ve sebzelerde bulunabilen bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimi engellenebilirken, patojenlerin gelişimi teşvik edilebilmektedir. Minimal işlem görmüş ve modifiye atmosferde paketlenmiş sebzelerde mikroorganizmaların gelişebildiği ideal koşulların olduğu belirtilmektedir (Nguyen-the and Carlin, 1994). Ürünlerin raf ömürleri uzatıldığı için yavaş gelişen patojenlerin de gelişmesi için yeterli süre oluşabilmektedir. Psikrotrofik patojenler (*L.monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*), proteolitik olmayan *Cl.botulinum*, *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Shigella* spp. gibi patojen bakteriler modifiye atmosferde paketlenen ürünleri sağlık açısından riskli hale getirebilmektedir (Farber et al., 2003). Çizege 2.8 ve 2.9’da modifiye atmosferde paketlenen sebzelerde bulunan patojenler ve doğal mikrofloradaki değişimlerin incelendiği bazı çalışmalar verilmiştir.

Çizelge 2.8 MAP'ın patojen mikroorganizmalar üzerine etkisi.

Ürün	Mikroorganizma	Depolama	Değişim (log kob/g)	Kaynak
Marul	<i>Listeria monocytogenes</i>	8°C/ 10 gün	0,7-1,0 artış	Francis and O'Beirne, 2005
Marul	<i>L.monocytogenes</i>	3°C/ 14 gün	1,0 – 1,5 azalma	Francis and O'Beirne, 1997
Marul	<i>E.coli</i> O157:H7	8°C/ 12 gün	2,5 –3,0 artış	Francis and O'Beirne, 2001
Lahana salatası	<i>E.coli</i> O157:H7	8°C/ 5 gün	1,5 artış	Francis and O'Beirne, 2001
Iceberg marulu	<i>Aeromonas hydrophila</i>	7°C/ 7 gün	0,5 artış	Jacxsens et al., 1999
Iceberg marulu	<i>Listeria innocua</i>	8°C/ 7 gün	1,5-2,0 artış	Gleeson and O'Beirne, 2005
Domates	<i>Salmonella</i> Enteritidis	7°C/ 4gün	3,0 azalma	Daş et al., 2006

Çizelge 2.9 MAP'ın bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerine etkisi.

Ürün	Mikroorganizma	Depolama	Değişim (log kob/g)	Kaynak
Kereviz	Mezofilik Toplam Canlı	4°C/15 gün	1,37 azalma	Gómez, and Artés, 2005
	Psikrotrofik Toplam Canlı	4°C/15 gün	1,39 azalma	
	Küf ve Maya	4°C/15 gün	1,37 azalma	
Hindiba	Mezofilik Toplam Canlı	20°C/13 gün	2,07 azalma	Charles et al., 2005
	Küf ve Maya	20°C/13 gün	1,74 azalma	
	<i>Pseudomonas</i>	20°C/13 gün	Yok	
Havuç	Aerobik toplam canlı	7°C/7 gün	0,44 azalma	Jacxsens et al., 1999
	Laktik asit bakterileri	7°C/7 gün	3,13 artış	
	Maya	7°C/7 gün	0,08 artış	
Iceberg	Aerobik toplam canlı	7°C/6gün	1,12 azalma	Jacxsens et al., 1999
	Laktik asit bakterileri	7°C/4 gün	0,6 artış	
	Maya	7°C/7 gün	1,07 azalma	

Yapılan bir çalışmada Hepatit A virusu inoküle edilmiş marullar modifiye atmosferde paketlenip 12 gün boyunca 4°C’de ve oda sıcaklığında depolanmıştır. % 70 karbondioksit ile paketlenen marullardaki hepatit A virüsü, modifiye atmosferde paketlenmeyen marullara göre daha uzun süre canlılığını srdrmştir. Modifiye atmosferde paketlemenin 4°C’de depolanan marullardaki virüsün canlılığını sürdürmesi üzerine bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Bidawid et al., 2001).

MAP ile paketlenmiş soğukta saklanan sebzelerin halk sağlığı açısından riskleri (Francis et al., 1999)

- MAP ile paketlenen ve düşük sıcaklıklarda saklanan sebzelerde bazı aerobik bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimi engellenebilmektedir. Ancak, doğal rekabetçi florayı oluşturan bu mikroorganizmaların inhibisyonu, bozulma belirtisi göstermeksizin patojen mikroorganizmaların canlılığını sürdürmesine/ üremesine neden olabilmektedir.
- MAP ile paketlenen sebzelerin raf ömrünün uzaması, patojenlerin gelişmesi için yeterli olan süreyi sağlamaktadır. Uzun raf ömrü istenmeyen mikroorganizmaların gelişimine olanak sağlamaktadır.
- Düşük oksijen seviyelerine tolere edebilen psikrotrofik ve fakültatif anaeroblar gelişebilmektedir.
- Paketin içindeki düşük seviyelerdeki oksijen *Cl.botulinum* gibi zorunlu anaerobların gelişimini engellerken, sıcaklığın yükseldiği durumlarda, ürünün solunum hızı artacağı için anaerobik şartlar oluşabilmektedir. Bu

durum, *Cl.botulinum*'un üreyerek toksin oluşturmaya neden olabilmektedir.

MAP ile paketlenen gıdalarda buzdolabı sıcaklıklarında üreyerek toksin oluşturabilen proteolitik olmayan *Cl. botulinum* temel kaygıdır. Lilly et al. (1996) tarafından yapılan bir çalışmada doğranmış ve modifiye atmosferde paketlenmiş sebzelerin % 0,36'sından *Cl.botulinum* izole edilmiştir. Geçmişte MAP ile paketlenen sebzelerden kaynaklanan botulizm vakaları ortaya çıkmıştır. 1970 yılında MAP ile paketlenen taze mantarlarda potansiyel botulizm tehlikesi olduğu belirlenmiştir (Larson et al., 1997). 1987 yılında, Florida'da dört kişide MAP ile paketlenmiş lahanaya salatısından kaynaklanan botulizm ortaya çıkmıştır (Solomon et al., 1990). *Cl. botulinum* sporu inoküle edilen (100 spor/g) marul ve brokoliler MAP ile paketlenildikten sonra 12°C ve 21°C'de depolanmıştır. 21°C'de 6 gün depolanan marullarda altı örneğin ikisinde, 21°C'de 3 gün depolanan brokolilerde altı örneğin tamamında, 12°C'de 9 gün depolanan brokolilerde altı örneğin üçünde botulinum toksini belirlenmiştir (Larson et al., 1997). Diğer bir çalışmada ise MAP ile paketlenen lahanaya 96 spor/g olacak şekilde *Cl.botulinum* inoküle edilmiş ve 22-25°C'de depolanmıştır. Lahana organoleptik açıdan kabul edilebilir olduğu halde 4., 5. ve 6. günlerde toksin oluştuğu tespit edilmiştir (Solomon et al., 1990). Yedikule marullarına ve lahanaya 10⁴ spor/g olacak şekilde *Cl.botulinum* inoküle edilip 4,4°C, 12,7°C ve 21°C'de pasif modifiye atmosferde paketlenmiştir. 21°C'de depolanan marullarda 14 gün, lahanalarda ise yedi gün sonra toksin oluşumu gözlenmiştir (Petran et al., 1995).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Deney kültürleri

Denemelerde kullanılan kültürlerden *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella typhimurium* CCM 583 ve *Salmonella typhimurium* CCM 5445 suşları E.Ü Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından, *Salmonella montevideo* NCTC 5747 ve *Salmonella dublin* NCTC 9676 suşları Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Tip Refik Saydam Kültür Koleksiyonu Laboratuvarından, *Salmonella typhimurium* CDC G8430, *Salmonella typhimurium* CDC H3402, *Salmonella typhimurium* CDC H2662, *Salmonella typhimurium* DT 104 DF/U-S2380 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 suşları USDA-ERRC (United States Department of Agriculture- Eastern Regional Research Center) Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. *Pseudomonas fluorescens* (çürümeye başlamış çilekten izole edilmiştir) ve *Erwinia carotovora* (halka çürüklüğü görünen patates yumrusundan izole edilmiştir) kültürleri Ege Üniversitesi Ziraat Mühendisliği Fitopatoloji Bölümünden, *Saccharomyces cerevisiae* kültürü Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilmiştir. *Salmonella* suşları 50 ppm nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Agar, diğer bakteri kültürleri Tryptone Soya Agar, maya kültürü ise Potato Dextrose Agar besiyerlerinde +4°C'de stok kültür olarak saklanmış olup, kültürler üç ayda bir transfer edilmiştir.

3.1.2 Besiyerleri

Salmonella test kültürlerinin saklanması için 50 ppm nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Agar (TSAN; 30 g Tryptone Soya Broth/l, Oxoid CM 0129; 15 g Agar Bacteriological/l, Oxoid L0011; 0,05 g nalidiksik asit/l, ICN Biomedicals, 190246, pH 7,3) kullanılmıştır. Kültürlerin geliştirilmesinde 50 ppm nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Broth (TSBN; 30 g Tryptone Soya Broth/l, Oxoid CM 0129; 0,05 g nalidiksik asit/l, ICN Biomedicals, 190246, pH 7,3) kullanılmıştır. *Salmonella* türlerinin sayımında nalidiksik asit ve sodyum piruvat içeren Bismuth Sulphide Agar (BSAN; 40 g Bismuth Sulphide Agar/l, Oxoid CM201; 1 g sodium pyruvate/l, Merck, 1.006619.0050; 0,05 g nalidiksik asit/l, ICN Biomedicals, 190246, pH 7,6) kullanılmıştır. Aerobik mezofilik ve psikrofilik bakterilerin sayımında Plate Count Agar (PCA; 17,5 g Plate Count Agar/l, Oxoid CM325, pH 7,0), laktik asit bakterilerinin sayımında MRS Agar (MRS; 52 g MRS Broth/l, Oxoid CM359; 15 g Agar Bacteriological/l, Oxoid L0011, pH 6,2), küf ve maya sayımında ise Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC; 31,5 g/l, Oxoid CM727, pH 5,6) kullanılmış olup, besiyerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır.

3.1.3 Sebze örnekleri

3.1.3.1 Marul örnekleri

Iceberg (göbek salata, atom marul) (*Lactuca sativa var. capitata*), yedikule (*Lactuca sativa var. longifolia*), kıvrıcık (*Lactuca sativa var. crispa*), kırmızı yapraklı (*Lactuca sativa var. crispa* c.v. oak leaf) ve Boston (*Lactuca sativa var. capitata* c.v. Boston) marulları süpermarketten satın alınmış ve buzdolabı koşullarında depolanarak en geç iki gün içinde analize alınmıştır.

3.1.3.2 Domates örnekleri

80 – 110 g ağırlığındaki domatesler (*Lycopersicon lycopersicum* L.) semt pazarından temin edilmiş olup, buzdolabı koşullarında depolanarak en geç iki gün içinde analize alınmıştır.

3.1.4 Antimikrobiyal maddeler

3.1.4.1 Sumak

Sumak (*Rhus coriaria* L.) tohum halinde baharatçıdan (Muslim Alpdoğan ve Oğulları, Gaziantep) temin edilmiştir. Sumak tohumları ilk olarak elekten geçirilerek yaprak, çöp ve diğer yabancı maddeler

uzaklaştırılmıştır. Daha sonra daneler ev tipi mutfak robotu kullanılmak suretiyle öğütülmüş ve 1 mm aralıklı elekten geçirilerek çekirdekleri ayrılmıştır. Elde edilen sumak granülleri ile sumağın su ekstraktı hazırlanmıştır.

3.1.4.2 Oregano

Oregano (*Oreganum onites*) esansiyel yağı Türer Tarım ve Orman Ürünleri İth. İhr. San. A.Ş (İzmir)'den temin edilmiştir. Esansiyel yağ ışık geçirmeyen kahverengi şişelerde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.1.4.3 Ön denemelerde kullanılan baharat esansiyel yağları

Mersin yaprağı (*Myrtus communis*), kişniş (*Coriandrum sativum*), kimyon (*Cuminum cyminum*), rezene (*Foeniculum vulgare*), lavanta (*Lavendula officinalis*), defne yaprağı (*Laurus nobilis*), anason (*Pimpinella anisum*), sütçüler kekiği (*Oreganum minutiflorum*) ve portakal kabuğu (*Citrus sinensis*) yağları Türer Tarım ve Orman Ürünleri İth. İhr. San. A.Ş (İzmir)'den temin edilmiştir. Esansiyel yağlar ışık geçirmeyen kahverengi şişelerde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.1.5 Ambalajlama materyalleri

Iceberg marullarının paketlenmesinde Cryovac® firması tarafından taze ve işlenmiş marulların paketlenmesi için üretilen, PD-961EZ Bag ambalaj materyali kullanılmıştır. Ambalaj materyalinin 22,7°C’de ve % 100 bağıl nemde su buharı geçirgenliğinin 13,95-17,05 g/m²/24 saat, 1 atmosfer basınçta ve 22,7°C’de oksijen geçirgenliğinin 7000 cm³/m²/24 saat, karbondioksit geçirgenliğinin ise 21000 cm³/m²/24 saat olduğu üretici firma tarafından belirtilmiştir.

Domateslerin paketlenmesinde, 1 atmosfer basınçta ve 22,7°C’de oksijen geçirgenliği 7000 cm³/m²/24 saat, karbondioksit geçirgenliği 21000 cm³/m²/24 saat olan alçak yoğunlu polietilen (LDPE) ambalaj materyalleri kullanılmış olup, Bak Ambalaj A.Ş.’den temin edilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Sebzelerin hazırlanması

3.2.1.1 Marulların hazırlanması

Marulların dış, hasarlı ve iç kısmındaki yaprakları uzaklaştırıldıktan sonra, marul yaprakları tek tek çeşme suyu altında yıkanmıştır. Kağıt havlu ile kurulan marullar, steril bıçak yardımıyla yaklaşık 2 x 6 cm boyutlarında kesilmiştir.

3.2.1.2 Domateslerin hazırlanması

Domatesler çeşme suyu altında el ile ovuşturulmak suretiyle yıkandıktan sonra kağıt havlu ile kurulanmıştır. Domatesler bütün halde kullanılmıştır.

3.2.2 Antimikrobiyal maddelerin hazırlanması

3.2.2.1 Sumağın su ekstraktının hazırlanması

Sumak (*Rhus coriaria* L.) tozu steril silindir şeklindeki kapaklı süzgeçlere (uzunluk 6,5 cm, çap 7,5 cm) tartılarak, iki litrelik steril beherlere aktarılmıştır. Üzerine istenilen konsantrasyonu sağlayacak oranda (% 1, % 3, % 4, % 8 ağırlık/hacim) steril destile su ilave edilmiş, 22±2°C’de 30 dakikada bir karıştırılarak üç saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon süresinin sonunda steril süzgeç kağıdı kullanılarak süzölmüş ve steril şişelere aktarılarak buzdolabı koşullarında en fazla bir hafta süreyle depolanmıştır.

3.2.2.2 Oregano-su karışımının hazırlanması

Oregano (*Oreganum onites*) esansiyel yağı mikropipet yardımıyla istenilen konsantrasyonu (100 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 350 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm) sağlayacak şekilde alınarak, 2 litrelik destile

su üzerine ilave edilmiş ve 10 dakika süre ile magnetik karıştırıcı (Cole-Parmer, Model no: 4803-02) ile karıştırıldıktan hemen sonra kullanılmıştır.

3.2.3 *Salmonella* spp.'in nalidiksik aside direnç kazandırılması

Salmonella türleri ilk olarak Tryptone Soya Broth (TSB) besiyerine inoküle edilmiş ve 37°C'de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda hazırlanan kültürden inokulum alınarak Bismuth Sulphide Agar'a (BSA) plak çizme yöntemine göre inoküle edilmiş ve 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilmiştir. BSA'da üreyen tipik kolonilerden (siyah merkezli, etrafında metalik bir parlaklık olan, siyah zonlu koloniler) inokulum alınarak, tüpte bulunan Tryptone Soya Agar (TSA) besiyerine ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda, Gram boyama işlemi uygulanarak kültürün saflığı kontrol edilmiştir. Saf olduğu belirlenen her bir kültür, iki defa TSB besiyerinde geliştirilmiş ve 10 ppm nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Broth (TSBN) besiyerine inoküle edilerek, 10 ppm nalidiksik aside dirençli hale getirilmiştir. 10 ppm nalidiksik asit içeren TSBN besiyerinde gelişen kültürler sırası ile 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm ve 50 ppm nalidiksik asit içeren TSBN besiyerine ekilerek, kademeli olarak nalidiksik aside direnç kazandırılmıştır. 50 ppm nalidiksik aside direnç kazandırılmış kültürler, plak çizme yöntemine göre 50 ppm nalidiksik asit içeren Bismuth Sulphide Agar (BSAN) besiyerine inoküle edilmiş ve 37°C'de 24 saatin sonunda tipik kolonilerden inokulum alınarak, 50 ppm

nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Agar (TSAN) besiyerinde stok kültür hazırlanmıştır.

3.2.4 İnokulum hazırlanması

Antimikrobiyal maddelerin seçilmesi için yapılan ön denemelerde *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas fluorescens* ve *Erwinia carotovora* kültürleri 5 ml Nutrient Broth besiyerine ekilmiş, *Salmonella* kültürü 37°C’de, *P.fluorescens* ve *E.carotovora* kültürleri 20°C’de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* kültürü ise 5 ml Malt Extract Broth besiyerine inoküle edilerek 25°C’de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda kültürlerden uygun dilüsyonlar hazırlanarak denemelerde kullanılmıştır.

50 ppm nalidiksik aside dirençli *S.typhimurium* ATCC 13311 suşunun kullanıldığı denemelerde, kültür 50 ppm nalidiksik asit içeren 5 ml Tryptone Soya Broth (TSB) besiyerine ekilmiş ve 37°C’de 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, kültür aseptik koşullarda santrifuj tüpüne aktarılmış ve 5000 rpm devirde 30 dakika santrifuj (Hettich Rotofix II) edilmiştir. Supernatant uzaklaştırıldıktan sonra hücre peleti 5 ml peptonlu su (% 0.1 w/v) ile iki defa yıkanmıştır. 5 ml peptonlu su ile süspanse edilen kültürden hazırlanan uygun dilüsyondan 100 µl inokulum alınarak, domatesin yüzeyinde veya marulun gramında 3 – 4 logaritmik birim olacak şekilde sebzelere inoküle edilmiştir.

Beş farklı *Salmonella* suşunun kullanıldığı yıkama ve depolama denemelerinde ise, her bir kültür 50 ppm nalidiksik asit içeren TSBN besiyerine ekilmiş ve 18-24 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, her bir kültürden 2 ml alınarak aseptik koşullarda santrifuj tüpüne aktarılmış, 4°C’de 8000 rpm devirde 10 dakika santrifuj (Sorvall, RC 5B) edilmiştir. Supernatant uzaklaştırıldıktan sonra kültür 10 ml peptonlu su (% 0,1) ile iki defa yıkanmıştır. Kültür karışımından uygun dilüsyonlar hazırlanarak sebzenin gramında 6 – 7 logaritmik birim olacak şekilde sebzelere inoküle edilmiştir.

3.2.5 Sebzelere inokülasyon yönteminin ve besiyerinin belirlenmesi

3.2.5.1 Daldırma yöntemi

Iceberg ve yedikule marulları 10’ar gram tartılmış ve 2 litrelik beherde bulunan 500 ml *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 kültür süspansiyonuna (10^4 kob/ml) daldırılarak bir dakika süreyle bekletilmiştir. Daldırma süresinin sonunda marullar steril tel süzgeç yardımıyla alınarak, 500 ml hacmindeki steril cam kavanozlara aktarılmıştır. Kavanozlar kapağı yarı açık olacak şekilde inkübatöre yerleştirilmiş ve 22°C’de 2 saatlik sürenin sonunda, 4°C’de 22 saat bekletilmek suretiyle mikroorganizmaların marul yüzeylerine tutunması sağlanmıştır (Lang et al., 2004b).

3.2.5.2 Spot inokülasyon yöntemi

Iceberg ve yedikule marulları hazırlandıktan sonra 10 gram tartılmış ve steril cam kavanozlara aktarılmıştır. Altbölüm 3.2.4'te belirtildiği gibi hazırlanan *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 kültürünün uygun dilüsyonundan 100 µl inokulum alınmış ve marul yüzeylerine 10-15 damla olacak şekilde spot inokülasyon yöntemi kullanılarak inoküle edilmiştir. Kavanozlar kapağı yarı açık olacak şekilde inkübatöre yerleştirilmiş ve 22°C'de 2 saatlik sürenin sonunda, 4°C'de 22 saat bekletilmek suretiyle mikroorganizmaların marul yüzeylerine tutunması sağlanmıştır (Lang et al., 2004b).

Spot ve daldırma yöntemleri ile inoküle edilen iceberg ve yedikule marulları tutundurma sürelerinin sonunda, inokülasyon yöntemini ve denemelerde kullanılacak besiyerini belirlemek amacıyla analize alınmıştır. Çizelge 3.1'de gösterilen deneme planına göre hazırlanan örneklerden, uygun dilüsyonlar hazırlanarak 50 ppm nalidiksik asit içeren TSAN ve BSAN besiyerlerine 0,1 ml inokulum alınarak, plak yayma yöntemine göre ekim yapılmıştır.

Çizelge 3.1 Marul türlerinin, inokülasyon metodunun ve besiyerinin belirlenmesi için uygulanan deneme planı.

Sebze	İnokülasyon yöntemi	Besiyeri	
		TSAN	BSAN
Yedikule marulu	Daldırma	√	√
	Spot	√	√
Iceberg marulu	Daldırma	√	√
	Spot	√	√

3.2.6 Antimikrobiyal maddelerin seçimi için yapılan ön denemeler

Baharat ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia carotovora* ve *Saccharomyces cerevisiae* kültürleri kullanılmıştır. Ön denemelerde kullanılan baharatlar; mersin yaprağı (*Myrtus communis*), kişniş (*Coriandrum sativum*), kimyon (*Cuminum cyminum*), rezene (*Foeniculum vulgare*), lavanta (*Lavendula officinalis*), defne yaprağı (*Laurus nobilis*), anason (*Pimpinella anisum*), sütçüler kekiği (*Oreganum minutiflorum*), Türk kekiği (*Oreganum onites*), sumak (*Rhus coriaria*) ve portakal kabuğu (*Citrus sinensis*) yağı olmak üzere 11 ekstraktın antimikrobiyal etkisi belirlenerek tez çalışmasında kullanılacak baharatların seçimi yapılmıştır. Baharat ekstraktlarının etkinliğini belirlemek amacıyla, baharatın cinsine göre, 50 ppm ve % 10 aralığında farklı konsantrasyonlar denenmiş olup, ekstraktlar doğrudan besiyerine ilave edilmek suretiyle kullanılmıştır. İlk olarak her bir baharat için 100

ve 500 ppm konsantrasyonlardaki etki belirlenmiştir. Bu amaçla Altbölüm 3.2.4'te belirtildiği gibi *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 kültürü hazırlandıktan sonra, uygun dilüsyondan 1 ml inokulum alınarak 100 ppm ve 500 ppm baharat ekstraktı içeren Nutrient Agar petrilere dökme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda petrilere sayım alınarak her bir esansiyel yağın antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. 100 ve 500 ppm baharat konsantrasyonlarındaki elde edilen sonuçlara göre, her bir baharat için seçilen uygun konsantrasyonlarda (baharatın etkinliğine göre 50 ppm ve % 10 aralığında) *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas fluorescens*, *Erwinia carotovora* ve *Saccharomyces cerevisiae* kültürleri ile denemeler yapılmıştır. Baharat ekstraktlarının farklı sıcaklık ve temas sürelerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla, 10^3 kob/ml olacak şekilde hazırlanan kültürün uygun dilüsyonundan 1 ml alınarak, seçilen konsantrasyonda baharat ekstraktı içeren 9 ml Nutrient Broth (*S.cerevisiae* kültürü için Malt Extract Broth) besiyerine aktarılmış, 10°C ve 20°C'de 15, 30 ve 60 dakika bekletilmiştir. Belirtilen temas sürelerinin sonunda 1 ml inokulum alınarak Nutrient Agar (*S.cerevisiae* kültürü için Malt Extract Agar) petrilere dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve mikroorganizmanın geliştiği optimum sıcaklıkta 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda baharat ekstraktı içermeyen (kontrol) ve baharat ekstraktı içeren denemelerden elde edilen sayılar karşılaştırılmış ve mikroorganizma sayısındaki azalmalar tespit edilerek tez çalışmasında kullanılan baharatların seçimi yapılmıştır.

3.2.7 Antimikrobiyal maddelerin sebzelere inoküle edilmiş *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine etkisinin belirlenmesi

Suyu uzaklaştırılmış iceberg marulları 2 x 6 cm boyutunda kesildikten sonra 10 g'lık porsiyonlara ayrılmış ve steril cam kavanozlara aktarılmıştır. Domatesler ise bütün olarak sap kısımları üstte kalacak şekilde steril cam kavanozlara (500 ml) birer adet yerleştirilmiştir. Hazırlanan kültürün (Altbölüm 3.2.4) uygun dilüsyonundan 100 µl inokulum alınmış ve sebze yüzeylerine 10-15 damla olacak şekilde spot inokülasyon yöntemi kullanılarak inoküle edilmiştir.

İnokülasyon yapılmış iceberg marullarının ve domateslerin bulunduğu kavanozlar kapağı yarı açık olacak şekilde inkübatöre yerleştirilmiş ve 22°C'de 2 saatlik sürenin sonunda, 4°C'de 22 saat bekletilmek suretiyle mikroorganizmaların sebze yüzeylerine tutunması sağlanmıştır (Lang et al., 2004a,b). Toplam 24 saatlik tutundurma süresinin sonunda sebzeler steril destile su (kontrol), 50 ppm klorlu su, üç farklı konsantrasyondaki oregano yağı ve sumak ekstraktı ile 20°C'de iki farklı şekilde ve dört farklı süre ile yıkanmıştır:

İşlem 1: 200 ml baharat ekstraktı ile 5, 10, 15 ve 20 dakika yıkama

İşlem 2: 200 ml baharat ekstraktı ile 5, 10, 15 ve 20 dakika yıkama işleminden sonra, 1 dakika süreyle 200 ml steril destile su ile durulama

Dezenfeksiyon işlemlerinden sonra sebzeler steril maşa ile alınıp fazla suları süzildükten sonra, stomacher poşetine aktarılmış ve Altbölüm 3.2.14.1’de belirtildiği gibi *Salmonella* sayımı yapılmıştır. Yıkama işlemi öncesi sebzelerde bulunan *Salmonella* sayısını belirlemek amacı ile yıkama işlemi uygulanmamış sebzelerde de *Salmonella* sayımı yapılmıştır. Ayrıca, dezenfeksiyon işlemi sonrasında dezenfeksiyon sıvısında kalan *Salmonella* sayısı da belirlenmiştir.

3.2.8 Oregano ve sumanın etkin konsantrasyonunun belirlenmesi

Altbölüm 3.2.11.1’de belirtildiği şekilde iceberg marullarına *Salmonella* spp. inoküle edilmiştir. Marullar Çizelge 3.2’de belirtilen konsantrasyon ve sürelerde oregano ve sumak ile yıkanarak *Salmonella* spp. sayısındaki azalma ve uygulanan yıkama işlemlerinin marul dokuları üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çizelge 3.2 Oregano ve sumanın marullara inoküle edilmiş *Salmonella* spp. üzerindeki etkin konsantrasyonun belirlenmesi için uygulanan deneme planı.

Antimikrobiyal madde konsantrasyonu	Yıkama süreleri (dakika)			
	1	5	7	10
100 ppm oregano				√
200 ppm oregano				√
250 ppm oregano	√	√		
350 ppm oregano		√	√	√
500 ppm oregano	√	√	√	√
750 ppm oregano	√	√		
1000 ppm oregano	√	√		√
% 8 sumak				√
350 ppm oregano + %4 sumak		√	√	√

3.2.9 Iceberg maruluna inoküle edilmiş *Salmonella* spp.'in tutundurma yöntemlerinin karşılaştırılması

Doğranmış iceberg marulu içeren tepsiler laminar akışlı inokülasyon kabinine (Class IIA/B3 Biological Safety Cabinet, Forma Scientific) yerleştirilmiş ve hazırlanan kültürün uygun dilüsyonundan (Altbölüm 3.2.4) alınarak marul yüzeyine spot inokülasyon yapılmıştır. Spot inokülasyon mikropipet ile yapılmış olup, her 100 µl inokulum 10-15 ayrı yüzeye inoküle edildikten sonra steril pens ile homojen bir karışım elde edilmiştir. Marullar 22±2°C sıcaklıkta inokülasyon kabininde hava akımı açık ve kapalı olmak üzere Çizelge 3.3'te belirtilen

deneme planına göre iki farklı şekilde ve dört farklı süre ile bekletildikten sonra 500 ppm oregano içeren steril destile su ile 1, 5 ve 10 dakika yıkanarak *Salmonella* spp. sayısındaki değişim ve marul dokusundaki farklılıklar incelenmiştir.

Çizelge 3.3 Iceberg marullarına inoküle edilmiş *Salmonella* spp.'in tutundurma yöntemlerinin karşılaştırılması için uygulanan deneme planı.

Tutundurma şekli	Tutundurma süresi	500 ppm oregano ile dezenfeksiyon süresi		
		1 dakika	5 dakika	10 dakika
Hava akımı açık	0 dakika 15 dakika 30 dakika 60 dakika 120 dakika			
Hava akımı kapalı	0 dakika 30 dakika 60 dakika 120 dakika			

3.2.10 Antimikrobiyal maddelerin farklı marul türleri üzerindeki etkisinin araştırılması

Antimikrobiyal maddelerin yedikule, kıvrırcık, kırmızı yapraklı ve Boston marul türleri üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla yapılan bu denemelerde Altbölüm 3.2.11.1'de belirtildiği şekilde marullara *Salmonella* spp. inoküle edilmiştir. İnokülasyon kabiniinde $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakikalık tutundurma süresinin sonunda marullar 350 ppm oregano ve 350 ppm oregano - % 4 sumak karışımı ile 1, 5 ve 10 dakika yıkanmış ve

Salmonella spp. sayısındaki azalma tespit edilmiştir. Antimikrobiyal maddelerin marul dokularına etkisini araştırmak amacıyla antimikrobiyal maddeler ile yıkanan marullar görsel olarak incelenerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Bu denemeler bir tekerrür ve iki paralelli olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.11 Depolama işlemleri uygulanacak sebzelere *Salmonella* spp. inokülasyonu

350 g doğranmış iceberg marulu içeren tepsiler laminar akışlı inokülasyon kabine (Class IIA/B3 Biological Safety Cabinet, Forma Scientific) yerleştirilmiştir. Hazırlanan dilüsyondan (Altbölüm 3.2.4) 3500 µl alınarak marul yüzeyine spot inokülasyon yapılmıştır. Spot inokülasyon mikropipet ile yapılmış olup, her 100 µl inokulum 10-15 ayrı yüzeye inoküle edildikten sonra steril pens ile homojen bir karışım elde edilmiştir. Marullar 22±2°C sıcaklıkta inokülasyon kabinde 2 saat bekletilerek, mikroorganizmaların marul yüzeylerine tutunması sağlanmıştır (Lang et al., 2004b).

Domatesler, sap kısımları üste gelecek şekilde inokülasyon kabine yerleştirilmiştir. Hazırlanan kültürün (Altbölüm 3.2.4) uygun dilüsyonundan 100 µl alınarak, her bir domatesin yüzeyine ve sapının çıktığı kısma 10-15 damla inokulum aktarılmıştır. İnokülasyon kabini çalıştırılmış ve oda sıcaklığında 2 saat bekletilerek mikroorganizmaların domates yüzeylerine tutunması sağlanmıştır.

3.2.12 Depolanacak sebzelere antimikrobiyal madde uygulanması

3.2.12.1 Marullara antimikrobiyal madde uygulanması

350 g iceberg marulu 4 litre hacmindeki steril behere aktarılmış ve üzerine 3 litre yıkama solüsyonu (destile su, sumak su ekstraktı veya oregano) ilave edilerek 10 dakika süre ile $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. 10 dakikanın sonunda marullar alınarak 3 litre steril destile su içeren behere aktarılmış ve bir dakika durulanmıştır. Durulanan marulların üzerindeki su, döner tip sebze kurutucusu kullanılarak uzaklaştırılmıştır.

3.2.12.2 Domateslere antimikrobiyal madde uygulanması

Domatesler içerisinde steril plastik süzgeç (36 x 25 x 10 cm boyutunda, 0,5 cm delik çaplı) bulunan paslanmaz çelik küvete (45 x 30 x 13 cm) aktarılmıştır. Çelik küvetteki domateslerin üzerine 4 litre yıkama solüsyonu (destile su, sumak su ekstraktı veya oregano) ilave edildikten sonra çalkalamalı su banyosunda düşük hızda 10 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda domateslerin bulunduğu plastik süzgeç alınarak, 4 litre steril destile su bulunan küvete konulmuş ve bir dakika bekletilmek suretiyle durulanmıştır. Durulama işleminden sonra süzgeç çelik küvetten çıkarılmış ve suyu süzildikten sonra, domatesler steril maşa ile alınarak steril kağıt havluların (82°C 'de 18-20 saat) üzerine

yerleştirilmiş ve inokulasyon kabininde yzeyindeki su tamamen uzaklaşıncaya kadar (yaklaşık 1- 1,5 saat) bekletilmiştir.

3.2.13 Sebzelerin paketlenmesi ve depolanması

3.2.13.1 Iceberg Marulları

Antimikrobiyal madde uygulanmış veya uygulanmamış (kontrol, steril destile su) marullar 15x15 cm boyutundaki PD-961 EZ (Cryovac®) tipi poşetlere 30 g tartılarak impuls kapatıcı (Impulse Sealer, type:AIE-300, American Int'nl Electronic) kullanılmak suretiyle kapatılmıştır. Paketlenmemiş koşullar ise 16,5x14 cm boyutlarındaki sekiz delik aılmış (0,6 cm çaplı) plastik poşetler (Ziploc, S.C Johnson & Son, Inc.) kullanılarak sağlanmıştır. Modifiye atmosferde ve açık koşullarda paketlenen marullar 4°C ve 10°C'de 10 gün süre ile depolanmıştır.

3.2.13.2 Domatesler

Antimikrobiyal madde uygulanmış veya uygulanmamış (kontrol, steril destile su) domatesler 15x15 cm boyutundaki alçak yoğunlu polietilen (LDPE, 50 m kalınlığında, Bak Ambalaj) paketlerde paketlenmiş ve ısı uygulaması ile kapatılmak suretiyle pasif modifiye atmosferde paketlenmiştir. Paketlenmemiş koşullar ise 15x18 cm boyutlarındaki sekiz delik (0,6 cm çaplı) aılmış kilitli plastik poşetler (Tesko Kipa Kitle Pazarlama Tic. ve Gıda San. A.ř.) kullanılarak

sağlanmıştır. Modifiye atmosferde ve açık koşullarda paketlenen domatesler 4°C ve 10°C’de 10 gün süreyle depolanmıştır.

3.2.14 Mikrobiyolojik analizler

Her bir denemede inokülasyon öncesi kültürde bulunan *Salmonella* spp. sayısı belirlenmiştir. Antimikrobiyal maddelerin *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 üzerine farklı sürelerdeki etkisinin araştırıldığı denemelerde sebzelerde inokülasyon öncesi, dezenfeksiyon öncesi, dezenfeksiyon sonrası ve dezenfeksiyon sıvısında *Salmonella* spp. sayımı yapılmıştır. Antimikrobiyal maddelerle yıkandıktan sonra modifiye atmosferde veya açık ortamda paketlenerek 4°C ve 10°C’de depolanan sebzelerde yıkama öncesinde ve depolama süresince belirli aralıklarla (0., 1., 3., 7. ve 10. günlerde) *Salmonella* spp. analizleri yapılmıştır. Sebzelerin doğal mikroflorasındaki değişimin belirlenmesi için dezenfeksiyon öncesi ve depolama süresi boyunca (0., 1., 3., 7. ve 10. günlerde) sebzelerde bulunan aerobik mezofilik toplam canlı, aerobik psikrotrofik toplam canlı, laktik asit bakterileri, küf ve maya analizleri yapılmıştır.

3.2.14.1 Salmonella spp. sayımı

10 g marul Stomacher 400 poşetlerine tartılmış ve üzerine 90 ml steril peptonlu su (% 0,1) (Bacteriological Peptone, Oxoid LP037) ilave

edilmiştir. Örnekler bir dakika süre ile normal hızda (260 rpm) stomacher (Stomacher 400 Circulator, Seward) ile homojenize edilmiştir.

Domates stomacher poşetine konulduktan sonra üzerine 90 ml steril peptonlu su (% 0,1) ilave edilmiş ve iki dakika süreyle el ile ovuşturarak yüzeydeki mikroorganizmaların dilüsyon sıvısına geçmesi sağlanmıştır.

Homojenatlardan uygun dilüsyonlar hazırlanarak 50 ppm nalidiksik asit ve % 0,1 oranında sodyum piruvat içeren Bismuth Sulphite Agara yayma plak yöntemiyle ekimler yapılmıştır. 37°C’de 24-48 saatin sonunda petrilere sayım alınarak marulun gramındaki veya domatesin yüzeyindeki *Salmonella* spp. sayısı hesaplanmıştır (Lang et al., 2004 a,b).

3.2.14.2 Laktik asit bakterilerinin sayımı

Sebzelere uygulanan işlemlerden sonra hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml alınarak MRS Agar’a çift tabakalı ekim yapılmıştır. 30°C’de 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda sayım alınmış ve domatesin yüzeyindeki laktik asit bakterileri sayılmıştır (Simon et al., 2004).

3.2.14.3 Aerobik mezofilik bakteri sayımı

Hazırlanan homojenatlardan uygun dilüsyonlar hazırlandıktan sonra Plate Count Agar kullanılarak dökme plak yöntemi ile ekimler yapılmış ve petrilere 30°C’de 48 saat inkübe edilmiştir (Gleeson and O’Beirne, 2005).

3.2.14.4 Aerobik psikrotrofik bakteri sayımı

Plate Count Agar kullanılarak dökme plak yöntemi ile ekimler yapılmış ve petriler 7°C'de 10 gün inkübe edilmiştir (Harrigan, 1998).

3.2.14.5 Küf ve maya sayımı

Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) kullanılarak yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve 25 °C'de 5 gün inkübe edilmiştir (Tournas et al., 1998).

3.2.15 Gaz analizleri

Depolama süresince karbondioksit ve oksijen oranlarının belirlenmesi için, 4°C ve 10°C'de depolanan ve patojen içermeyen marul örneklerinde, depolamanın 1., 3., 7. ve 10. günlerinde gaz analizleri yapılmıştır. Paket atmosferinden hava geçirmeyen steril enjektör ile 0,5 ml örnek alınarak gaz kromatografisinde (Series 580, Gow-Mac Instruments, Bridgewater, N.J.) analiz edilmiştir. Gaz kromatografisi cihazında 183 cm'lik CTR I kolonu (Alltech Associates, Inc., Deerfield, Ill) ve termal kondaktivite dedektörü kullanılmıştır. CTR I kolonunun dışında 0,64 cm iç çaplı aktif moleküler elek, 0,32 cm iç çaplı iç kolonda ise poröz polimer karışımı bulunmaktadır. Enjektör, fırın ve detektör sıcaklıkları oda sıcaklığı koşullarında (23°C) tutulmuştur. Helyum

taşıyıcı gaz olarak kullanılmış olup, akış hızı 120 ml/dakika olarak ayarlanmıştır (Fan et al., 2005).

3.2.16 İstatistiksel analizler

Bütün denemeler iki paralelli ve üç tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS Windows paket programı (SPSS 14.0 for Windows Evaluation Version; SPSS Inc., Chicago, Ill) ile yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılık ANOVA varyans analizi ile belirlenmiş, Post Hoc yöntem olarak LSD (Least Significant Difference) testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Mikroorganizmaların Sebzelere İnokülasyon Yönteminin, Besiyerinin ve Marul Türlerinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında kullanılacak inokülasyon yönteminin, marul türünün ve *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 sayımında kullanılacak besiyerinin belirlenmesi için yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı inokülasyon yöntemleri ile iki farklı besiyerinde marullara tutunan *S.typhimurium* ATCC 13311 sayılarının belirlenmesi.

Marul türü	İnokülasyon yöntemi	<i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 sayısı ¹ (log kob/g)	
		TSAN ²	BSAN ³
Yedikule	Daldırma	3,61 (0,09)a	3,35 (0,18)a
	Spot	3,52 (0,62)a	3,50 (0,62)a
Iceberg	Daldırma	3,39 (0,27)a	3,36 (0,51)a
	Spot	4,07 (0,11)a	3,72 (0,18)a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² TSAN, 50 ppm nalidiksik asit içeren Tryptone Soya Agar

³ BSAN, 50 ppm nalidiksik asit içeren Bismuth Sulphide Agar

Mikroorganizmaların zenginleştirici besiyerinden, seçici veya seçici olmayan besiyerinden geri kazanımında suşların işaretlenmesi önemli olup, Gram negatif patojenlerin 50 ppm nalidiksik aside adapte edilmesi gerektiği ifade edilmektedir (Beuchat et al., 2001a). Bu nedenle, *S.typhimurium* ATCC 13311 kültürü, 50 ppm nalidiksik aside direnç kazandırıldıktan sonra denemelerde kullanılmıştır. Besiyerine ilave edilen nalidiksik asit ile ürünlerin doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmaların gelişimi inhibe edilmiş ve inoküle edilen nalidiksik aside dirençli suşların sayılmasına olanak sağlanmıştır.

Mikroorganizmaların meyve ve sebzelere inokülasyonunda daldırma, spot ve püskürtme yöntemleri kullanılmaktadır (Beuchat et al., 2001a). Püskürtme yönteminde mikroorganizmaların çevreye kontaminasyon riskinin daha yüksek olması nedeniyle, inokülasyon yönteminin belirlendiği bu denemelerde, spot ve daldırma yöntemleri karşılaştırılmıştır. Spot inokülasyon denemelerinde ortalama 4,23 log kob/g düzeyinde olacak şekilde mikroorganizmalar marul yüzeylerine inoküle edilmiştir. Daldırma yönteminde ise 4,23 log kob/ml düzeyinde mikroorganizma içeren 500 ml peptonlu su içerisine 10 g marul örneği aktarılıp, bir dakika bekletilmek suretiyle inoküle edilmiştir. Yapılan denemelerde spot ve daldırma yöntemleri ile marul yüzeylerine tutunan *S.typhimurium* sayıları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Spot inokülasyon yönteminde istenilen sayıda mikroorganizma inoküle edilebildiği için, yapılan denemelerde spot inokülasyon yöntemi kullanılmıştır. Lang et al. (2004b) yaptıkları çalışmada, daldırma metoduyla karşılaştırıldığında, spot inokülasyon

yönteminde elde edilen verilerin birbirleriyle daha uyumlu olduğunu ortaya koymuşlardır. Spot inokülasyon yöntemi ile belirli sayıdaki mikroorganizma ürün üzerine inoküle edilebilmekte, kurutma ve ön işlemler sırasında canlı hücre sayısındaki azalma kesin bir şekilde tespit edilebilmektedir (Beuchat et al., 2001b). Spot inokülasyon yöntemi, topraktan, işçilerin ellerinden veya ekipman yüzeylerinden temas gibi nokta kaynaktan bulaşmayı temsil etmektedir (Beuchat et al., 2001a).

Yapılan bu tez çalışmasında, spot inokülasyon yöntemiyle 4,23 log kob/g düzeyinde marullara inoküle edilen *S.typhimurium* hücrelerinin yüzeylere tutunması için 22°C'de 2 saat ve ardından 4°C'de 22 saat süreyle bekletilmesi sonucunda, hücre sayısında 0,16 - 0,73 logaritmik birim azalma olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada da benzer olarak, domates ve marullara inoküle edilen *Salmonella* hücrelerinin inokülasyon ve analiz aşamalarında geçen 15 dakikalık süre içerisinde domateslerde 0,96 logaritmik birim, marullarda ise 0,54 logaritmik birim hücrenin inaktif hale geldiği veya geri kazanılmadığı bildirilmiştir (Weissinger et al., 2000). Yapılan diğer çalışmalarda ise tutundurma periyodunda daha fazla mikroorganizmanın inaktif hale geldiği belirtilmektedir. Beuchat et al. (2001b) tarafından yapılan bir çalışmada, altı farklı *Salmonella* suşu karışımı 6,59 log kob/domates düzeyinde olacak şekilde domateslere spot inokülasyon yöntemi ile inoküle edilip, mikroorganizmaların domates yüzeyine tutunması için 22°C'de bekletildiğinde, domates yüzeyindeki *Salmonella* spp. sayısı 40 dakikada 1,04 log, 3 saatte 3,50 log, 24 saatte ise 3,63 log azalmıştır. Domateslere 7,21 log kob/domates düzeyinde spot inokülasyon yöntemi ile inoküle

edilen *E.coli* O157:H7 sayısında 1 saatlik kurutma sonrasında sayı 1,07 log, 24 saatlik kurutma sonrasında ise 3,17 log kob/domates düzeyinde azalma görülmüştür. Aynı çalışmada, *Salmonella* spp. inoküle edilen domateslerde (7,22 log kob/domates) 1 saat ve 24 saat sonra sayılarda sırasıyla 0,80 ve 2,20 log kob/domates düzeyinde azalma belirlenmiştir (Lang et al., 2004a). Domates yüzeylerine inoküle edilen *S.Montevideo*'nun tutundurma periyodunda yaklaşık 1 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir (Lin et al., 2000). Yapılan çalışmalarda, tutundurma periyodunda bu tez çalışması ile karşılaştırıldığında, inoküle edilen mikroorganizmaların daha fazla azaldığı görülmekle birlikte, inoküle edilen mikroorganizma sayılarının da farklı olduğu dikkati çekmektedir. Bu tez çalışmasında inokulum dozunun daha düşük olması nedeniyle, daha fazla mikroorganizmanın yüzeylere tutunduğu tespit edilmiştir. Iturriaga et al. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada yüksek inokulum (7,95 log kob/domates) dozları ile karşılaştırıldığında düşük inokulum (4,95 log kob/domates) dozlarında daha fazla hücrenin domates yüzeylerine tutunduğu ortaya konmuştur. Mikroorganizmaların yüzeylere tutunmasındaki farklılıklar, mikroorganizmaların yüzey özelliklerinin ve mikroorganizmaların tutunacağı yüzeylerin farklılığından da kaynaklanabilmektedir. Dört farklı mikroorganizmanın marul yüzeyine ve marulun kesilmiş kenarına tutunmasının karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157:H7'nin kesilmiş yüzeylere daha fazla tutunduğu, *Salmonella typhimurium*'un her iki yüzeye de eşit oranda tutunduğu, *Pseudomonas fluorescens*'in kesilmemiş yüzeylere daha fazla tutunduğu tespit edilmiştir (Takeuchi et al., 2000).

Denemelerde kullanılacak besiyerinin belirlenmesi için seçici olmayan besiyerlerinden TSAN ve *Salmonella* spp. için seçici ve ayırt edici besiyerlerinden BSAN ile yapılan denemelerde, iki besiyerinde de sayılabilen *S.typhimurium* sayıları arasında istatistiksel olarak bir farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Beuchat et al. (2001b) tarafından yapılan bir çalışmada ise, TSAPN (Triptik Soy Agar, % 0,1 purivik asit, 50 ppm nalidiksik asit) ve BSAN (Bismuth Sulphide Agar, 50 ppm nalidiksik asit) besiyerlerine ekim yapıldığında, BSAN besiyerindeki *Salmonella* spp. sayıları ortalama 0,4 logaritmik birim daha az çıkmış ve besiyerlerindeki mikroorganizma sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu durum araştırmacılar tarafından, bazı *Salmonella* spp. hücrelerinin zarar görmesi veya BSAN'de bulunan seçici ajanlar nedeniyle üreyemediği şeklinde yorumlanmıştır. Yapılan bu tez çalışmasında da yine benzer sonuç elde edilmiş olup, TSAN besiyerinde üreyen mikroorganizma sayıları, BSAN besiyerinde üreyenlere göre daha yüksek bulunmuştur. BSAN besiyerinde tipik *Salmonella* spp. kolonilerinin dışında bazı kolonilerin gelişmesi, sebzenin doğal mikroflorasındaki bazı mikroorganizmaların nalidiksik aside direnç kazanabildiğini göstermektedir. Dolayısı ile doğal mikroflorada bulunan bazı mikroorganizmaların nalidiksik aside direnç kazanarak, selektif ajan içermeyen TSAN besiyerinde rahat üreyebilmesi sonucunda, TSAN'de üreyen koloni sayısının daha yüksek çıkmasına neden olabilir. Bu nedenle, bu tez çalışmasında *Salmonella* spp. sayılarının belirlenmesinde BSAN besiyeri kullanılmıştır. Sodyum piruvatın zarar görmüş hücrelerin geri kazanımını sağladığı tespit edilmesi nedeniyle (Lang et al., 2004b),

yapılan bu çalışmada, baharat ekstraktlarının kullanıldığı denemelerde BSAN besiyerine % 0,1 oranında sodyum piruvat ilave edilmiştir.

Analizlerde kullanılacak marul türünün belirlenmesi amacıyla yapılan bu denemede, yedikule ve iceberg marulları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, iki marul türüne de tutunan *S.typhimurium* sayıları arasında fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Yapılan denemelerde iki marul türü arasında fark bulunmadığı için, tek marul çeşidiyle denemelere devam edilmesine ve marketlerde satılan paketlenmiş salatalarda daha çok iceberg marulu bulunması nedeniyle, yapılacak denemelerde iceberg marullarının kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2 Antimikrobiyal Maddelerin Seçilmesi

Mersin yaprağı (*Myrtus communis*), kişniş (*Coriandrum sativum*), kimyon (*Cuminum cyminum*), rezene (*Foeniculum vulgare*), lavanta (*Lavendula officinalis*), defne yaprağı (*Laurus nobilis*), anason (*Pimpinella anisum*), oregano (I) (*Oreganum minutiflorum*), oregano (II) (*Oreganum onites*), portakal kabuğu (*Citrus sinensis*) yağları ve sumak su ekstraktı (*Rhus coriaria*) olmak üzere 11 ekstraktın besiyerindeki antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılacak baharatların seçimi için ilk olarak *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 kültürü kullanılmış olup, elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2’de görülmektedir.

Çizelge 4.2 Baharat ekstraktlarının besiyerindeki *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine antimikrobiyal etkisi.

Ekstrakt	Sıcaklık	Konsantrasyon	<i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 sayısındaki azalma (log kob/ml)		
			Uygulama süresi (dakika)		
			15	30	60
Portakal kabuğu	20°C	100 ppm	0,075	0,31	0,24
		1000 ppm	0,17	0,19	0,14
		10000 ppm	0,15	0,14	0,28
	10°C	1000 ppm	0,38	0,25	0,12
		10000 ppm	0,12	0,22	0,39
Mersin yaprağı	20°C	100 ppm	0,20	0,30	0,73
		1000 ppm	0,77	1,05	1,43
	10°C	1000 ppm	0,74	1,54	2,10
Kişniş	20°C	100 ppm	0,73	0,72	1,05
		1000 ppm	>3,00	>3,00	>3,00
	10°C	1000 ppm	1,60	>3,00	>3,00
Kimyon	20°C	100 ppm	1,39	2,28	2,80
		200 ppm	>3,00	>3,00	>3,00
	10°C	200 ppm	2,70	2,70	>3,00
Rezene	20°C	100 ppm	0,39	0,46	0,68
		1000 ppm	1,23	1,55	1,72
	10°C	1000 ppm	0,40	0,44	0,58
Defne	20°C	100 ppm	0,00	0,00	0,00
Anason	20°C	100 ppm	0,00	0,00	0,00

Çizelge 4.2 Baharat ekstraktlarının besiyerindeki *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine antimikrobiyal etkisi (Devam ediyor).

Ekstrakt	Sıcaklık	Konsantrasyon	<i>S.typhimurium</i> ATCC 13311 sayısındaki azalma (log kob/ml)		
			Uygulama süresi (dakika)		
			15	30	60
OreganoI ¹	20°C	50 ppm	>3,29	>3,29	>3,29
		100 ppm	>3,29	>3,29	>3,29
	10°C	50 ppm	>3,00	>3,00	>3,00
OreganoII ²	20°C	50 ppm	>3,29	>3,29	>3,29
		100 ppm	>3,29	>3,29	>3,29
	10°C	50 ppm	>3,00	>3,00	>3,00
Sumak	20°C	% 5	0,59	1,28	1,98
		% 10	>3,00	3,00	>3,00
	10°C	% 10	3,00	>3,00	>3,00

¹ *Oreganum minutiflorum*

² *Oreganum onites*

100 ppm defne veya anason ekstraktlarının 60 dakika süreyle *S.typhimurium* üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Mersin yaprağı yağı 10°C’de 1000 ppm konsantrasyonda 60 dakikada mikroorganizma sayısında 2,1 logaritmik birim, rezene ise 1000 ppm’de 20°C’de mikroorganizma sayısında 1,72 log kob/ml düzeyinde azalma sağlamıştır. Kişniş, kimyon, oregano ve sumak ekstraktları ise 3 logaritmik birimden daha fazla azalmaya neden olmuşlardır.

Dezenfektanların patojen popülasyonunda en az 2 logaritmik birim azalma sağlaması gerektiği ifade edilmektedir (Beuchat et al., 2001b). Bu nedenle, besiyerindeki antimikrobiyal etkinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre, *S.typhimurium* için 2 logaritmik birimden daha fazla azalma sağlayan mersin yaprağı, kişniş, kimyon, oregano yağları ve sumak ekstraktı etkin antimikrobiyal madde olarak kabul edilmiştir. Denenen iki farklı oregano türü içerisinde ise aralarında antimikrobiyal etki açısından fark olmadığı için, Türk kekiği olarak bilinen *Oreganum onites* ile denemelere devam edilmiştir. İkinci aşamada, seçilen bu ekstraktların meyve ve sebzelerin bozulma florasında bulunan bakterilerden *Pseudomonas fluorescens* (Çizelge 4.3) ve *Erwinia carotovora* (Çizelge 4.4) üzerine antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir.

Çizelge 4.3 Baharat ekstraktlarının 20°C’de besiyerindeki *Pseudomonas fluorescens* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Ekstrakt	Konsantrasyon	<i>P.fluorescens</i> sayısındaki azalma (log kob/ml)		
		Uygulama süresi (dakika)		
		15	30	60
Portakal kabuğu	10000 ppm	0,00	0,00	0,00
Mersin yaprağı	1000 ppm	1,50	1,95	2,5
Kişniş	1000ppm	2,70	2,50	>3,00
Kimyon	200 ppm	2,70	2,70	>3,00
Oregano	50 ppm	2,22	>3,00	>3,00
Sumak	% 10	>3,00	>3,00	>3,00

Mersin yaprağı yağının 20°C’de 60 dakikada 1000 ppm konsantrasyonda, *P.fluorescens* sayısında 2,5 logaritmik birim, *E.carotovora* sayısında ise 3 logaritmik birimden daha fazla azalma sağladığı tespit edilmiştir. Denenmiş olan üç bakteri için kimyon, kişniş, oregano ve sumanın mikroorganizma sayılarını 3 logaritmik birimden daha fazla azalttığı belirlenmiştir. Mikroorganizma sayısında 2 ve 2 logaritmik birimden daha fazla azalmaya neden olan mersin yaprağı, kişniş, kimyon, oregano ve sumak ekstraktları etkin olarak kabul edilmiştir. Ancak mersin yaprağı, kişniş ve kimyon ekstraktlarının sebzelerde istenmeyen koku bıraktığı gerekçesiyle, tez çalışmasında oregano ve sumak ekstraktları ile denemeler yapılmıştır.

Çizelge 4.4 Baharat ekstraktlarının 20°C’de besiyerindeki *Erwinia carotovora* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Ekstrakt	Konsantrasyon	<i>E.carotovora</i> sayısındaki azalma (log kob/ml)		
		Uygulama süresi (dakika)		
		15	30	60
Portakal kabuğu	10000 ppm	0,00	0,00	0,00
Mersin yaprağı	1000 ppm	>3,00	>3,00	>3,00
Kişniş	1000ppm	>3,00	>3,00	>3,00
Kimyon	200 ppm	3,00	>3,00	>3,00
Oregano	50 ppm	>3,00	>3,00	>3,00
Sumak	% 10	>3,00	>3,00	>3,00

Seçilen bu baharatların mayalar üzerine etkisini belirlemek amacıyla *Saccharomyces cerevisiae* ile de denemeler yapılmış ve elde

edilen sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir. Denenmiş olan doğal ekstraktlar içerisinde % 10'luk sumağın *S.cerevisiae* için antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.5 Baharat ekstraktlarının 20°C'de besiyerindeki *Saccharomyces cerevisiae* üzerine antimikrobiyal etkisi.

Ekstrakt	Konsantrasyon	<i>S.cerevisiae</i> sayısındaki azalma (log kob/ml)		
		Uygulama süresi (dakika)		
		15	30	60
Portakal kabuğu	10000 ppm	2,30	2,30	>2,30
Mersin yaprağı	1000 ppm	0,76	1,40	1,60
Kişniş	1000 ppm	>2,30	>2,30	>2,30
Kimyon	200 ppm	>2,30	>2,30	>2,30
Oregano	50 ppm	>2,30	>2,30	>2,30
Sumak	% 10	0,00	0,00	0,00

Portakal kabuğu yağının da antimikrobiyal etkisinin belirlendiği bu çalışmada, 10000 ppm portakal kabuğu yağının 60 dakikada, *S.typhimurium* sayısını 0,39 log kob/ml düzeyinde azalttığı, *Pseudomonas fluorescens* ve *Erwinia carotovora* sayıları üzerinde ise herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Portakal kabuğu yağının denenilen bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığı, ancak *S.cerevisiae* sayısını 2,30 logaritmik birimden daha fazla azalttığı tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda kullanılmasına rağmen seçilen bakteri sayılarında önemli düzeyde azalma sağlamadığı için, yapılan bu çalışmada portakal kabuğu yağı kullanılmamıştır. Gıdalarda yüksek konsantrasyonlarda baharat ekstraktları kullanıldığı zaman gıdalar

organoleptik açıdan kabul edilemez duruma gelebilmektedir. Fisher and Phillips (2006) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, baharatların besiyerindeki antimikrobiyal etkileri araştırıldıktan sonra, gıdalardaki uygulamalara geçilmiş ve portakal kabuğu yağının *Bacillus cereus* için minimum inhibitör konsantrasyonunun % 4'ten daha fazla olması nedeni ile gıdalarda kullanımının araştırılmadığı belirtilmiştir.

4.3 Antimikrobiyal Maddelerin Sebzelerdeki *S.typhimurium* ATCC 13311 Üzerine Etkileri

4.3.1 Oregano ve klorun iceberg marullarındaki *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine etkisi

Yapılan denemelerde inokülasyon öncesinde iceberg marullarında *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir. Üç farklı konsantrasyonda oregano yağı (25, 40 ve 75 ppm) ve 50 ppm klor ile yıkanan iceberg marullarına inoküle edilmiş *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine farklı yıkama uygulamaları ve sürelerinin etkisi Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 *S.typhimurium* inoküle edilmiş marulların oregano ve klor ile farklı süreler ve koşullarda yıkanması.

Yıkama işlemi	Konsantrasyon (ppm)	Maruldaki <i>Salmonella typhimurium</i> sayısı ¹ (log kob/ g)				
		Yıkama öncesi	Yıkama süresi (dakika)			
			5	10	15	20
Su ²	0	3,38 (0,18)a	3,16 (0,19)b	3,20 (0,11)b	3,20 (0,07)b	3,22 (0,20)b
Oregano ²	25	3,14 (0,78)a	2,30 (0,41)c	2,32 (0,23)c	1,62 (1,41)c	2,40 (0,35)c
	40	3,52 (0,21)a	2,63 (0,29)b	2,79 (0,40)b	2,66 (0,63)b	2,84 (0,34)b
	75	3,29 (0,08)a	2,00 (0,45)cd	2,21 (0,33)cd	1,59 (0,51)cd	1,03 (1,06)cd
Klor ²	50	3,57 (0,10)a	1,77 (0,44)d	1,04 (1,06)d	1,23 (1,09)d	1,66 (0,48)d
Oregano ve durulama ³	25	3,14 (0,78)a	1,88 (1,64)c	2,19 (0,70)c	2,31 (0,19)c	2,37 (0,54)c
	40	3,52 (0,21)a	2,98 (0,33)b	2,64 (0,09)b	2,70 (0,16)b	2,75 (0,03)b
	75	3,29 (0,08)a	2,13 (0,61)cd	1,96 (0,34)cd	2,05 (0,48)cd	1,80 (0,74)cd
Klor ve durulama ³	50	3,57 (0,10)a	2,21 (0,55)d	2,18 (0,74)d	1,78 (0,41)d	1,48 (0,31)d

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² Belirtilen sürelerde destile su, oregano yağı veya klor ile yıkanmıştır.

³ Belirtilen sürelerde destile su, oregano yağı veya klor ile yıkandıktan sonra bir dakika süreyle steril destile su ile durulanmıştır.

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda yıkama işleminin mikroorganizmaların uzaklaştırmasında önemli olduğu, yıkama işlemi uygulanan marullardaki *S.typhimurium* sayısında, yıkama işlemi uygulanmayan marullara göre önemli düzeyde azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yıkama süresinin 5 dakikadan 10, 15 ve 20 dakikalara kadar uzatılmasıyla elde edilen antimikrobiyal etkinin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Yapılan diğer çalışmalarda da aynı şekilde, yıkama sürelerinin mikroorganizma sayılarındaki azalmalar üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, 100 ppm klor çözeltisine 2 dakika daldırılarak yıkanan iceberg marullardaki *E.coli* sayısının, suya daldırılanlarla kıyaslandığında 2,00 log kob/g düzeyinde azaldığı belirtilmiştir. Yıkama süresinin 2 dakikadan 5 dakikaya yükseltilmesiyle mikroorganizma sayısındaki azalmanın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bildirilmiştir (Akbas and Ölmez, 2007). Marullar 1000 ppm kekik yağı ile 5 dakika yıkandığında *E.coli* O157:H7 sayısında 1,65 log azalma tespit edilmiştir. Sürenin 5 dakikadan 10 ve 15 dakikalara yükseltilmesinin *E.coli* O157:H7 sayısındaki azalmalar üzerine önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Singh et al., 2002). 50 ppm klor ile 5 dakika yıkanan kerevizdeki mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı 3,7 log kob/g düzeyinde azalma sağlamıştır. Yıkama süresinin 30 dakikaya kadar uzatılmasının mikroorganizma sayısındaki azalma üzerine önemli bir etkisi olmamış, ancak kerevizin duyuşsal kalitesini olumsuz yönde etkilemiştir (Sanz et al., 2002).

Antimikrobiyal madde ile yıkanan ve antimikrobiyal madde ile yıkandıktan sonra su ile durulanan marullardaki *S.typhimurium*

sayısındaki azalma farklılıkları istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). 25 ppm, 40 ppm, 75 ppm oregano ve 50 ppm klor ile 10 dakika yıkanan marullardaki *S.typhimurium* sayıları sırasıyla 0,82; 0,73; 1,08 ve 2,53 logaritmik birim, antimikrobiyal maddelerle yıkandıktan sonra bir dakika steril destile su ile durulanan marullardaki mikroorganizma sayıları ise sırasıyla 0,95; 0,88; 1,33 ve 1,39 logaritmik birim azalmıştır. Su ile yıkanan marullardaki *S.typhimurium* sayısı ise 0,18 logaritmik birim azalmıştır. 25 ppm, 75 ppm oregano ve 50 ppm klor ile yıkanan marullardaki *S.typhimurium* sayısındaki azalmalar su ile yıkamaya göre istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($p<0,05$). 75 ppm oregano ve 50 ppm klor ile yıkanan marullardaki *S.typhimurium* sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Lang et al. (2004a) tarafından yapılan bir çalışmada, 200 ppm klor ile yıkanan marullardaki *E.coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. sayısındaki azalma 1,1 – 1,8 log kob/marul düzeyinde olmuştur. Yapılan bir çalışmada, *Salmonella bairdson* inoküle edilen marullar (3,6 log kob/g) 120 veya 200 ppm klor ile 40 saniye yıkandığında, *S.bairdson* sayısı 1 logaritmik birimden daha az azalmıştır (Weissinger et al., 2000). Beuchat et al. (1998) yaptıkları çalışma ile 200 ppm klor ile yıkanan iceberg marullarına inoküle edilmiş *Salmonella* hücrelerindeki azalmanın 1 logaritmik birimden daha az olduğunu ifade etmişlerdir. 125 ppm klor ile 8 dakika süreyle yıkanan ıspanaklardaki *Salmonella hadar* sayısındaki maksimum azalmalar 1,3 - 1,4 logaritmik birim olarak tespit edilmiştir (Pirovani et al., 2000). Literatürdeki bu çalışmalarda görüldüğü gibi, klor mikroorganizma sayısını azaltmakta

yeteri kadar etkili olmamaktadır. Ayrıca, klor ile yıkama sırasında trihalometan gibi zararlı yan ürünler oluşabilmektedir (Richardson et al., 1998). Almanya Gıda Standartlarında minimal işlem görmüş sebzelerin dezenfeksiyonunda klor kullanımı sınırlandırılmış olup, tüketiciye sunulan üründe kalıntı klor ve oluşturduğu yan ürünlerin bulunmaması gerektiği ifade edilmektedir. Bu durumda, klor kullanımı teknolojik olarak mümkün olamamaktadır. Bazı Avrupa ülkelerinde (Almanya, Hollanda, İsviçre, Belçika) kullanıma hazır ürünlerde klor kullanımı yasaklanmıştır (Rico et al., 2007). ABD’de ise sebzelerin dezenfeksiyonunda sodyum hipoklorit kullanımına izin verilmekte, ancak yıkandıktan sonra içme suyu ile durulanması gerektiği belirtilmektedir (Baur et al., 2004). Bu nedenle, araştırmacılar taze meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonu için alternatif dezenfektan arayışındadırlar.

Doğal antimikrobiyal maddelerin, klor yerine kullanılacak alternatif dezenfektan olarak kullanımı son yıllarda yapılan çalışmalarda önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan bir çalışmada, marulların 20°C’de 10 dakika destile su ile yıkanması sonucunda aerobik mezofilik bakteri sayısının 0,48 log, 125 ppm klor ile yıkandığında ise 1,35 log azaldığı tespit edilmiştir. Marullar aynı koşullarda % 0,1 oranında fesleğen esansiyel yağı (basil metil kavikol) ile yıkandığında ise sayıdaki azalma 1,80 logaritmik birim olmuştur (Wan et al., 1998). Yapılan bu çalışma ile fesleğen esansiyel yağlarının 125 ppm klor ile karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Xu et al. (2007) yaptıkları çalışmada, su ile 3-5 dakika yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayısının 0,26 log kob/g

düzeyinde, greyfurt çekirdeği ekstraktı ile yıkandığında ise sayının 2,53 log kob/g düzeyinde azaldığını ortaya koymuşlardır.

Marulların oregano ekstraktı veya klor ile yıkanma işlemleri sırasında, yıkama solüsyonuna geçen ve canlılığını sürdüren *S.typhimurium* sayıları Çizelge 4.7'de verilmiştir. 50 ppm klor ile yıkanan marullarda 5, 10, 15 ve 20 dakikada, 75 ppm oregano ile yıkanan marullarda ise 15 ve 20 dakikada yıkama sıvısına geçerek canlılığını sürdüren mikroorganizma belirlenmemiştir. Bu durum, *S.typhimurium* sayılarındaki azalmanın suyun etkisiyle mikroorganizmaların uzaklaşması olarak düşünülmemesi gerektiğini, antimikrobiyal etkiden dolayı mikroorganizmaların inaktif hale geldiğini ortaya koymaktadır. Su ile yıkama sıvısındaki mikroorganizma sayısı oregano veya klor ile yıkama sıvılarına göre istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur. Su ile yıkanan marullarda yıkama suyuna geçen mikroorganizma sayısı 1,34 - 1,45 aralığında belirlenmiş olup, yıkama süreleri arasında fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Yapılan bir çalışmada, 5,70 log *Salmonella* spp. içeren marullar su ile bir dakika yıkandığında yıkama suyuna geçen mikroorganizma sayısının 5,0 log kob/ml düzeyinde olduğu bildirilmiştir (Abadias et al., 2008). Burnett et al. (2004) tarafından yapılan benzer çalışmada, 7,50 log düzeyinde *Listeria monocytogenes* içeren marullar 200 ppm klorlu su ile beş dakika yıkandığında, yıkama suyuna geçip canlılığını sürdüren mikroorganizma sayısının belirleme limitinin altında olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 4.7 Marulların yıkandığı destile suda, oregano ekstraktında ve klor çözeltisinde kalan *S.typhimurium* sayıları.

Yıkama işlemi	Konsantrasyon (ppm)	Yıkama sıvısındaki <i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/ ml)			
		Yıkama süresi (dakika)			
		5	10	15	20
Su ²	0	1,39 (0,32)a	1,42 (0,29)a	1,34 (0,16)a	1,45 (0,21)a
Oregano ²	25	0,58 (0,69)b	0,23 (0,40)b	0,23 (0,40)b	0,68 (0,48)b
	40	0,85 (0,83)c	1,19 (0,31)c	0,88 (0,64)c	0,77 (0,40)c
	75	1,06 (0,75)d	0,43 (0,38)d	0,00 (0,00)d	0,00 (0,00)d
Klor ²	50	0,00 (0,00)e	0,00 (0,00)e	0,00 (0,00)e	0,00 (0,00)e
Oregano durulama suyu ³	25	0,76 (0,66)b	0,47 (0,50)b	0,66 (0,24)b	0,37 (0,64)b
	40	1,06 (0,32)c	0,46 (0,45)c	0,50 (0,35)c	1,28 (0,30)c
	75	0,10 (0,17)d	0,16 (0,28)d	0,10 (0,17)d	0,00 (0,00)d
Klor durulama suyu ³	50	0,00 (0,00)e	0,00 (0,00)e	0,00 (0,00)e	0,00 (0,00)e

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² Belirtilen sürelerde destile su, oregano yağı veya klor ile yıkama sonrasında marullar uzaklaştırıldıktan sonra kalan yıkama sıvısı

³ Belirtilen sürelerde destile su, oregano yağı veya klor ile yıkandıktan sonra, bir dakika süreyle steril destile su ile durulama sonrasında kalan durulama sıvısı

4.3.2 Sumağın ve oreganonun domateslerdeki *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine etkisi

Sumak ekstraktlarının, domateslere inoküle edilmiş *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine farklı yıkama şekli ve sürelerinin etkileri Çizelge 4.8'de verilmiştir. Yapılan denemelerde inokülasyon öncesinde domateslerde *Salmonella* spp. tespit edilmemiştir. İstatistiksel analizler sonucunda, yıkama işleminin mikroorganizmaların uzaklaştırmasında etkili olduğu, yıkama işlemi uygulanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayısında, yıkama işlemi uygulanmayan domateslere göre önemli düzeyde azalma olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Steril destile su ve baharat ekstraktları ile yıkanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayılarındaki azalmalar arasındaki fark, istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Baharat ekstraktı ile yıkanan ve baharat ekstraktı ile yıkandıktan sonra su ile durulanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayısındaki azalma farklılıklarının istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Yıkama süresinin 5 dakikadan 10, 15 ve 20 dakikaya uzatılmasıyla elde edilen antimikrobiyal etkinin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.8 *S.typhimurium* inoküle edilmiş domateslerin sumak ile farklı süreler ve koşullarda yıkanması.

Yıkama İşlemi	Konsantrasyon (%)	Domatesteki <i>Salmonella typhimurium</i> sayısı ¹ (log kob/ domates)				
		Yıkama Öncesi	Yıkama Süresi (dakika)			
			5	10	15	20
Su ²	0	3,88 (0,45) _a	3,64 (0,38) _b	3,71 (0,26) _b	3,69 (0,35) _b	3,66 (0,50) _b
Sumak ²	1	3,59 (0,59) _a	2,54 (0,52) _c	2,63 (0,34) _c	2,76 (0,13) _c	2,37 (0,10) _c
	3	3,87 (0,75) _a	1,69 (1,58) _d	2,15 (0,35) _d	1,05 (1,82) _d	1,70 (1,51) _d
	4	2,71 (0,24) _a	0,00 (0,00) _e	0,65 (1,12) _e	0,65 (1,12) _e	0,00 (0,00) _e
Sumak ve su ile durulama ³	1	3,59 (0,59) _a	2,76 (0,40) _c	1,76 (1,57) _c	1,50 (1,30) _c	3,05 (0,60) _c
	3	3,87 (0,75) _a	0,93 (1,62) _d	2,00 (1,74) _d	1,30 (1,12) _d	1,26 (2,18) _d
	4	2,71 (0,24) _a	1,76 (1,57) _e	1,56 (1,35) _e	1,50 (1,34) _e	0,00 (0,00) _e

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² Belirtilen sürelerde destile su veya sumak ile yıkanmıştır.

³ Belirtilen sürelerde destile su veya sumak ile yıkandıktan sonra bir dakika süreyle steril destile su ile durulanmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki sumak ekstraktları (% 1, % 3 ve % 4) ile yıkanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayıları arasındaki fark, uygulanan istatistiksel analizler sonucunda anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Su ile yıkanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayısı ortalama olarak 0,20 logaritmik birim azalmıştır. % 1, % 3 ve % 4 sumak ekstraktı ile yıkanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayısının ortalama olarak sırasıyla 1,01 log, 2,22 log ve 2,38 log kob/ domates düzeyinde azaldığı tespit edilmiştir. % 4 sumak ekstraktı ile 20 dakika yıkanan domateslerde *S.typhimurium* sayısı belirleme limitinin altına düşmüştür. Besiyerinde yapılan denemelerde % 10 sumağın 15 dakikalık süre içerisinde *S.typhimurium* sayısını 3 logaritmik birimden daha fazla azalttığı tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.2). Yapılan bir çalışmada ise besiyerinde yapılan denemelerde % 1 sumak ekstraktı ile 1 saatlik temas sonucunda *Bacillus* türlerinde 4 - 5 log, *Salmonella enteritidis* sayısında 1,82 log, *Listeria monocytogenes* sayısında ise 2,72 log azalma tespit edildiği bildirilmiştir. Sumağın *S.enteritidis* için minimum inhibitör konsantrasyonunun % 0,67 olduğu tespit edilmiş olup, denenmiş olan 12 bakteri (*Bacillus cereus*, *B.megaterium*, *B.subtilis*, *B.thuringiensis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* Tip I, *E.coli* O157:H7, *Hafnia alvei*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*) içerisinde *S.enteritidis*'in sumağa karşı en dirençli olduğu belirlenmiştir. Gram negatif bakterilerin, Gram pozitiflere göre daha dirençli olduğu saptanmıştır (Nasar-Abbas and Halkman, 2004). Yine aynı çalışmada, nötralize edilmiş sumak ekstraktının antimikrobiyal etkisinin, nötralize edilmemiş olana göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Ancak, nötralize edilmiş ekstraktın da antimikrobiyal etki göstermesi,

antimikrobiyal etkinin sadece asitlikten kaynaklanmadığını, sumak içerisinde bazı antimikrobiyal maddelerin olduğunu göstermektedir. Nasar-Abbas et al. (2004) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, sumağın alkol ekstraktı kullanılmış olup, *Salmonella enteritidis*'in 3000 ppm'e kadar canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Sumağın % 80'lik alkol ekstraktı ile besiyerinde yapılan diğer bir çalışmada denenen mikroorganizmalar arasında en hassas bakterinin *Bacillus cereus* olduğu ve minimum inhibitör etkinin % 0,05 konsantrasyonda sağlandığı belirlenmiştir. *Salmonella typhi* için ise bu konsantrasyon % 0,2 olarak belirlenmiştir (Fazeli et al., 2007). Sumak yapraklarının antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *E.coli*, *B.subtilis*, *S.aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* ve *Candida albicans* için minimum inhibitör konsantrasyonlarının 12,5 – 15,0 mg/ml olduğu tespit edilmiştir (Ertürk, 2006).

Farklı konsantrasyondaki oregano ekstraktlarının domateslere inoküle edilmiş *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerine farklı yıkama şekli ve sürelerinin etkileri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 *S.typhimurium* inoküle edilmiş domateslerin oregano ile farklı süreler ve koşullarda yıkanması.

Yıkama İşlemi	Konsantrasyon (ppm)	Domatesteki <i>Salmonella typhimurium</i> Sayısı ¹ (log kob/ domates)				
		Yıkama öncesi	Yıkama Süresi (dakika)			
			5	10	15	20
Su ²	0	3,88 (0,45)a	3,64 (0,38)b	3,71 (0,26)b	3,69 (0,35)b	3,66 (0,50)b
Oregano ²	25	4,18 (0,78)a	3,23 (0,70)c	1,25 (2,16)c	3,27 (0,21)c	3,84 (0,39)c
	75	4,11 (0,90)a	2,16 (1,99)cd	1,01 (1,75)cd	1,97 (1,72)cd	2,68 (0,50)cd
	100	4,35 (0,12)a	0,65 (1,12)d	1,46 (1,29)d	1,70 (1,59)d	2,47 (0,45)d
Oregano ve su ile durulama ³	25	4,18 (0,78)a	2,11 (0,28)c	2,76 (0,56)c	1,81 (1,64)c	2,89 (0,98)c
	75	4,11 (0,90)a	2,98 (0,26)cd	2,50 (0,59)cd	2,88 (0,56)cd	2,19 (1,92)cd
	100	4,35 (0,12)a	3,03 (0,42)d	1,72 (1,45)d	1,97 (1,78)d	1,50 (1,34)d

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrerrün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² Belirtilen sürelerde destile su veya oregano yağı ile yıkanmıştır.

³ Belirtilen sürelerde destile su veya oregano yağı ile yıkandıktan sonra bir dakika süreyle steril destile su ile durulanmıştır.

25 ppm, 75 ppm ve 100 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki *S.typhimurium* sayılarındaki azalmaların ortalama olarak sırasıyla 1,28 log, 2,16 log ve 2,78 log kob/domates düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. 100 ppm oregano ile yıkamanın, 25 ppm oregano ile yıkamaktan farklı olduğu ($p<0,05$), 75 ppm oregano ile yıkamanın ise 25 ppm ve 100 ppm oregano ile yıkamaktan farklı olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Besiyerinde yapılan çalışmalarda ise oreganonun antimikrobiyal etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.2). 100 ppm oreganonun besiyerinde 15 dakikada *S.typhimurium* sayısında 3,29 logaritmik birimden daha fazla azalmaya neden olduğu, domatesler 100 ppm oregano yağı ile 20 dakika yıkandığında ise *S.typhimurium* sayısında 1,88 – 2,85 logaritmik birim azalma olduğu belirlenmiştir. Bu durumda, besiyerinde tespit edilen antimikrobiyal etkinin, hücreler sebzelere tutunduğunda azaldığı ortaya konmuştur. Literatürdeki çalışmalarda da aynı etkinin gözlemlendiği belirtilmiştir. Ponce et al. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, besiyerlerinde kullanıldığında mikroorganizma sayılarında 1 logaritmik birim azalma sağlayan karanfil yağlarının, pazılara püskürtülerek uygulandığında 0,60 logaritmik birim düzeyinde azalma sağladığı tespit edilmiştir. Besiyerinde bulunan esansiyel yağların mikroorganizmalar ile daha yakın temas etmeleri nedeniyle antimikrobiyal etkinin daha fazla sağlandığı, sebzeler ise dinamik biyolojik sistemler oldukları için mikroorganizmaların korunabildiği ve esansiyel yağların aktivitelerinin durdurulabildiği belirtilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, 8,0 log kob/g düzeyinde *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş lahanada 1250 ppm bergomot yağı ile bir dakika süreyle yıkandığında, lahanada

canlılığını sürdüren mikroorganizma sayısı 3 log iken, tavuk derisinde ise 4-5 logaritmik birim olmuştur. Tavuk derisindeki *L.monocytogenes* sayısındaki azalma, lahana yaprağına göre daha az olmuştur. Meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonu için gereken baharat konsantrasyonlarının, yağ oranı yüksek gıdalardan daha düşük olduğu belirtilmiştir (Fisher and Phillips, 2006). Baharatların gıdalarda kullanıldığında, antimikrobiyal etkisi azalabilmektedir. Gıdaların içeriğinde bulunan yağ, protein, su ve tuzlar mikroorganizmaların direncini arttırmaktadır. Smith-Palmer et al. (2001), tarafından yapılan bir çalışmada düşük yağlı ve yağlı peynirlere ilave edilen % 0,1 oranında kekik ekstraktının, düşük yağlı peynirlerde *Listeria monocytogenes* sayısını 1 logaritmik birim veya daha az azalttığı, yağlı peynirlerde ise azalmaya neden olmadığı tespit edilmiştir. Besiyerinde yapılan çalışmalarda ise % 0,1'in altındaki kekik yağı konsantrasyonlarında bakterisidal olduğu tespit edilmiştir. Gıdalardaki yağların bakterilerin etrafını sararak koruyucu etki yaptığı ifade edilmiştir. Gıdanın lipit fraksiyonunun antimikrobiyal maddeyi absorbladığı ve antimikrobiyal madde konsantrasyonunun azaldığı, dolayısıyla da bakterisidal aktivitenin azaldığı belirtilmiştir (Farbood et al., 1976, Smith-Palmer et al., 2001'den).

Kekiğin ve karanfil esansiyel yağlarının besiyerinde ve domates salçasındaki *Aspergillus flavus* üzerindeki antifungal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, 350 ve 500 ppm kekiğin besiyerindeki mikroorganizma gelişimini tamamen inhibe ettiği ortaya konmuştur. 500 ppm kekik içeren salçaya *A.flavus* inoküle edildiğinde, küf gelişiminin % 87 oranında inhibe olduğu tespit edilmiştir. Karanfil esansiyel yağının

ise 500 ppm konsantrasyonda besiyerindeki küflerin % 87,5'ini, salçadaki küflerin ise % 48'ini inhibe ettiği belirlenmiştir. Gıdanın kompleks üreme ortamının mikroorganizmayı antimikrobiyal maddelerden koruması nedeniyle, besiyerinde elde edilen antifungal etkinin salçada sağlanamadığı ortaya konmuştur (Omidbeygi et al., 2007).

Yapılan bu çalışma ile, oregano ve sumak ekstraktlarının günümüzde dezenfektan olarak kullanılmakta olan klor kadar veya daha fazla etkili olduğu ortaya konmuştur. Klorun domateslerdeki *Salmonella* Montevideo sayısına etkisinin incelendiği benzer bir çalışmada, 60 ppm klor ile iki dakika yıkanan domates yüzeyindeki *S.Montevideo* sayısında 0,64 logaritmik birim azalma tespit edilmiş olup, bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Klor konsantrasyonu 110 ppm'e çıkartıldığında sayıdaki azalma 1,22 log kob/cm² olmuştur. Klor konsantrasyonu 320 ppm'e yükseltildiğinde sayıdaki azalma önemli bulunmamıştır. Domatesin sapının çıktığı kısımdaki *S.Montevideo* sayısında ise 60 ppm klor ile istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalma görülmemiş, 110 ppm klorla 0,69 log kob/g düzeyinde azalma tespit edilmiştir (Zhuang et al., 1995).

Yapılan bu çalışmada, gerçek koşulları yansıtmaması amacıyla inokulum domatesin sapının çıktığı yere ve yüzeyine aktarılmıştır. Domatesin yüzeyindeki veya sapının çıktığı kısımda bulunan mikroorganizmaların dezenfektanlara karşı dirençleri farklı olmaktadır. Yapılan bir çalışmada, *Salmonella* Montevideo'nun domates

yüzeylerinde, sapının çıktığı kısımda olduğu kadar canlılığını sürdüremediği tespit edilmiştir (Lin et al., 2000). Yapılan diğer bir çalışmada, domateslere spot inokülasyon yöntemi ile *S.Montevideo* inoküle edildikten sonra 20 saat süreyle bekletilerek mikroorganizmaların yüzeylere tutunması sağlanmış ve domatesler 100 ppm klor ile yıkanmıştır (Wei et al., 1995). 100 ppm klor ile domates yüzeyindeki azalma 1,7 log iken, sapının çıktığı yerdeki azalma 0,6 logaritmik birim olarak belirlenmiştir. Yuk et al. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, domates yüzeylerine, sapının çıktığı kısma ve yüzeyde açılan bir kesite beş farklı *Salmonella* suşu inoküle edildikten sonra, bir saat bekletilmiş ve domatesler 200 ppm klor ile iki dakika süreyle dezenfekte edilmiştir. Domates yüzeylerindeki *Salmonella* spp. sayısındaki azalma 5,23 log kob/domates düzeyinden fazla iken, sapının çıktığı kısımda 2,53 log, domates yüzeyindeki kesitte ise 1,27 logaritmik birim olmuştur. Domatesin sapının çıktığı kısımlar suyun ve su ile birlikte mikroorganizmaların da geçişine izin vermektedir. Domatesin sapının çıktığı kısımdan suyun içeriye sızmasının, su ve domates arasındaki sıcaklık farkından kaynaklandığı, suyun sıcaklığı domatesin sıcaklığından 15°C daha düşük ise suyun domatesin içerisine sızdığı ifade edilmektedir (Yuk et al., 2005).

Domatesler sumak ekstraktı ile yıkandıktan sonra, yıkama işlemi sırasında yıkama solüsyonuna geçen ve canlılığını sürdüren *S.typhimurium* sayıları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Yıkama sıvısı olarak sumak ekstraktının veya steril destile suyun kullanıldığı domateslerden yıkama sıvısına geçen *S.typhimurium* sayıları arasındaki fark istatistiksel

olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). % 1 sumak ekstraktında 0,00 – 0,49 logaritmik birim, % 3 sumak ekstraktında ise 0,00 – 0,39 logaritmik birim aralıklarında *S.typhimurium* belirlenmiştir. % 4 sumak ekstraktında 5, 10, 15 ve 20 dakikada, % 3 sumak ekstraktında ise 15 ve 20 dakika yıkama sonucunda *S.typhimurium* sayısı belirleme limitinin altına düşmüştür. Yıkama sularındaki mikroorganizmaların inaktif hale gelmesi, kullanılan dezenfektan konsantrasyonunun yeterli olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yıkama sularındaki mikroorganizmaların inaktif hale gelmesi, taze kesilmiş meyve-sebze endüstrisindeki çapraz bulaşmaların engellenmesine yardımcı olacaktır.

Çizelge 4.10 Domateslerin yıkandığı sumak ekstraktında kalan *S.typhimurium* sayıları.

Yıkama İşlemi	Konsantrasyon (%)	Yıkama sıvısındaki <i>Salmonella typhimurium</i> sayısı ¹ (log kob/ml)			
		Yıkama Süresi (dakika)			
		5	10	15	20
Su ²	0	0,96 (0,92) _a	0,82 (0,87) _a	0,96 (0,05) _a	0,93 (0,56) _a
Sumak ekstraktı ²	1	0,10 (0,17) _a	0,41 (0,71) _a	0,49 (0,84) _a	0,30 (0,52) _a
	3	0,23 (0,40) _a	0,51 (0,89) _a	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a
	4	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a
Durulama suyu ³	1	0,26 (0,45) _a	0,10 (0,17) _a	0,00 (0,00) _a	0,26 (0,45) _a
	3	0,00 (0,00) _a	0,10 (0,17) _a	0,00 (0,00) _a	0,39 (0,68) _a
	4	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a	0,00 (0,00) _a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² Belirtilen sürelerde destile su veya sumak ile yıkama sonrasında domatesler uzaklaştırıldıktan sonra kalan yıkama sıvısı

³ Belirtilen sürelerde destile su veya sumak ile yıkandıktan sonra, bir dakika süreyle steril destile su ile durulama sonrasında kalan durulama sıvısı

Oregano yağı ile yıkanan domateslerden yıkama sıvısına geçen *S.typhimurium* sayısı Çizelge 4.11’de görülmektedir. Destile su ile veya oregano yağı içeren yıkama sıvıları ile yıkama işlemlerinde istatistiksel olarak farklılık belirlenmemiş olmasına rağmen, oregano içeren yıkama sıvısında *S.typhimurium* sayıları 0,00 – 0,81 log kob/ml aralığında iken, destile su içerisindeki *S.typhimurium* sayıları 0,82 – 0,96 log kob/ml arasındadır. Farklı konsantrasyonlarda oregano yağı içeren yıkama sıvılarında bulunan *S.typhimurium* sayılarının istatistiksel olarak farklı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Yapılan benzer bir çalışmada, *Salmonella enteritidis* inoküle edilmiş domatesler, destile su ile 60 saniye yıkandığında, domateslerdeki mikroorganizma sayısı 2,20 logaritmik birim azalırken, yıkama suyunda kalan *S.enteritidis* sayısının 5,29 log kob/ml olduğu tespit edilmiştir (Deza et al., 2003). Yapılan bu tez çalışmasında ise daha düşük inokulum dozları kullanılmış ve yıkama süresi daha uzun tutulmuştur. Beş dakika steril destile su ile yıkanmış domateslerdeki *S.typhimurium* sayısı 0,24 logaritmik birim azalmış ve yıkama suyundaki sayının 0,96 log kob/ml düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Mikroorganizmaların cinslerinin, tutundurma ve yıkama sürelerinin farklılıklarından dolayı çalışmalar arasında karşılaştırma yapılamamakla birlikte, bu çalışmalarda su ile yıkama sonucunda yıkama sıvılarında mikroorganizmalar kalabildiği için işletmelerde çapraz kontaminasyon olabileceği ortaya konmuştur.

Çizelge 4.11 Domateslerin yıkandığı oregano ekstraktında kalan *S.typhimurium* sayıları.

Yıkama İşlemi	Konsantrasyon (ppm)	Yıkama sıvısındaki <i>Salmonella typhimurium</i> sayısı ¹ (log kob/ ml)			
		Yıkama Süresi (dakika)			
		5	10	15	20
Su ²	0	0,96 (0,92) _a	0,82 (0,87) _a	0,96 (0,05) _a	0,93 (0,56) _a
Oregano ²	25	0,71 (1,22) _a	0,26 (0,45) _a	0,35 (0,60) _a	0,71 (0,38) _a
	75	0,81 (0,82) _a	0,16 (0,28) _a	0,23 (0,40) _a	0,32 (0,55) _a
	100	0,66 (1,14) _a	0,45 (0,77) _a	0,37 (0,64) _a	0,00 (0,00) _a
Durulama suyu ³	25	0,00 (0,00) _a	0,36 (0,10) _a	0,16 (0,28) _a	0,33 (0,35) _a
	75	0,20 (0,35) _a	0,26 (0,24) _a	0,10 (0,17) _a	0,84 (0,47) _a
	100	0,56 (0,54) _a	0,20 (0,35) _a	0,00 (0,00) _a	0,33 (0,35) _a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

² Belirtilen sürelerde destile su veya oregano yağı ile yıkama sonrasında domatesler uzaklaştırıldıktan sonra kalan yıkama sıvısı

³ Belirtilen sürelerde destile su veya oregano yağı ile yıkandıktan sonra, bir dakika süreyle steril destile su ile durulama sonrasında kalan durulama sıvısı

4.4 Iceberg Marulları İçin Oregano ve Sumağın Etkin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Çizelge 4.12’de belirtilen konsantrasyon ve sürelerde, iceberg marulları sumak ekstraktı veya oregano yağları ile yıkanarak *Salmonella* spp. (*Salmonella typhimurium* CDC G8430, *Salmonella typhimurium* CDC H3402, *Salmonella typhimurium* CDC H2662, *Salmonella typhimurium* DT 104 DF/U-S2380 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 13311) sayısındaki azalma ve uygulanan yıkama işlemlerinin marul dokuları üzerine etkisi araştırılmıştır. Dezenfeksiyon işleminden sonra mikroorganizma sayılarındaki azalmaları kesin olarak belirleyebilmek ve depolama sürecinde mikroorganizma sayılarındaki değişimin tespit edilebilmesi amacıyla, dezenfeksiyon işleminden sonra ürünlerde belirli düzeyde mikroorganizmaların canlı kalması istenmiş ve bu nedenle yüksek inokulum dozlarında çalışılmıştır.

Bölüm 4.3’te tek *Salmonella* suşu kullanılmış, bu bölümden itibaren yapılan diğer çalışmalarda beş farklı *Salmonella* suşunun eşit orandaki karışımı ile denemelere devam edilmiştir. Mikroorganizmaların dezenfektanlara karşı dirençlerinin farklı olması nedeniyle suş sayısının artırılması ile dezenfektanların etkinliği daha net olarak ortaya çıkacaktır. Tek bir suş ile çalışmak, o suşun incelenen dezenfektana karşı direncine bağlı olarak, her zaman doğru sonuçları vermeyebilir. Yapılan çalışmalarda, en az beş suşun eşit oranda karışımının kullanılması veya tek suş kullanılacaksa en dirençli suşun seçilmesi gerektiği önerilmektedir (Beuchat et al. 2001a). Bu konu ile ilgili yapılan bir

çalışmada, marullara beş suş içeren *Listeria monocytogenes* karışımı ve tek suş içeren *Listeria monocytogenes* kültürü inoküle edilerek, 37°C’de 45 dakika süreyle bekletilmiştir. Bekletme süresinin sonunda beş suş içeren kültürdeki sayı % 12,5, tek suş içeren mikroorganizma sayısında ise % 21,4 geri kazanım olduğu tespit edilmiş ve suş sayısının etkisi ortaya konmuştur (Burnett et al., 2004).

Çizelge 4.12 Farklı temas süresi ve farklı konsantrasyondaki oregano ve sumanın marullara inoküle edilmiş *Salmonella* spp. üzerindeki etkisi.

Antimikrobiyal madde konsantrasyonu	<i>Salmonella</i> spp. sayısındaki azalma (log kob/g)			
	Yıkama süreleri (dakika) ^a			
	1	5	7	10
100 ppm oregano				2,19
200 ppm oregano				2,34
250 ppm oregano	1,14	1,38		
350 ppm oregano		1,61	1,44	1,91
500 ppm oregano	1,43	1,71	2,28	2,50
750 ppm oregano	1,66	1,95		
1000 ppm oregano	1,99	3,00		>5,97
% 8 sumak				2,69
350 ppm or. + %4 sumak		2,26		2,21

^a Gri gölge ile gösterilen yıkama sürelerinde deneme yapılmamıştır.

Yapılan bu çalışma ile, baharat ekstraktlarının düşük konsantrasyonlarda 10 dakika süreyle yıkanmasıyla marullara inoküle

edilmiş *Salmonella* spp. sayısında yeterli azalma sağlanamadığı, yüksek konsantrasyonlarda ise oldukça yüksek oranlarda azalma sağlanırken, marul dokularında yumuşamalara ve renkte kahverengileşmelere yol açtığı belirlenmiştir. Bu nedenle marul dokularına zarar vermeyen, ancak *Salmonella* spp. sayılarında 2,0 logaritmik birim veya üzerinde azalma sağlayan konsantrasyon ve süreler araştırılmıştır. Yapılan bu denemeler ile 1000 ppm oreganonun beş dakikada istenen oranlarda azalma sağladığı, ancak marul dokularına zarar verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13 Farklı temas süresi ve farklı konsantrasyondaki oregano ve sumanın marul dokularına ve rengine etkisi.

Antimikrobiyal madde konsantrasyonu	Marul dokusu üzerine etkisi			
	Yıkama süreleri (dakika) ^a			
	1	5	7	10
100 ppm oregano				–
200 ppm oregano				–
250 ppm oregano	–	–		
350 ppm oregano		–	–	–
500 ppm oregano	–	–	–	±
750 ppm oregano	–	±	±	+
1000 ppm oregano	–	+	+	+
% 8 sumak				+
350 ppm or.+ %4 sum.		–		+

^a Gri gölge ile gösterilen yıkama sürelerinde deneme yapılmamıştır.

– Marul dokusunda ve rengine değişiklik yok

± Marul yapraklarının en ince kısımlarında hafif kahverengileşme

+ Marul dokularında yumuşama ve renkte kahverengileşme

4.5 Iceberg Marullarına İnoküle Edilmiş *Salmonella* spp.'in Tutundurma Yöntemlerinin Karşılaştırılması

İnokülasyon kabiniinde bulunan iceberg marullarına *Salmonella* spp. (*Salmonella typhimurium* CDC G8430, *Salmonella typhimurium* CDC H3402, *Salmonella typhimurium* CDC H2662, *Salmonella typhimurium* DT 104 DF/U-S2380 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 13311) inoküle edilmiş, hava akımı açık ve kapalı olmak üzere iki farklı şekilde ve dört farklı sürede bekletildikten sonra 500 ppm oregano içeren steril destile su ile 1, 5 ve 10 dakika yıkanmış ve *Salmonella* spp. sayısındaki değişim incelenmiştir (Çizelge 4.14).

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, inokülasyon kabiniinin açık veya kapalı olmasının tutunan *Salmonella* spp. sayısı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ortaya konmuştur ($p>0,05$). Marulların inokülasyon kabiniindeki bekletme süreleri arasındaki fark (0-2 saat) da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu tez çalışmasında inokülasyon kabiniinin açık ve iki saat süreyle inokülasyon kabiniinde bekletilen marullarda inokulumun tamamen kuruduğu, diğerlerinde ise bir miktar inokulum kaldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, yapılan depolama denemelerinde inokülasyon kabiniinin açık olduğu koşullarda iki saat bekletildikten sonra sebzeler dezenfekte edilmiş ve depolanmıştır.

Çizelge 4.14 Farklı tutundurma koşullarında ve 500 ppm oregano yağı ile yıkama sonunda maruldaki *Salmonella* spp. sayıları.

Hava akımı	Tutundurma süresi (dak.)	Maruldaki <i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/g)			
		Yıkama öncesi	500 ppm oregano yağı ile yıkama süresi (dakika)		
			1	5	10
Açık	0	5,87 (0,04)a	4,40 (0,09)b	3,88 (0,03)c	3,58 (0,31)d
	15	5,65 (0,28)a	4,42 (0,26)b	4,05 (0,19)c	3,72 (0,39)d
	30	5,78 (0,24)a	4,17 (0,32)b	4,19 (0,17)c	3,57 (0,12)d
	60	5,85 (0,11)a	4,40 (0,13)b	4,15 (0,11)c	3,58 (0,26)d
	120	5,74 (0,13)a	4,44 (0,24)b	4,09 (0,22)c	3,46 (0,41)d
Kapalı	0	5,87 (0,04)a	4,40 (0,09)b	3,89 (0,03)c	3,58 (0,31)d
	30	5,67 (0,00)a	4,36 (0,03)b	3,79 (0,11)c	3,20 (0,40)d
	60	5,61 (0,13)a	4,56 (0,26)b	3,93 (0,24)c	3,59 (0,27)d
	120	5,60 (0,16)a	4,60 (0,29)b	4,09 (0,15)c	3,62 (0,32)d

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

500 ppm oregano yağı ile 1 , 5 ve 10 dakika süreyle iceberg marullarının yıkanması sonucunda, yıkama süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Yıkama süresi uzatıldıkça *Salmonella* spp. sayılarındaki azalmalar artış göstermiş olmasına rağmen, süre uzatıldığında 500 ppm oregano yağı ile marul dokularında bozulmalar tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). 500 ppm oregano

yağı ile 10 dakika yıkanan iceberg marullarında *Salmonella* spp. sayısındaki azalmalar yaklaşık 2,0 – 2,5 logaritmik birim olarak tespit edilmiş, ancak bu işlemin marul dokusunda yumuşamalara ve renkte kahverengileşmelere neden olduğu gözlenmiştir. 500 ppm oregano yağı ile bir dakika yıkanan marullarda dokuda ve renkte bozulma olmamıştır.

Çizelge 4.15 500 ppm oregano yağı ile yıkanan iceberg marullarında gözlenen değişimler.

Hava akımı	Tutundurma süresi (dak.)	Marulun görsel olarak değerlendirilmesi		
		500 ppm oregano yağı ile yıkama süresi (dakika)		
		1	5	10
Açık	0	–	–	±
	15	–	–	+
	30	–	±	+
	60	–	±	+
	120	–	±	+
Kapalı	0	–	–	±
	30	–	±	+
	60	–	±	+
	120	–	±	+

- Marul dokusunda ve renginde herhangi bir değişim gözlenmemiştir.
- ± Marulun kesildiği yerlerde hafif kahverengileşme gözlenmiştir.
- + Marul dokusunda yumuşama ve renginde kahverengileşme gözlenmiştir.

Tutundurma süresi, dezenfektanların etkisinin belirlendiği çalışmalarda önemli bir faktördür. Meyve ve sebzelere inoküle edilen mikroorganizmaların yüzeylere tutunabilmesi için belirli bir sürenin

geçmesi gerekmektedir. Bu sürede inokulumun bulunduğu sıvı tamamen uzaklaşmalı, ancak kurutma ve diğer stres faktörlerinin etkisiyle patojen mikroorganizmanın canlılığını kaybetmesine veya zarar görmesine izin verilmemelidir. Yapılan bu çalışmada 0 – 2 saatlik tutundurma süreleri denenmiştir. Tutundurma süresi uzatıldığında ise, dezenfeksiyondan sonra depolama işlemi yapılacağı için, kesilmiş marullar su kaybetmekte ve depolama için uygun olmayan duruma gelmektedir. Ayrıca, bekletilen marulların baharat ekstraktlarına karşı daha hassas olduğu belirlenmiştir. İnokülasyon kabiniinde 30 dakika veya daha uzun süreyle bekletilen marullarda beş dakikalık yıkama işlemi sırasında marul renginde hafif kahverengileşme gözlenirken, inokülasyon işleminden hemen sonra yıkanan marullarda ise, beş dakikalık yıkama süresinde bozulma tespit edilmemiştir.

0 – 2 saat süreyle inokülasyon kabiniinde bekletilen marullara tutunan *Salmonella* spp. sayıları arasında farklılık tespit edilmemiştir. Iturriaga et al. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada da, S.Montevideo inoküle edilmiş domatesler, 1,5 veya 2 saatlik tutundurma sürelerinde bekletildiğinde, domateslere tutunan mikroorganizma sayıları arasında fark görülmemiştir. Daha uzun tutundurma süreleri ile kısa süreler karşılaştırıldığında ise tutunan mikroorganizma sayıları arasında farklar olduğu belirlenmiştir. Lang et al. (2004a) tarafından yapılan çalışmada, 1 saat süreyle inokulumun kurutulduğu domateslerin su ile yıkanması sonucunda, yıkama suyundaki sayı 24 saat tutundurmaya göre önemli düzeyde fazla bulunmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada, su ile 60 saniye yıkanan domateslerde, başlangıçta $5,16 \log \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde olan

Salmonella enteritidis sayısı 2,96 logaritmik birime düşmüştür (Deza et al., 2003). Mikroorganizma sayısındaki azalmanın bu kadar fazla olmasının nedeni ise tutundurma süresinin 15 dakika gibi kısa bir süre olmasından kaynaklandığı ortaya konmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada, elmalara *E.coli* inoküle edilmiş ve farklı bekletme sürelerinden sonra su ile yıkanmıştır. İnokülasyon işleminden sonra 30 dakika bekletilip yıkanan elmalardaki *E.coli* sayısı 0,94 log, 24 saat bekletilenlerde 0,67 log, 72 saat bekletilenlerde ise 0,02 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir (Sapers et al., 2000). Sapers and Jones (2006) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, domateslere *Salmonella* Montevideo ve *S.Baildon* inoküle edilip, domatesler 2 ve 24 saat sonra 20°C'de 2 dakika süreyle destile su ile yıkandığında mikroorganizma sayısındaki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuş olup, 2. saatte 1,11 log, 24. saatte ise 0,40 log kob/g düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Aynı koşullarda 200 ppm klor ile yıkanan domateslerdeki *Salmonella* sayıları 2. saatte 1,78 log, 24. saatte 1,34 logaritmik birim olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda 2 saat sonra yıkanan domateslerde bulunan mikrobiyal hücre sayısındaki azalmalar, 24 saate göre daha fazla bulunmuştur. İki saatlik bekletme işlemi, bulaşmanın yeni olduğu durumları, örneğin domateslere sanitasyon işleminden hemen önce, yıkama sularından gelen bulaşmaları temsil etmektedir. Tutundurma süresinin 24 saat olduğu denemelerde, bakterilerin domatesin sapının çıktığı kısımdan domatesin içine girmesi veya biyofilm oluşturması gibi nedenlerle, dezenfektanlara karşı daha dirençli hale geldiği belirtilmiştir.

4.6 Antimikrobiyal Maddelerin Farklı Marul Türleri Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

Oregano yağı iceberg marul dokusuna ve rengine zarar verdiği için, oreganonun farklı marul dokuları üzerindeki etkilerini kıyaslamak amacıyla yapılan analizlerde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Denemeler sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 350 ppm oregano veya 350 ppm oregano - % 4 sumak ekstraktı karışımları ile yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayılarının yıkama işlemi uygulanmayan marullara göre önemli düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,05$). 350 ppm oregano veya 350 ppm oregano - % 4 sumak ekstraktı karışımları ile yıkama işlemleri arasındaki fark yedikule ve kırmızı yapraklı marul türleri için önemli değilken, kıvırcık ve boston marulu türlerinde aradaki farkın önemli olduğu saptanmıştır. Kıvırcık marulları 350 ppm oregano ile 10 dakika yıkandığında sayıdaki azalma 1,81 logaritmik birim, sumak ve oragano karışımı ile aynı süre yıkandığında ise 2,50 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.16 Oregano ve oregano- sumak karışımının farklı marul türlerine inoküle edilmiş *Salmonella* spp. sayısı üzerine etkileri.

Marul Türü	Dezenfektan	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/g)			
		Yıkama öncesi	Yıkama Süreleri (dakika)		
			1	5	10
Yedi kule	350 ppm oregano	5,32 (0,23) _a	4,54 (0,18) _b	3,97 (0,04) _c	3,84 (0,36) _c
	350 ppm oregano + % 4 sumak	5,32 (0,23) _a	4,32 (0,23) _b	3,80 (0,06) _c	3,66 (0,09) _c
Kıvırcık	350 ppm oregano	5,32 (0,11) _a	4,10 (0,07) _d	3,64 (0,01) _e	3,51 (0,31) _f
	350 ppm oregano + % 4 sumak	5,32 (0,11) _a	3,86 (0,02) _g	3,30 (0,01) _h	2,82 (0,16) _i
Kırmızı yapraklı marul	350 ppm oregano	5,42 (0,01) _a	4,02 (0,01) _j	3,81 (0,16) _k	3,45 (0,11) _l
	350 ppm oregano + % 4 sumak	5,42 (0,01) _a	4,02 (0,01) _j	3,76 (0,04) _k	3,47 (0,21) _l
Boston	350 ppm oregano	5,60 (0,02) _a	4,55 (0,21) _m	4,24 (0,44) _{mn}	4,14 (0,01) _n
	350 ppm oregano + % 4 sumak	5,60 (0,02) _a	3,78 (0,04) _o	3,70 (0,10) _{pr}	3,14 (0,20) _r

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve iki tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

350 ppm oregano veya 350 ppm oregano - % 4 sumak ekstraktı karışımları ile farklı sürelerde yıkama işlemleri arasında farklılıklar olduğu ortaya konmuştur. Yedikule marullarında 1 dakika yıkama işleminin 5 dakika ve 10 dakikadan farklı olduğu, 5 ve 10 dakika yıkama işlemleri arasında ise fark olmadığı belirlenmiştir. Kıvırcık ve kırmızı yapraklı marullarda ise 1, 5 ve 10 dakikalar arasında istatistiksel açıdan fark olduğu, boston marullarında ise 1 dakika ile 5 dakika arasında ve 5 dakika ile 10 dakika arasında fark olmazken, 1 dakika ile 10 dakika arasında fark olduğu ortaya konmuştur.

350 ppm oregano ile 1, 5 ve 10 dakika yıkanan yedikule, kıvırcık ve boston marul türlerinde dokuda veya renkte bozulmalar tespit edilmemiştir (Çizelge 4.17). 350 ppm oregano yağı ile 1 ve 5 dakika yıkanan kırmızı yapraklı marullarda renkte değişim gözlenmezken, 10 dakika yıkananlarda ise hafif kahverengi kırmızı renk dönüşümü tespit edilmiştir. 350 ppm oregano ve % 4 sumak karışımı ile 1 ve 5 dakika yıkanan kırmızı yapraklı marulda renkte değişim gözlenmemiştir. Süre 10 dakikaya uzatıldığında ise kesilmiş kenarlarda hafif kırmızı renk oluşumu tespit edilmiştir. Boston marulları denenen diğer marul türlerine göre daha yumuşak olduğu için bir dakika yıkama süresinde bile sumağın kırmızı renginden etkilendiği, kesilmiş kenarlarda kırmızılaşma olduğu gözlenmiştir. 350 ppm oregano ve % 4 sumak karışımı ile yıkanan kıvırcık ve yedikule marullarında bir dakikada renk değişimi gözlenmezken, 5 dakika sonra kesilmiş kenarlarda kırmızı renk oluşumu saptanmıştır.

Çizelge 4.17 Oregano ve oregano-sumak karışımının farklı marul türleri üzerine etkilerinin görsel olarak değerlendirilmesi.

Marul Türü	Dezenfektan	Marul Dokusundaki Değişim		
		Yıkama Süreleri (dakika)		
		1	5	10
Yedikule	350 ppm oregano	–	–	–
	350 ppm oregano + %4 sumak	–	–*	±
Kıvırcık	350 ppm oregano	–	–	–
	350 ppm oregano + %4 sumak	–	–*	–*
Kırmızı yapraklı marul	350 ppm oregano	–	–	±
	350 ppm oregano + %4 sumak	–	–	–*
Boston	350 ppm oregano	–	–	–
	350 ppm oregano + %4 sumak	–*	–	±

– Renk değişimi yok

* Kesilmiş kenarlarda kırmızı renk oluşumu

± Hafif kahverengi- kırmızı renk dönüşümü

4.7 Sebzelerin Depolanması Sırasında *Salmonella* spp. Sayısındaki Değişmeler

4.7.1 Marulların depolanması

Iceberg marulları steril destile su, sumak ekstraktları (% 4 ve % 8) veya oregano yağı (100 ve 350 ppm) ile yıkanıp, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenildikten sonra 4°C’de veya 10°C’de 10 gün süreyle depolanmıştır. Depolama süresi boyunca *Salmonella* spp. (*Salmonella typhimurium* CDC G8430, *Salmonella typhimurium* CDC H3402, *Salmonella typhimurium* CDC H2662, *Salmonella typhimurium* DT 104 DF/U-S2380 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 13311) sayısındaki değişim incelenmiştir.

Steril destile su ile yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayılarındaki değişim Çizelge 4.18’de görülmektedir. Destile su ile 10 dakika yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayılarındaki azalma 0,78 logaritmik birim olarak belirlenmiş olup, yıkama öncesine göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalma sağlanmıştır. Depolama koşulları arasında fark belirlenmemiş olup, 3., 7. ve 10. günler yıkama öncesine göre istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur. Birinci gündeki *Salmonella* spp. sayıları yıkama sonrasına göre artış göstermiş, ancak üçüncü günden sonra sayılarda azalmalar tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.18 Su ile yıkanan marulların depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler.

Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	6,81 (0,52) _a	6,81 (0,52) _a	6,81 (0,52) _a	6,81 (0,52) _a
0. Gün	6,03 (0,54) _b	6,03 (0,54) _b	6,03 (0,54) _b	6,03 (0,54) _b
1. Gün	6,47 (0,32) _{ac}	6,66 (0,16) _{ac}	6,58 (0,40) _{ac}	6,72 (0,35) _{ac}
3. Gün	5,85 (0,79) _{be}	6,00 (0,49) _{be}	5,79 (0,30) _{be}	5,89 (0,88) _{be}
7. Gün	5,86 (1,16) _{bce}	5,90 (1,34) _{bce}	5,96 (0,75) _{bce}	5,58 (1,24) _{bce}
10. Gün	5,64 (0,94) _e	5,47 (0,97) _e	5,30 (1,25) _e	5,62 (0,84) _e

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

% 4 ve % 8 sumak ile yıkama ve depolama işlemleri sonucunda *Salmonella* spp. sayılarındaki değişim Çizelge 4.19’da verilmiştir. % 4 sumak ile yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayısı 0,67 log kob/g düzeyinde azalmıştır. % 4 sumak veya destile su (Bkz. Çizelge 4.18) ile yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayısındaki azalmalar birbirine çok yakın olduğundan, % 4 sumak ekstraktının sudan farklı olmadığına karar verilmiş ve % 4 sumak ile üç tekerrür yapılmamıştır.

% 8 sumak ekstraktı ile 10 dakika yıkanıp, 1 dakika süreyle destile su ile durulanan marullardaki *Salmonella* spp. sayısı yıkama öncesine göre 1,66 logaritmik birim azalmıştır. % 8 sumak ile yıkanan marullardaki *Salmonella* spp. sayısındaki azalma, destile su ile (Bkz. Çizelge 4.18) karşılaştırıldığında, istatistiksel analizlerde önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Depolama süresince sayılarda azalmalar tespit edilmiş, ancak yapılan istatistiksel analizler sonucunda depolamanın 0. günü ile 10. günü arasındaki farklılık anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). % 8 sumak ekstraktı mikroorganizma sayısında önemli düzeyde azalmalara neden olmuş, ancak renk marul dokularının özellikle kesilmiş bölümlerinde ve çok ince olan kısımlarında kırmızı kahverengiye dönüşmüştür. Bu nedenle sumak ekstraktının marullara depolama öncesi değil de, servisten 10 dakika önce sos olarak kullanılması önerilmektedir.

Çizelge 4.19 Sumak ekstraktı ile yıkanan marulların depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler.

Sumak konsantrasyonu	Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı (log kob/g)			
		4°C		10°C	
		Hava	MAP	Hava	MAP
% 4 ¹	Yıkama öncesi	6,25	6,25	6,25	6,25
	0. Gün	5,58	5,58	5,58	5,58
	1. Gün	5,79	6,14	5,81	6,07
	3. Gün	6,18	6,19	6,51	6,24
	7. Gün	6,74	4,92	5,86	6,60
	10. Gün	6,96	6,24	5,72	6,43
% 8 ²	Yıkama öncesi	7,78 (0,82)a	7,78 (0,82)a	7,78 (0,82)a	7,78 (0,82)a
	0. Gün	6,12 (1,10)bc	6,12 (1,10)bc	6,12 (1,10)bc	6,12 (1,10)bc
	1. Gün	6,51 (1,00)b	6,14 (0,63)b	5,98 (0,63)b	6,04 (0,63)b
	3. Gün	5,89 (0,64)bc	5,74 (0,83)bc	6,03 (0,75)bc	5,49 (1,76)bc
	7. Gün	5,56 (0,87)bc	5,70 (0,50)bc	6,04 (0,76)bc	5,98 (1,31)bc
	10. Gün	5,81c	5,41c	5,68c	5,90c

¹ Üç tekerrür yapılmadığı için istatistiksel analiz uygulanmamıştır.

² Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

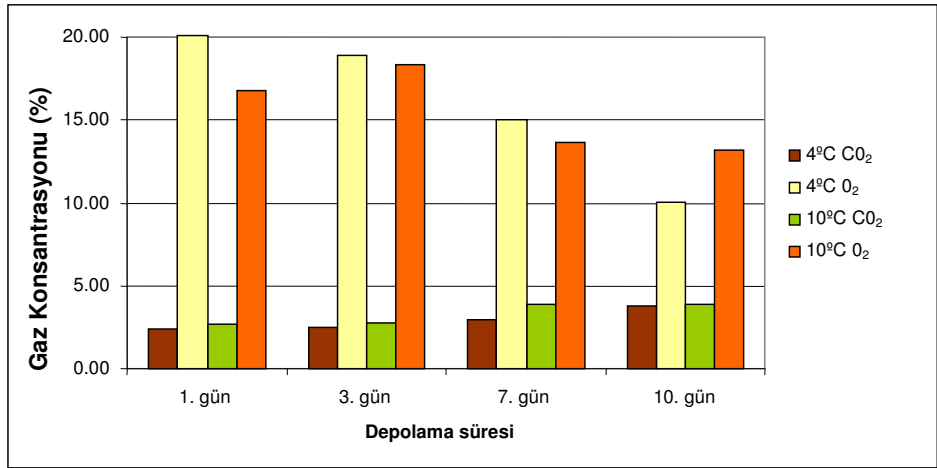
100 ppm ve 350 ppm oregano yağı ile yıkanan marulardaki *Salmonella* spp. sayıları yıkama öncesine göre sırasıyla 1,51 log kob/g ve 1,84 log kob/g düzeyinde azalmıştır (Çizelge 4.20). 100 ppm oregano ile yıkanan marullarda depolamanın 1. gününden başlayarak 7. güne kadar sayılarda artışlar, depolamanın 10. gününde azalmalar tespit edilmiştir. 350 ppm oregano ile yıkanan marullarda ise 3. günden başlayarak sayılarda azalmalar görölmüştür.

Çizelge 4.20 Oregano yağı ile yıkanan marulların depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler.

Oregano konsantrasyonu	Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/g)			
		4°C		10°C	
		Hava	MAP	Hava	MAP
100 ppm	Yıkama öncesi	7,02	7,02	7,02	7,02
	0. Gün	5,51	5,51	5,51	5,51
	1. Gün	6,40	6,29	6,38	6,09
	3. Gün	6,06	6,11	7,06	6,18
	7. Gün	6,45	5,94	6,50	6,33
	10. Gün	5,38	3,70	5,36	4,51
350 ppm	Yıkama öncesi	5,67	5,67	5,67	5,67
	0. Gün	3,83	3,83	3,83	3,83
	1. Gün	4,73	3,84	4,98	4,61
	3. Gün	4,92	4,45	4,47	4,17
	7. Gün	4,08	3,44	4,21	3,18
	10. Gün	3,59	3,24	4,11	2,90

¹ Üç tekrür yapılmadığı için istatistiksel analiz uygulanmamıştır.

Pasif modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenip, 4°C ve 10°C’de depolanan marullardaki *Salmonella* spp. sayılarındaki farklılık istatistiksel analizlerde anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Pasif modifiye atmosfer koşullarında paket içerisindeki gaz kompozisyonu Şekil 4.1’de verilmiştir. Depolama süresince karbondioksit konsantrasyonunun arttığı, oksijen konsantrasyonunun ise azaldığı tespit edilmiştir. 10 günlük depolama süresinde karbondioksit oranının % 4’e yükseldiği, oksijen oranının ise en fazla % 10’a düştüğü tespit edilmiştir.



Şekil 4.1 Pasif modifiye atmosferde paketlenen marulların paket içerisindeki gaz kompozisyonu.

Pasif olarak modifiye atmosferde paketlenen ürünlerde oksijen tüketilmekte ve solunum sonucu karbondioksit açığa çıkmaktadır. Paket içerisindeki gaz kompozisyonu filmin geçirgenliğine, yüzey alanına,

depolama sıcaklığına ve ürünün solunum aktivitesine bağlı olarak değişmektedir. Düşük oksijen seviyelerinin enzimatik esmerleşmenin azaltılmasında faydalı olduğu düşünülmektedir ve bu koşullar pasif olarak canlı dokuların solunumu ile sağlanabilmektedir. Düşük oksijen (~ % 3-5) ve yüksek karbondioksit (~ % 5-10) ile sağlanan modifiye atmosferde paketlenen kesilmiş marulların raf ömrü uzatılmakta, görsel bozulma ve kahverengileşme azaltılmaktadır (Baur et al., 2004).

Karbondioksitin mikroorganizmalar üzerindeki inhibitif etkisi mikroorganizmanın türüne göre farklılık göstermektedir. *Pseudomonas* gibi aerobik bakteriler orta düzeylerdeki karbondioksit (% 10 - 20) konsantrasyonlarında inaktif hale gelebilirken, laktik asit bakterilerinin gelişimi bu koşullarda teşvik edilmektedir. *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* ve *Listeria monocytogenes*'in gelişimi % 50'nin altındaki karbondioksit konsantrasyonlarında en az düzeyde etkilenmektedir. Bozulmaya neden olan mikroorganizmaların inhibe edilmesiyle birlikte, yüksek karbondioksit konsantrasyonlarından daha az etkilenen mikroorganizmaların hakim florayı oluşturması nedeniyle, tüketilebilir görünümlü ürünlerin aslında sağlık açısından riskli olabileceği kaygıları vardır (Phillips, 1996; Daş et al., 2006). Amanatidou et al. (1999) yaptıkları çalışma ile % 10 karbondioksit konsantrasyonlarında *Salmonella typhimurium*, *L.monocytogenes*, *E.coli* ve laktik asit bakterilerinin üremelerinin etkilenmediğini veya üremelerinin teşvik edildiğini ortaya koymuşlardır.

Minimal işlem görmüş sebzeler için modifiye atmosferde paketlenme ve düşük sıcaklıklarda depolama işlemleri en çok kullanılan saklama teknikleridir. Her iki yöntem de sebzelerin solunum hızını azaltarak, ürünlerin raf ömrünü uzatmaktadır. Mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde ise modifiye atmosferde paketlenmenin mikroorganizmaların üremesi üzerine etkileri tutarlı olmamakta, mikroorganizmaların gelişimi üzerine gaz kompozisyonundan çok depolama sıcaklığının etkili olduğu belirtilmektedir (Zagory, 1999). Yapılan bir çalışmada, doğranmış iceberg marullarına *Listeria monocytogenes* inoküle edilip modifiye atmosferde paketlenenlerden sonra, 4°C’de ve 8°C’de depolanmıştır. 8°C’de 12 gün depolanan marullardaki *L.monocytogenes* sayısı 1,5 logaritmik birim artmış, 4°C’de depolananlarda ise sayıda değişim tespit edilmemiştir (Francis and O’Beirne, 2001). Yapılan diğer bir çalışmada doğranmış iceberg marullarına *Salmonella* Typhimurium ve *Escherichia coli* O157:H7 inoküle edilerek 4°C ve 22°C’de depolanmıştır. 4°C’de depolanan marullarda 14. günde *S.Typhimurium* sayısı 1,1 log, *E.coli* O157:H7 sayısı 1,39 log azalmıştır. 22°C’de depolanan marullarda ise 3. günde marulların bozulduğu, *S.Typhimurium* ve *E.coli* O157:H7 sayılarının sırası ile 2,86 log ve 2,71 log arttığı tespit edilmiştir (Chang and Fang, 2007). Yapılan bu çalışmaya benzer bir çalışmada, *E.coli* O157:H7 inoküle edilmiş marullar, 5°C ve 12°C’de modifiye atmosferde paketlenerek 14 gün depolanmıştır. 5°C’de depolanan marullardaki *E.coli* O157:H7 sayısı 0,46 log kob/g düzeyinde azalmış, 12°C’de depolananlarda ise 2,40 logaritmik birim artmış olup, atmosfer koşullarında veya modifiye atmosferde paketlenme işlemleri arasında

önemli bir fark olmadığı ortaya konmuştur (Abdul-Raouf et al., 1993). Lahanalara *Salmonella hadar* inoküle edildikten sonra, modifiye atmosferde paketlenmiş, 4°C ve 12°C’de 10 gün depolanmıştır. *S.hadar* sayıları 4°C’de başlangıç sayısından farklı bulunmazken, 12°C’de depolanarlarda ise 10⁴’ten 10⁸’e yükselmiştir (Piagentini et al., 1997).

Yapılan bu tez çalışmasında ise % 8 sumak ile yıkandıktan sonra modifiye atmosferde paketlenip 4°C’de 10 gün depolanan marullardaki *Salmonella* spp. sayıları 0,71 log, 10°C’de depolanarlarda ise 0,22 log azaldığı tespit edilmiştir. 4°C’de ve 10°C’de depolanan marullardaki mikroorganizma sayılarındaki azalmalar arasındaki farklar istatistiksel analizlerde anlamlı bulunmamıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların literatürdeki verilerle uyumlu olduğu tespit edilmiş olup, modifiye atmosferde paketlenme işlemlerinin mikroorganizmaların inaktivasyonunda tek başına etkili olmadığı ortaya konmuştur.

4.7.2 Domateslerin depolanması

Domatesler steril destile su, sumak ekstraktı (% 4 ve % 8) veya oregano yağı (350, 500, 750 ve 1000 ppm) ile yıkandıktan sonra modifiye atmosferde ve açık hava koşullarında paketlenip, 4°C ve 10°C sıcaklıklarda depolanarak *Salmonella* spp. (*S.typhimurium* ATCC 13311, *S.typhimurium* CCM 583, *S.typhimurium* CCM 5445, *S.montevideo* NCTC 5747 ve *S.dublin* NCTC 9676) sayısındaki değişim incelenmiştir.

Kontrol amaçlı olarak destile su ile yıkanan, modifiye atmosferde ve açık hava koşullarında 4°C ve 10°C’de depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayılarındaki değişim Çizelge 4.21’de verilmiştir. Su ile yıkanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları 0,55 logaritmik birim azalmış olup, bu azalma istatistiksel analizlerde anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Açık ve modifiye atmosfer koşullarında paketlenme işlemleri arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). On günlük depolama süresinde, her iki sıcaklıkta da depolanan domateslerdeki mikroorganizma sayılarında azalmalar tespit edilmiş olup, 4°C’de depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları 10°C’ye göre daha az bulunmuştur ($p<0,05$). 4°C’de depolanan domateslerde farklı günlerde bulunan *Salmonella* spp. sayıları istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. 10 gün boyunca sayım alınan günlerin tamamı yıkama öncesi sayılardan, 0. gün 3. günden, 3. gün 7. günden, 10. gün 0., 1. ve 3. günlerden farklı bulunmuştur ($p<0,05$). 10°C’de depolanan domateslerde 7. gün ve 10. gün arasında farklılık görülmüş ($p<0,05$), ancak sayım alınan bütün günler 0. günden farklı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.21 Destile su ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler

Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	5,80 (0,19)a	5,80 (0,19)a	5,80 (0,19)a	5,80 (0,19)a
0. Gün	5,25 (0,30)bcd	5,25 (0,30)bcd	5,25 (0,30)bc	5,25 (0,30)bc
1. Gün	5,20 (0,55)de	4,93 (0,57)de	5,09 (0,76)abc	5,32 (0,27)abc
3. Gün	4,69 (0,34)ef	4,82 (0,40)ef	4,95 (0,66)bc	4,81 (0,72)bc
7. Gün	4,20 (0,87)fg	4,23 (0,95)fg	4,78 (0,76)b	4,81 (0,51)b
10. Gün	4,22 (0,85)g	2,35 (2,04)g	5,40 (0,79)c	4,66 (0,62)c

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

% 4 ve % 8 sumak ekstraktları ile yıkama işlemleri öncesi, yıkama sonrası ve depolama işlemleri sırasında *Salmonella* spp. sayılarındaki değişim Çizelge 4.22'de verilmiştir. % 4 veya % 8 sumakla yıkanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayısı yıkama öncesine göre sırasıyla 4,04 veya 4,90 logaritmik birim azalmıştır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda % 4 ve % 8 sumak ekstraktları arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Depolama süreleri arasındaki ilişki istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). % 4 ve % 8 sumak ekstraktı ile yıkanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayısı istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalma göstermiş olup, depolama süresi boyunca belirlenen *Salmonella* spp. sayıları yıkama öncesine göre daha düşük çıkmıştır ($p<0,05$).

Modifiye atmosferde ve açık hava koşullarında paketlenen domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 4°C'de depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları 10°C'de depolananlara göre daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). % 4 sumak ekstraktı ile yıkayıp 4°C'de depolama süresi boyunca 1. gün ve 3. gün arasında fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). % 4 sumak ile yıkayıp 10°C'de depolanan ve % 8 sumak ile yıkayıp 4°C ve 10°C sıcaklıklarda depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları depolama süresi boyunca 0. günden istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.22 Sumak ekstraktları ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler.

Sumak konsantrasyonu	Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/domates)			
		4°C		10°C	
		Hava	MAP	Hava	MAP
% 4	Yıkama öncesi	5,78 (0,53) _a	5,78 (0,53) _a	5,78 (0,53) _a	5,78 (0,53) _a
	0. Gün	1,74(1,50) _{bcde}	1,74(1,50) _{bcde}	1,74 (1,50) _b	1,74 (1,50) _b
	1. Gün	0,97 (1,68) _{ce}	2,55 (0,26) _{ce}	0,75 (1,30) _b	2,13 (1,88) _b
	3. Gün	3,43 (1,03) _d	2,97 (0,64) _d	1,10 (1,91) _b	1,80 (1,60) _b
	7. Gün	3,19 (0,36) _{cd}	2,31 (0,10) _{cd}	2,34 (2,08) _b	1,64 (2,84) _b
	10. Gün	1,84 (1,67) _e	0,65 (1,13) _e	2,87 (2,49) _b	2,02 (1,92) _b
% 8	Yıkama öncesi	5,78 (0,53) _a	5,78 (0,53) _a	5,78 (0,53) _a	5,78 (0,53) _a
	0. Gün	0,88 (1,53) _g	0,88 (1,53) _g	0,88 (1,53) _{gf}	0,88 (1,53) _{gf}
	1. Gün	0,00 (0,00) _g	0,00 (0,00) _g	0,00 (0,00) _f	1,70 (1,50) _f
	3. Gün	1,12 (1,94) _g	0,00 (0,00) _g	0,00 (0,00) _f	0,00 (0,00) _f
	7. Gün	1,74 (1,64) _g	0,00 (0,00) _g	0,00 (0,00) _f	0,00 (0,00) _f
	10. Gün	0,00 (0,00) _g	0,91 (1,58) _g	3,21 (2,80) _f	0,00 (0,00) _f

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Domateslerin 350 ppm, 500 ppm, 750 ppm ve 1000 ppm oregano yağı ile yıkanması sonucunda *Salmonella* spp. sayıları ve 10 günlük depolama periyodundaki mikroorganizma sayısındaki değişim Çizelge 4.23'te verilmiştir. 350 ppm, 500 ppm, 750 ppm ve 1000 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları, yıkama öncesine göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalmıştır ($p<0,05$). Oregano yağı konsantrasyonlarının domatesteki *Salmonella* spp. sayıları üzerine etkileri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenen domateslerdeki *Salmonella* spp. sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 10°C'de depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayılarının, 4°C'de depolananlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.23 Oregano yağları ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler.

Oregano konsantrasyonu	Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/domates)			
		4°C		10°C	
		Hava	MAP	Hava	MAP
350 ppm	Yıkama öncesi	6,08 (0,22)a	6,08 (0,22)a	6,08 (0,22)a	6,08 (0,22)a
	0. Gün	4,25 (1,12)b	4,25 (1,12)b	4,25 (1,12)bc	4,25 (1,12)bc
	1. Gün	5,10 (0,18)b	4,14 (0,71)b	3,62 (3,13)ac	3,59 (3,12)ac
	3. Gün	4,28 (0,92)b	3,13 (2,74)b	5,14 (1,50)ac	4,42 (2,14)ac
	7. Gün	3,15 (2,81)b	2,84 (2,46)b	5,18 (0,74)ac	3,81 (3,35)ac
	10. Gün	3,14 (2,72)b	3,41 (0,88)b	3,45 (3,11)ac	3,59 (3,14)ac
500 ppm	Yıkama öncesi	5,80 (0,19)a	5,80 (0,19)a	5,80 (0,19)a	5,80 (0,19)ac
	0. Gün	4,15 (0,70)di	4,15 (0,70)di	4,15 (0,70)gi	4,15 (0,70)gi
	1. Gün	4,06 (0,03)def	4,08 (0,37)def	4,70 (0,22)h	4,55 (0,73)h
	3. Gün	3,46 (1,39)de	3,51 (0,58)de	3,96 (1,06)h	5,16 (0,63)h
	7. Gün	3,33 (1,09)e	3,45 (0,87)e	3,94 (1,70)gh	4,54 (0,41)gh
	10. Gün	2,12 (2,06)f	1,29 (2,24)f	4,67 (0,54)gh	4,66 (1,09)gh

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Çizelge 4.23 Oregano yağları ile yıkanan domateslerin depolanması sırasında *Salmonella* spp. sayısındaki değişimler (Devam ediyor).

Oregano konsantrasyonu	Depolama süresi	<i>Salmonella</i> spp. sayısı ¹ (log kob/domates)			
		4°C		10°C	
		Hava	MAP	Hava	MAP
750 ppm	Yıkama öncesi	5,85 (0,15) _a	5,85 (0,15) _a	5,85 (0,15) _a	5,85 (0,15) _a
	0. Gün	3,94 (0,44) _{kj}	3,94 (0,44) _{kj}	3,94 (0,44) _{kj}	3,94 (0,44) _{kj}
	1. Gün	3,60 (0,43) _{kl}	2,73 (2,37) _{kl}	4,53 (0,24) _j	4,79 (0,26) _j
	3. Gün	3,54 (0,25) _{kl}	3,75 (0,26) _{kl}	5,15 (0,30) _{aj}	4,49 (1,55) _{aj}
	7. Gün	2,65 (0,70) _l	1,67 (1,55) _l	4,86 (0,46) _j	4,00 (1,46) _j
	10. Gün	2,51 (0,97) _{kl}	2,90 (0,53) _{kl}	5,63 (0,30) _{aj}	4,37 (1,41) _{aj}
1000 ppm	Yıkama öncesi	5,85 (0,15) _a	5,85 (0,15) _a	5,85 (0,15) _a	5,85 (0,15) _a
	0. Gün	0,75 (1,30) _{mo}	0,75 (1,30) _{mo}	0,75 (1,30) _{mo}	0,75 (1,30) _{mo}
	1. Gün	2,80 (0,73) _n	3,54 (0,72) _n	4,30 (0,48) _{op}	2,46 (2,26) _{op}
	3. Gün	2,05 (1,82) _{mn}	2,45 (0,56) _{mn}	3,18 (2,77) _p	3,73 (0,23) _p
	7. Gün	1,72 (1,53) _{mn}	0,93 (1,62) _{mn}	5,32 (0,74) _p	4,93 (1,20) _p
	10. Gün	1,03 (1,79) _m	2,11 (0,28) _m	3,98 (3,48) _{ap}	4,36 (1,24) _{ap}

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrerrün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

350 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayısı yıkama öncesine göre 1,83 logaritmik birim azalmış olup ($p<0,05$), 4°C'de modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında depolama sırasında 10 gün boyunca *Salmonella* spp. sayısındaki değişim istatistiksel açıdan farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). 350 ppm oregano yağı ile yıkanıp 10°C'de depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayısında yıkama öncesine göre istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalma ($p<0,05$) görülmesine rağmen, depolama süresinin 1. gününden itibaren *Salmonella* spp. sayıları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

500 ppm oregano yağının *Salmonella* spp. sayısını 1,65 logaritmik birim azalttığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). 10°C'de depolanan domateslerde 0. günden başlayarak sayılarda önemli düzeyde artış gözlenmiş ve depolamanın 10. günü ile 0. günü arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 4°C'de depolanan domateslerde ise *Salmonella* spp. sayısı 1. ve 3. günlerde 0. güne göre farklı bulunmamış, 7. ve 10. günlerdeki *Salmonella* spp. sayıları 0. güne göre daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayısı 1,91 logaritmik birim azalmıştır ($p<0,05$). 10°C'de depolanan domateslerde, depolamanın 3. ve 10. günlerinde mikroorganizma sayısında artış gözlenmiş, yapılan istatistiksel analizde 3. ve 10. günlerde elde edilen *Salmonella* spp. sayıları yıkama öncesinden farklı bulunmamıştır ($p<0,05$). 4°C'de depolanan domateslerde ise 10 gün

boyunca *Salmonella* spp. sayısında azalmalar tespit edilmiş, analiz yapılan günlerde mikroorganizma sayısı yıkama öncesine göre farklı bulunmuştur ($p<0,05$).

Salmonella spp. sayısındaki azalmanın en fazla olduğu 1000 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki mikroorganizma sayısındaki azalma 5,10 logaritmik birim olarak belirlenmiştir ($p<0,05$). Depolama süresi boyunca *Salmonella* spp. sayısında artış gözlenmesine rağmen, 4°C’de depolanan domateslerden elde edilen sonuçlar istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde yıkama sonrasına göre sayılarda farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). 10°C’de depolanan domateslerde, depolamanın 3. gününden itibaren elde edilen değerler ile depolamanın başlangıcındaki sayılar karşılaştırıldığında, aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). 10. gündeki *Salmonella* spp. sayısı ise yıkama öncesinden farklı bulunmamıştır ($p>0,05$). 1000 ppm oregano yağı *Salmonella* spp. sayısında çok yüksek seviyelerde azalma sağlamasına rağmen, domates yüzeylerine temas ettiği yerlerde renkte açılmalar olduğu tespit edilmiştir. Dolayısı ile 1000 ppm oregano yağının domatesin paketlenmesi ve depolanması için uygun olmadığı saptanmıştır. 1000 ppm oregano yağının salata soslarına ilavesinin uygulama açısından daha kullanışlı olacağı ortaya çıkmaktadır. Paketleme ve depolama işlemleri uygulanacak domatesler için ise, domates dokusunda herhangi bir değişikliğe yol açmayan ve mikroorganizma sayısında önemli düzeyde azalma sağlayan 750 ppm oregano yağının kullanılması önerilmektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında elde edilen bulgular konu ile ilgili diğer çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada pasif modifiye atmosferde depolanan küçük domateslerde % 6 oksijen ve % 4 karbondioksit koşulları sağlanmıştır. Düşük inokulum dozlarında (3 log kob/domates) küçük domateslere *Salmonella* Enteritidis inoküle edilip, atmosfer koşullarında 7°C ve 22°C'de depolandığında depolamanın sırasıyla 6. ve 8. günlerinde, modifiye atmosferde paketlenildiğinde ise depolama sıcaklığı önemli olmaksızın, depolamanın 4. gününde *S. Enteritidis*'in inaktif hale geldiği tespit edilmiştir. Yüksek inokulum (7 log kob/domates) dozlarında ise 7°C'de 20 gün atmosfer koşullarında depolanan domateslerde *S. Enteritidis* sayısında 4,5 log, modifiye atmosferde paketlenen domateslerde 5,0 log kob/domates düzeyinde azalmalar tespit edilmiştir. Bu durumda, yüksek inokulum dozlarında modifiye atmosferde ve normal atmosfer koşullarında paketlenme arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Modifiye atmosferde paketlenen taze sebzelerde *S. Enteritidis*'in canlılığını sürdürebileceği ve modifiye atmosferde paketlenmenin bu mikroorganizma üzerine inhibitif etkisinin olmadığı ortaya konmuştur (Daş et al., 2006).

Salmonella bairdii inoküle edilen dilimlenmiş domatesler (3.86 log kob/g) 120 veya 200 ppm klor ile 40 saniye yıkandığında, *S. bairdii* sayısındaki azalmanın 1 logaritmik birimden daha az olduğu belirtilmiştir. Domatesler 4°C'de 12 gün depolandığında sayı 1,37 logaritmik birim azalmıştır (Weissinger et al., 2000). Domateslere 6,50 logaritmik birim düzeyinde inoküle edilen *Salmonella* Montevideo

hücreleri % 100 bağıl nemde 37°C'de 2 gün depolandığında mikroorganizma sayısı 6,76 logaritmik birime yükselmiştir (Rathinasabapathi, 2004).

Dilimlenmiş domateslere *Salmonella* Enteritidis inoküle edilip, peynir, soğan ve yeşil biber karışımından oluşan bir salata hazırlanmış ve pasif modifiye atmosferde veya paket içerisine % 5 karbondioksit ve % 95 azot karışımı verilerek paketlenmiştir. Her iki koşulda paketlenen salatalar 4°C'de 19 gün, 10°C'de 9 gün depolanmıştır. 4°C'de depolanan salatalardaki domateslerde bulunan *S. Enteritidis* sayısında azalmalar görülürken, 10°C'de depolananlarda sayıda artış tespit edilmiştir. 10°C'de 9 gün depolanan salatalardaki domateslerde bulunan *S. Enteritidis* sayısında her iki paketlenme koşulunda da yaklaşık 1 logaritmik birim artış belirlenmiştir (Drosinos et al., 2000).

Yapılan diğer bir çalışmada, *Salmonella* Montevideo inoküle edilip 10°C'de depolanan domateslerdeki mikroorganizma sayısı 18 günlük depolama süresinde 1 logaritmik birimden daha az arttığı ortaya konmuştur. 30°C'de depolananlarda ise *S. Montevideo* sayısı 5 logaritmik birimin üzerine çıkmış olup, yaklaşık 4 logaritmik birim artmıştır. 10°C, 20°C ve 30°C'de depolanan domateslerdeki mikroorganizma sayısı 7. günden sonra azalma eğilimi göstermiştir. Küp şeklinde kesilmiş domatesler 5°C'de 9 gün depolandığında *S. Montevideo* sayısı sabit kalmıştır. 20°C ve 30°C'de depolananlarda 22. saatte sayı 8 logaritmik birimin üzerine çıkmıştır. Uygulanan duyuşal testlerde ise 20°C ve

30°C’de depolanan domateslerin 22 saatte, 5°C’de depolananların ise 96 saat sonra tüketilemez duruma geldiği saptanmıştır (Zhuang et al., 1995).

Oregano yağı ilave edildikten sonra modifiye atmosferde 5°C’de depolanan etlerdeki *Salmonella typhimurium* sayısı 3,69 logaritmik birimden modifiye atmosfer koşullarında 4,01 log kob/g’a, atmosfer koşullarında paketlenenlerde ise 4,59 logaritmik birime yükselmiştir (Skandamis et al., 2002).

Denemelerde kullanılan kültürlerin farklı olması, tutundurma süreleri arasındaki farklar, işlem koşulları, mikroorganizmaları geri kazanım metotlarındaki (çalkalama, ovuşturma, karıştırma) farklılıklar gibi nedenlerle bir çalışmada elde edilen sonuçları diğer çalışma sonuçları ile kıyaslamak oldukça zor olmakla birlikte, bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara genel olarak bakılacak olursa, modifiye atmosferde paketlemenin mikroorganizma sayılarını azaltmakta etkin bir faktör olmadığı ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, 4°C’de ve 10°C’de depolama sırasında mikroorganizma sayıları arasında fark olduğu ve 10°C’de depolanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayılarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, bu tür ürünlerin 4°C’de depolanması uygun olacaktır.

4.8 Sebzelerin Depolanması Sırasında Doğal Mikrofloradaki Değişmeler

4.8.1 Marulların depolanması sırasında mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişim

Kontrol örnekleri olarak steril destile su, % 4 sumak ekstraktı veya 500 ppm oregano yağı ile yıkanarak modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenerek, 4°C’de veya 10°C’de depolanan iceberg marullarındaki mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişim incelenmiştir. Marullar çeşme suyu altında yıkanıp kurulandıktan sonra mezofilik aerobik bakteri sayıları 4,5 - 6,4 logaritmik birim düzeyinde bulunmuştur. Kontrol amaçlı olarak steril destile su ile yıkanan, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında 4°C veya 10°C’de depolanan marullardaki mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişim Çizelge 4.24’te verilmiştir. Yıkama sonrasında marullardaki mezofilik aerobik bakteri sayıları 0,70 logaritmik birim azalmış olup, bu azalma istatistiksel analizlerde anlamlı bulunmuştur. Su ile yıkanan marullarda depolamanın birinci gününde sayıda 0,27 – 1,04 aralığında artış gözlenmiş olup, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 1. günde elde edilen sayılar ile yıkama öncesi sayı arasındaki farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$). Depolama süresince 3. gün, 7. gün ve 10. günlerde sayıda artış görülmüş ve belirtilen günlerde elde edilen sayılar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Mikroorganizma sayısı 10. günde 9,50 log kob/g düzeyinin üzerine çıkmıştır. Modifiye atmosferde veya açık koşullarda paketlenen ve farklı sıcaklıklarda depolanan marullardaki mezofilik

aerobik bakteri sayıları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.24 Steril destile su ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Mezofilik aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	5,50 (0,89) _a	5,50 (0,89) _a	5,50 (0,89) _a	5,50 (0,89) _a
0. Gün	4,80 (0,75) _b	4,80 (0,75) _b	4,80 (0,75) _b	4,80 (0,75) _b
1. Gün	5,54 (1,64) _a	5,07 (1,21) _a	5,84 (1,19) _a	5,29 (0,62) _a
3. Gün	7,08 (1,10) _c	6,82 (0,74) _c	7,47 (0,93) _c	7,08 (0,81) _c
7. Gün	8,83 (1,04) _d	8,47 (0,97) _d	8,82 (1,01) _d	8,44 (0,77) _d
10. Gün	9,67 (0,88) _e	9,53 (0,79) _e	9,81 (0,88) _e	9,57 (0,93) _e

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

% 4 sumak ile 10 dakika yıkanan ve ardından 1 dakika süreyle steril destile su ile yıkayıp suyu uzaklaştırılan marullardaki mezofilik aerobik bakteri sayısı 0,86 logaritmik birim azalmıştır (Çizelge 4.25). Kontrol örnekleri olarak aynı deneme su ile tekrarlandığında ise 0,70 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir. Dolayısıyla % 4'lük sumanın sudan çok farklı olmadığı sonucuna varılmıştır. % 4 sumak ile yıkanan

marullarda depolamanın birinci günü genel olarak sayıda 0,3 – 0,5 logaritmik birim azalma tespit edilmiş, ancak depolamanın devam eden günlerinde sayılarda artış görülmüş ve depolamanın son gününde sayı ortalama 9,50 logaritmik birime yükselmiştir. % 8 sumak ekstraktı ise marul renginin bozulmasına neden olduğu için doğal mikroflora denemelerinde kullanılmamıştır.

Çizelge 4.25 % 4 Sumak ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Mezofilik aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	4,48	4,48	4,48	4,48
0. Gün	3,62	3,62	3,62	3,62
1. Gün	5,45	3,10	3,35	3,11
3. Gün	6,37	5,92	5,93	4,92
7. Gün	8,19	8,42	8,40	7,74
10. Gün	9,52	9,50	9,69	9,26

¹ Üç tekerrür yapılmadığı için istatistiksel analizler uygulanmamıştır.

500 ppm oregano yağı ile yıkanan marullardaki mezofilik aerobik bakteri sayıları yıkama öncesi ile karşılaştırıldığında 2,02 logaritmik birim azalmıştır (Çizelge 4.26). Ancak, depolamanın 1. gününden itibaren sayılarda artış gözlenmiş ve 7. günde mikroorganizma sayıları

8,28 logaritmik birimi aşmış, marullar tüketilmeyecek kadar bozulmuş ve 10. günde mikroorganizma sayısı tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.26 500 ppm oregano yağı ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Mezofilik aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	6,37	6,37	6,37	6,37
0. Gün	4,35	4,35	4,35	4,35
1. Gün	5,68	5,30	6,39	4,52
3. Gün	7,20	6,67	7,57	6,57
7. Gün	8,46	8,29	9,11	8,28

¹ Üç tekrerrür yapılmadığı için istatistiksel analizler uygulanmamıştır.

Yapılan bu çalışmada başlangıçta iceberg marullarında mezofilik bakteri sayılarının 4,5 – 6,4 kob/g düzeyinde olduğu tespit edilmiş olup, elde edilen veriler literatürdeki verilerle uyumludur. Marketlerde satışa sunulan çiğ olarak tüketilen salata sebzelerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlendiği bir çalışmada, iceberg marullarının dış yapraklarında bulunan toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 3,3 - 6,9 log kob/g, iç yapraklarının ise 0,0 – 5,4 log kob/g aralığında olduğu tespit edilmiştir (Aycicek et al., 2006). Marulun dış yapraklarındaki sayı iç yapraklarına

göre 1 - 2 logaritmik birim daha fazladır. Marullar kesildikten sonra aerobik mezofilik mikroorganizma sayıları 4,5 - 5,5 log kob/g düzeyinde bulunmuştur (Baur et al., 2004). Carrasco et al. (2008), marketlerde satılan, tüketilmeye hazır, paketlenmiş marullardaki mezofilik bakteri sayılarının 5,1 – 6,4 kob/g düzeyinde olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada ise, marketlerde satılan tüketime hazır paketlenmiş marul örneklerinden 120 örnek alınıp aerobik mezofilik bakteri analizleri yapılmıştır. Örneklerin 3,0 - 9,0 log kob/g düzeyinde aerobik mezofilik bakteri içerdiği, örneklerin % 76'sında bulunan aerobik mezofilik bakteri sayılarının 5,0 – 7,0 log kob/g aralığında olduğu tespit edilmiştir (Szabo et al., 2000). Mikroorganizma sayıları arasındaki bazı farklılıkların, hasat sırasındaki hava koşullarından, üründe bulunan toprak miktarından, en son uygulanan sulama işlemi ile hasat arasında geçen süreden, hasat sonrası uygulanan işlemlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Ponce et al., 2004).

Yapılan bu çalışmada, steril destile su ile yıkanan marullardaki mezofilik aerobik bakteri sayısının 0,70 log, % 4 sumak ile yıkananlarda 0,86 log, 500 ppm oregano yağı ile yıkananlarda ise 2,02 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir. % 4 sumak ile yıkama sonucu yeterli düzeyde azalma sağlanamadığı, 500 ppm oreganonun ise önemli düzeyde azalma sağladığı ancak marul dokusunda ve renginde bozulmalara neden olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, günümüzde meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılan klorun da mezofilik aerobik mikroorganizmalar üzerinde çok yüksek antimikrobiyal etkisinin olmadığı, endüstride kullanılan klor

konsantrasyonlarında 1,5 logaritmik birimin altında azalmalar olduğu görülmektedir. Konu ile ilgili bir çalışmada, 4°C'deki su ile 90 s süreyle yıkanan marullardaki aerobik mezofilik mikroorganizma sayısında 0,5 log kob/g düzeyinde azalma tespit edilirken, aynı koşullarda 100 ppm klor ile yıkanan marullardaki mikroorganizma sayısı 0,7 – 1,5 log kob/g düzeyinde azalmıştır (Baur et al., 2004). Abadias et al. (2008) yaptıkları benzer çalışmada, su ile üç dakika yıkanan marullardaki aerobik mezofilik bakteri sayısının 0,4 log, 100 ppm klor ile yıkandığında ise 0,8 log azaldığını saptamışlardır. Yapılan diğer bir çalışmada, 150 ppm klor ile iki dakika yıkanan marullardaki aerobik mezofilik bakteri sayılarının 1,5 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir. Yıkama süresinin sekiz dakikaya çıkartılması ile mikroorganizma sayısında istatistiksel açıdan anlamlı azalma saptanmamıştır (Pirovani et al., 2004). Başka bir çalışmada, 200 ppm klor ile marullardaki doğal mikrofloradaki azalma 0,9 log kob/g düzeyinde olmuştur (Kondo et al., 2006).

Yapılan bu çalışmada, steril destile su, % 4 sumak veya 500 ppm oregano yağı ile yıkanıp, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenen sonra 4°C veya 10°C'de depolanan marullarda, depolama süresi boyunca aerobik mezofilik mikroorganizma sayılarının 9 logaritmik birimin üzerine çıktığı ve marulların tüketilemez duruma geldiği ortaya konmuştur. Yapılan benzer çalışmalarda da depolama süresi boyunca mezofilik mikroorganizma sayılarının arttığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada iceberg marulları su veya 120 ppm klor ile bir dakika yıkanmış, modifiye atmosferde paketlenen sonra 4°C'de 7 gün depolanmıştır. Depolama süresince marullarda

bulunan aerobik mezofilik bakteri sayısının 1,4 logaritmik birim arttığı tespit edilmiştir (Rico et al., 2008). Pasif modifiye atmosferde paketlenerek 5°C’de 15 gün depolanan maydonozlardaki mezofilik aerobik bakteri sayısı 7,0 logaritmik birimden 8,7 logaritmik birime yükselmiştir. Yapılan duyusal analiz sonuçlarına göre aktif modifiye atmosferde (% 88 azot, % 2 karbondioksit, % 15 oksijen) depolanan maydonozlar depolamanın 6. gününe kadar, pasif modifiye atmosferde paketlenen maydonozlar ise 9. güne kadar tüketilebilir olduğunu gösteren puanlar almıştır (Rosa et al., 2007). 20°C’deki su ile 1,5 dakika yıkanan brokolilerde başlangıçta 6,5 log kob/g olan aerobik mezofilik bakteri sayısının, 10°C’de pasif modifiye atmosferde 10 günlük depolama süresinin sonunda 8,0 logaritmik birimin üzerine çıktığı tespit edilmiştir (Stringer et al., 2007). Yapılan diğer bir çalışmada modifiye atmosferde paketlenen ıspanaklar 5°C’de 12 gün depolandığında aerobik mezofilik bakteri sayısında 1,05 log, aynı şartlarda atmosfer koşullarında paketlenenlerde ise sayıda 1,85 logaritmik birim artış olduğu saptanmıştır (Allende et al., 2004).

Yapılan bu çalışmada sumak veya oregano ile marullar 10 dakika yıkandıktan sonra, steril destile su ile durulanarak doğal ekstraktların marul yüzeylerinden bir ölçüde uzaklaşması sağlandığı için, mikroorganizma sayılarının depolama periyodunda arttığı tespit edilmiştir. Meyve ve sebzelere baharat ekstraktları püskürtüldükten sonra durulama işleminin uygulanmadığı çalışmalarda ise, depolama süresince mikroorganizma sayılarının azaldığı veya sabit kaldığı belirlenmiştir. Hint defnesi, ökaliptus veya karanfil esansiyel yağları püskürtülüp,

modifiye atmosferde 5°C’de depolanan pazılarda bulunan mezofilik bakteri sayısının depolama süresince 7. güne kadar sabit kaldığı ve kontrol örneklerinden istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 7. gününden sonra ise kontrol örnekleri ile esansiyel yağ püskürtülen pazılarda bulunan mezofilik bakteri sayıları arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmemiştir (Ponce et al., 2004). Roller and Seedhar (2002), karvakrol ve sinamik asidin taze kesilmiş kivilerde bozulmaya neden olan mikroorganizmalar üzerine etkisini incelemiştir. Kiviler, 150 ppm karvakrol veya 148 ppm sinamik asit ile beş gün depolandığında aerobik mezofilik bakteri sayılarının 4°C’de 4,0 log kob/g, 8°C’de 1,5 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir. 4°C’de 21 gün depolanan kivilerdeki aerobik mezofilik bakteri sayıları 6,6 log kob/g iken, 1500 ve 2250 ppm kavakrol ile aynı koşullarda depolandığında mikroorganizma sayısı belirleme limitinin altına düşmüştür. Ancak, yüksek konsantrasyonlar kullanıldığında kivilerin renginde ve kokularında istenmeyen değişiklikler oluşmuştur.

4.8.2 Marulların depolanması sırasında psikrotrof aerobik bakteri sayısındaki değişim

Steril destile su, % 4 sumak veya 500 ppm oregano ile yıkanarak modifiye atmosferde ve hava koşullarında 4°C’de ve 10°C’de depolanan iceberg marullarındaki psikrotrof aerobik bakteri sayıları tespit edilmiştir. Iceberg marullarının % 4 sumak ekstraktı, 500 ppm oregano veya steril destile su ile yıkanmadan önce 4,23 – 6,91 log kob/g düzeyinde psikrotrof aerobik bakteri içerdiği saptanmıştır. Marullar steril destile su

ile 10 dakika yıkayıp, bir dakika steril destile su ile durulandığında psikrotrof aerobik bakteri sayısındaki azalma 0,66 log kob/g (Çizelge 4.27) olmuştur.

Çizelge 4.27 Su ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Psikrotrof aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	5,44 (1,06)a	5,44 (1,06)a	5,44 (1,06)a	5,44 (1,06)a
0. Gün	4,78 (0,80)b	4,78 (0,80)b	4,78 (0,80)b	4,78 (0,80)b
1. Gün	5,93 (1,10)a	5,21 (1,19)a	6,06 (1,48)a	5,52 (1,65)a
3. Gün	6,89 (1,02)c	6,80 (0,71)c	7,33 (0,95)c	6,87 (1,04)c
7. Gün	8,72 (1,03)d	8,41 (0,92)d	8,83 (0,97)d	8,39 (0,78)d
10. Gün	9,71 (0,84)e	9,47 (0,90)e	9,76 (1,00)e	9,56 (0,93)e

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Destile su ile yıkanan marullarda depolamanın birinci gününde sayıda 0,43 – 1,28 log kob/g aralığında artış gözlenmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 1. günde elde edilen sayılar ile yıkama öncesi sayı arasındaki farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur

($p>0,05$). Depolama süresince 3. gün, 7. gün ve 10. günlerde sayılarda artış görülmüş ve belirtilen günlerde elde edilen sayılar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Onuncu günde mikroorganizma sayısı 9,50 log kob/g düzeyinin üzerine çıkmıştır. Modifiye atmosferde veya açık koşullarda paketlenen ve farklı sıcaklıklarda depolanan marullardaki psikrotrof aerobik bakteri sayıları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Marullar, aynı koşullarda steril destile su yerine, % 4 sumak ekstraktı ile yıkandığında ise sayıdaki azalma 0,62 logaritmik birim (Çizelge 4.28) olarak tespit edilmiştir. % 4 sumak ekstraktının psikrotrof aerobik mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında etkin konsantrasyon olmadığı ortaya konmuştur. 10 günlük depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayısı yaklaşık 5 logaritmik birim artış göstermiştir.

Çizelge 4.28 % 4 sumak ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Psikrotrof aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	4,23	4,23	4,23	4,23
0. Gün	3,61	3,61	3,61	3,61
1. Gün	3,05	2,98	3,36	5,05
3. Gün	5,99	5,83	6,31	4,93
7. Gün	8,09	8,36	8,36	7,82
10. Gün	9,57	9,40	9,72	9,56

¹ Üç tekerrür yapılmadığı için istatistiksel analizler uygulanmamıştır.

500 ppm oregano yağı ile yıkanan marullardaki psikrotrof aerobik bakteri sayıları yıkama sonrasında 3,65 logaritmik birim azalmıştır (Çizelge 4.29). Ancak, depolamanın 1. gününden itibaren sayılarda artış gözlenmiş olup 7. günde mikroorganizma sayıları 8,20 – 8,92 logaritmik birimlere kadar yükselmiş, marullar tüketilmeyecek kadar bozulmuş ve 10. günde mikroorganizma sayıları tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.29 500 ppm oregano yağı ile yıkanan marullardaki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Psikrotrof aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/g)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	6,91	6,91	6,91	6,91
0. Gün	3,26	3,26	3,26	3,26
1. Gün	5,36	4,94	5,38	4,41
3. Gün	6,88	6,06	6,59	5,94
7. Gün	8,41	8,21	8,92	8,20

¹ Üç tekerrür yapılmadığı için istatistiksel analizler uygulanmamıştır.

Psikrotrof mikroorganizmalar taze sebzelerde önemli bir grubu oluşturmaktadır. Psikrotrof mikroorganizmalar sebzelerin başlangıç mikroflorasında çok küçük bir oranda olmasına rağmen, düşük depolama sıcaklıklarında baskın florayı oluşturmaktadır. Bu tez çalışmasına benzer bir çalışmada, 4°C’de 15 gün depolanan marullardaki aerobik psikrotrofik mikroorganizma sayısının 2,57 logaritmik birimden, 8,01 log kob/g düzeyine yükseldiği belirtilmiştir (Xu et al., 2007). Aynı şekilde, modifiye atmosferde paketlenen marullardaki psikrotrof bakteri sayıları başlangıçta 4,2 - 5,4 logaritmik birim iken, 5°C’de 10 gün depolandığında sayının 7,5 log kob/g düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir (Carrasco et al., 2008). Doğranmış marullar 4°C’de 7 gün depolandığında psikrotrofik

aerobik bakteri sayısının 1,09 logaritmik birim arttığı tespit edilmiştir (Uyttendaele et al., 2004). Abdul-Raouf et al. (1993) tarafından yapılan bir çalışmada, doğranmış marullar modifiye atmosferde paketlenmiş ve 5°C'de veya 12°C'de 14 gün depolanmıştır. Depolamanın 10. gününde, 5°C'de depolanan marullardaki psikrotrof bakteri sayılarının 8,22 logaritmik birime, 12°C'de depolanarlarda ise 9,04 logaritmik birime yükseldiği saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer olarak, modifiye atmosferde veya atmosfer koşullarında paketlenme işlemleri arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir. Depolamanın 3. gününde sayılarda önemli düzeyde artış olduğu belirlenmiş ve depolamanın devam eden günlerinde sayılar önemli düzeyde artmaya devam etmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında, 4°C ve 10°C sıcaklıklarda depolanan marullardaki aerobik psikrotrof bakteri sayıları arasında fark olmadığı ortaya konmuştur. Benzer bir çalışmada, 100 ppm klorlu su ile 5 dakika yıkanan lahana ve havuç karışımı modifiye atmosferde paketlenerek, 4°C veya 8°C'de depolanmıştır. Depolamanın 7. gününde aerobik psikrotrof bakteri sayılarının 4°C'de depolanarlarda 2,72 log, 8°C'de depolanarlarda da benzer olarak 2,74 logaritmik birim arttığı tespit edilmiştir (Cliffe-Byrnes and O'Beirne, 2005).

Pazılarda yapılan bir araştırmada ise başlangıçtaki psikrotrof mikroorganizma sayısı 4 logaritmik birim olarak belirlenmiştir. Hint defnesi, ökaliptus veya karanfil esansiyel yağları püskürtüldüğünde ise sayılarda önemli bir değişim tespit edilmemiştir. 14 gün boyunca 5°C'de

depolama sırasında ise sayının 9 logaritmik birime yükseldiği saptanmıştır (Ponce et al., 2004).

Modifiye atmosferde 10 gün depolanan lahanalarda mezofilik ve psikrotrof mikroorganizma sayıları, depolama sıcaklıkları (4°C, 12°C ve 20°C) önemli olmaksızın artış göstermiştir. 4°C’de depolanan lahanalardaki mezofilik bakteri sayıları, 12°C ve 20°C sıcaklıklarda depolanana göre 2 – 3 log daha düşük bulunmuştur (Piagentini et al., 1997).

Yapılan bu çalışmada elde edilen değerlerin literatürdeki verilerle uyumlu olduğu ortaya çıkmaktadır. Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin depolandığı sıcaklıklar psikrotrof mikroorganizmaların üreyebildiği sıcaklıklar olduğu için sayılarda artış gözlenmiştir. MAP ile paketlenme veya antimikrobiyal madde uygulamalarının mikroorganizma sayılarındaki artışı engelleyemediği ortaya konmuştur. % 4 sumak ekstraktı ile yıkandıktan sonra modifiye atmosferde paketlenerek 4°C’de 10 gün depolanan marullardaki psikrotrof aerobik mikroorganizma sayısının 9,40 logaritmik birime, su ile yıkandıktan sonra aynı koşullarda saklanan marullardaki psikrotrof aerobik mikroorganizma sayısının da 9,47 logaritmik birime yükseldiği tespit edilmiştir. Depolama periyodundan önce steril saf su ile durulama işlemi uygulandığı için, su veya sumak ile yıkama işlemleri arasındaki fark depolama periyodunda ortadan kalkmaktadır.

4.8.3 Domateslerin depolanması sırasında mezofilik aerobik bakteri sayısındaki değişim

Domateslere *Salmonella* spp. inoküle edilerek, *Salmonella* spp. sayısındaki azalmalar ve domateslerin duyuşal kaliteleri dikkate alınarak etkin baharat ekstraktı konsantrasyonları seçilmiştir. Sumak için etkin konsantrasyon olan % 8, oregano için etkin konsantrasyon olan 750 ppm ve kontrol örnekleri olarak steril destile su ile doğal mikroflora üzerine denemeler yapılmıştır. Domatesler çeşme suyu altında yıkanıp kurulandıktan sonra % 8 sumak, 750 ppm oregano veya steril destile su ile 10 dakika yıkanıp, bir dakika süreyle steril destile su ile durulanmıştır. Domatesler pasif modifiye atmosferde ve hava koşullarında, 4°C ve 10°C’de 10 gün süreyle depolanmış olup, elde edilen mezofilik aerobik bakteri sayıları incelenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, analiz edilen günler arasında önemli düzeyde fark olduğu, “gün x dezenfektan” etkileşiminin önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Bunun yanında “gün x paketleme koşulları” ve “gün x depolama sıcaklığı” etkileşimlerinin önemli olmadığı ortaya konmuştur ($p>0,05$).

Domateslerdeki mezofilik aerobik bakteri sayısının yıkama öncesinde 3,17 – 3,80 log kob/domates aralığında olduğu belirlenmiştir. Destile su ile yıkanan domateslerdeki mezofilik aerobik bakteri sayısının 0,77 logaritmik birim azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.30). İstatistiksel analizler sonucunda su ile yıkamanın mikroorganizma sayısını önemli düzeyde azaltmadığı ortaya konmuştur ($p>0,05$). Depolama sürecinde

elde edilen sonuçlar, mezofilik aerobik bakteri sayısında yıkama öncesine veya yıkama sonrasına göre farklılık olmadığını göstermektedir ($p>0,05$).

Çizelge 4.30 Destile su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Mezofilik aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	3,31 (0,45)ab	3,31 (0,45)ab	3,31 (0,45)ab	3,31 (0,45)ab
0. Gün	2,54 (0,36)a	2,54 (0,36)a	2,54 (0,36)a	2,54 (0,36)a
1. Gün	1,83 (1,26)b	2,12 (0,81)b	1,97 (1,10)b	3,18 (1,01)b
3. Gün	1,44 (1,28)ab	2,91 (0,28)ab	2,34 (0,19)ab	3,47 (0,75)ab
7. Gün	1,78 (0,96)ab	3,83 (1,34)ab	2,84 (1,53)ab	3,05 (0,56)ab
10. Gün	2,22 (1,93)ab	2,85 (0,06)ab	3,58 (1,64)ab	2,59 (0,97)ab

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

% 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki mezofilik aerobik bakteri sayısı 1,08 logaritmik birim azalmış olup (Çizelge 4.31), istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde bu azalma anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Depolama süresince farklı koşullarda depolanan domateslerdeki mezofilik aerobik bakteri sayılarında artış veya azalma belirlenmesine

rağmen, istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde bu farklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.31 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Mezofilik aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	3,17 (2,32)ab	3,17 (2,32)ab	3,17 (2,32)ab	3,17 (2,32)ab
0. Gün	2,09 (0,51)b	2,09 (0,51)b	2,09 (0,51)b	2,09 (0,51)b
1. Gün	1,80 (0,12)b	2,51 (1,57)b	2,34 (1,21)b	1,90 (0,60)b
3. Gün	3,61 (2,07)a	1,90 (0,33)a	3,80 (1,28)a	3,95 (1,01)a
7. Gün	2,69 (3,01)ab	2,39 (0,60)ab	3,95 (1,81)ab	4,10 (1,89)ab
10. Gün	3,04 (1,90)a	1,96 (1,01)a	4,64 (1,68)a	3,20 (1,88)a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki mezofilik aerobik bakteri sayısı 1,52 logaritmik birim azalmıştır (Çizelge 4.32). Depolama süresi boyunca 3. güne kadar sayılarda önemli düzeyde artış veya azalma gözlenmemesine rağmen, 7. ve 10. günlerde sayılarda artış

tespit edilmiş olup, yıkama öncesinde elde edilen sayı ile aradaki fark ortadan kalkmıştır.

Çizelge 4.32 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde mezofilik aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Mezofilik aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	3,80 (2,04)a	3,80 (2,04)a	3,80 (2,04)a	3,80 (2,04)a
0. Gün	2,28 (1,24)b	2,28 (1,24)b	2,28 (1,24)b	2,28 (1,24)b
1. Gün	2,10 (0,86)b	1,85 (0,87)b	2,76 (2,75)b	2,22 (0,17)b
3. Gün	3,05 (1,41)b	2,18 (1,18)b	2,14 (1,93)b	1,78 (2,28)b
7. Gün	4,82 (1,24)a	2,86 (1,09)a	4,05 (2,73)a	3,86 (2,06)a
10. Gün	4,47 (2,03)a	3,68 (1,57)a	4,71 (2,76)a	2,48 (1,42)a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Yapılan bir çalışmada bütün haldeki domatesler 210 - 280 ppm klor ile yıkayıp, modifiye atmosferde paketlenen sonra 10°C ve 21°C sıcaklıklarda 20 gün depolanmıştır. Klorlu su ile yıkama ve modifiye atmosferde paketlenme işlemlerinin aerobik mezofilik-

psikrotrofik bakteriler, küf ve mayalar üzerinde önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Beuchat and Brackett, 1991).

Konu ile ilgili bir çalışmada, 22,4 ppm metil jasmonat solüsyonuna 5 dakika daldırılıp depolanan dilimlenmiş ananaslar 7°C'de 12 gün depolandığında, kontrol örneklerine göre aerobik mezofilik canlı sayısının 3 logaritmik birim daha az olduğu tespit edilmiştir (Martínez-Ferrer et al., 2005). Üzümler, 75 µl veya 150 µl timol veya öjenol içeren modifiye atmosferde paketlenip, 1°C'de 56 gün depolandığında, başlangıçta 2,3 log kob/g düzeyinde olan mezofilik aerobik bakteri sayıları kontrol örneklerinde 4,2 logaritmik birime yükselirken, timol veya öjenol ile paketlenenlerdeki sayı 2,2 – 2,4 log kob/g düzeyinde kalmıştır (Valero et al., 2006). Valero and Giner (2006) tarafından yapılan benzer çalışmada da 50 ppm sinemaldehit, 150 ppm karvakrol, 300 ppm timol veya 1500 ppm öjenol içeren havuç suları 16°C'de depolandığında, en az 60 gün boyunca mezofilik *B.cereus*'un gelişiminin engellendiği tespit edilmiştir. Ancak, havuç sularında keskin koku bırakmaları nedeni ile karvakrol ve timol içeren havuç sularının panelistler tarafından kabul edilmediği belirtilmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında, inoküle edilmiş mikroorganizmaların doğal mikrofloraya göre daha kolay bir şekilde uzaklaştığı tespit edilmiştir. % 8 sumak veya 750 ppm oregano ile domateslere inoküle edilmiş *Salmonella* spp. sayısındaki azalmalar sırasıyla 4,90 log veya 1,91 log iken, aerobik mezofilik bakteri sayılarındaki azalmalar sırasıyla 1,08 log veya 1,52 log kob/domates düzeylerinde bulunmuştur. Yapılan

bir çalışmada, domatesler steril destile su ile 20 s çalkalanarak yıkandığında aerobik mezofilik bakteri, küf ve maya sayılarında önemli bir değişiklik meydana gelmezken, inoküle edilmiş *Salmonella* spp. sayısında 1,6 logaritmik birim azalma tespit edilmiştir. Domateslere 200 ppm klor püskürtülüp 10 dakika bekletildikten sonra steril destile su ile çalkalanan domateslerdeki aerobik mezofilik bakteri sayısı 0,69, küf ve maya sayısı 0,78 logaritmik birim azalmıştır. 2000 ppm klor püskürtülüp 10 dakika bekletildikten sonra steril destile su ile çalkalanan domateslerdeki *Salmonella* spp. sayısı 3,59 logaritmik birim azalmış, aynı koşullardaki aerobik mezofilik bakteri, küf ve maya sayıları ise sırasıyla 0,88 ve 1,23 logaritmik birim azalmıştır (Beuchat et al., 1998). Diğer bir çalışmada ise beş defa tuzlu su (% 0.85) ile yıkanan marullardaki doğal mikrofloranın % 23,9'u, inoküle edilmiş ve 2 gün süreyle bekletilmiş *Staphylococcus aureus*'un % 6,8'i, *E.coli* O157:H7'nin % 13,6'sı, *Salmonella* Typhimurium'un % 19'u canlı kalmıştır. Denenmiş olan üç mikroorganizma içerisinde ise *Salmonella* Typhimurium'un yıkama işlemiyle en zor uzaklaştığı ortaya konmuştur (Kondo et al., 2006). Marullara inoküle edilen *E.coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. hücrelerinin, düşük depolama sıcaklıklarında, doğal mikrofloradaki mikroorganizmalardan daha yavaş geliştikleri ortaya konmuştur (Koseki and Isobe, 2005).

4.8.4 Domateslerin depolanması sırasında psikrotrof aerobik bakteri sayısındaki değişim

Steril destile su, % 8 sumak ekstraktı veya 750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerde depolama süresince psikrotrof aerobik bakteri sayıları izlenmiştir. Destile su ile yıkanıp, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenip, 4°C veya 10°C’de depolanan domateslerdeki psikrotrof aerobik bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.33). 4°C’de modifiye atmosferde ve açık hava koşullarında, 10°C’de açık hava koşullarında depolanan domateslerdeki psikrotrof aerobik bakteri sayıları 1. günde azalma eğilimindeyken, 10°C’de modifiye atmosferde paketlenenler artış göstermektedir ($p<0,05$). Depolamanın devam eden günlerinde sayılarda yükselmeler belirlenmiş ancak, bu sayılar ile yıkama öncesi domateslerdeki psikrotrof aerobik bakteri sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.33 Destile su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Psikrotrof aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	2,62(1,73)abc	2,62(1,73)ade	2,62(1,73)afg	2,62(1,73)ahi
0. Gün	2,49(0,50)abc	2,49(0,50)ade	2,49(0,50)afg	2,49(0,50)ahi
1. Gün	0,65 (0,92)b	1,62 (0,32)d	1,40 (1,98)f	3,47 (1,42)h
3. Gün	0,50 (0,71)bc	3,27 (0,26)de	1,89 (0,27)fg	3,75 (0,59)hi
7. Gün	2,44 (0,11)c	3,63 (2,28)e	3,61 (1,10)g	4,21 (0,47)i
10. Gün	3,31 (1,89)c	3,63 (1,17)e	4,20 (0,68)g	4,41 (0,46)i

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

% 8 sumak (Çizelge 4.34) veya destile su (Bkz. Çizelge 4.33) ile yıkanan domateslerdeki psikrotrof bakteri sayıları yıkama öncesi ile karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). % 8 sumak ekstraktı ile yıkanan domateslerde depolamanın 3. gününden itibaren sayılarda artış gözlenmiş olup, 0. gün ve 1. günlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Depolamanın 3., 7. ve 10. günlerinde sayılar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

% 8 sumak ekstraktı veya 750 ppm oregano yağı ile yıkanıp, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenip, 4°C veya 10°C’de depolanan domateslerdeki psikrotrof aerobik bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05).

Çizelge 4.34 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Psikrotrof aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	1,53(2,64)ab	1,53 (2,64)ab	1,53 (2,64)ab	1,53 (2,64)ab
0. Gün	0,62 (1,06)a	0,62 (1,06)a	0,62 (1,06)a	0,62 (1,06)a
1. Gün	1,20 (2,08)a	1,30 (2,26)a	1,15 (1,99)a	0,62 (1,08)a
3. Gün	1,43 (1,90)bc	1,52 (1,64)bc	3,58 (2,41)bc	2,98 (2,60)bc
7. Gün	2,92 (2,07)c	2,24 (1,96)c	3,20 (2,86)c	2,60 (1,47)c
10. Gün	2,41 (2,28)c	2,78 (2,69)c	3,27 (2,91)c	2,41 (2,22)c

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

750 ppm oregano ile yıkanan domateslerde ise 1,39 log kob/g düzeyinde azalma tespit edilmiş olup (Çizelge 4.35), bu azalma istatistiksel açıdan yıkama öncesine göre farklılık göstermektedir

($p < 0,05$). 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerde depolama süresince psikrotrof aerobik bakteri sayılarında artış gözlenmiş, ancak sayılardaki artış istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 7. güne kadar yıkama sonrasına göre yüksek bulunmamıştır ($p > 0,05$). Depolamanın 10. günündeki mikroorganizma sayılarının ise yıkama sonrasına göre farklı olduğu, ancak yıkama öncesi ile aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ortaya konmuştur ($p > 0,05$).

Çizelge 4.35 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde psikrotrof aerobik bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Psikrotrof aerobik bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	2,81 (2,46) _a	2,81 (2,46) _a	2,81 (2,46) _a	2,81 (2,46) _a
0. Gün	1,42 (1,90) _b	1,42 (1,90) _b	1,42 (1,90) _b	1,42 (1,90) _b
1. Gün	1,59 (1,44) _{ab}	0,23 (0,40) _{ab}	2,93 (2,09) _{ab}	1,58 (1,37) _{ab}
3. Gün	1,80 (2,31) _{ab}	1,64 (0,85) _{ab}	1,89 (2,33) _{ab}	1,75 (2,45) _{ab}
7. Gün	2,64 (2,43) _{ab}	2,12 (1,96) _{ab}	2,45 (2,44) _{ab}	2,77 (2,47) _{ab}
10. Gün	3,16 (1,60) _a	3,17 (1,33) _a	3,59 (3,17) _a	2,68 (2,67) _a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p > 0,05$).

4.8.5 Domateslerin depolanması sırasında laktik asit bakteri sayısındaki değişim

Steril destile su, % 8 sumak ekstraktı veya 750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerde depolama öncesinde ve depolama sürecinde bulunan laktik asit bakteri sayıları tespit edilmiştir. Yıkama öncesinde domateslerde bulunan laktik asit bakteri sayıları 1,58 – 2,35 logaritmik birim aralığında değişmektedir. Steril destile su ile yıkama işleminin laktik asit bakteri sayısı üzerine önemli bir etkisi olmamıştır (Çizelge 4.36).

Çizelge 4.36 Su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde laktik asit bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Laktik asit bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	1,58 (0,54)ab	1,58 (0,54)ab	1,58 (0,54)ab	1,58 (0,54)ab
0. Gün	2,22 (1,36)a	2,22 (1,36)a	2,22 (1,36)a	2,22 (1,36)a
1. Gün	1,10 (0,70)b	1,35 (0,60)b	1,40 (1,29)b	1,53 (0,73)b
3. Gün	1,43 (0,68)ab	1,82 (0,56)ab	1,20 (0,46)ab	2,56 (1,19)ab
7. Gün	1,59 (0,19)ab	2,97 (2,00)ab	0,93 (0,81)ab	1,24 (1,14)ab
10. Gün	1,84 (0,49)a	2,08 (1,15)a	3,05 (1,80)a	2,32 (0,44)a

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Steril destile su ile yıkama işleminde, depolamanın 1. gününde sayıda azalma gözlenmiş, 3. günden başlayarak sayılarda tekrar artış tespit edilmiştir.

% 8 sumak ekstraktı ile yıkanan domateslerdeki laktik asit bakteri sayısı 0,41 logaritmik birim azalmış olup (Çizelge 4.37), bu azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.37 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde laktik asit bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Laktik asit bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	2,21 (1,40) _{ac}	2,21 (1,40) _{ac}	2,21 (1,40) _{ac}	2,21 (1,40) _{ac}
0. Gün	1,80 (0,10) _a	1,80 (0,10) _a	1,80 (0,10) _a	1,80 (0,10) _a
1. Gün	0,39 (0,68) _b	1,06 (0,32) _b	1,58 (0,69) _b	0,47 (0,40) _b
3. Gün	1,96 (0,51) _a	1,68 (0,47) _a	2,18 (0,55) _a	2,64 (0,93) _a
7. Gün	1,65 (0,82) _{ab}	0,87 (0,75) _{ab}	1,64 (1,70) _{ab}	2,21 (1,83) _{ab}
10. Gün	0,86 (0,28) _{bc}	0,75 (0,77) _{bc}	2,41 (1,22) _{bc}	0,62 (1,08) _{bc}

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki laktik asit bakteri sayısı 1,0 logaritmik birim azalmıştır (Çizelge 4.38). Farklı koşullardaki depolama periyodu boyunca sayılarda azalmalar tespit edilmiş olup, istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde 0. gün ile 10. gün arasındaki farklılık anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.38 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde laktik asit bakteri sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Laktik asit bakteri sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	2,35 (1,33)ac	2,35 (1,33)ac	2,35 (1,33)ac	2,35 (1,33)ac
0. Gün	1,35 (0,68)ab	1,35 (0,68)ab	1,35 (0,68)ab	1,35 (0,68)ab
1. Gün	0,83 (0,72)b	0,67 (0,58)b	1,33 (0,64)b	1,14 (0,42)b
3. Gün	2,33(0,32)abc	1,23(0,56)abc	0,96(0,45)abc	1,36(0,39)abc
7. Gün	2,29 (0,38)c	1,70 (1,47)c	1,94 (0,89)c	2,80 (1,62)c
10. Gün	1,14 (1,12)b	1,46 (1,29)b	0,00 (0,00)b	1,06 (0,32)b

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekrerrün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenen domateslerdeki laktik asit bakteri sayıları arasındaki fark istatistiksel

açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Farklı depolama sıcaklıkları arasında da istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir.

Her üç koşulda da yıkanan domateslerdeki laktik asit bakteri sayılarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalma olmadığı tespit edilmiştir. Doğal florada bulunan laktik asit bakterilerinin de baharat ekstraktlarına karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Falcone et al. (2005) yaptıkları çalışma ile laktik asit bakterilerinin timole karşı sporlu bakterilerden daha dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yapılan bu çalışmaya benzer bir çalışmada, küçük domateslerde bulunan başlangıçtaki laktik asit bakteri sayısının 4,5 log kob/domates düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. 7°C ve 22°C’de modifiye atmosferde ve atmosfer koşullarında depolama süresi boyunca laktik asit bakteri sayıları artış göstermiştir. 7°C’de 20 günlük modifiye atmosferde ve normal atmosferde depolama sürecinde laktik asit bakteri sayıları yaklaşık 8 logaritmik birime yükselmiştir (Daş et al., 2006). Yapılan diğer bir çalışmada da domateslerde başlangıçta bulunan laktik asit bakteri sayısı 4,15 logaritmik birim iken, depolama süresince sayının 2,5 – 3,0 log artış gösterdiği belirlenmiştir (Drosinos et al., 2000). Cliffe-Byrnes and O’Beirne (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, su ile yıkanan lahanaya ve havuç karışımı modifiye atmosferde paketlenerek 4°C’de depolanmıştır. Depolamanın 7. gününde laktik asit bakteri sayısının 1,74 logaritmik birim arttığı tespit edilmiştir.

Oregano yağı ilave edildikten sonra modifiye atmosferde 5°C’de depolanan etlerdeki laktik asit bakteri sayısı 1,31 log kob /g düzeyinden

4,32 logaritmik birime yükselmiş, atmosfer koşullarında paketlenenlerde ise 4,50 logaritmik birime yükselmiştir (Skandamis et al., 2002).

Yapılan bir çalışmada, domates suyuna % 0,1 oranında anason yağı ilave edilip, 4,0 log kob/ml düzeyinde *Lactobacillus curvatus* inoküle edilmiş ve 15°C'de 4 hafta depolanmıştır. Kontrol örneklerinde bir hafta içinde sayı 8 logaritmik birime yükselirken, anason yağı içeren domates sularındaki sayı ise belirleme limitinin altına düşmüş ve dört hafta boyunca sayıda artış tespit edilmemiştir (Lachowicz et al., 1998). Yapılan bu tez çalışmasında ise, baharat ekstraktları uzaklaştırıldıktan sonra paketleme işlemi yapıldığı için depolama süresince sayılarda çok belirgin bir azalma gözlenmemiştir. Destile su veya % 4 sumak ile yıkanan domateslerdeki laktik asit bakteri sayıları depolama süresinin sonunda, yıkama öncesindeki sayılardan farklı bulunmamıştır. 750 ppm oregano ile yıkananlarda ise, laktik asit bakteri sayıları yıkama öncesine göre 10. günde daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni ise oregano yağının domates yüzeylerine sıvanıp, su ile durulama işlemi sırasında tamamen uzaklaşmamasıdır.

4.8.6 Domateslerin depolanması sırasında küf sayısındaki değişim

Steril destile su, % 8 sumak veya 750 ppm oregano ile yıkandıktan sonra, modifiye atmosferde ve açık hava koşullarında paketlenerek 4°C veya 10°C'de depolanan domateslerde bulunan küf sayıları belirlenmiştir. Yıkama işleminden önce domateslerdeki küf sayısının 0,77 – 2,48

logaritmik birim arasında değiştiği saptanmıştır. Steril destile su ile yıkama 4°C’de depolanan domateslerde yıkama öncesinde ve depolamanın devam eden günlerinde sayılarda istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.39). 10°C’de depolanan domateslerde depolamanın farklı günlerinde istatistiksel açıdan farklılıklar gözlenmekle birlikte, depolamanın 7. ve 10. günlerinde elde edilen değerler yıkama öncesine göre farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Çizelge 4.39 Su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde küf sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Küf sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	0,77 (1,09) _a	0,77 (1,09) _a	0,77(1,09) _{abc}	0,77(1,09) _{abc}
0. Gün	1,09 (0,12) _a	1,09 (0,12) _a	1,09(0,12) _{abc}	1,09(0,12) _{abc}
1. Gün	0,59 (0,83) _a	1,56 (0,80) _a	0,00 (0,00) _c	0,65 (0,92) _c
3. Gün	0,94 (1,33) _a	1,05 (1,48) _a	0,85 (0,21) _b	0,65 (0,92) _b
7. Gün	0,59 (0,83) _a	0,91 (1,28) _a	0,85 (1,20) _{bc}	1,76 (0,52) _{bc}
10. Gün	0,77 (1,09) _a	2,46 (2,50) _a	1,03 (1,46) _{bc}	0,00 (0,00) _{bc}

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenen domateslerdeki küf sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 4°C’de depolanan domateslerdeki küf sayısı, 10°C’de depolananlara göre daha düşük çıkmıştır ($p<0,05$). % 8 sumak (Çizelge 4.40) veya steril destile su ile yıkanan domateslerdeki küf sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. % 8 sumakla yıkanan domateslerdeki küf sayısı 4°C’de depolananlarda azalırken, 10°C’de depolananlarda artış göstermiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.40 % 8 sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde küf sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Küf sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	1,97(1,84)ade	1,97(1,84)ade	1,97(1,84)abc	1,97(1,84)abc
0. Gün	1,50 (0,35)ad	1,50 (0,35)ad	1,50(0,35)abc	1,50(0,35)abc
1. Gün	1,43 (0,51)d	1,38 (1,21)d	0,43 (0,75)a	1,26 (1,10)a
3. Gün	0,58 (1,00)e	0,94 (0,91)e	1,29 (0,50)a	0,77 (0,68)a
7. Gün	1,52 (1,16)de	1,63 (1,42)de	2,56 (0,49)b	2,11 (1,83)b
10. Gün	0,00 (0,00)e	1,07 (0,97)e	3,66 (0,40)c	2,56 (2,21)c

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki küf sayısı yıkama öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azalmış olup, bu azalma 1,61 logaritmik birimdir (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde küf sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Küf sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	2,48 (1,07)a	2,48 (1,07)a	2,48 (1,07)ac	2,48 (1,07)ac
0. Gün	0,87 (0,81)b	0,87 (0,81)b	0,87(0,81)bd	0,87(0,81)bd
1. Gün	0,43 (0,75)b	0,90 (0,35)b	0,00 (0,00)d	0,59 (1,03)d
3. Gün	0,23 (0,40)b	0,00 (0,00)b	0,33 (0,58)d	0,23 (0,40)d
7. Gün	0,23 (0,40)b	0,67 (0,65)b	2,10 (1,88)c	2,24 (1,08)c
10. Gün	0,23 (0,40)b	0,23 (0,40)b	3,28 (3,79)dc	2,53 (2,19)dc

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir (p>0,05).

4°C’de depolanan 750 ppm oregano yağı ile yıkanmış domateslerde depolama süresi boyunca azalmalar gözlenmiş olup, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 0., 1., 3., 7. ve 10. günler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p>0,05). 10°C’de depolanan 750 ppm

oregano yağı ile yıkanmış domateslerde ise küf sayıları depolamanın 1. ve 3. günlerinde azalmış olup, 7. ve 10. günlerde sayılarda artış gözlenmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada, destile su ile 5 dakika yıkanan bütün haldeki elmalarda bulunan küf sayısında 0,1 log azalma olduğu tespit edilmiştir. Buzdolabında 9 günlük depolama süresince küf sayısının 1 log artış gösterdiği bildirilmiştir (Rodgers et al., 2004).

Yapılan çalışmalarda, marul salatalarında küf ve maya sayısının 1.3×10^3 - 9.4×10^5 , iceberg marulunda 1.0×10^4 - 1.3×10^4 , domateslerde <100 - 1.5×10^6 aralıklarında olduğu belirlenmiştir (Tournas, 2005). Modifiye atmosferde paketlenip, 10°C 'de 10 gün depolanan brokolilerde bulunan küf sayıları yaklaşık 1 logaritmik birim artış göstermiştir (Stringer et al., 2007).

Üzümler, 75 µl veya 150 µl timol veya öjenol içeren modifiye atmosferde paketlenip, 1°C 'de 56 gün depolandığında, başlangıçta 2,9 log kob/g düzeyinde olan küf ve maya sayıları kontrol örneklerinde 4,2 logaritmik birime yükselirken, timol veya öjenol ile paketlenenlerdeki sayı 1,7 – 2,4 log kob/g düzeylerine düşmüştür (Valero et al., 2006). Diğer bir çalışmada ise üzümler modifiye atmosferde ve açık koşullarda 1°C 'de 56 gün depolandığında, açık hava koşullarında paketlenenlerde küf ve maya sayıları modifiye atmosferde paketlenenlere göre 1,33 logaritmik birim daha fazla bulunmuştur. Modifiye atmosferde paketlenip, paket içerisine öjenol, timol ve karvakrol karışımı ilave edildiğinde ise sayıda 1 logaritmik birim daha fazla azalma tespit edilmiştir (Guillén et al., 2007).

Çilek püresine ilave edilen 3000 ppm vanilin ile küf ve maya sayılarında ilk günden başlayarak azalmalar tespit edilmiş, 27°C'de 4 gün depolama süresinin sonunda kontrol örneklerinde sayı 3,0 log artarken, vanilin içeren örneklerde sayı 2 logaritmik birim azalmıştır (Cerrutti et al., 1997).

4.8.7 Domateslerin depolanması sırasında maya sayısındaki değişim

Steril destile su, % 8 sumak ekstraktı veya 750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerin depolama süresince maya sayılarındaki değişim izlenmiştir. Yıkama işlemleri öncesinde domateslerin 0,7 – 1,37 logaritmik birim maya içerdiği tespit edilmiştir. Steril destile su ile yıkanan domateslerdeki maya sayıları yıkama öncesine göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde değişmemiştir (Çizelge 4.42).

Çizelge 4.42 Su ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde maya sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Maya sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	0,70(0,00)abc	0,70(0,00)abc	0,70(0,00)ce	0,70(0,00)ce
0. Gün	0,85(1,20)abc	0,85(1,20)abc	0,85 (1,20)c	0,85 (1,20)c
1. Gün	0,00 (0,00)ab	0,85 (0,21)ab	0,00 (0,00)d	0,00 (0,00)d
3. Gün	0,00 (0,00)a	0,50 (0,71)a	1,57(0,24)cef	0,59(0,83)cef
7. Gün	0,00 (0,00)ab	1,33 (0,21)ab	0,96 (1,36)ef	1,29 (1,81)ef
10. Gün	1,92 (2,71)b	1,44 (0,62)b	2,87 (0,31)f	1,87 (2,64)f

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

% 8 sumak ekstraktı ile yıkanan domateslerdeki maya sayısı 0,79 logaritmik birim azalmış olup, yapılan istatistiksel analizlerde yıkama öncesine göre farklı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.43).

Çizelge 4.43 % 8 Sumak ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde maya sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Maya sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	1,37(1,80)abc	1,37(1,80)abc	1,37 (1,80)ce	1,37 (1,80)ce
0. Gün	0,58(1,00)abc	0,58(1,00)abc	0,58 (1,00)c	0,58 (1,00)c
1. Gün	1,06 (0,96)ab	0,87 (0,75)ab	1,10 (1,90)d	0,00 (0,00)d
3. Gün	0,00 (0,00)a	1,10 (1,91)a	1,91(2,09)cef	2,19(1,89)cef
7. Gün	1,64 (1,43)ab	0,00 (0,00)ab	2,56 (2,22)ef	2,64 (2,38)ef
10. Gün	0,83 (0,90)b	1,54 (2,09) b	3,43 (1,65)f	1,05 (1,82)f

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

750 ppm oregano yağı ile yıkanan domateslerdeki maya sayısı 0,19 logaritmik birim azalmış olup, yapılan istatistiksel analizlerde yıkama öncesine göre farklı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.44).

Çizelge 4.44 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki depolama sürecinde maya sayılarındaki değişim.

Depolama süresi	Maya sayısı ¹ (log kob/domates)			
	4°C		10°C	
	Hava	MAP	Hava	MAP
Yıkama öncesi	1,37(1,80)abc	1,37(1,80)abc	1,37(1,80)ce	1,37(1,80)ce
0. Gün	1,18(1,12)abc	1,18(1,12)abc	1,18 (1,12)c	1,18 (1,12)c
1. Gün	0,39 (0,68)ab	0,39 (0,68)ab	0,53 (0,92)d	0,00 (0,00)d
3. Gün	0,00 (0,00)a	1,25 (0,43)a	1,07(1,85)cef	1,40(2,43)cef
7. Gün	3,41 (1,32)ab	0,73 (1,26)ab	3,26 (2,85)ef	2,89 (2,56)ef
10. Gün	0,72 (0,63)b	1,14 (0,99)b	4,38 (2,36)f	1,72 (2,99)f

¹ Mikroorganizma sayıları iki paralel ve üç tekerrürün logaritmik ortalaması ve parantez içerisinde standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Satır ve sütunlarda aynı harfle gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Steril destile su, % 8 sumak ekstraktı ve 750 ppm oregano yağı ile yıkama ve 10 günlük depolama sonucunda elde edilen değerler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında depolanan domateslerdeki maya sayıları arasındaki farkın önemli olmadığı ($p>0,05$), 4°C’de depolanan domateslerdeki maya sayısının ise 10°C’de depolananlara göre daha düşük olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). 4°C’de depolanan domateslerdeki maya sayısı depolama süresince yıkama öncesine göre farklılık göstermemektedir ($p>0,05$). 10°C’de depolanan domateslerde ise depolamanın 1. gününde sayılarda

yıkama öncesine ve yıkama sonrasına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmalar tespit edilmiş, ancak 3. günden itibaren sayılarda artış gözlenmiş ve depolamanın 10. gününde yıkama öncesine göre önemli düzeyde artış tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Yapılan benzer bir çalışmada, destile su ile beş dakika yıkanan bütün haldeki elmalarda bulunan maya sayısında değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Elmalar 100 ppm klorlu su ile yıkandığında ise maya sayısı 1,0 logaritmik birim azalmıştır. Buzdolabında dokuz günlük depolama süresince maya sayılarında önemli bir değişim tespit edilmemiş olup, maya sayılarının destile su ile yıkananlarda 0,1 log, klorlu su ile yıkananlarda ise 0,7 log artış gösterdiği bildirilmiştir (Rodgers et al., 2004).

Ürünlerin duyuşal kalitesini etkilemesi nedeniyle maya sayısı, modifiye atmosferde paketlenmiş taze sebzeler için sınırlayıcı mikroorganizmalar olarak kabul edilmiş olup, bu tür ürünlerde küf ve maya sayısının 5 log kob/g'dan fazla olmaması önerilmektedir (Debevere, 1996; Allende et al., 2006'dan). Bu tez çalışmasında ise steril destile su, % 8 sumak ekstraktı veya 750 ppm oregano yağı ile yıkanıp paketlenen domateslerdeki maya sayısının 10 günlük depolama periyodunda 5 logaritmik birimi geçmediği saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, lahana ve havuç karışımı modifiye atmosferde paketlenerek 4°C'de depolanmıştır. Depolamanın 7. gününde küf ve maya sayısı su ile yıkananlarda 2,88 log, 100 ppm klorlu su ile

yıkananlarda 2,82 logaritmik birim artışı tespit edilmiştir (Cliffe-Byrnes and O'Beirne, 2005).

Yapılan çalışmalarda, domates suyuna % 0,1 oranında anason yağı ilave edilip 2,0 log kob/ml düzeyinde *Saccharomyces cerevisiae* inoküle edilmiş ve 15°C'de 4 hafta depolanmıştır. Kontrol örneklerinde 1 hafta içinde sayı 8 logaritmik birime yükselirken, anason yağı içeren domates sularındaki sayı ise belirleme limitinin altına düşmüştür. Ancak, 2. haftada sayı 6,0 log, 3 haftada ise 7 logaritmik birime yükselmiştir (Lachowicz et al., 1998). Modifiye atmosferde paketlenip, 10°C'de 10 gün depolanan brokolilerde bulunan maya sayıları yaklaşık 2 logaritmik birim artış göstermiş olup, süre 14 güne çıkarıldığında sayıların 6 logaritmik birime kadar yükseldiği tespit edilmiştir (Stringer et al., 2007). Modifiye atmosferde paketlenen ıspanakların 5°C'de 12 gün depolanmasıyla, maya sayısının 0,87 logaritmik birime, atmosfer koşullarında paketlenenlerin ise 1,43 logaritmik birime yükseldiği ortaya konmuştur (Allende et al., 2004).

Domateslerin depolanması sırasında doğal mikrofloradaki değişimler genel olarak değerlendirildiğinde, modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenip 4°C ve 10°C'de depolanan domateslerdeki laktik asit bakterilerinin, aerobik mezofilik ve psikrotrof mikroorganizma sayılarının, depolama süresinin sonunda yıkama öncesinden farklı olmadığı, düşük depolama sıcaklıkları ve farklı paketlenme yöntemlerinin mikroorganizmaların gelişimini etkilemediği belirlenmiştir. 4°C'de depolanan domateslerdeki küf ve maya sayıları

10°C’de depolananlara göre daha düşük bulunmuştur. Depolama süresi boyunca iceberg marullarının doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmaların domates mikroflorası ile karşılaştırıldığında daha hızlı çoğaldığı ve mikroorganizma sayılarının 9 logaritmik birimi aştığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada iceberg marulları doğandıktan sonra paketlenildiği için, doğrama sırasında marul yüzeylerindeki koruyucu yapılar bozulmuş ve besin elementlerinin oranı yükselmiştir. Ürünün yüzey alanının da artmasıyla birlikte mikroorganizmaların gelişimi hızlanmaktadır. Domatesler ise bütün olarak paketlenildiği için depolama periyodunda mikroorganizma sayılarının çok fazla yükselmediği tespit edilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Klora alternatif doğal antimikrobiyal maddeler, modifiye atmosferde paketlenme ve farklı sıcaklıklarda depolama yöntemlerinin kombinasyonunun, taze sebzelerde gıda kaynaklı enfeksiyonlara yol açan *Salmonella* suşlarının gelişimi üzerine etkilerinin araştırılması ve sebzelerin raf ömrü boyunca doğal mikrofloradaki değişimlerin belirlenmesi amaçlanan bu çalışmada, aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Yedikule ve iceberg marullarına mikroorganizmaların inoküle edilmesinde kullanılan daldırma ve spot inokülasyon yöntemleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edilmiştir. *Salmonella typhimurium* sayımında kullanılan TSAN ve BSAN besiyerleri arasında fark olmadığı saptanmıştır.
2. Antimikrobiyal etkisi belirlenen baharatlar ve bitki ekstraktları içerisinde portakal kabuğu yağı, rezene, defne yaprağı, lavanta ve anasonun besiyerinde yapılan denemelerde *S.typhimurium* ATCC 13311, *Erwinia carotovora* ve *Pseudomonas fluorescens* sayılarını 2 logaritmik birimden daha az azalttıkları tespit edilmiştir. Mersin yaprağı, kişniş ve kimyon ekstraktlarının ise antimikrobiyal etkileri yüksek olmasına rağmen, sebzelerde bıraktığı koku nedeniyle kullanımının uygun olmadığı saptanmıştır. Oregano ve sumak ekstraktlarının besiyerlerinde bulunan *S.typhimurium*, *E.carotovora* ve *P.fluorescens* sayılarında 3 logaritmik birimden daha fazla azalma sağladığı belirlenmiştir.

3. 75 ppm oreganonun *S.typhimurium* ATCC 13311 üzerindeki antimikrobiyal etkisi ile 50 ppm klorun antimikrobiyal etkisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
4. Oregano veya sumak ile yıkanan sebzelerdeki *S.typhimurium* ATCC 13311 sayısındaki azalmalar, destile su ile yıkamaya göre daha fazladır. Sebzelerin antimikrobiyal maddeler ile yıkanma süresinin 5 dakikadan 10, 15 veya 20 dakikaya yükseltilmesi ile, *S.typhimurium* ATCC 13311 sayısındaki azalmalar arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Antimikrobiyal maddelerle yıkandıktan sonra su ile bir dakika yıkama işleminin, mikroorganizma sayısındaki azalma üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.
5. Mikroorganizmaların yüzeylere tutunması sırasında, inokülasyon kabiniindeki hava akımının açık veya kapalı olması tutunan mikroorganizma sayıları arasında farklılığa yol açmadığı ve 0 – 120 dakikalık tutundurma süreleri arasında da fark olmadığı belirlenmiştir.
6. Baharat konsantrasyonları arttırıldığında *Salmonella* spp. sayısının belirleme limitinin altına düştüğü, ancak yoğun konsantrasyonlarda sebzelerin dokularına zarar verdiği tespit edilmiştir. 1000 ppm oregano ile 5,10 logaritmik birim azalma sağlanmasına rağmen domates dokularına zarar verdiği gözlenmiştir.
7. Domateslerdeki antimikrobiyal etkinin marullara göre daha yüksek olduğu, marullarla kıyaslandığında domateslerin antimikrobiyal

maddelerden kaynaklanan renk değişimi ve dokuda yumuşama gibi kalite kayıplarına karşı daha az hassas olduğu tespit edilmiştir. % 8 sumak ile *Salmonella* spp. sayısı iceberg marullarında 1,68 logaritmik birim, domateslerde ise 4,90 logaritmik birim azalmıştır.

8. Modifiye atmosferde veya açık hava koşullarında paketlenen sebzelerdeki *Salmonella* spp. sayıları arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmemiştir. 4°C veya 10°C’de depolanan marullardaki *Salmonella* spp. sayıları arasında fark olmadığı, ancak domateslerde iki depolama sıcaklığı arasında fark olduğu ortaya konmuştur. Marullarda ve domateslerde mezofilik veya psikrotrof aerobik bakteri sayıları üzerine depolama sıcaklıklarının etkisi olmadığı tespit edilmiştir. 10°C’de depolanan domateslerdeki kf ve maya sayılarının ise 4°C’de depolananlara göre daha yüksek olduğu, 10°C ve 4°C’de depolanan domateslerdeki laktik asit bakteri sayıları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ortaya konmuştur.
9. % 4 sumak veya 500 ppm oregano ile yıkanan iceberg marullarında mezofilik ve psikrotrof bakteri sayılarında önemli bir azalma tespit edilmemiş ve 10 günlük depolama süresinde sayıların 9 logaritmik biriminin üzerine çıktığı saptanmıştır.
10. % 8 sumak veya 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki mezofilik aerobik bakteri sayısı 10 günlük depolama süresinde yıkama öncesine göre farklı bulunmamıştır. Psikrotrof bakteri sayılarında ise % 8 sumak ile yıkanan domateslerde 10. günde artış tespit edilmiş, oregano veya su ile yıkananlarda sayılar yıkama

öncesine göre farklı bulunmamıştır. Laktik asit bakteri ve küf sayılarında antimikrobiyal madde ile yıkama sonrasında önemli bir azalma tespit edilmemiş, % 8 sumak veya su ile yıkanan domateslerde 10 günlük depolama süresince sayılar yıkama öncesinden farklı bulunmamıştır. 750 ppm oregano ile yıkanan domateslerdeki sayılar depolamanın 10. gününde 0. güne göre farklı bulunmamıştır. Maya sayılarında da yıkama sonrası önemli azalma tespit edilmemiş, 4°C’de yıkama öncesi, 0. gün ve 10. günler arasında fark tespit edilmemiştir. 10°C’de depolananlarda ise 10. günde sayılarda artış tespit edilmiştir.

11. Oregano yağı ve sumak ekstraktlarının doğal mikroflora üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin *Salmonella* spp. üzerindeki etkilerinden daha düşük olduğu ortaya konmuştur.

Yapılan bu çalışma ile oregano ve sumak ekstraktlarının marul ve domateslerde bulunabilecek *Salmonella* hücrelerini inaktif hale getirebileceği, ancak marul dokularına zarar verdiği tespit edilmiştir. Bu ekstraktların marullara depolama öncesi değil de, servisten hemen önce salata sosu olarak kullanılması önerilmektedir. Modifiye atmosferde paketleme işleminin *Salmonella* hücreleri üzerinde inhibitif etki yaratmadığı ve bu tür ürünlerde patojen riskinin bulunduğu ortaya konmuştur.

Bu konu ile ilgili daha ileri çalışmalarda baharatların kokusunu maskeleyebilecek ve sebze dokularına zarar vermesini engelleyebilecek yeni teknolojilerin geliştirilmesi, baharat ekstraktları içeren salata

soslarının antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi, modifiye atmosferde paketlenme işleminde paket içerisine baharat ekstraktlarının ilave edilmesi ve patojen bakteriler üzerine etkisinin belirlenmesi gibi konularda araştırma yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abadias, M., Usall, J., Oliveira, M., Alegre, I. and Viñas, I.**, 2008, Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables, *International Journal of Food Microbiology*, 123(1-2):151–158.
- Abdul-Raouf, U. M., Beuchat, L. R. and Ammar, M. S.**, 1993, Survival and growth of *Escherichia coli* 0157:H7 on salad vegetables, *Applied and Environmental Microbiology*, 59(7):1999-2006.
- Ahn, H., Kim, J., Kim, J., Kim, D., Yook, H. and Byun, M.**, 2005, Combined effects of irradiation and modified atmosphere packaging on minimally processed Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.), *Food Chemistry*, 89:589-597.
- Akbas, M.Y. and Ölmez, H.**, 2007, Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on iceberg lettuce by dip wash treatments with organic acids, *Letters in Applied Microbiology*, 44(6):619-624.
- Aktuğ, Ş.E. and Karapınar, K.**, 1986, Sensitivity of Some Common Food-Poisoning Bacteria to Thyme, Mint and Bay Leaves, *International Journal of Food Microbiology*, 3:349-354.
- Allende, A., Luo, Y., McEvoy, J.L., Artes, F. and Wang, C.Y.**, 2004, Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions, *Postharvest Biology and Technology*, 33:51-59.
- Allende, A., McEvoy, J.L., Luo, Y., Artes, F. and Wang, C.Y.**, 2006, Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed ‘Red Oak Leaf’ lettuce, *Food Microbiology*, [23\(3\)](#):241-249.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Amanatidou, A., Smid, E.J. and Gorris, L.G.M.**, 1999, Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable associated micro-organisms, *Journal of Applied Microbiology*, 86:429-438.
- Anonim**, 2001, T.C Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Tebliğ No: 2001/19. (<http://www.okyanusbilgiambari.com/tgm/Tebli/T-Bulasan-MikrobiyolojikKriterler.pdf>) (Erişim tarihi: 09.08.2005)
- Anonymous**,2004. http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/humber/3708820.stm (Erişim tarihi: 09.07.2005)
- Aycicek, H., Oguz, U. and Karci, K.**, 2006, Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey, *International Journal Hygiene Environmental Health*, 209:197-201.
- Baur, S., Klaiber, R, Hammes, W.P. and Carle, R.**, 2004, Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5:45-55.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. and Karadoğan, T.**, 2004, Antimicrobial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey, *Food Control*, 15:159-172.
- Bayram, Ö.A., Bayram, M. and Tekin, A.R.**, 2005, Spray drying of sumac flavour using sodium chloride, sucrose, glucose and starch as carriers, *Journal of Food Engineering*, 69:253-260.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Beuchat, L.R. and Brackett, R.E.**, 1991, Behavior of *Listeria monocytogenes* inoculated into raw tomatoes and processed tomato products, *Applied and Environmental Microbiology*, 57(5):1367-1371.
- Beuchat, L.R.**, 1996, Pathogenic Microorganisms associated with fresh produce, *Journal of Food Protection*, 59(2):204-216.
- Beuchat, L.R.**, 1998, Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review, Food Safety Unit, World Health Organization, Geneva, WHO/FSF/FOS/98.2, 42p. (http://www.who.int/food_safety/publications/fsmanagement/en/surface_decon.pdf) (Erişim tarihi: 04.04.2007)
- Beuchat, L.R.**, 2002, Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables, *Microbes and Infection*, 4:413-423.
- Beuchat, L.R., Farber, J.M., Garrett, E.H., Harris, L.J., Parish, M.E., Suslow, T.V. and Busta, F.F.**, 2001a, Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables, *Journal of Food Protection*, 64(8):1103-1109.
- Beuchat, L.R., Harris, L.J., Ward, T.E. and Kajs, T.M.**, 2001b, Development of a proposed standard method for assessing the efficacy of fresh produce sanitizers, *Journal of Food Protection*, 64(8):1103-1109.
- Beuchat, L.R., Nail, B.V., Adler, B.B. and Clavero, M.R.S.**, 1998, Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce, *Journal of Food Protection*, 61(10):1305-1311.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bidawid, S., Farber, J.M. and Sattar, S.A.**, 2001, Survival of hepatitis A virus on modified atmosphere- packaged (MAP) lettuce, *Food Microbiology*, 18:95-102.
- Burnett, A.B., Iturriaga, M.H., Escartin, E.F., Pettigrew, C.A. and Beuchat, L.R.**, 2004, Influence of variations in methodology on populations of *Listeria monocytogenes* recovered from lettuce treated with sanitizers, *Journal of Food Protection*, 67(4):742-750.
- Burt, S.**, 2004, Essential oils: Their antimicrobial properties and potential applications in foods - a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94:223-253.
- Burt, S.A and Reinders, R.D.**, 2003, Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7, *Letters in Applied Microbiology*, 36:162-167.
- Caillet, S., Millette, M., Salmieri, S. and Lacroix, M.**, 2006, Combined effects of antimicrobial coating, modified atmosphere packaging, and gamma irradiation on *Listeria innocua* present in ready-to-use carrots (*Daucus carota*), *Journal of Food Protection*, 69(1):80-85.
- Capecka, E., Mareczek, A. and Leja, M.**, 2005, Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species, *Food Chemistry*, 93:223–226.
- Carrasco, E., Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., García-Gimeno, R.M. and Zurera, G.**, 2008, Growth of *Listeria monocytogenes* on shredded, ready-to-eat iceberg lettuce, *Food Control*, 19(5):487-494.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- CDC**, 2002, Centers for Disease Control and Prevention, Multistate outbreaks of *Salmonella* serotype Poona infections associated with eating cantaloupe from Mexico --- United States and Canada, 2000—2002, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 51(46):1044-1047.
- CDC**, 2005, Centers for Disease Control and Prevention, Outbreaks of *Salmonella* infections associated with eating Roma tomatoes --- United States and Canada, 2004, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 54(13):325-328.
- CDC**, 2006a, Salmonellosis- Outbreak Investigation, (www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salmonellosis_2006/outbreak_notice.htm) (Erişim tarihi: 12.08.2007)
- CDC**, 2006b, Update on multi-state outbreak of *E. coli* O157:H7 infections from fresh spinach, October 6, 2006. (www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100606.htm) (Erişim tarihi: 12.08.2007)
- Cerrutti, P., Alzamora, S.M. and Vidales, S.L.**, 1997, Vanillin as an antimicrobial for producing shelf-stable strawberry puree, *Journal of Food Science*, 62(3):608–610.
- Chang, J. 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.
- Charles, F., Sanchez, J. and Gontard, N.**, 2005, Modeling of active modified atmosphere packaging of endives exposed to several postharvest temperatures, *Journal of Food Science*, 70(8):443–449.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cliffe-Byrnes, V. and O'Beirne, D.**, 2005, Effects of chlorine treatment and packaging on the quality and shelf-life of modified atmosphere (MA) packaged coleslaw mix, *Food Control*, 16:707-716.
- Consentino, S., Tuberoso, C.I.G., 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*, 29:130-135.
- Cowan, M.M.**, 1999, Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4):564-582.
- CSPI**, 2006a, Outbreak Alert, Center for Science in the Public Interest, November, 2006. (www.cspinet.org/foodsafety/outbreak_alert.pdf) (Erişim tarihi: 18.03.2007)
- CSPI**, 2006b, Produce outbreaks in mid to late 2006, Center for Science in the Public Interest, (www.cspinet.org/foodsafety/produce_outbreak_06.pdf) (Erişim tarihi: 18.03.2007)
- Daş, E., Gürakan, G.C. and Bayındırlı, A.**, 2006, Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella* Enteritidis on cherry tomatoes, *Food Microbiology*, 23:430- 438.
- Delaquis, P.J., Fukumoto, L.R., Toivonen, P.M.A. and Cliff, M.A.**, 2004, Implications of wash water chlorination and temperature for the microbiological and sensory properties of fresh-cut iceberg lettuce, *Postharvest Biology and Technology*, 31:81-91.
- Deza, M.A., Araujo, M. and Garrido, M.J.**, 2003, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on the surface of tomatoes by neutral electrolyzed water, *Letters in Applied Microbiology*, 37(6):482-487.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G.**, 2000, Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88:308-316.
- Drosinos, E.H., Tassou, C., Kakiomenou, K. and Nychas, G-J.E.**, 2000, Microbiological, physico-chemical and organoleptic attributes of a country tomato salad and fate of *Salmonella enteritidis* during storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions at 4°C and 10°C, *Food Control*, 11:131-135.
- E.U.**, 2005, European Union, Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuff, *Official Journal of the European Union*, 22.12.2005, L 338.
- 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*, 64:1019-1024.
- Ertürk, Ö.**, 2006, Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants, *Biologia, Bratislava*, 61(3):275 - 278.
- Escudero, M.E., Velazquez, L., Di Genaro, M.S. and De Guzman, A.M.**, 1999, Effectiveness of various disinfectants in the elimination of *Yersinia enterocolitica* on fresh lettuce, *Journal of Food Protection*, 62(6):665-669.
- Falcone, P., Speranza, B., Del Nobile, M.A., Corbo, M.R. and Sinigaglia, M.**, 2005, A study on the antimicrobial activity of thymol intended as a natural preservative, *Journal of Food Protection*, 68(8):1664-1670.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fan, X., Niemira, B.A. and Sokorai, K.J.B.**, 2003, Use of ionizing radiation to improve sensory and microbial quality of fresh-cut green onion leaves, *Journal of Food Science*, 68(4):1478-1483.
- Fan, X., Niemira, B.A., Mattheis, J.P., Zhuang, H. and Olson, D.V.**, 2005, Quality of fresh-cut apple slices as affected by low-dose ionizing radiation and calcium ascorbate treatment, *Journal of Food Science*, 70(2): S143-S148.
- FAO**, 2003, General Considerations For Preservation Of Fruits And Vegetables, Chapter 3, Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas, FAO Agricultural Services Bulletin 149, Rome. (Erişim tarihi: 22.04.2007) (<http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4358E/y4358e06.htm>)
- Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M. and El-Baroty, G.S.A.**, 1989, Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils, *J. Food Protection.*, 52(9):665-667.
- Farber, J.N., Harris, L.J., Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Gorney, J.R., Garrett, E.H. and Busta, F.F.**, 2003, Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(s1):142–160.
- Fazeli, M.R., Amin, G., Attari, M.M.A., Ashtiani, H., Jamalifar, H. and Samadi, N.**, 2007, Antimicrobial activities of Iranian sumac and a vishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria, *Food Control*, 18:646-649.
- FDA**, 2001, Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce, Center for Food Safety and Applied Nutrition, September 30, 2001. (<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3-toc.html>) (Erişim tarihi: 22.06.2005)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- FDA**, 2006, Food Additive Status List, CFSAN / Office of Food Additive Safety, July, 2006. (www.cfsan.fda.gov/~dms/opa-appa.html) (Erişim tarihi: 25.04.2007)
- Fisher, K. and Phillips, C.A.**, 2006, The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems, *Journal of Applied Microbiology*, 101(6):1232-1240.
- Francis, G.A. and O'Beirne, D.**, 1997, Effects of gas atmosphere, antimicrobial dip and temperature on the fate of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* on minimally processed lettuce, *Int. J. Food Science and Technology*, 32:141-151.
- Francis, G.A. and O'Beirne, D.**, 2001, Effects of vegetable type, package atmosphere and storage temperature on growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 27:111-116.
- Francis, G.A. and O'Beirne, D.**, 2005, Variation among strains of *Listeria monocytogenes*: differences in survival on packaged vegetables and in response to heat and acid conditions, *Food Control*, 16, 687-694.
- Francis, G.A., Thomas, C. and O'Beirne, D.**, 1999, The microbiological safety of minimally processed vegetables, *International Journal of Food Science and Technology*, 34:1-22.
- Garg, N., Churey, J.J. and Splittstoesser, D.F.**, 1990, Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables, *Journal of Food Protection*, 73(8):701-703.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gleeson, E. and O'Beirne, D.**, 2005, Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables, *Food Control*, 16:677-685.
- Gómez, P.A. and Artés, F.**, 2005, Improved keeping quality of minimally fresh processed celery sticks by modified atmosphere packaging, *LWT - Food Science and Technology*, 38(4):323-329.
- Goularte, L., Martins, C.G., Morales-Aizpurúa, I.C., Destro, M.T., Franco, B.D.G.M., Vizeu, D.M., Hutzler, B.W. and Landgraf, M.**, 2004, Combination of minimal processing and irradiation to improve the microbiological safety of lettuce (*Lactuca sativa*, L.), *Radiation Physics and Chemistry*, 71:155-159.
- Guillén, F., Zapata, P.J., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M. and Valero, D.**, 2007, Improvement of the overall quality of table grapes stored under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds, *Journal of Food Science*, 72(3):S185–S190.
- Gulati, B.R., Allwood, P.B., Hedberg, C.W. and Goyal, S.M.**, 2001, Efficacy of commonly used disinfectants for the inactivation of Calicivirus on strawberry, lettuce, and a food-contact surface, *Journal of Food Protection*, 64(9):1430-1434.
- Guo, X., Chen, J., Brackett, R.E. and Beuchat, L.R.**, 2001, Survival of *Salmonellae* on and in tomato plants from the time of inoculation at flowering and early stages of fruit development through fruit ripening, *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10):4760-4764.
- Guo, X., Chen, J., Brackett, R.E. and Beuchat, L.R.**, 2002, Survival of *Salmonella* on tomatoes stored at high relative humidity, in soil, and on tomatoes in contact with soil, *Journal of Food Protection*, 65(2):274-279.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hammer, K.A., Carson, C.F. and Riley, T.V.**, 1999, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*, 86:985-990.
- Harrigan, W.F.**, 1998, Psychrotrophic, Psychrophilic and Thermophilic Counts, *Laboratory Methods in Food Microbiology*, 3rd Ed. Academic Press, San Diego. 163p.
- Holley, R.A. and Patel, D.**, 2005, Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials, *Food Microbiology*, 22:273-292.
- Huang, T., Xu, C., Walker, K., West, P., Zhang, S. and Weese, J.**, 2006, Decontamination efficacy of combined chlorine dioxide with ultrasonication on apples and lettuce, *Journal of Food Science*, 71(4):134-139.
- Ibarra-Sánchez, L.S., Alvarado-Casillas, S., Rodríguez-García, M.O., Martínez-González, N.E. and Castillo, A.**, 2004, Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals, *Journal of Food Protection*, 67(7):1353-1358.
- Islam, M., Doyle, M.P., Phatak, S.C., Millner, P. and Jiang, X.**, 2004, Persistence of enterohemorrhagic *E.coli* O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water, *Journal of Food Protection*, 67(7):1365-1370.
- Iturriaga, M.H., Escartin, E.F., Beuchat, L.R. and Martínez-Peniche, R.**, 2003. Effect of inoculum size, relative humidity, storage temperature, and ripening stage on the attachment of *Salmonella* Montevideo to tomatoes and tomatillos, *Journal of Food Protection*, 66(10):1756-1761.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Izumi, H.**, 1999, Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables, *Journal of Food Science*, 64(2):536-539.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Falcato, P. And Debevere, J.**, 1999, Behavior of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas* spp. on fresh-cut produce packaged under equilibrium-modified atmosphere, *Journal of Food Protection*, 62(10):1128–1135.
- Jayas, D.S. and Jeyamkondan, S.**, 2002, Modified atmosphere storage of grains meats fruits and vegetables, *Biosystems Engineering*, 82(3):235–251.
- Johnston, L.M., Jaykus, L., Moll, D., Anciso, J., Mora, B. and Moe, C.L.**, 2006, A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin, *International Journal of Food Microbiology*, 112:83-95.
- Johnston, L.M., Jaykus, L., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B. and Moe, C.L.**, 2005, A field study of the microbiological quality of fresh produce, *Journal of Food Protection*, 68(9):1840-1847.
- Karapınar, K. and Aktuğ, Ş.E.**, 1987, Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole, *International Journal of Food Microbiology*, 4:161-166.
- Karapınar, M.**, 1990, Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*, *International Journal of Food Microbiology*, 10:193-200.
- Kilonzo-Nthenge, A., Chen, F. and Godwin, S.L.**, 2006, Efficacy of home washing methods in controlling surface microbial contamination on fresh produce, *Journal of Food Protection*, 69(2):330-334.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kim, J., Marshall, M.R. and Wei, C.**, 1995, Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens, *J. Agric. Food Chem.*, 43(11):2839-2845.
- Kintzios, S.E.**, 2004, Oregano, 215-229, Handbook of Herbs and Spices, Peter, K.V. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, 374 p.
- Kondo, N., Murata, M. and Isshiki, K.**, 2006, Efficiency of sodium hypochlorite, fumaric acid, and mild heat in killing native microflora and *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium DT104, and *Staphylococcus aureus* attached to fresh-cut lettuce, *Journal of Food Protection*, 69(2):323-329.
- Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F. and Baser, K.H.C.**, 2007, Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts, *Food Chemistry*, 103:952-959.
- Koseki, S. and Isobe S.**, 2005, Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table, *International Journal of Food Microbiology*, 104(3):239-248.
- Koseki, S., Yoshida, K., Kamitani, Y., Isobe, S. and Itoh, K.**, 2004, Effect of mild heat pre-treatment with alkaline electrolyzed water on the efficacy of acidic electrolyzed water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on lettuce, *Food Microbiology*, 21, 559-566.
- Lachowicz, K.J., Jones, G.P., Briggs, D.R., Bienvenu, F.E., Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M.J.**, 1998, The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid-tolerant food microflora, *Letters in Applied Microbiology*, 26(3):209-214.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P. and Nychas, G.J.E.,** 2001, A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, *Journal of Applied Microbiology*, 91:453-462.
- Lanciotti, R., Gianotti, A., Patrignani, F., Belletti, N., Guerzoni, M.E. and Gardini, F.,** 2004, Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits, *Trends in Food Science and Technology*, 15:201-208.
- Lang, M.M., Harris, L.J. and Beuchat, L.R.,** 2004a, Evaluation of inoculation method and inoculum drying time for their effects on survival and efficiency of recovery of *E. coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* inoculated on the surface of tomatoes, *Journal of Food Protection*, 67(4):732-741.
- Lang, M.M., Harris, L.J. and Beuchat, L.R.,** 2004b, Survival and recovery of *E.coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* on lettuce and parsley as affected by method of inoculation, time between inoculation and analysis, and treatment with chlorinated water, *Journal of Food Protection*, 67(6):1092-1103.
- Lapidot, A., Romling, U. and Yaron, S.,** 2006, Biofilm formation and the survival of *Salmonella* Typhimurium on parsley, *International Journal of Food Microbiology*, 109:229-233.
- Larson, A.E., Johnson, E.A., Barmore, C.R. and Hughes, M.D.,** 1997, Evaluation of the botulism hazard from vegetables in modified atmosphere packaging, *Journal of Food Protection*, 60(10): 1208-1214.
- Lee, S.Y., Costello, M. and Kang, D.K.,** 2004, Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer of lettuce leaves, *Journal of Food Protection*, 67(7):1371-1376.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Leistner, L.**, 1994, Food design by hurdle technology and HACCP, Food Design by Hurdle Technology and HACCP, Adalbert-Raps-Foundation, Kulmbach, Germany, 62p.
- Leistner, L.**, 2000, Basic aspects of food preservation by hurdle technology, *International Journal of Food Microbiology*, 55:181-186.
- Lilly, T., Solomon, H.M. and Rhodehamel, E.J.**, 1996, Incidence of *Clostridium botulinum* in vegetables packaged under vacuum or modified atmosphere, *Journal of Food Protection*, 59(1):59-61.
- Lin, C., Kim, J., Du, W. and Wei, C.**, 2000, Bactericidal activity of isothiocyanate against pathogens on fresh produce, *Journal of Food Protection*, 63(1):25-30.
- Lin, C., Wu, C., Yeh, J. and Saalia, F.K.**, 2005, The evaluation of electrolysed water as an agent for reducing micro-organisms on vegetables, *International Journal of Food Science and Technology*, 40:495-500.
- Linton, M., McClements, J.M.J. and Patterson, M.F.**, 1999, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat, *Journal of Food Protection*, 62(3):277-279.
- López-Malo, A., Alzamora, S.M. and Palou, E.**, 2005, *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds, *International Journal of Food Microbiology*, 99:119-128.
- Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Donk-Suk, C. and Suzuki, T.**, 2004, Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds, *Food Microbiology*, 21:657-666.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Martínez-Ferrer, M. and Harper, C.**, 2005, Reduction in microbial growth and improvement of storage quality in fresh-cut pineapple after methyl jasmonate treatment, *Journal of Food Quality*, 28(1):3–12.
- Moleyar, V. and Narasimhan, P.**, 1992, Antibacterial activity of essential oil components, *International Journal of Food Microbiology*, 16:337-342.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., del Valle, C.E. and Roura, S.I.**, 2005, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, *LWT*, 38:565-570.
- Nasar-Abbas, S.M. and Halkman, A.K.**, 2004, Antimicrobial effect of water extract of sumac (*Rhus coriaria L.*) on the growth of some food borne bacteria including pathogens, *International Journal of Food Microbiology*, 97:63-69.
- Nasar-Abbas, S.M., Halkman, A.K. and Al-Haq, M.I.**, 2004, Inhibition of some foodborne bacteria by alcohol extract of sumac (*RHUS CORIARIA L.*), *Journal of Food Safety*, 24:257-267.
- Nguyen-the, C. and Carlin, F.**, 1994, The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(4):371-401.
- Niemira, B.A.**, 2003, Irradiation of fresh and minimally processed fruits, vegetables, and juices, 279- 299, Ch 13, *Microbial Safety of Minimally Processed Foods*, Novak, J.S., Sapers, G.M. and Juneja, V.K. (Eds), CRC Press Inc. Boca Raton, 343p.
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Naghdibadi, H.**, 2007, Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in the liquid medium and tomato paste, *Food Control*, 18:1518 – 1523.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Parish, M.E. and Davidson, P.M.**, 1993, Methods for Evaluation, 597-615, Antimicrobials in Foods, 2nd Ed., Davidson, P.M. and Branen, A.L. (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, 647p.
- Patkar, K.L., Usha, C.M., Shetty, H.S., Paster, N. and Lacey, J.**, 1993, Effect of spice essential oils on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*, *Letters in Applied Microbiology*, 17:49-51.
- Petran, R.L., Sperber, W.H., Davis, A.B.**, 1995, *Clostridium botulinum* toxin formation in romain lettuce and shredded cabbage: Effect of storage and packaging conditions, *Journal of Food Protection*, 58(6): 624-627.
- Phillips, C.A.**, 1996, Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce, *International Journal of Food Science Technology*, 31(6):463-479.
- Piagentini, A.M., Pirovani, M.E., Güemes, D.R., Di Pentima, J.H. and Tessi, M.A.**, 1997, Survival and growth of *Salmonella hadar* on minimally processed cabbage as influenced by storage abuse conditions, *Journal of Food Science*, 62(3):616-618.
- Pirovani, M., Piagentini, A., Güemes, D. and Arkwright, S.**, 2004, Reduction of chlorine concentration and microbial load during washing-disinfection of shredded lettuce, *International Journal of Food Science and Technology*, 39:341-347.
- Pirovani, M.E., Güemes, D.R., Di Pentima, J.H. and Tessi, M.A.**, 2000, Survival of *Salmonella hadar* after washing disinfection of minimally processed spinach, *Letters in Applied Microbiology*, 31:143-148.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ponce, A.G., Del Valle, C. and Roura, S.I.**, 2004, Shelf life of leafy vegetables treated with natural essential oils, *Journal of Food Science*, 69(2):50-56.
- Prudent, D., Perineau, F., Bessiere, J.M., Michel, G.M. and Baccou, J.C.**, 1995, Analysis of the essential oil of wild oregano from Martinique (*Coleus aromaticus Benth.*)- evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties, *Journal of Essential Oil Research*, 7:165-173.
- Pruthi, J.S.**, 1980, Spices and Condiments: Chemistry, Microbiology, Technology, Academic Press, New York, 499p.
- Ragaert, P., Devlieghere, F. and Debevere, J.**, 2007, Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables, *Postharvest Biology and Technology*, 44(3):185-194.
- Ragaert, P., Verbeke, W., Devlieghere, F. and Debevere, J.**, 2004, Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits, *Food Quality and Preference*, 15:259-270.
- Raiden, R.M., Sumner, S.S., Eifert, J.D. and Pierson, M.D.**, 2003, Efficacy of detergents in removing *Salmonella* and *Shigella* spp. from the surface of fresh produce, *Journal of Food Protection*, 66(12):2210-2215.
- Rathinasabapathi, B.**, 2004, Survival of *Salmonella Montevideo* on tomato leaves and mature green tomatoes, *Journal of Food Protection*, 67(10):2277-2279.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Reddy, M.V.B., Angers, P., Gosselin, A. and Arul, J.,** 1998, Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits, *Phytochemistry*, 47(8):1515-1520.
- Richardson, S.D., ThrustonJR, A.D., Caughran, T.V., Collette, T.W., Patterson, K.S. and LykinsJR, B.W.,** 1998, Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants, *Food Technology*, 52(4):58-61.
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M. and Barry-Ryan, C.,** 2007, Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review, *Trends in Food Science and Technology*, 18:373-386.
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barry-Ryan, C., Frías, J.M., Henahan, G.T.M. and Barat J.M.,** 2008, Use of neutral electrolysed water (EW) for quality maintenance and shelf-life extension of minimally processed lettuce, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9:37-48.
- Rodgers, S.L., Cash, J.N., Siddiq, M., and Ryser, E.T.,** 2004, A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe, *Journal of Food Protection*, 67(4):721-731.
- Roller, S. and Seedhar, P.,** 2002, Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4° and 8°C, *Letters in Applied Microbiology*, 35(5):390-394.
- Rosa, C., Sapata, M. and Guerra, M.M.,** 2007, Chemical and sensory characteristics and microbiological safety of fresh finely chopped parsley packaged in modified atmosphere, *Food Control*, 18:1008-1012.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rupasinghe, H.P.V., Boulter-Bitzer, J., Ahn, T. and Odumeru, J.A.,** 2006, Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples, *Food Research International*, 39:575-580.
- Ryu, D. and Holt, D.L.,** 1993, Growth inhibition of *Penicillium expansum* by several commonly used food ingredients, *Journal of Food Protection*, 56(10):862-867.
- Sagoo, S.K., Little, C.L., Ward, L., Gillespie, I.A. and Mitchell, R.T.,** 2003, Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of Salmonellosis, *Journal of Food Protection*, 66(3):403-409.
- Sanz, S., Gimenez, M. and Orlarte, C.,** 2003, Survival and growth of *Listeria monocytogenes* and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in minimally processed artichokes, *Journal of Food Protection*, 66(12):2203-2209.
- Sanz, S., Gimenez, M., Orlarte, 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*, 93:986-993.
- Sapers, G.M. and Jones, D.M.,** 2006, Improved sanitizing treatments for fresh tomatoes, *Journal of Food Science*, 71(7):M252-M256.
- Sapers, G.M.,** 2003, Washing and sanitizing raw materials for minimally processed fruit and vegetable products, 221–253, *Microbial Safety of Minimally Processed Foods*, Novak, J.S., Sapers, G.M. and Juneja, V.K. (Eds), CRC Press Inc. Boca Raton, 343p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sapers, G.M., Miller, R.L., Jantschke, M. and Mattrazzo, A.M.,** 2000, Factors limiting the efficacy of hydrogen peroxide washes for decontamination of apples containing *Escherichia coli*, *Journal of Food Science*, 65(3):529–532.
- Sengün, I.Y. and Karapinar, M.,** 2004, Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.), *International Journal of Food Microbiology*, 96:301-305.
- Serrano, M., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Guillen, F. and Valero, D.,** 2005, The use of natural antimicrobial compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6:115-123.
- Seymour, I.J. and Appleton, H.,** 2001, Foodborne viruses and fresh produce, *Journal of Applied Microbiology*, 91(5):759–773.
- Simon, A., Gonzales-Fandos, E. and Tobar, V.,** 2004, Influence of washing and packaging on the sensory and microbiological quality of fresh peeled white asparagus, *Journal of Food Science*, 69(1):6-12.
- Singh, S., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Stroshine, R.L.,** 2002, Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil of a sequential washing in killing *E. coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots, *Lebensm-Wiss. U-Technol*, 35:720-729.
- Skandamis, P. and Nychas, G.J.E.,** 2000, Development and validation of a model predicting the survival of *E. coli* O157:H7 in home-made eggplant under various temperatures, pH and oregano essential oil concentrations, *Applied Environmental Microbiology*, 66:1646-1653.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Skandamis, P., Tsigarida, E. and Nychas, G.J.E.**, 2002, The effect of oregano essential oil on survival/ death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5°C under aerobic, VP/MAP conditions, *Food Microbiology*, 19:97-103.
- Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L.**, 1998, Antibacterial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Food Microbiology*, 26:118-122.
- 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*, 18:463-470.
- Snyder, O.P.**, 1997, Antimicrobial Effects of Spices and Herbs, (<http://www.hi-tm.com/Documents/Spices.html>)
- Solomon, H.M., Kautter, D.A., Lilly, T. and Rhodehamel, E.J.**, 1990, Outgrowth of *Clostridium botulinum* in shredded cabbage at room temperature under modified atmosphere. *Journal of Food Protection*. 53, 831–833.
- Stringer, S.C., Plowman, J. and Peck, M.W.**, 2007, The microbiological quality of hot water-washed broccoli florets and cut green beans, *Journal of Applied Microbiology*, 102(1):41-50.
- Su, L., Yin, J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J. and Yu, L.**, 2007, Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf, *Food Chemistry*, 100:990–997.
- Sy, K.V., Murray, M.B., Harrison, M.D. and Beuchat, L.R.**, 2005, Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and yeasts and molds on fresh and fresh-cut produce, *Journal of Food Protection*, 68(6):1176-1187.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Szabo, E.A., Scurrah, K.J. and Burrows, J.M.**, 2000, Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce, *Letters in Applied Microbiology*, 30:456- 460.
- Takeuchi, K. and Frank, J.F.**, 2000, Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability, *Journal of Food Protection*, 63(4):434-440.
- Takeuchi, K., Matute, C.M., Hassan, A.N. and Frank, J.F.**, 2000, Comparison of the attachment of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and *Pseudomonas fluorescens* to lettuce leaves, *Journal of Food Protection*, 63(10):1433-1437.
- Tassou, C., Drosinos, E.H. and Nychas, G.J.E.**, 1995, Effects essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4°C and 10°C, *Journal of Applied Bacteriology* 78:593-600.
- Tournas, V., Stack, M.E., Mislivec, P.B., Koch, H.A. and Bandler, R.**, 1998, Yeasts, Molds and Mycotoxins, Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revised: 2000-APR-17, Chapter 18. (<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html>)
- Tournas, V.H.**, 2005, Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts, *International Journal of Food Microbiology*, 99:71-77.
- Uyttendaele, M., Neyts, K., Vanderswalmen, H., Notebaert, E. and Debevere, J.**, 2004, Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water or thyme essential oil solution, *International Journal of Food Microbiology*, 90:263-271.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Valero, D., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. and Serrano, M.,** 2006, The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes, *Postharvest Biology and Technology*, 41(3):317-327.
- Valero, M. and Giner, M.J.,** 2006, Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth, *International Journal of Food Microbiology*, 106(1):90-94.
- Valero, M. and Salmeron, M.C.,** 2003, Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth, *International Journal of Food Microbiology*, 85:73-81.
- Venkitanarayanan, K.S., Lin, C., Bailey, H. and Doyle, M.P.,** 2002, Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on apples, oranges, and tomatoes by lactic acid with hydrogen peroxide, *Journal of Food Protection*, 65(1):100-105.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez, J.A.,** 2007, Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils, *Journal of Food Safety*, 27:91-101.
- Wade, W.N., Scouten, A.J., McWatters, K.H., Wick, R.L., Demirci, A., Fett, W.F. and Beuchat, L.R.,** 2003, Efficacy of ozone in killing *Listeria monocytogenes* on alfalfa seeds and sprouts and effects on sensory quality of sprouts, *Journal of Food Protection*, 66(1):44-51.
- Wan, J., Wilcock, A. and Coventry, M.J.,** 1998, The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*, *Journal of Applied Microbiology*, 84:152-158.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wei, C.I., Huang, T.S., Kim, J.M., Lin, W.F., Tamplin, M.L. and Bartz, J.A.**, 1995, Growth and survival of *Salmonella montevideo* on tomatoes and disinfection with chlorinated water, *Journal of Food Protection*, 58(8):829-836.
- Weissinger, W.R., Chantarapanont, W. and Beuchat, L.R.**, 2000, Survival and growth of *Salmonella bairdson* in shredded lettuce and diced tomatoes, and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer, *International Journal of Food Microbiology*, 62:123-131.
- Weissinger, W.R., McWatters, K.H. and Beuchat, L.R.**, 2001, Evaluation of volatile chemical treatments for lethality to *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts, *Journal of Food Protection*, 64(4):442-450.
- WHO**, 2003, Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases Report of a Joint WHO /FAO Expert Consultation, Geneva, WHO Technical Report Series 916. (http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916.pdf) (Erişim tarihi: 04.04.2007)
- Xu, W., Qu, W., Huang, K., Guo, F., Yang, J., Zhao, H. and Luo, Y.**, 2007, Antibacterial effect of grapefruit seed extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables, *Postharvest Biology and Technology*, 45:126-133.
- Yano, Y., Satomi, M. and Oikawa, H.**, 2006, Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*, *International Journal of Food Microbiology*, 111(1):6-11.
- Yıldız, F.**, 1994. Preparation, handling and distribution of fruits and vegetables, 15-65, Minimally processed refrigerated fruits and vegetables, Ed. Wiley, R.C., Chapman and Hall, New York, 388p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yuk, H., Bartz, J.A. and Schneider, K.R.**, 2005, Effectiveness of individual or combined sanitizer treatments for inactivating *Salmonella* spp. on smooth surface, stem scar, and wounds of tomatoes, *Journal of Food Science*, 70(9):M409-M414.
- Zagory, D.**, 1999, Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations, *Postharvest Biology and Technology*, 15(3):313-321.
- Zaika, L.L.**, 1988, Spices and Herbs: Their Antimicrobial Activity and its Determination, *Journal of Food Safety*, 9:97-118.
- Zhuang, R.Y., Beuchat, L.R. and Angulo, F.J.**, 1995, Fate of *Salmonella montevideo* on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine, *Applied and Environmental Microbiology*, 61(6):2127-2131.

ÖZGEÇMİŞ

Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olan Gülten TİRYAKİ GÜNDÜZ, 1976 yılında Tekirdağ'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Tekirdağ'da tamamladı. 1993 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 1998 yılında tamamladıktan sonra, 1999 yılında Gıda Mikrobiyolojisi Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2002 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladıktan sonra, aynı yıl Gıda Mikrobiyolojisi Bilim Dalında doktora eğitimine başladı. Halen aynı bölümde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.