

**TAZE PORTAKAL SULARININ MİKROBİYOLOJİK
KALİTESİ VE MEYVE YÜZEY DEKONTAMİNASYON
YÖNTEMLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTE ÜZERİNE
ETKİSİ**

**MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FRESH ORANGE
JUICE AND EFFICACY OF FRUIT SURFACE
DECONTAMINATION METHODS IN MICROBIOLOGICAL
QUALITY**

UFUK BAĞCI

Hacettepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2005

TAZE PORTAKAL SULARININ MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ VE MEYVE YÜZEY DEKONTAMİNASYON YÖNTEMLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTE ÜZERİNE ETKİSİ

Ufuk BAĞCI

Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZ

Bu çalışmada, taze sıkılmış portakal sularındaki mikrobiyal popülasyonun çeşitli kimyasal ve fiziksel meyve yüzey dekontaminasyon yöntemleriyle güvenli düzeye indirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında Ankara piyasasından farklı dönemlerde sağlanan 90 adet taze sıkılmış portakal suyu incelemeye alınmıştır. Bu örneklerdeki toplam mezofilik aerobik canlı bakteri (TMACB) sayısı 10^1 - 10^7 kob/ml arasında, koliform bakteri (KB) sayısı ise <3 -46000 EMS/ml arasında değişim göstermiş ve örneklerin 8 adedinde değişik düzeylerde *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Örneklerin hiç birinde *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığı tespit edilememiştir. Bu çalışmada ayrıca Ankara piyasasındaki bir satış noktasında portakal suyu üretiminde kullanılmakta olan otomatik bir meyve suyu ekstraktörünün iç yüzeylerinde gün boyunca meydana gelebilecek mikrobiyal kirlilik boyutlarının tespiti de araştırılmıştır. Bu ekstraktörün iç yüzeylerinde üretim gününde kullanımına başlanma (ekstraksiyon öncesi) ve kullanımın bitişi (ekstraksiyon sonrası) arasındaki zaman diliminde TMACB ve KB sayılarında önemli ölçüde artışlar meydana gelmiştir. İnoküle edilmemiş portakallardan elde edilen portakal sularıyla gerçekleştirilen yüzey dekontaminasyon çalışmalarında ise en iyi yüzey dekontaminasyonu H_2O_2 ve klor çözeltileriyle yıkama yöntemlerinden elde edilmiştir. *E. coli* ATCC 25922 suşu ile inoküle edilmiş portakallardan elde edilen portakal suları ve portakal yüzey dekontaminasyonunda kullanılan yıkama çözeltileri üzerinde gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizler en yüksek dekontaminasyon etkisinin kaynar suya daldırma ve H_2O_2 ile yıkama yöntemlerinden elde edildiğine işaret etmektedir.

Anahtar Sözcükler: Portakal, taze sıkılmış portakal suyu, yüzey dekontaminasyon yöntemleri, mikrobiyal popülasyon, mikrobiyolojik kalite

Danışman: Prof.Dr. Ayhan TEMİZ, Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FRESH ORANGE JUICE AND EFFICACY OF FRUIT SURFACE DECONTAMINATION METHODS IN MICROBIOLOGICAL QUALITY

Ufuk BAĞCI

Hacettepe University, Food Engineering Section

ABSTRACT

The aim of this study was to reduce microbial population of fresh squeezed orange juice by using various chemical and physical fruit surface decontamination methods. In the first step of the study, 90 fresh squeezed orange juice samples which were obtained from the certain sale points in Ankara market in different periods were examined. The counts of total mesophilic aerobic viable bacteria and coliform bacteria varied within the range 10^1 - 10^7 cfu/ml and <3-46000 MPN/ml, respectively. Out of 8 of 90 samples contained various levels of *E. coli*. There was no *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 in the samples.

In this study, the levels of microbial contamination occurred throughout a day on the inner surfaces of an automatic juice extractor at one of the sale points in Ankara market were also detected. Significant increases in the counts of total mesophilic aerobic viable bacteria and coliform bacteria were determined in surface samples of the extractor at two times, prior to extraction and post extraction. Best surface decontamination results were obtained with the orange juice samples which were produced by using non-inoculated oranges by following two applications, submersion of oranges in H₂O₂ solution and chlorine solution. Microbiological analyses on the orange juice samples and surface decontamination solutions of oranges which were inoculated with *E. coli* ATCC 25922 showed that the highest decontamination effects were obtained by following two applications, submersion of oranges in boiling water and H₂O₂ solution.

Keywords: Orange, fresh squeezed orange juice, surface decontamination methods, microbial population, microbiological quality

Advisor: Prof.Dr. Ayhan TEMİZ, Hacettepe University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesi aşamalarında çok büyük yardım ve desteğini gördüğüm değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan TEMİZ'e,

Bu çalışmayı maddi ve manevi açıdan destekleyen Can&Can Ltd. şirketine, yakın ilgilerinden dolayı özellikle sayın Gökhan ARTAR'a,

Kapsamlı Araştırma Projesi (04 01 602 001 nolu) ile maddi destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimine,

Çalışmanın çeşitli aşamalarında yardım ve desteklerini gördüğüm çalışma arkadaşlarım Hacı Ali GÜLEÇ, Pelin ONSEKİZOĞLU, Ayşegül DEMİR, Ayça YARALI, Betül VAZGEÇER, Yelda ZENCİR, Ayla ŞENER ve Sine ÖZMEN TOĞAY'a,

Değerli arkadaşlarım N. Umut AKTAN, M. Hüseyin BİLGİÇOĞLU, Kenan YILDIZ ve İlyas YILDIRIM'a,

Tez çalışmamın başından itibaren anlayışlı ve özverili tavrıyla hep yanımda olan sevgili Ceren UÇAR'a,

Hayatımın her döneminde olduğu gibi tez çalışmam sırasında da maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen kardeşlerim Ömür ve Esenay BAĞCI'ya,

Hayat boyu sevgileri ve sabırlı destekleri ile hep yanımda olan annem Fahire BAĞCI ve babam Murat BAĞCI'ya içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Ufuk BAĞCI

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
3. MATERYAL VE METOT.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Araştırma materyali.....	24
3.1.2. İnokülasyon'da kullanılan bakteri kültürü.....	24
3.1.3. Dilüsyon sıvıları ve besiyerleri.....	24
3.1.4. Ticari ekstraktör ve el ekstraktörü.....	25
3.1.5. Portakalların yüzey dekontaminasyonunda kullanılan çözeltiler.....	25
3.1.6. pH ölçümü.....	26
3.2. Metot.....	26
3.2.1. Piyasadan sağlanan şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerinin mikrobiyolojik analizi ve pH ölçümü.....	26
3.2.2. Portakallara uygulanan yüzey dekontaminasyon yöntemleri.....	27
3.2.3. <i>E. coli</i> ATCC 25922 kültürü ile inoküle edilmiş portakalların yüzey dekontaminasyonu.....	28
3.2.4. Ankara Piyasasındaki Ticari Bir otomatik ekstraktörün çeşitli yüzeylerinden mikrobiyolojik örnek alımı ve mikrobiyolojik analizler.....	30
3.2.5. Gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizler.....	31
3.2.5.1. Toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı.....	31
3.2.5.2. Koliform bakteri ve <i>E. coli</i> sayısının belirlenmesi.....	31
3.2.5.3. <i>E. coli</i> O157:H7 aranması.....	33
3.2.5.4. <i>Salmonella</i> aranması.....	34
3.2.5.5. İstatiksel analizler.....	35
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	36
4.1. Piyasadan Sağlanan Şişelenmiş Taze Sıkılmış Portakal Suyu Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesi.....	36
4.2. Portakalların Yüzey Dekontaminasyonu.....	49
4.3. <i>E. coli</i> Atcc 25922 Kültürü İnoküle Edilmiş Portakalların Yüzey Dekontaminasyonu.....	53
4.4. Ankara Piyasasındaki Ticari Bir Otomatik Ekstraktörden Alınan Yüzey Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesi.....	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
KAYNAKLAR.....	68
Ek 1. Taze sıkılmış meyve suyu üreten işletmeler için model HACCP planı.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Taze sıkılmış portakal suyu üretim akış diyagramı ve kritik kontrol noktaları (Schmidt et al.,1999)	23
Şekil 3.1. Portakal suyu ekstraktörü ve örnek alım noktaları	31
Şekil 4.1. Depolama süresince örneklerdeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri ortalama sayısı	44
Şekil 4.2. Depolama süresince örneklerdeki toplam koliform bakteri ortalama sayısı	45
Şekil 4.3. Depolama süresince örneklerdeki ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı.....	47
Şekil 4.4. Depolama süresince örneklerdeki ortalama koliform bakteri sayısı	47
Şekil 4.5. Yüzey dekontaminasyon işlemleri sonucunda kontrol grubuna göre toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki logaritmik azalma miktarları	52
Şekil 4.6.. <i>E. coli</i> ATCC 25922 inoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu örneklerindeki <i>E. coli</i> ATCC 25922 sayısı.....	55
Şekil 4.7. İnoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu örneklerinde <i>E. coli</i> sayısındaki kontrol grubuna göre azalmalar.	55
Şekil 4.8. <i>E. coli</i> ATCC 25922 ile inoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakalların yüzeyindeki <i>E. coli</i> ATCC 25922 sayısı	57
Şekil 4.9. <i>E. coli</i> ATCC 25922 inoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakalların yüzeyindeki <i>E. coli</i> ATCC 25922 sayısındaki azalma miktarları	58
Şekil 4.10. Alınan yüzey örneklerindeki ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayıları	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Taze Sıkılmış Portakal Sularında Toplam Canlı Mikroorganizma Sayısında İki Hafta Depolama Boyunca Değişimler (Fellers, 1988).....	6
Çizelge 2.2. Taze Sıkılmış Polietilen Ambalajlarda Şişelenmiş Portakal Sularında Depolama Süresinin Askorbik Asit Miktarı (mg/100ml) Üzerine Etkisi (Fellers, 1988)	6
Çizelge 2.3. Değişik pH ve Sıcaklıklarda Shellac Mum Uygulanan Portakallardaki <i>E. coli</i> Populasyonu (Pao, 1999).....	16
Çizelge 2.4. Damlatma Metoduyla <i>E. coli</i> O157:H7 İnoküle Edilmiş Portakallara Sıcak Su Uygulamasının Mikrobiyal Yük (kob/g) Üzerine Etkisi (Fleischman, 2001)	18
Çizelge 2.5. Daldırma Metoduyla <i>E. coli</i> O157:H7 İnoküle Edilmiş Portakallara Sıcak Su Uygulamasının Mikrobiyal Yük (kob/g) Üzerine Etkisi (Fleischman, 2001)	18
Çizelge 2.6.Farklı <i>E. coli</i> Suşları ile İnoküle Edilen Elmalara Çeşitli Dekontaminasyon Yöntemlerinin Etkileri (Sapers, 1999)	19
Çizelge 2.7. Meyve Yüzey Mikroflorasının Ekstraksiyon İşlemi ile Meyve Suyuna Transferi (Pao And Davids, 2001).....	21
Çizelge 2.8. İnokülasyon Miktarının Meyve Suyu Ekstraksiyonu Sırasında Mikrobiyal Transfere Etkisi (Pao And Davids, 2001)	21
Çizelge 4.1 1. Satış Noktalarından Altı Farklı Dönemde Alınan Portakal Suyu Örneklerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform (EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayıları ile <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>Salmonella</i> Varlığı ve Örneklerin pH'ları	37
Çizelge 4.2 2. Satış Noktalarından Altı Farklı Dönemde Alınan Portakal Suyu Örneklerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform (EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayıları ile <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>Salmonella</i> Varlığı ve Örneklerin pH'ları	38
Çizelge 4.3 3. Satış Noktalarından Altı Farklı Dönemde Alınan Portakal Suyu Örneklerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform (EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayıları ile <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>Salmonella</i> Varlığı ve Örneklerin pH'ları	39
Çizelge 4.4 4. Satış Noktalarından Altı Farklı Dönemde Alınan Portakal Suyu Örneklerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform (EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayıları ile <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>Salmonella</i> Varlığı ve Örneklerin pH'ları	40
Çizelge 4.5 5. Satış Noktalarından Altı Farklı Dönemde Alınan Portakal Suyu Örneklerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform	

(EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayıları ile <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>Salmonella</i> Varlığı ve Örneklerin pH'ları	41
Çizelge 4.6. Satış Noktalarından Altı Farklı Dönemde Alınan Örneklerin Tümünde Depolama Günlerindeki Dönemler Arası Ortalama Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform Bakteri (EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayıları ile Örneklerin pH'ları	43
Çizelge 4.7. Beş Farklı Satış Noktasından Altı Farklı Dönemde Alınarak İncelenen Tüm Portakal Suyu Örneklerinde Depolama Boyunca Belirlenen Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml) ve Koliform Bakteri (EMS/ml) Sayılarının Ortalamaları	46
Çizelge 4.8. Yüzey Dekontaminasyon İşlemleri Uygulanmış Portakallardan Elde Edilen Portakal Suyu Örneklerindeki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/ml), Koliform (EMS/ml) ve <i>E. coli</i> (EMS/ml) Sayım Sonuçları; <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>Salmonella</i> Varlığı Sonuçları; Örneklerin pH'ları	50
Çizelge 4.9. Yüzey Dekontaminasyon İşlemleri Sonucunda Portakal Sularındaki Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri Sayısındaki Logaritmik Azalmalar ..	52
Çizelge 4.10. <i>E. coli</i> ATCC 25922 ile İnoküle Edilmiş Portakallara Uygulanan Yüzey Dekontaminasyon İşlemlerinin Portakal Suyundaki <i>E. coli</i> ATCC 25922 Sayısına (log kob/ml) Etkisi ve Örneklerin pH Değerleri	54
Çizelge 4.11. <i>E. coli</i> ATCC 25922 ile İnoküle Edilmiş Portakallara Uygulanan Yüzey Dekontaminasyon İşlemlerinin Portakal Yüzeyindeki <i>E. coli</i> ATCC 25922 Sayısına (log kob/cm ²) Etkisi	57
Çizelge 4.12. Ekstraksiyon Öncesi ve Sonrasında Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri (log kob/yüzey) ve Koliform Sayıları (EMS/yüzey)	61
Çizelge 4.13. Alınan Yüzey Örneklerindeki Ortalama Toplam Aerobik Mezofilik Canlı Bakteri Sayıları (log kob/yüzey).....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

FDA	Food and Drug Administration
HACCP	Hazard Analysis at Critical Control Points
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
KOB	Koloni Oluşturan Birim
EMS	En Muhtemel Sayı
ETEC	Enterotoksijenik Escherichia coli
EPEC	Enteropatojenik Escherichia coli
EIEC	Enteroinvaziv Escherichia coli
EHEC	Enterohemorajik Escherichia coli
VTEC/STEC	Verotoksin/Shigatoksin üreten Escherichia coli
HK	Hemolitik Kolit
TTP	Hemotrombotik trombositopenik purpura
USDA	United States Department of Agriculture
GRAS	Generally Recognized as Safe
NACMCF	National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods
KKN	Kritik Kontrol Noktaları
ATCC	American Type Culture Collection
ISO	International Standardization Organization
CDC	Centers or Disease Control&Prevention

1. GİRİŞ

Taze sıkılmış ve pastörize edilmemiş portakal suları gerek lezzet ve gerekse besleyici değer açısından birçok tüketici tarafından tercih edilmektedir. Bu ürünler pastörize meyve sularından daha pahalı olmasına rağmen giderek artan miktarda tüketilmektedir. Artan taleple beraber taze sıkılmış meyve sularının güvenilirlik sorunu da gündeme gelmiştir (Acar ve Bahçeci, 2002).

Taze sıkılmış portakal sularında ilk başlarda öncelikli olarak sadece orjinal tadı bozucu ve raf ömrünü kısıtlayan istenmeyen mikroorganizmalar hedef olarak alınmıştır. Bu ürünler asidik nitelik taşıması nedeniyle (genellikle pH 3-4) çoğu zaman patojenlerin gelişimi yönünden güvenli kabul edilmiştir. Fakat son yıllarda portakal suları da dahil olmak üzere taze sıkılmış meyve sularının tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan enfeksiyon ve zehirlenme vakaları bu ürünlerin mikrobiyolojik güvenlik sorununu gündeme taşımıştır (Pao et al., 2000).

Genel olarak taze sıkılmış meyve sularında enfeksiyon ve zehirlenme vakalarında *Escherichia coli* O157:H7, bazı *Salmonella* serotipleri (*Salmonella* Typhi, *S. Typhimurium*, *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw*) ve *Cryptosporidium* türleri gibi patojen bakteriler izole edilmiştir (Mazzotta, 2000).

FDA (Food and Drug Administration) 1998 yılında taze sıkılmış meyve sularından kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıkları dikkate alarak, bu ürünlerin güvenliğini sağlamak amacıyla bir HACCP (Hazard Analysis at Critical Control Points) tüzüğü yayınlamıştır. Üreticilerin bu tüzük gereğince taze sıkılmış meyve sularında halk sağlığı açısından önemli olan en dirençli mikroorganizma sayısında 5 log düzeyinde bir azalma sağlamaları gerekmektedir (Anonymous, 2002).

Taze sıkılmış meyve suyu üretim prosesi mikroorganizmaları öldürme yönünde herhangi bir işlem aşaması içermemektedir. Bu nedenle de taze meyve suyunun güvenliğini sağlayabilecek dekontaminasyon yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Taze sıkılmış meyve suyunun kalitesi ve güvenliğini etkileyen en önemli faktör meyve yüzeyindeki mikrobiyal kontaminasyon olduğundan meyve suyunun güvenliğini sağlamak için üretimde başvurulan yöntemler meyve yüzeyinin dezenfeksiyonu yönünde ağırlık kazanmıştır. Meyve yüzey dekontaminasyonunda en çok başvurulan yöntemler meyve yüzeyinin klorlu bileşikler, hidrojen peroksit,

çeşitli alkali bileşikler, peroksi asetik asit ve ozon gibi antimikrobiyal ajanlarla yıkanması ya da meyvelerin sıcak su içine daldırılıp belli süre bekletilmesi (70 °C'de 2 dakika, 80 °C'de 1 dakika gibi) şeklindedir (Pao et al., 2001; Parish et al., 2003).

Ülkemizde taze sıkılmış meyve suyu üretimi daha çok küçük işletmeler tarafından yapılmakta ve üretimde genellikle etkin bir meyve yüzey dekontaminasyonu uygulanmamaktadır.

Bu çalışmada taze meyve suyu üretimi yapan küçük işletmeler için uygulanabilir nitelikte olduğu düşünülen yüzey dekontaminasyon yöntemleri seçilip denenmiştir. Bu amaçla araştırma materyali olarak seçilen taze sıkılmış portakal sularında meyve yüzey dekontaminasyonunun mikrobiyal yüke olan etkisi; *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığı ile toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, koliform bakteri ve *E. coli* sayısı yönünden incelenmiştir. Çalışmada ayrıca Ankara piyasasından alınan şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerine yukarıdaki analizler uygulanarak bu ürünlerin mikrobiyolojik kalitesi belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise piyasadaki sağlanan portakal örneklerinin yüzeyi *E. coli* ATCC 25922 ile kontamine edilmiş ve meyve yüzey dekontaminasyon yöntemlerinin bu bakterinin sayısı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçların taze sıkılmış meyve sularının halk sağlığını olumsuz yönde etkileme riskinin azaltılmasına katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Gıda hammaddelerinin işletmeye girmesinden başlayarak son ürün elde edilmesi aşamasına kadar olan üretim zincirinde, ürüne çeşitli kaynaklardan mikroorganizma kontaminasyonu söz konusudur. Mikroorganizmalar gıdalara toprak, hava, su, gıda işçileri, insan ve hayvanlardan barsak sistemleri, gıda işletmelerinde kullanılan hammadde, çeşitli alet-ekipman ve kaplar, atık ve artıklar ile hammadde, ara ürün ve son ürünün temas ettiği her türlü yüzeylerden bulaşabilmektedir (Temiz, 2001).

Meyve sularının üretiminde hammadde olarak kullanılan meyvelerin hayvan/insan dışkı ile direkt kontaminasyonu veya kontamine su ile yıkanması sonucu indirekt kontaminasyonu söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle yıkamada kullanılan suyun mikrobiyolojik kalitesi de büyük önem taşımaktadır. Meyvelerin dış yüzeyinin etkili bir şekilde yıkanması ile her ne kadar yüzeydeki mikroorganizma yükü önemli ölçüde azaltılabilirse de bu uygulama her zaman yeterli olmamaktadır (Acar ve Bahçeci, 2001).

Meyve ve sebzeler yetiştirmeleri ve hasat edilmeleri boyunca toprak, hava, su, böcekler ve diğer çeşitli hayvanlarla temas halinde olup yüzeyleri çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır. Mikroorganizmalar genelde meyvenin yüzeyinde veya yüzeye yakın bölgelerinde bulunur. Bu mikroorganizmalar ancak meyvenin yaralanıp berelenmesi veya işlenmek amacıyla ekstraksiyonu sırasında meyveye ve meyve suyuna geçebilir (Davis et al., 2001). Ancak, meyve suları düşük pH değerlerine (genellikle pH 3-4) sahip olmasına bağlı olarak mikroorganizma gelişimine fazlaca uygun değildir. Bunun başlıca nedeni meyve suyu bileşimindeki organik asitlerin birçok bakteri üzerine mikrobiyostatik ve/veya mikrobisidal etki göstermesi şeklinde açıklanmaktadır (Mazzotta, 2001).

Taze sıkılmış meyve sularının tüketimi sonucu ortaya çıkan sağlık sorunu vakaları oldukça eskidir. Ancak bu ürünler asidik nitelik taşıması nedeniyle çoğu zaman patojenlerin gelişimi yönünden güvenli kabul edilmiştir. Buna karşılık temiz su ile yıkanmış meyvelerden üretilen meyve sularında dahi *Salmonella* Typhi kontaminasyonuna sıklıkla rastlanılmıştır. Taze sıkılmış meyve suyu tüketiminin

artması bu ürünlerin güvenilirliği konusunu tekrar gündeme getirmiştir. Özellikle küçük çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıf olan bireyler risk grubunu oluşturdıklarından bu konuya dikkat çekilmektedir (Acar ve Bahçeci, 2002).

Yaklaşık 1922 yılından beri düşük pH'lı taze sıkılmış (pastörize edilmemiş) meyve sularında *Salmonella* Typhi, *S. Typhimurium*, *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw*, *E. coli* O157:H7 ve *Cryptosporidium* türleri gibi patojen bazı bakterilerin varlığı tespit edilmiş olmasına karşılık bu tür ürünlerin gıda zehirlenmesine neden olabildiği ancak yakın bir geçmişte ortaya konmuştur (Parish et al., 1997).

1980 yılında meydana gelen *E. coli* O157:H7 kaynaklı hemolitik üremik sendrom (HUS) vakalarının elma suyu (apple cider) kaynaklı olduğu belirlenmiştir (Steele et.al., 1982). Orlando'da (Florida/ABD) 1995 yılında taze sıkılmış portakal suyundan kaynaklanan salmonellosis salgınından 63 insanın etkilendiği rapor edilmiştir Portakal suyu örneklerinden *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw* ve *S. Newport*, hastalardan ise *S. Hartford*, *S. Gaminara* ve *S. Rubislaw* izole edilmiştir (Cook, 1998). Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) New York, California, Washington ve Colorado gibi birçok eyaletinde 1980, 1991 ve 1996'da ve Kanada'da ise 1980 ve 1998 yıllarında *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş taze sıkılmış elma suyu tüketimine bağlı olarak ishal ve hemolitik üremik sendromu (HUS) salgınları bildirilmiştir (Parish, 1997). *E. coli* O157:H7 kaynaklı HUS salgınında 1997 yılında bir kişi ölmüştür. Arizona'da bir işletmede üretilen ve *Salmonella enterica* serotype Muenchen ile kontamine olmuş taze sıkılmış portakal suyu tüketimi sonucu 1999 yılında ABD'nin birçok eyaletinde ve Kanada'da gıda zehirlenmeleri meydana gelmiştir. Güney Avustralya'da 1999 yılında 400 kişi *Salmonella Typhimurium*' un neden olduğu gıda zehirlenmesinden etkilenmiştir (Mazzotta, 2001). Yine 1999 yılında tespit edilen 423 vakada taze sıkılmış portakal suyu tüketimi sonucu *Salmonella* Muenchen enfeksiyonu ve 8 vakada da elma suyu tüketimi sonucu *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu belirlenmiştir. 2000 yılında meydana gelen bir salgında ise 88 kişide *Salmonella* Enteritidis enfeksiyonu belirlenmiştir. Taze meyve suyu tüketimine bağlı yeni bir gıda zehirlenmesi vakası; *S. Enteritidis* ile kontamine olmuş taze sıkılmış portakal ve greyfurt suyu tüketimi sonucu 2000 yılında ABD'nin yedi farklı eyaletinde meydana gelmiştir. Bu salmonellosis salgınından 74 insanın etkilendiği bildirilmiştir (Anonymous, 2000).

Taze sıkılmış, pastörize edilmemiş meyve suları tüketiciler tarafından yüksek tat ve besleyici değeri nedeniyle tercih edilmektedirler. Pastörize edilmiş meyve sularından daha pahalı olmalarına rağmen çoğu ülkede etkin bir şekilde pazarlanmaktadır (Acar ve Bahçeci, 2002). Ülkemizde bu talep daha çok büyük süpermarketlerde hizmet veren küçük üretim birimleri tarafından karşılanmakta ve daha çok taze sıkılmış portakal ve greyluft suyu üretilmektedir. Meyveler yıkanıp sıkıldıktan hemen sonra meyve suyu, üzerine raf ömrü ve saklama koşullarını belirten bir etiket yapıştırılmış pet veya cam şişelere doldurulmaktadır. Taze sıkılmış meyve suyu şişelenmiş bir halde buzun içinde muhafaza edilerek satışa sunulmaktadır (Pao and Davids; 1999). Ülkemizde de son yıllarda taze sıkılmış meyve suyuna olan talebin arttığı gözlenmektedir

Piyasada taze sıkılmış portakal suyu üretimi genel olarak el ekstraktörleri (sıkma makinası) ya da küçük ölçekli otomatik ekstraktörler kullanılarak yapılmaktadır. Üreticiler tarafından genel olarak tercih edilen otomatik ekstraktörlerde bir seferde tek bir portakal sıkılmak üzere dakikada yaklaşık 30 portakala kadar sıkım yapılabilmektedir. Bu makineler temizlenmesi kolay, portatif, kolayca kurulabilen ve tüketicilerin dikkatini çekici şekilde dizayn edilmişlerdir (Anonymous, 2005a). İyi bir mekanik ekstraksiyon ile ağırlık bazında yaklaşık olarak % 45-55 verimde portakal suyu elde edilebilmektedir (Pao and Davis, 2001).

Taze sıkılmış (pastörize edilmemiş) ve polietilen şişelere doldurulmuş portakal suyunun raf ömrü ve kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada, alınan portakal suyu örnekleri -1.7 °C, 1.1 °C, 4.4 °C ve 7.8 °C'de depolanmıştır. Bu sıcaklıklarda raf ömrü -1.7 °C'de 20-23 gün, 1.1 °C'de 16-22 gün, 4.4 °C'10-16 gün ve 7.8 °C'de 5-8 gün olarak bulunmuştur. Kötü tat raf ömrünü kısıtlayan en önemli etmen olarak görülmüş ve 7.8 °C'de diasetil oluşumunun en önemli tat bozulması etmeni olduğu belirtilmiştir. Mikrobiyal yük 7.8 °C'de artarken diğer depolama sıcaklıklarında genel olarak azalma göstermiştir (Çizelge 2.1). Askorbik asit miktarı 4.4°C ve daha düşük sıcaklıklarda depolama ile 2 hafta sonunda % 86-93 oranında korunmuştur (Çizelge 2.2). Yapılan duyusal analizlerde 1,1 °C'de depolanan portakal suyu örnekleri panelistler tarafından tercih edilmiştir. Raf ömrü -1.7 °C'de daha uzun olmasına rağmen, üreticiler tarafından 1.1 °C sıcaklığa erişilmesinin pratikte daha kolay olacağı belirtilerek çalışma sonucunda bu depolama sıcaklığı önerilmiştir (Fellers, 1988).

Çizelge 2.1. Taze sıkılmış portakal sularında toplam canlı mikroorganizma sayısında iki hafta depolama boyunca değişimler (Fellers, 1988)

Örnek	Toplam canlı sayısı (koloni/ml x 1000)								
	Başlangıç	1. Hafta (°C)				2. Hafta (°C)			
		-1.7	1.1	4.4	7.8	-1.7	1.1	4.4	7.8
Valencia	8.1	-	8.9	9.1	72.0 ^a	-	6.2	6.6 ^a	409.0 ^a
Hamlin	190.8	133.0	130.0	127.0	-	59.5	66.5	55.0	-
Pineapple	85.0	1.5	18.0	1.8	-	1.3	0.8	1.0	-

^a Kabul edilemez tada sahip örnekler.

Çizelge 2.2. Taze sıkılmış polietilen ambalajlarda şişelenmiş portakal sularında depolama süresinin askorbik asit miktarı (mg/100ml) üzerine etkisi (Fellers, 1988)

Depolama süresi (hafta)	Hamlin portakalı			Pineapple portakalı		
	-1.7 °C	1.1 °C	4.4 °C	-1.7 °C	1.1 °C	4.4 °C
0	54.5	54.5	54.5	54.3	54.3	54.3
1	-	-	-	52.2	51.7	51.2
2	50.5	50.2	49.5	49.9	49.4	49.3
3	47.7	47.5 ^a	49.6	47.3	48.4 ^a	49.6 ^a
	Yüzde askorbik asit korunumu					
1	-	-	-	96.1	95.2	94.3
2	92.7	92.1	90.8	91.9	91.0	94.3
3	87.5	87.2	91.0	87.1	89.1	91.3

^a Kabul edilemez tada sahip örnekler

Taze sıkılmış meyve sularının geleneksel meyve suyu üretiminden farkı üretimde pastörizasyon aşamasının bulunmamasıdır. Pastörizasyon uygulaması ile doğal enzimlerin ve mikroorganizmaların inaktive edilmesi sonucunda ürünün raf ömrü uzatılmaktadır. Fakat ısı işlem sonucunda üründe flavor kaybı olmaktadır.

Taze sıkılmış meyve sularında meyve temizliği ve sanitasyon işlemleri mikrobiyal güvenliği sağlamak için iyi bir ilk yaklaşım şeklidir (Pao and Davids; 1999). Yüksek kalitede taze sıkılmış portakal suyu üretebilmek için meyvelerin dikkatli toplanması (handling) ve bu aşamadaki sanitasyon önlemleri çok önemlidir. Portakal yüzeyindeki toplam aerobik mikroorganizma sayısının yaklaşık 4.0 kob/cm² olduğu belirtilmektedir. Taze sıkılmış portakal sularında mikrobiyal yükün 1.3-5.3 log

kob/ml arasında değiştiği rapor edilmiştir. Yüksek miktarda mikrobiyal yük genelde meyvelerin yetersiz temizlenmesi, bozuk hammadde kullanımı ve ekipmanın yetersiz sanitasyonundan kaynaklanmaktadır. Taze sıkılmış meyve suyunun kalitesini ve güvenliğini etkileyen en önemli faktör meyvenin yüzeyindeki mikrobiyal kontaminasyon düzeyidir. Ekstraksiyon sırasında meyvenin yüzeyindeki mikroorganizmalar meyve suyuna geğebildiği için meyve yüzeyindeki mikrobiyal yük ne kadar az olursa meyve suyuna geçen mikroorganizma sayısı da o kadar az olacaktır. Buna bağlı olarak da meyve suyunun patojen mikroorganizmalar nedeniyle taşıdığı risk azalacaktır. Bu nedenle taze sıkılmış meyve suyu üretimi prosesi mikroorganizmaları öldürme yönünde herhangi bir işlem içermediğinden meyve suyunun güvenliğini sağlayabilecek ve aynı zamanda da duyuasal özelliklerini etkilemeyecek meyve yüzey dekontaminasyon yöntemlerine gerek duyulmaktadır (Fellers, 1988).

Bu amaca dönük olarak gerçekleştirilen bazı araştırmalarda sıcak su uygulaması ve yüzey yıkama zltilerinde klorlu bileşikler, peroksiasetik asit, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve pH 11,8'e ayarlı alkali bileşikler denenmiştir (Davis ve Pao, 1999; Mazzotta, 2001; Pao et al., 2000; Wisniewsky et al., 2000).

Taze meyve suyu kaynaklı gıda zehirlenme vakalarını dikkate alan FDA 1998 yılında güvenli meyve suyu üretimi için bir HACCP tüzüğü yayınlamıştır. Bu tüzük gereğince üreticilerin halk sağlığı açısından önemli olan en dirençli mikroorganizma sayısında 5 log düzeyinde bir azalma sağlamaları gerekmektedir (Mazzotta, 2001). Bu nedenle yapılan ön çalışmalarda ilk olarak meyve suyunun mikrobiyal florası belirlenmektedir. Değişik çalışmalarda taze sıkılmış meyve sularından izole edilen patojen ve indikatör bakteriler; *Salmonella* alt türleri ve serotipleri (*S. Typhi*, *S. Typhimurium*, *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw*, *S. Enteritidis* ve *S. enterica*), *E. coli* O157:H7, *Cryptosporidium* türleri, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* ve diğer koliform bakteriler (*Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Citrobacter* türleri) olarak belirlenmiştir (Parish, 1997; Mazzotta 2001).

Patojen mikroorganizmalar meyve sularında düşük pH'ya sahip olmaları nedeniyle gelişme gösterememekte ancak bu mikroorganizmalar bu tip ortamlarda canlılığını koruyarak asidik koşullara adapte olabilmektedir. Düşük pH'sı nedeniyle güvenli görülen meyve sularında düşük pH ile asit konsantrasyonunun patojenik bakteriler

üzerine antogonistik etkisi olsa da bu faktörlerin tek başına gıda güvenliğini sağlayamadığı ortaya çıkmıştır (Parish, 1997; Mazzotta, 2001).

Florida'da 1995 yılında bir meyve suyu üretim işletmesinde üretilen taze sıkılmış portakal sularının tüketilmesi sonucu meydana gelen salmonellosis vakaları nedeniyle bu işletmeden alınan meyve suyu ve yüzey örneklerinde *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw* tanımlaması yapılmıştır. Örneklerdeki fekal koliform ve *E. coli* sayısı >110 EMS/ml olarak bulunmuş ve meyve suyundaki *Salmonella* varlığı yüksek sayıdaki fekal koliform ve *E. coli* varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Parish, 1998).

Koliform grubu bakteriler, 35-37 °C'da 48 saat içinde laktozdan asit ve gaz oluşturan Gram-negatif, sporsuz, çubuk şekilli enterik bakterilerdir. Bu tarife Enterobacteriaceae familyası üyeleri olan *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Ent. cloacae*, *Citrobacter freundii* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakteriler girmektedir. Koliform grubu bakteriler gıdalarda hijyen indikatörü olarak değerlendirilmektedir (Halkman, 2005).

E. coli, Enterobacteriaceae familyasına dahil, Gram-negatif, fakültatif anaerobik, sporsuz, hareketli ve çubuk şekilli bir bakteridir. *E. coli* insan ve çoğu sıcak kanlı hayvanın normal bağırsak florasında yer almakta ve bu nedenle de fekal bulaşının indikatörü olarak kabul edilmektedir. Ancak son yıllardaki birçok salgından patojenik *E. coli* biyotiplerinin sorumlu tutulması, bu bakterinin patojenik potansiyelinin önemszenmesine yol açmıştır (Karapınar ve Gönül, 1998; Temiz, 1999; Bell and Kyriakides, 2002).

Patojen *E. coli* suşları arasında enterotoksijenik (ETEC), enteropatojenik (EPEC), enteroinvazif (EIEC), enterohemorajik (EHEC) veya verotoksin/shiga toksin üreten (VTEC/STEC) *E. coli*'ler bulunmaktadır. EHEC iki tip verotoksin (VT-1 ve VT-2) ve iki tip shiga-like toksin (SLT-1 ve SLT-2) olmak üzere iki farklı sitotoksin üretmektedir. Bu toksinler "hemorojenik kolit (HK)", "trombotik trombositopenik purpura (TTP)" ve "hemolitik üremik sendrom (HUS)"a neden olmaktadır. HK az ateşli veya ateşsiz, abdominal kramp, kanlı dışkı ve diyare ile karakterize edilmektedir. TTP genellikle yetişkinlerde görülen ve merkezi sinir sisteminin hasarı sonucu ortaya çıkan nöbet ve felçler ile karakterizedir. HUS ise anemi, karaciğer hasarı ve muhtemel karaciğer yetmezliğine neden olmaktadır. Meydana

gelen HK ve HUS vakaları genellikle *E. coli* O157:H7 serotipi ile ilişkilendirilmektedir. *E. coli* O157:H7 ilk olarak 1982 yılında meydana gelen HK vakaları ile insan patojeni olarak belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7 10 adet/g canlı hücre kadar düşük düzeyde vücuda alınması durumunda bile enfeksiyon için yeterli olabilmektedir. Gıda patojeni olarak nispeten yeni bir tehlike olan *E. coli* O157:H7 son yıllarda gıda güvenliğinde en ciddi tehditlerden biri haline gelmiştir. *E. coli* O157:H7 USDA (United States Department of Agriculture) ve FDA tarafından denetlenen bir patojendir ve bu nedenle gıda üreten işletmeler ürünlerinin bu patojenle kontamine olup olmadığını test etmek zorunluluğundadır (Buchanan and Doyle, 1997; Bell and Kyriakides, 2002; Koochmaraie et al., 2005; Rijal et al., 2005).

E. coli O157:H7 suşu, diğer *E. coli*'lerden, 44,5 °C'de zayıf gelişim göstermesi ya da hiç gelişmemesi, sorbitolü fermente edememesi, enterohemolizin üretimi ve β -glukoronidaz enzimine sahip olmaması gibi özellikleriyle ayrılmaktadır. Bu karakteristik özelliklerinden yararlanılarak selektif besiyerleri kullanımı ile izolasyonu mümkün olabilmektedir (Halkman ve ark, 2001).

E. coli O157:H7'nin gelişimi için limit pH yaklaşık 4,5 dolayında olmasına karşılık bu bakteri daha asidik koşulları uzun süre tolere edebilmektedir. Asit toleransında bakteri suşu, gelişim fazı, gıda tipi ve depolama sıcaklığı rol oynamaktadır (Slonczewski et al., 1987). Sublethal pH düzeyine maruz bırakılmış *E. coli* O157:H7 hücrelerinin daha düşük pH düzeylerini tolere edebildiği belirlenmiştir (Brundzinski and Harrison, 1998; Ryu et al., 1999). Brundzinski ve Harrison (1998), yaptıkları bir çalışmada aside adapte *E. coli* O157:H7'nin aside adapte olmayana göre pH 4,0'de canlılığını yaklaşık 1000 kat fazla koruduğunu göstermişlerdir. Ryu ve ark. (1999), sitrik asit ile pH 3,9'a ve malik asit ile pH 3,4'e ayarlanmış TSA (Tryptic Soy Agar) besiyerinde aside adapte suşların en az 48 saat canlılıklarını koruduğunu belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda aside toleranslık cevabının spesifik proteinlerin üretimi ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. *E. coli*'nin böyle bir adaptasyonu büyük baş hayvanların sindirim sistemine yerleştiğinde ya da sindirim sırasında mide asidine maruz kalmasıyla geliştirebileceği ve bu yolla meyve suyu asitliğine karşı dayanım sağlayabileceği belirtilmiştir (Slonczewsky et al., 1987; Lin et al., 1996).

E. coli O157:H7'nin asidik meyve sularında canlılığı sürdürme özelliği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada *E. coli* O157:H7'nin elma suyunda pH 3,7 ve 8 °C'de canlılığını 31 gün süresince koruduğu belirlenmiştir (Zhao et al., 1993). Uljas ve Ingham (1998), *E. coli* O157:H7'nin elma suyunda, organik asitler eklenerek asitleştirilmiş TSB (Tryptic soy broth) besiyerine göre daha iyi canlılığını koruduğunu belirlemişlerdir. Bunun muhtemel nedeni olarak koruyucu meyve suyu bileşenlerinin varlığını göstermişlerdir. Portakal suyu ile yapılan bir çalışmada ise pH 3,9'da canlılığın 25 günden daha fazla sürdüğü, pH 3,4'de ise bu sürenin 13 güne indiği gösterilmiştir (Linton et al., 1999). Benjamin ve Datta (1995), *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 suşunun pH 3,0'da ve pH 2,5'da 5 saate kadar canlı kalabildiğini göstermişlerdir.

Salmonella dünyada yaygın olarak rastlanılan patojen bir bakteri olup başlıca kaynağı sağlıklı veya hasta insan ve diğer omurgalı hayvanların bağırsak sistemleridir. *Salmonella*, Enterobacteriaceae içinde yer alan fakültatif anaerob, Gram negatif, çubuk şekilli, *S. pullorum* ve *S. gallinarum* haricinde hepsi peritriş flegallaya sahip patojen bir bakteridir (Halkman ve ark.,1994). Optimum üreme sıcaklıkları 35-37 °C'dir, karbohidratlardan asit veya gaz oluştururlar, tek karbon kaynağı olarak sitrati kullanırlar, H₂S üretirler, lizin ve ornithini kadaverin ve putresine dekarboksile ederler, oksidaz negatif, katalaz pozitifler, laktoz, sukroz ve üreyi metabolize edemezler. Bazı atipik *Salmonella* biyotipleri ise lizini dekarboksile edemezken, laktoz, sukroz ve üreyi kullanabilirler. Genellikle koliform grubu bakteriler tarafından yoğun düzeyde kontamine olmuş gıdalarda rastlanılır. *Salmonella* cinsi *S. enterica* (bazı kaynaklarda bu tür *S. chleraesuis* olarak adlandırılmaktadır) ve *S. bongori* olmak üzere iki türe ayrılmıştır ve *S. enterica* türü içinde alt tür bulunmaktadır (*S. subsp. enterica, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae, indica*). *Salmonella*'nın 2422'nin üzerinde serotipi tanımlanmıştır. *S. bongori*, insan hastalıkları ile ilgili değilken *S. enterica*, bağırsak enfeksiyonlarına veya ciddi sistemik hastalıklara (tifo) neden olan pek çok serotipi içerir. Genel olarak yumurta, kümes hayvanları, et ve et ürünleri salmonellosis aracı olarak belirlense de meyve ve sebze ürünleri ile ilgili vakalar da tespit edilmiştir (Halkman ve ark., 1994; Jay, 1996; Anonymous, 2005b).

Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kaynaklı gastroenterit vakalarının büyük çoğunluğunun etmeni olarak *Salmonella* bulunmuştur. *Salmonella*'nın hastalık

yapabilmesi için en düşük kontaminasyon dozu 10^5 - 10^6 adet/g canlı hücre olarak belirlenmiştir. *Salmonella* gastroenterit, sepsisemi, enterik ateş ve tifoya neden olmaktadır. Tifo yüksek ateş (40 °C), baş ve mide ağrısı ile karakterize olup *Salmonella* kaynaklı enfeksiyonlarda en yüksek ölüm oranına sahiptir. *Salmonella* kaynaklı gastroenterit de ölümle sonuçlanabilmektedir (Bean and Griffin, 1990; Halkman ve ark., 1994; Anonymous, 2000).

Salmonella gelişimi için optimum pH yaklaşık 7,4'dür ancak gelişim ve canlılığın devamı daha düşük pH'larda mümkün olabilmektedir. Ferreira ve Lund (1987), *Salmonella* spp.'nin HCl ile pH 3,8'e asitlendirilmiş TSB besiyerinde 30 °C'de gelişebildiğini göstermişlerdir. Yapılan çalışmalarda *Salmonella*'nın meyve sularında canlılığını birkaç saatten bir kaç haftaya kadar koruyabildiği gösterilmiştir. Bu durum çeşitli çalışmalarda incelenmiş ve kısmi olarak "asit tolerans cevabı" olayı ile açıklanmıştır. Sublethal pH düzeyine maruz bırakılmış hücrelerin daha düşük pH seviyelerini tolere edebildiği asit şok proteinlerin üretimi ile ilgili olduğu belirlenmiştir. *S. typhimurium* hücreleri ile yapılan bir çalışmada daha önce pH 5,8'e maruz bırakılan hücrelerin bırakılmayanlara göre pH 3,3'de 100 ile 1000 kat arasında daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde yapılan başka bir çalışmada *Salmonella gaminara*, *S. hartford*, *S. rubislaw* ve *S. typhimurium* önce pH 5,0' a maruz bırakılmış daha sonra pH 3,5; 3,8; 4,1 ve 4,4'e ayarlı (sitrik asit ve 2N NaOH ile) portakal sularına 10^6 düzeyinde inoküle edilerek 4 °C'de inkübe edilmiş ve pH 3,5'de 27 gün, pH 3,8'de 46 gün, pH 4,1'de 60 gün ve pH 4,4'de 73 gün canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir. Sonuçlar *Salmonella* ile kontamine olmuş portakal sularında *Salmonella*'nın hastalığa neden olabilecek kadar uzun süre canlılığını koruyabileceğini göstermiştir (Parish et al., 1997).

Her yıl milyonlarca insan gıda kaynaklı hastalıklardan hasta olmaktadır. Bu vakaların bazılarında mevsimsel artışlar olduğu belirtilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu vakaların % 52'sinin, campylobacteriosis'in % 35'inin, salmonellosis'in ise % 32'sinin yaz aylarında (Haziran-Ağustos) ortaya çıktığı belirlenmiştir (Wallace et al., 2000).

Dezenfeksiyon ortamdaki ürüne kontaminasyon kaynağı olabilecek mikroorganizmaların tümünün öldürülmesi ya da zararlı etki yapmayacak en düşük düzeye indirilmesidir. Dekontaminasyon ise fiziksel ya da kimyasal yollar ile

yüzeyledeki zararlı mikroorganizmaların öldürülmesi, uzaklaştırılması ve ya inaktive edilmesi işlemidir (Block , 2001).

Halojen dezenfektanlar arasında yer alan klor ve klorlu bileşiklere gıda işletmelerinde yaygın olarak başvurulmaktadır. Hipokloritler, özellikle sodyum hipoklorit (NaOCl) ve kalsiyum hipoklorit gıda üretim alanlarında en çok kullanılan klorlu bileşiklerdir. Klor ve klorlu bileşikler; bakteriler, küfler, mayalar, bakteriyofajlar ve bazı virüsleri içine alan oldukça fazla çeşitte mikroorganizmaya ve mikroorganizma sporlarına karşı etkilidirler (Marriott, 1989).

Klor ve klorlu bileşikler uzun yıllardır içme suyu ve atık su uygulamalarında, gıda işletmelerinde ekipmanların ve yüzeylelerin sanitasyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca ham sebze ve meyve endüstrisinde bunların yıkanmasında dezenfektan olarak da kullanılmaktadır. Dezenfeksiyon işlemlerinde genel olarak 50-200 ppm serbest klor içeren çözeltiler kullanılmaktadır (Beuchat, 1998).

Klorun germisid etkisi ortamdaki miktarı ve temas süresi ile yakından ilgili olup, bu etki çeşitli teorilerle açıklanmaktadır. Mikrobisidal etkilerini; hücre membranına zarar vererek, enzim inhibisyonuna neden olarak, DNA'yı etkiliyerek, sitozinin toksik N-klor bileşiklerini oluşturarak, amino asitlerin nitril ve aldehitlere oksidatif dekarboksilasyonuna neden olarak gösterebilmektedirler. Hücre membranı fonksiyonlarının bozulması; hücre içeriğinin dışarı sızması veya hücre dışındaki besin öğelerinin hücre içine alınmasının engellenmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Klorun germisid etkisi, hangi görüşe dayanırsa dayansın, esas olarak suda oluşturduğu hipokloroz (HOCl) asitten kaynaklanmaktadır. HOCl, hücre içine girerek, hücre metabolizmasında önemli görevleri olan enzimlerin sülfidril gruplarını okside etmekte ve enzim inaktivasyonuna neden olmaktadır (Marriott, 1989). Mikroorganizmaların ölüm hızının, doğrudan doğruya suda bulunan dissosiyeye olmamış HOCl miktarı ile orantılı olduğu saptanmıştır. Klorun germisid etkisi klor derişimi dışında pH değeri, sıcaklık, organik madde çeşit ve derişimi gibi faktörlerden etkilenir (Acar ve Gökmen, 2005).

Klor ve klorlu bileşiklerin etkileri serbest klor miktarı ile ilişkilidir ve serbest klor miktarı arttıkça etkileri de artmaktadır. Düşük pH değerlerinde (pH 4-5) daha fazla etki göstermektedirler. pH'nın 4 ün altına düştüğü değerlerde toksik Cl₂ gazı

oluşmaktadır. Suya sodyum hipoklorit ilavesi ile hipokloroz asitle birlikte sodyum hidroksit oluşmakta ve böylece pH değeri yükselmektedir. Bu durumda dissosiyasyon olmamış HOCl miktarı düşmektedir. Suya katılan hipoklorit miktarı arttıkça, suyun pH değeri de yükseleceğinden HOCl miktarı doğru orantılı olarak artmamaktadır. HOCl miktarı 20 °C'de göreceli olarak pH 6.0'da % 97 iken pH 8,0'da % 23 olmaktadır. Sıcaklığın artması ile aktivitelerinde bir artış meydana gelmesine rağmen, yüksek sıcaklıklarda sudaki çözünürlükleri azalmaktadır (Hayes, 1992; Block, 2001; Acar ve Gökmen, 2005).

Bu maddelerin geniş spektrumlu ve ucuz olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmalarına karşılık, kullanılmalarını sınırlayan bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Organik maddeler klorlu bileşikler ile kompleks oluşturarak etkinliklerini azaltmaktadır. Oluşan bu maddelerin kanserojenik olduğuna değinilmektedir. Yüksek konsantrasyonda kullanıldıklarında insan derisini tahriş edebilmektedirler. Paslanmaz çelik ve diğer metaller üzerinde yüksek korozif etkiye sahiptirler ve sıcaklığın artması ile korozif etki artmaktadır. Bu nedenle yüksek sıcaklıkta kullanılmamaları ve yüzeylerde uzun süre tutulmamaları önerilmektedir (Hayes, 1992).

Damıtık su niteliğinde olmayan her hangi bir suya, kontrollü olarak az miktarlarda klor katılırsa, klor önce suyun klor ihtiyacını gidermeye harcanır. Klorun bir kısmı bu sırada azotlu maddelerle zayıf bir bağ ile bağlanarak kloraminler veya diğer kloro-nitrojen bileşiklerini oluşturur. Suya klor katılmaya devam edilirse belli bir serbest kalıntı klor düzeyinde serbest kalıntı klor ile kloro-nitrojen bileşikleri arasında bir oksidasyon reaksiyonu başlar ve serbest kalıntı klor miktarı reaksiyon tamamlanana kadar azalır ve nihayet serbest kalıntı klor miktarı sabit kalır. Bu noktadan sonra, serbest kalıntı klor miktarı, katılan klor miktarı ile doğru orantılı olarak artmaya başlar (Acar ve Gökmen, 2005).

Peroksitler ve perasetik asit gibi oksidan bileşikler düşük konsantrasyonlarda, olumsuz çevre koşullarında ve organik madde varlığında da oldukça etkilidirler. Daha önceleri sadece antiseptik olarak kullanılan hidrojen peroksit antimikrobiyal ajan olarak geniş bir uygulama alanına sahiptir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) bakteri, küf, maya, virüs ve sporlar üzerine etkili olup geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahiptir. *Staphylococcus* türlerinde bulunan enzim sistemlerinin

hidrojen peroksiti inaktive ettiği bilinmektedir (Sander and Wilson, 1999). Anaerobikler katalaz üretmedikleri için peroksit uygulamasına karşı daha duyarlıdır. Gram-negatif bakterilere karşı ise Gram-pozitif bakterilere göre daha etkilidirler. Oksidan maddeler deri ve mukoz membranlara karşı iritan özelliğe sahiptirler. Bazı alet ve ekipmanlara karşı korozif olabilmektedirler. Peroksitler ve perasetik asitler seyreltildiğinde kolayca CO₂, O₂ ve suya dissosiyasyon olarak etkisini kaybedebilmektedirler (Grönholm et al., 1999; Block, 2001).

H₂O₂ mikroorganizmaları hızlı bir şekilde öldürmekte ancak uzun süreli koruma etkisi bulunmamaktadır. Bu kısa süreli etki H₂O₂'nin hızlı bir şekilde oksijen ve suya dekompozisyonundan kaynaklanmaktadır. H₂O₂'nin antimikrobiyal etkisi özellikle singlet oksijen, süperoksit radikalleri ve hidroksil radikalleri (HO[•]) gibi güçlü oksidanları oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Bu reaktif oksijen türleri hücrelerde enzim, membran bileşenleri ve DNA'da geri dönüşsüz hasarlara neden olmaktadır (Juven and Pierson 1996).

H₂O₂'nin öldürücü ya da inhibe edici etkisi pH, sıcaklık ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Mikroorganizmalara karşı öldürücü etki düşük sıcaklıklarda çok yavaştır. Ancak sıcaklık yükseldikçe H₂O₂ öldürücü etkisi hızla artmaktadır. Ünlütürk ve Turantaş (1986) yaptıkları bir çalışmada sıvı yumurta içinde % 1'lik H₂O₂'nin *Salmonella typhimurium*'a karşı etkisini incelemiş ve 20 °C'de ve 5 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda 20 °C'de yaklaşık 1 log düzeyinde daha fazla etki bulmuşlardır. pH düştükçe H₂O₂'nin etkinliği artmaktadır. Baldy (1983), *Bacillus subtilis*'e karşı % 3'lük H₂O₂'nin pH 5.0'da 3 saatte sporosidal etki ettiğini gösterirken pH 6.5'de aynı etkiyi sağlamak için geçen sürenin 6 saate çıktığını göstermiştir.

HO[•] radikali H₂O₂'nin antimikrobiyal etkisinde en önemli role sahiptir. Bu radikal DNA heliksinden hidrojen atomlarının uzaklaşmasına ya da helikse baz katılmasına neden olabilmektedir. HO[•] radikali aynı zamanda hücre membranına da zarar verebilmektedirler. Model membran sistemde yapılan çalışmada HO[•] radikalının lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve membran geçirgenliğini etkilediği bulunmuştur. HO[•] radikali'nin 17 dakika uygulaması sonucunda membranın tamamıyla yıkıldığı görülmüştür (Anzai et al., 1999).

Hidrojen peroksit 1800'lü yıllardan günümüze antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır ve % 3 konsantrasyonunda cilt dezenfeksiyonu için kullanımı en bilinen uygulamasıdır. Gıda alanında ise H₂O₂ süt korunmasında ve ambalaj dezenfeksiyonunda kullanılabilir (Lück and Jager, 1997). Bu madde GRAS (Generally Recognized as Safe) statüsünde olup FDA tarafından gıda endüstrisinde ambalaj ve yüzey dezenfeksiyonu alanında kullanımı onaylanmıştır (Anonymous, 2001a).

Hidrojen peroksitin gıda endüstrisinde direkt olarak gıda içinde kullanımına izin verilmesi kısıtlıdır. Antimikrobiyal amaçlarla peynire işlenecek çiğ sütün soğukta depolanması ve taşınması imkanlarının bulunmadığı sıcak iklimlerde % 0.1 oranında süte ilave edilebilmektedir. Aynı zamanda modifiye peynir suyu hazırlanmasında % 0.4 oranında H₂O₂ kullanılmaktadır. Şarap, yumurta tozu üretiminde ve mısır şurubu üretiminde okside edici ajan olarak, instant çay üretiminde, renkli peynirlerin peynir suyu üretiminde ağartıcı ajan (bleaching agent) olarak kullanılmaktadır. Bu durumlarda kalıntı hidrojen peroksitin uzaklaştırılması gerekmektedir ve bu amaçla genel olarak ortama katalaz ilave edilmektedir (Anonymous, 2001b).

Meyve yüzeylerinin mum ile kaplanması (waxing) yüzeydeki mikroorganizma yükünde azalmalara neden olabilmektedir. Pao et al. (1999)'un *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilmiş portakallarla gerçekleştirdiği bir çalışmada, portakallara değişik sıcaklık ve pH'larda ticari mum bileşimleri uygulanmıştır. Çalışma sonucunda *E. coli* sayısında meyvelerin orta yüzey alanında pH 8.0 ve 60 °C'lik uygulamada 4.0 log kob/cm², pH 11 ve 60 °C' lik uygulamada ise 5,0 log kob/cm² azalma sağlandığı görülmüştür. Sap bölgelerinde ise *E. coli* sayısındaki azalma yaklaşık 1,0 log kob/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 2.3). Çalışma sonucunda meyve yüzeyinin mum ile kaplanması işleminin mikrobiyal yükün azaltılmasında yararlı olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 2.3. Değişik pH ve sıcaklıklarda Shellac mum uygulanan portakallardaki *E. coli* popülasyonu (Pao, 1999)

Orta yüzey alanı		<i>E. coli</i> (log kob/cm ²) ^a		
		25 °C	50 °C	60 °C
Süre (dakika)	pH			
2	8.0	4.9±0.2	4.1±0.4	2.6±0.9
	10.0	3.5±2.2	2.5±0.1	1.6±1.2
	11.0	3.3±0.1	1.9±0.2	1.4±0.2
4	8.0	5.1±0.4	3.9±0.3	0.9±0.6
	10.0	4.7±0.4	1.6±0.8	1.1±0.7
	11.0	2.9±0.4	1.4±0.1	0.4±0.3
Sap bölgesi				
2	8.0	6.4±0.3	6.3±0.2	6.3±0.3
	10.0	6.5±0.2	6.3±0.4	6.0±0.6
	11.0	6.2±0.9	6.2±0.4	6.1±0.4
4	8.0	6.5±0.3	6.0±0.8	5.8±0.3
	10.0	6.6±0.2	5.9±1.0	6.0±0.1
	11.0	5.6±0.2	4.9±1.0	5.8±0.7

^a Başlangıç *E. coli* seviyesi sırasıyla 6.3±0.2, 6.9±0.2 kob/cm²'dir.

Kenney and Beuchat (2002) yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* Muenchen ile inoküle edilmiş elmalara çeşitli ticari meyve muhlama materyalleri uygulamalarının etkilerini incelemişler ve her iki bakteri popülasyonunda da yaklaşık 1,48 kob/elma düzeyinde azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Pao ve Brown (1998) portakal ve mandalinaların hasat sonrası paketleme işlemlerinde mikroorganizma sayısında meydana gelen azalmayı incelemişlerdir. Yıkamadan önce ortalama toplam aerobik canlı bakterimi ve maya-küf sayıları sırasıyla 4.0 log kob/cm² ve 3.3 log kob/cm² olarak bulunmuş, yıkama sonrasında yük sırasıyla 2.1 log kob/cm² ve 1.3 log kob/cm²'ye düşmüştür. Sadece mum ile kaplama ise toplam aerobik bakteri sayısını 3.7 log kob/cm² ve koliform sayısını 35 EMS/cm²'den sırasıyla 2.6 log kob/cm² ve 1.4 EMS/cm²'ye düşürmüştür. Tüm proses hattı boyunca alınan meyve örnekleri ile ürünlerde *Salmonella*, proses sonrası alınan ürünlerde ise *E. coli* bulunamamıştır. *E. coli* ile inoküle edilen örneklerde yıkama ile 2.4 log kob/cm² azalma sağlanırken mum ile kaplama sonucunda *E. coli* sayısı 4.8 log kob/cm²'den 1.4 log kob/cm²'ye düşürülmüştür.

Meyve yüzeylerine uygulanan yüzey dekontaminasyon tekniklerinin yüzeydeki mikroorganizma yükünde azalmalara neden olabildiği konusunda gerçekleştirilmiş pek çok çalışma bulunmaktadır.

Pao ve Davids (1999) yaptıkları çalışmada sıcak su uygulaması şeklindeki yüzey dekontaminasyon tekniği ile taze sıkılmış portakal suyunun orjinal duyuşal özelliklerini değiştirmeden portakalların sanitize edilebileceğini göstermişlerdir. Çalışmada *E. coli* ATCC 25922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları ile inoküle edilen portakallara 70 °C'de 2 dakika ve 80 °C'de 1 dakika ısı işlem uygulanmıştır. Her iki ısı işlem sonrasında *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 4.5 log kob/cm², inokülasyon yapılmamış portakal örneklerindeki toplam canlı mikroorganizma sayısında ise yaklaşık 3,5 log kob/cm² azalma görülmüştür. Yapılan duyuşal analizlerde ısı işlem uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu ile ısı işlen görmemiş portakallardan elde edilen portakal suyunun duyuşal özellikleri arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Isı işlem süresi 70 °C'de 4 dakika ve 80 °C'de 2 dakikaya yükseltildiğinde ise duyuşal analizler sonucunda ısı işlem görmüş ve görmemiş portakallardan elde edilen portakal suları arasında önemli tat farkları görülmüştür. Bu sebeple sıcaklık ve süre kontrolünün iyi yapılması önerilmektedir. Aynı çalışmada 30 °C'de 8 dakika 200 ppm klor uygulaması ile *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 2,0 log kob/cm² azalma olduğu bulunmuştur.

Fleischman et al. (2001), *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş elmalarla yaptıkları çalışmada 95 °C'de sıcak su uygulamasının elma yüzeyindeki mikrobiyal yük üzerine etkisini incelemişlerdir. Daldırma metoduyla inoküle edilen elmalarda 95 °C'de 30 saniye sıcak su uygulaması sonrasında *E. coli* O157:H7 sayısında 2,40 log kob/g düzeyinde azalma görülmüştür. Yüzeğe damlatma (5µl) metoduyla inoküle edilen elmalarda ise 95 °C'de 30 saniye sonunda *E. coli* O157:H7 sayısında yaklaşık 6,0 log kob/g azalma bulunmuştur (Çizelge 2.4, Çizelge 2.5). Sonuçlar arasındaki farkın, daldırma metoduyla inokülasyonda *E. coli* O157:H7 hücrelerinin internalizasyonu (meyve kabuğundaki porlara ve girintilere yerleşmesi) sonucu yüzey sıcaklığından korunması nedeniyle olabileceği belirtilmektedir.

Çizelge 2.4. Damlatma metoduyla *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş portakallara sıcak su uygulamasının mikrobiyal yük (kob/g) üzerine etkisi (Fleischman, 2001)

Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)				
	0	5	10	15	30
40	7.23±0.24	6.99±0.12	7.07±0.28	7.07±0.18	7.31±0.06
60	7.34±0.06	7.13±0.16	7.00±0.18	7.13±0.15	6.99±0.11
80	6.71±0.14	6.18±0.18	4.74±0.47	0.65±1.04	0.25±2.33
95	7.09±0.21	2.56±3.12	0.36±0.52	0.70±1.02	1.00±1.003

Çizelge 2.5. Daldırma metoduyla *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş portakallara sıcak su uygulamasının mikrobiyal yük (kob/g) üzerine etkisi (Fleischman, 2001)

Sıcaklık ve Süre	Kontrol (log kob/g)	Isıl işlem sonrası (log kob/g)
40 °C, 90 s	5.55±0.97	4.45±0.96
95 °C, 15 s	5.07±0.75	3.33±1.25
95 °C, 30 s	3.95±0.91	1.55±0.87
95 °C, 60 s	4.00±0.83	1.77±0.98

Taze koparılmış bir portakal yüzeyinde yaklaşık 4.0 log kob/cm² aerobik mikroorganizma bulunduğu belirtilmektedir. Mikrobiyal yük yıkama ve mum kaplama ile azaltılabilmektedir. Yapılan bir çalışmada yüzeyi *E. coli* inoküle edilmiş portakallarda yıkama ve durulama ile *E. coli* miktarında ortalama olarak 2.4 log kob/cm² azalma sağlanmıştır. Aynı çalışmada yıkama ve mum kaplama kombinasyonları ile *E. coli* miktarının 4.8-1.4log kob/cm² azaltılabildiği görülmüştür (Pao et al., 1999).

Sapers et al. (1999) yaptığı çalışmada çeşitli sanitizelerin farklı *E. coli* suşları ile inoküle edilmiş elmalar üzerine etkisi incelenmiştir. *E. coli* ATCC 25922, 23176 ve 11775 suşlarının sayısında 200 ppm klor çözeltisi uygulaması ile sırasıyla 1.8, 1.4 ve 1.7 kob/g azalma, 50 °C'de % 5'lik H₂O₂ uygulaması ile ise yine sırasıyla 3.9, 2.4 ve 2.6 kob/g azalma görülmüştür (Çizelge 2.6). Çalışma sonucunda sanitasyon ajanlarının etkilerinin suşdan suşa değişim gösterebileceği belirtilmiştir.

Çizelge 2.6.Farklı *E. coli* suşları ile inoküle edilen elmalara çeşitli dekontaminasyon yöntemlerinin etkileri (Sapers, 1999)

İşlem	Sayıda ortalama logaritmik azalma		
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> ATCC 23716	<i>E. coli</i> ATCC 11775
200 ppm Cl ₂	1.8	1.4	1.7
% 5 H ₂ O ₂ (50 °C)	3.9	2.4	2.6
% 5 H ₂ O ₂ +% 2 Sanitizer D (50 °C)	4.0	2.7	2.7

^a Başlangıç *E. coli* seviyesi yaklaşık 10⁷ kob/ml'dir.

Sapers ve ark. (2000) yaptıkları bir çalışmada elmalar üzerine 1 cm derinliğinde ve 3-7 mm çapında delikler açmış ve bunlara *E. coli* ATCC 25922 inoküle etmişlerdir. Çalışmada elmaların yüzeyi ilk olarak ticari bir asidik surfektant veya trisodyum fosfat ile yıkanıp ardından durulanarak kirin uzaklaştırılması sağlanmış, sonra da % 5 H₂O₂ çözeltisi uygulanarak yüzeydeki *E. coli* sayısının azalması belirlenmiştir. Normal elmalarda % 5 H₂O₂ uygulaması sonucunda *E. coli* populasyonunda yaklaşık 2.7 log kob/g azalma görülürken, üzerinde delikler açılmış elmalarda bu azalma 0.58 kob/g düzeyinde kalmıştır. Çalışmada meyve yüzeyinin yaralı olmasının sanitasyon işlemlerinin etkinliğini azaltabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı çalışmada % 5 H₂O₂ uygulaması sonunda durulama yapılarak H₂O₂ etkinliği durulama yapılmayan işlemlerle karşılaştırılmış ve durulama yapılmayan durumda *E. coli* populasyonunda yaklaşık 2.7 log kob/g azalma görülürken, durulama yapılan örneklerde azalma 1.9 log kob/g olarak bulunmuştur. Durulamanın kalıntı H₂O₂ etkinliğini azalttığına işaret edilmiştir.

Pao ve ark. (2000) tarafından yapılan diğer bir çalışmada; *E. coli* ATCC 2922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları ile inoküle edilen portakalların yüzeyini alkali çözelti ile yıkamanın etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla; alkali temizleyici (sodyum ve potasyum hidroksit karışımı; pH 11,8), % 2 SOPP çözeltisi (sodyum ortofenilfenat; pH 11,8) ve NaOH çözeltisi (pH 11,8) denenmiştir. Bu çözeltiler içerisinde en etkili olanın *E. coli* sayısını 3,5 log kob/cm² düzeyinde azaltan % 2 SOPP çözeltisi olduğu belirlenmiştir.

Pao ve Davis (1999)'nun portakal yüzeyini çeşitli sanitizerlerle yıkayarak taze sıkılmış portakal suyunun mikrobiyolojik güvenliğini arttırmayı hedefleyen bir çalışmada klor, klordioksit, asit anyonik sanitizer, % 2 trisodyum fosfat ve deiyonize su yüzey yıkama çözeltileri olarak denenmiştir. Kullanılan çözeltiler içerisinde *E. coli* sayısında en fazla azalmayı 3,1 log düzeyinde klordioksit ile yüzey yıkama yöntemi sağlamıştır.

Souza ve ark. (2004) pastörize edilmemiş şişelenmiş portakal suyu stabilitesini 4 °C , 8 °C ve 12 °C'de depolama süresince incelemişlerdir. Çalışmada 72 saat sonunda askorbik asit miktarının başlangıç miktarına göre % 72-85 oranında korunduğu bulunmuştur. Askorbik asit miktarı 41 ile 46 mg/100g olarak bulunmuş ve bu miktarın ticari portakal sularında belirtilen referans miktardan (38mg/100g) daha yüksek olduğu belirtilmiştir. pH, toplam titre edilebilir asitlik ve toplam çözünen madde miktarında 72 saat sonunda önemli bir değişim gözlenmemiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda 12 °C'de 72 saat sonunda küf ve maya sayısının önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Pastörize edilmemiş şişelenmiş portakal suyu örneklerinde *Salmonella* ve fekal koliform varlığına rastlanmadığı belirtilmektedir. Çalışma sonucunda duyu analizi sonuçları ve askorbik asit miktarındaki azalma göz önüne alınarak 48 saat raf ömrü önerilmiştir. Başlangıçtaki küf ve maya miktarının azaltılması ve kontrolü ile bu sürenin 72 saate çıkarılabileceği belirtilmiştir.

Pao ve Davids (2001) yaptıkları çalışmada doğal floralı ve *E. coli* ATCC 2922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları inoküle edilmiş portakallardan elde edilen portakal sularını incelemişlerdir. Toplam aerobik mikroorganizma yükü portakalda 3.6 ± 0.3 log kob/ml bulunurken ekstraksiyon sonucunda portakal suyunda toplam aerobik mikroorganizma sayısı 2.0 ± 0.4 log kob/ml olarak belirlenmiş ve meyveden portakal suyuna % 2.6 ± 1.9 oranında mikroorganizma geçtiği tespit edilmiştir (Çizelge 2.7). Farklı bir model ekstraktörde yapılan çalışmada ise sonuçlar sırasıyla 2.2 ± 0.6 log kob/ml, 0.7 ± 0.2 log kob/ml ve % 1.7 ± 0.3 olarak bulunmuştur. Kullanılan test kültürüne portakal suyunun etkisi 15 dakika süresince incelenmiş ve *E. coli* sayısında bu süre boyunca değişim olmadığı bulunmuştur. Aynı çalışmada başlangıç inokülasyon seviyesinin % transfer oranına etkisi incelenmiş ve 3.4 log kob/ml ve 1.5 log kob/ml miktarında *E. coli* inoküle edilen portakallarda meyve suyundaki *E. coli* sayısı 2.2 ± 0.7 log kob/ml

ve 0.3 ± 0.5 log kob/ml olarak bulunmuş ve % transfer oranları sırasıyla % 9.9 ± 9.4 ve % 8.6 ± 1.4 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2.8). Bu sonuçlara göre % transfer oranının inokülasyon miktarı ile değişmediği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda portakal yüzeyindeki kontaminantların yaklaşık % 90-99'unun portakal suyunun ekstraksiyonu sırasında elimine edildiği ve portakal suyuna geçen miktarın % 1-10 oranında olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 2.7. Meyve yüzey mikroflorasının ekstraksiyon işlemi ile meyve suyuna transferi (Pao and Davids, 2001)

Eksraktör	Toplam Aerobik Mikroorganizma (log kob/ml)		% Transfer
	Meyve	Meyve suyu	
A	3.6 ± 0.3	2.0 ± 0.4	2.6 ± 1.9
B	2.2 ± 0.6	0.7 ± 0.2	1.7 ± 0.5

Çizelge 2.8. İnokülasyon miktarının meyve suyu ekstraksiyonu sırasında mikrobiyal transfere etkisi (Pao and Davids, 2001)

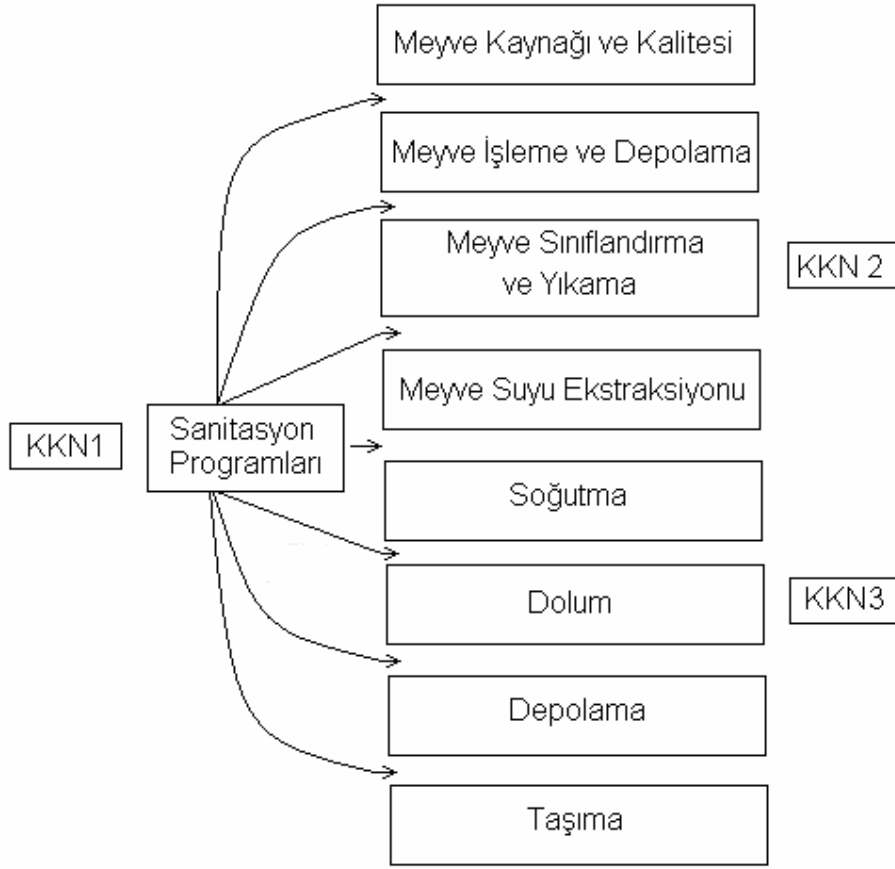
Ekstraktör	Test kültürü	Mikrobiyal yük (kob/ml)		% Transfer
		Meyve	Meyve suyu	
A	<i>L. plantarum</i>	5.5 ± 0.2	4.4 ± 0.2	8.0 ± 3.2
B		4.2 ± 0.3	3.1 ± 0.2	6.7 ± 4.0
A	<i>E. coli</i>	3.4 ± 0.3	2.2 ± 0.7	9.9 ± 9.4
B		1.5 ± 0.1	0.3 ± 0.5	8.6 ± 1.4

FDA, 28 Ağustos 1997'de meyve suyu kaynaklı hastalıkların artmasına cevap olarak ve NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods)'nin tavsiyesi üzerine meyve suyu üreticileri için bir HACCP programı geliştirilmesi, etiketlerde uyarı getirilmesi ve üreticiler için eğitim programları geliştirilmesi gerektiğini belirtmiştir. FDA bunu takiben Temmuz 1998'de uyarı durum kurallarını yayınlamış ve bu yayında gerekli görülen en dirençli patojenlerde 5 log'luk düşüş konusunda işlem uygulanmamış (pastörizasyon gibi) meyve sularının etiketlenmesi gerektiğini bildirmiştir (Anonymous, 1998).

Schmidt ve ark. (1997) küçük ölçekli taze sıkılmış pastörize edilmemiş meyve suyu üreten işletmeler için model HACCP planı üzerine çalışmışlardır. HACCP açıklamaları Ek 1'de, üretimde kullanılması önerilen kritik kontrol noktaları (KKN)

ise Şekil 2.1.'de gösterilmiştir. KKN olarak sanitasyon programları, meyvelerin yıkanması ve sınıflandırılması ile dolum aşaması belirlenmiştir. Yere düşen meyvelerin kullanımından kaçınılması ve meyve kalitesinin sürekli takip edilmesi önerilmiş, geç dönemde toplanan meyvelerin düşük asitliğe sahip olacağı (pH 4.0 üzerinde) ve bu ortamın mikroorganizma gelişimi için daha uygun bir ortam yaratacağı için dikkatli olunması gerektiğine değinilmiştir. Meyvelerin 0 – 1 °C'de % 80-85 bağıl nem ortamında depolanmasının mikrobiyal gelişme ve kontaminasyonu engellemesi için yararlı olacağı; ekstraksiyondan önce meyvelerin uzun süre depolanmaması gerektiği, depoya ilk girenin ilk çıkması prensibine göre çalışılması gerektiği belirtilmiştir. Meyvelerin büyüklüklerine göre ayrılması işlemi sırasında tüm hatalı (kesilmiş, küf gelişimi olan vb.) meyvelerin uzaklaştırılması gerektiği ve bunun ardından fırçalı makinalarda asit-yıkama ile kirlerin uzaklaştırılmasından sonra 200ppm klor içeren su ile minimum 2 dakika yıkanması ve durulanması tavsiye edilmiştir. Meyve suyunun elde edildiği ekstraktörlerin düzenli olarak sanitize edilmesi, meyve suyunun elde edildikten hemen sonra soğutulması ve soğukta (0 °C veya altında) depolanması da vurgulanmıştır.

**Akış Diyagramı
(Kritik Kontrol Noktaları İle)**



Şekil 2.1. Taze sıkılmış portakal suyu üretim akış diyagramı ve kritik kontrol noktaları (Schmidt et al., 1999)

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma materyali

Bu çalışmada materyal olarak; 1) Ankara Büyükşehir Belediyesi'ne ait 1 adet seyyar meyve-sebze satış noktası ile Ankara'daki 3 süpermarket ve 1 adet kafeteryanın satış noktalarından sağlanan tüketime hazır ticari taze (pastörize edilmemiş) şişelenmiş portakal suyu rnekleri, 2) Ankara Toptancı Hali ile Ankara'daki çeşitli süpermarketler ve semt pazarlarından sağlanan taze sıkılmış portakal suyuna işlenecek olan portakal örneklerinden yararlanılmıştır.

Çalışmada beş farklı taze sıkılmış portakal suyu satış noktası seçilmiştir. Bu satış noktalarının her birinden analiz gününde üretilmiş olan üç şişe taze sıkılmış portakal suyu alınmıştır. Alınan rnekler soğukta ve kısa sürede Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiş ve analizlere geçilmiştir. Portakal rnekleri ise sağlandığı yerde uygun sayıda ve uygun kalitede seçilmiş ve steril bir naylon torba içerisine yerleştirilmiş ve kısa sürede Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiş ve dekontaminasyon işlemlerine geçilmiştir.

3.1.2. İnokülasyon'da kullanılan bakteri kültürü

Araştırmada portakal yüzey inoklasyonunda *Esherichia coli* ATCC 25922 (ATCC; American Type Culture Collection) suşu kullanılmıştır (Pao et al., 1999; Sapers et al., 1999).

3.1.3. Dilüsyon sıvıları ve besiyerleri

Çalışmada dilüsyon sıvısı olarak tamponlanmış peptonlu su (TPS) ve % 0.1'lik peptonlu su kullanılmıştır (Temiz, 2002; Pao et al., 2001).

Bakteri sayımları ile izolasyonu ve tanımlanmasında PCA (Plate Count Agar, Merck 1.05463), Tryptic Soy Broth (TSB, Merck 1.05459), TSA (Tryptic Soy Agar, Merck 1.05458), Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck 1.01406), Lauryl Sulfate Broth (LST, Merck 1.10266), Brilliant Green Bile Broth (BGBB, Merck 1.05454), Fluorocult® LST Broth (FLST, Merck 1.12588), Modifiye TSB (mTSB, Merck

1.09205), Sorbitol MacConkey Agar (SMAC, Merck 1.09207), Rappaport Vassiliadis Broth (RV, LabM), Selenite Cystine Broth (SC, Merck 1.07709), Rambach Agar (RA, Merck 1.07500), Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose Agar (BGPR, Merck 1.10747), Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD, LabM), Triple Sugar Iron Agar (TSI, Merck 1.03915), Lysine Iron Agar (LSI, Merck 1.11640), Urea Broth (Merck 1.08483), Cefixime Tellurite (Merck 1.09202), Pepton (LabM), Agar-Agar (Merck), Dryspot *E. coli* O157 Latex Test (Oxoid, DR0120M) gibi besiyerleri, besiyeri bileşenleri ve test kitleri ile UV lambası (Lamag, Universal UV Lampe, 366nm) kullanılmıştır.

Kullanılan besiyerleri üretici firmaların direktiflerine göre hazırlanmıştır.

3.1.4. Ticari ekstraktör ve el ekstraktörü

Araştırmada taze portakal suyu ekstraksiyonu sırasında ekstraktörde meydana gelen mikrobiyal kirliliğin belirlenmesi amacıyla "Zumex Z32" ticari otomatik ekstraktöründen yararlanılmıştır.

Araştırmada taze sıkılmış portakal suyu ekstraksiyonunda el tipi ekstraktörler kullanılmıştır. Ekstraktörler kullanım öncesi deterjanlı su ile yıkandıktan sonra kaynar suda (96 °C) bir dakika bekletilmiş ve daha sonra % 70'lik etil alkol çözeltisi kullanılarak temizlenmeye ve dezenfekte edilmeye çalışılmıştır.

3.1.5. Portakalların yüzey dekontaminasyonunda kullanılan çözeltiler

Klor çözeltisi; Portakalların yüzey dekontaminasyonunda kullanılan 200 ppm klor çözeltisini hazırlamada Ak-kim Kimya ve Sanayi Tic. A.Ş.'den temin edilen % 15.8 aktif klor içeren sodyum hipoklorit (NaOCl) kullanılmıştır. Yüzey dekontaminasyonunda yararlanılan 200 ppm'lik klor çözeltisi steril damıtık su ile FDA/BAM (Bacteriological Analytical Manual) R12a metoduna göre hazırlanmıştır (Anonymous, 2001c). Hazırlanan çözelti konsantrasyonu TS 266 İçme Suları Standardında belirtilen serbest klor tayini metodu (iyodometrik metod) ile kontrol edilmiştir (Anonymous, 1986).

Hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi; Portakalların yüzey dekontaminasyonunda kullanılan % 5'lik H₂O₂ çözeltisini hazırlamada % 30'luk H₂O₂ (Merck, 1.08597) kullanılmıştır. Seyreltme işlemi steril damıtık su ile yapılmıştır.

3.1.6. pH ölçümü

Araştırmada şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerinin ve laboratuvarda el ekstraktörü ile sıkılarak elde edilen portakal sularının pH ölçümleri Mettler-Toledo (Seven Multi) marka pH metre ile yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Piyasadan sağlanan şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerinin mikrobiyolojik analizi ve pH ölçümü

Şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerinin mikrobiyolojik analizi amacıyla seçilen beş farklı satış noktasından her analiz gününde 0-5 °C'de muhafaza edilen taze sıkılmış portakal sularından üçer şişe alınmıştır. Taze sıkılmış portakal suyu örnekleri soğukta kısa sürede Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir ve analiz anına kadar 0-5 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerine toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı, koliform bakteri sayımı, *E. coli* sayımı, *Salmonella* aranması, *E. coli* O157:H7 aranması ve pH ölçümü analizleri yapılmıştır.

Her bir satış noktasına ait 3 örnek şişesinden bir tanesi ilk gün açılarak portakal suyunda mikrobiyolojik analizler ve pH ölçümü gerçekleştirilmiştir. Aynı şişe daha sonra ağzı kapatılarak buzdolabında iki gün daha bekletilmiş, ikinci ve üçüncü analiz gününde tekrar açılarak portakal suyunda mikrobiyolojik analizler ve pH ölçümü gerçekleştirilmiştir. Hiç açılmadan buzdolabında depolanan diğer iki şişe portakal suyu ise ikinci ve üçüncü günler ayrı ayrı açılarak mikrobiyolojik analizlere ve pH ölçümüne alınmıştır. Böylece de depolama süresi boyunca meyve suyundaki mikrobiyal değişim, kapağı hiç açılmamış ve kapağı açılmış örnek şişeleri üzerinden takip edilmeye çalışılmıştır. Taze sıkılmış portakal sularının ambalajında iki gün içinde tüketilmelidir ibaresi yer almaktadır.

Piyasadan şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerinin alımı ve mikrobiyolojik analizler gerçekleştirme işlemleri her bir satış noktasından 08.07.2004-21.05.2005 tarihleri arasında belli dönemlerde olmak üzere 6 kez tekrarlanmıştır.

3.2.2. Portakallara uygulanan yüzey dekontaminasyon yöntemleri

Analiz gününde Ankara Toptancı Hali ile Ankara'daki çeşitli süpermarketler ve semt pazarlarındaki satış noktalarından 75'er adet meyve suyuna işlenecek portakal örneği seçilmiş ve bunlar kısa sürede Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Portakallar biri kontrol grubu olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu portakallara hiç bir işlem uygulanmamış, diğer gruptaki portakallara ise ayrı ayrı olmak üzere çeşme suyu ile yıkama, klor çözeltisi ile yıkama, H₂O₂ ile yıkama ve kaynar suya daldırma şeklinde yüzey dekontaminasyon işlemleri uygulanmıştır. Yıkama işlemleri daha önce deterjanlı su ile yıkanmış ve % 70'lik etil alkol ile dezenfekte edilmiş kaplarda gerçekleştirilmiştir. Kaynar suya daldırma işleminde ise steril paslanmaz çelik kazan kullanılmıştır. Dekontaminasyon işlemleri sonrasında portakallar steril poşetler içine alınmış ve el ekstaktöründe sıkım işlemine geçilmiştir.

Kontrol grubu; Bu gruptaki portakallara hiç bir işlem uygulanmıyarak direkt olarak sıkma işlemine geçilmiştir.

Çeşme suyu ile yıkama; Portakallar oda sıcaklığındaki 5 lt çeşme suyuna daldırılmış ve karıştırılarak 2 dakika süreyle yıkanmıştır.

Klor çözeltisi ile yıkama; Bu gruptaki portakallar oda sıcaklığındaki 5 lt 200 ppm klor çözeltisine daldırılmış ve burada 8 dakika tutularak yıkanmıştır. Portakallar daha sonra aynı miktarda steril damıtık su içinde tutularak durulanmıştır (Beuchat et al., 1998; Davis and Pao, 1999; Sapers et al., 1999).

H₂O₂ ile yıkama; Bu gruptaki portakallar oda sıcaklığındaki 5 lt % 5'lik H₂O₂ çözeltisi ile daldırma yöntemiyle 2 dakika yıkanmıştır (Sapers et al., 1999; Mazzotta 2001). Yıkama sonrasında durulama işlemi yapılmamıştır.

Sıcak suya daldırma; Bu işlemde portakallar yaklaşık 96 °C'deki kaynar su içine daldırılıp 30 saniye bekletilmiştir (Davis and Pao, 1999).

Dekontaminasyon işlemlerinden hemen sonra kontrol grubu da dahil olmak üzere meyve suyu elde edilme (ekstraksiyon) aşamasına geçilmiştir. Ekstraksiyon işlemi el ekstraktörleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraktörler Bölüm 3.1.4.'de anlatıldığı şekilde temizlenerek sıkıma hazırlanmıştır. Yüzey dekontaminasyon

işlemleri sonunda steril poşetler içine alınan beş farklı gruptaki portakal örnekleri sırayla ekstraksiyona alınmıştır. Portakallar steril bir bıçak ile ikiye bölünmüş ve el ekstraktörlerinde sıkım gerçekleştirilmiştir. Elde edilen portakal suyu 1 lt'lik steril Erlenler içine alınmıştır. Daha sonra örnekler buz ortamına daldırılıp ani soğutma yapılarak buzdolabına alınmış ve sıkım sırasına göre mikrobiyolojik analizlere alınmış ve pH'ları ölçülmüştür. Mikrobiyolojik analizlerde elde edilen portakal suyu örneklerine toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı, koliform grubu bakteri sayımı, *E. coli* sayımı, *Salmonella* aranması ve *E. coli* O157:H7 aranması analizleri yapılmıştır.

Bu çalışma 09.08.2004-06.06.2005 tarihleri arasında belli dönemlerde olmak üzere 6 kez tekrarlanmıştır.

3.2.3. *E. coli* ATCC 25922 kültürü ile inoküle edilmiş portakalların yüzey dekontaminasyonu

E. coli ATCC 25922 kültürünün inokülasyon için hazırlanması:

İnokülasyon işlemi için *E. coli* ATCC 25922 kültürü kullanılmıştır (Pao et al., 1999; Sapers et al., 1999). Yatık agarlı TSA besiyerinde hazırlanan *E. coli* ATCC 25922 stok kültüründen 15 ml TSB besiyerine ekim yapılmış ve 35 °C'de 20 saat inkübe edilmiştir. Bu kültürden 1'er litrelik 10 adet TSB besiyerine ayrı ayrı ekim yapılmış ve 35 °C'de 20 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen *E. coli* ATCC 25922 kültürleri inokülasyonun gerçekleştirileceği 20 lt'lik steril paslanmaz çelik kazan içine *topluca* aktarılmıştır (Pao et al., 1999; Pao et al. 2000).

Portakal yüzeylerinin *E. coli* ATCC 25922 kültürü ile inoküle edilmesi:

Bu amaçla analiz gününde Ankara Toptancı Hali ile Ankara'daki çeşitli süpermarketler ve semt pazarlarındaki satış noktalarından 105 adet meyve suyuna işlenecek portakal örneği seçilmiş ve kısa sürede Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen portakallar çeşme suyu altında teker teker yıkanarak yüzeydeki kirliliklerin giderilmesi ve mikrobiyal yükün azalması sağlanmıştır. Yıkanan portakallar yüzeyin kurumaması amacıyla 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir (Pao and Davis, 1999; Pao et al., 2000; Pao et al., 2001).

Yüzeyi kuruyan portakallar inokülasyon için hazırlanan 10 lt *E. coli* ATCC 25922 kültürü içine aktarılmış ve daldırma yöntemiyle 15 dakika bekletilerek inokülasyon işlemi tamamlanmıştır. Bunu takiben portakallar kültür ortamından alınarak aseptik koşullarda uygun bir delikli kap içine aktarılarak, fazla inokülasyonun uzaklaştırılması için 1 saat oda sıcaklığında drene edilmiştir.

E. coli ATCC 25922 kültürü ile inoküle edilmiş portakalların yüzey dekontaminasyonu:

İnoküle edilmiş portakallar steril poşetler içinde biri kontrol grubu olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu portakallara hiç bir işlem uygulanmamış, diğer gruptaki portakallara ise ayrı ayrı olmak üzere Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde çeşme suyu ile yıkama, klor çözeltisi ile yıkama, H₂O₂ ile yıkama ve kaynar suya daldırma şeklinde yüzey dekontaminasyon işlemleri uygulanmıştır. Dekontaminasyon işlemleri sonrasında örnekler 6'şar adedi yüzey yıkama, 15'er adedi portakal suyu eldesi amacıyla steril poşetler içine alınmıştır (Pao and Davis, 1999; Pao et al., 2000; Pao et al., 2001).

Yüzey yıkama işlemi portakal yüzeyindeki mikrobiyal yükü belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için 4 °C'deki 1 lt % 0.1'lik peptonlu su kullanılmıştır. Yüzey yıkama işlemi bu yıkama suyunun, içinde 6 adet portakalın bulunduğu steril poşet içine aktarılması ve 10 dakika süresince çalkalanması şeklinde gerçekleştirilmiş ve böylece de yüzeydeki mikroorganizmaların yıkama suyuna geçmesi sağlanmıştır. Yıkama suyu bekletilmeden mikrobiyolojik analizlere alınmıştır (Pao and Davis, 1999; Pao et al., 2000; Pao et al., 2001).

Portakal suyu eldesi sıkma işlemleri sonrasında meyve suyundaki mikrobiyal yükü (meyve suyuna geçen mikroorganizmaları) belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Sıkım işlemi el ekstraktörleri kullanılarak yapılmıştır. Ekstraktörler Bölüm 3.1.4.'de anlatıldığı şekilde temizlenerek sıkıma hazırlanmıştır. Yüzey dekontaminasyon işlemleri sonunda steril poşetler içine 16'şar tane olacak şekilde alınan beş farklı gruptaki portakal örnekleri sırayla sıkıma alınmıştır. Portakallar steril bir bıçak ile ikiye bölünmüş ve el ekstraktörlerinde sıkım gerçekleştirilmiştir. Elde edilen portakal suyu 1 lt'lik steril Erlenler içine alınmıştır. Daha sonra örnekler buz ortamına daldırılıp ani soğutma yapılarak buzdolabına alınmış ve sıkım sırasına

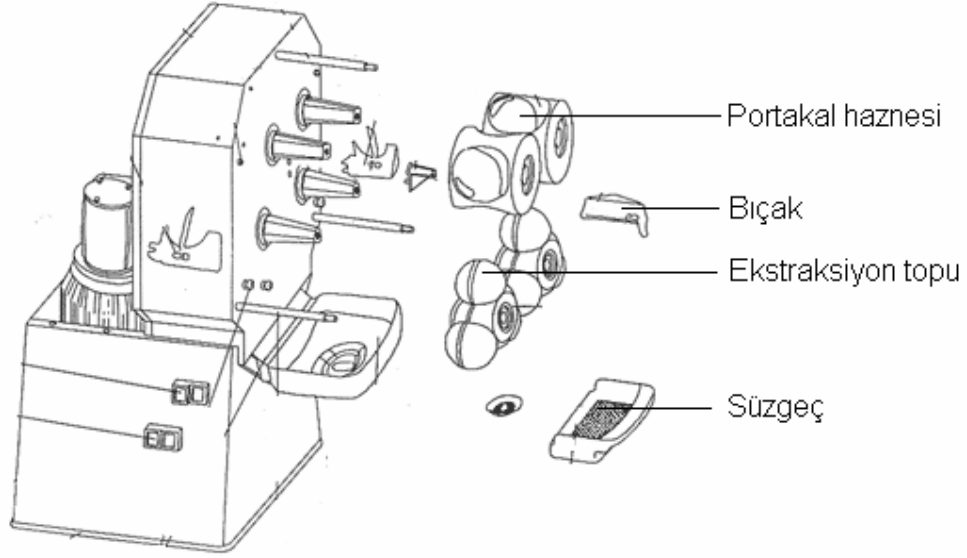
göre mikrobiyolojik analizlere alınmış ve pH'ları ölçülmüştür (Pao and Davis, 1999; Pao et al., 2000; Pao et al., 2001).

Bu çalışma 06.02.2005.-11.08.2005 tarihleri arasında belli dönemlerde olmak üzere 6 kez tekrarlanmıştır.

3.2.4. Ankara piyasasındaki ticari bir otomatik ekstraktörün çeşitli yüzeylerinden mikrobiyolojik örnek alımı ve mikrobiyolojik analizler

Bu amaçla Ankara'daki bir süpermarketin satış noktasında taze sıkılmış portakal suyu üretiminde yararlanılan otomatik ekstraktör (Zumex Z32) araştırmaya dahil edilmiş ve bu ekstraktörde üretim öncesi ve sonrası mikrobiyal yük belirlenerek ekstraktörde meydana gelen mikrobiyal kirliliğin boyutları tespit edilmeye çalışılmıştır. Analiz gününde ekstraktör temiz ve kullanıma hazır halde iken (ekstraksiyon öncesi) ve üretim bittikten sonra ekstraktör kirli iken (ekstraksiyon sonrası) Şekil 3.1'de gösterilen yüzey noktalarından (mikrobiyal kirliliğin bu noktalarda en yaygın olduğu varsayılmıştır) steril eküvyonlarla alınan örnekler özel buz kabı içinde Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarına getirilmiş ve bekletilmeden mikrobiyolojik analizlere geçilmiştir. Otomatik ekstraktörden üretim öncesinde ve sonrasında Alınan örneklerle ait eküvyon çubukları laboratuvarında 9'ar ml steril TPS içeren tüplere aktarılmış ve uygun seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Elde edilen yüzey örneklerine toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı ve koliform grubu bakteri sayımı analizleri yapılmıştır.

Denemeler 12.01.2005-06.06.2005 tarihleri arasında belli dönemlerde olmak üzere 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.1. Portakal suyu ekstraktörü ve örnek alım noktaları

3.2.5. Gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizler

3.2.5.1. Toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı

Toplam canlı mezofilik aerobik bakteri sayısı PCA besiyerinden yararlanılarak dökme plak yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (Temiz, 2002). Ekim yapılan Petri kutuları 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve sayım sonuçları dilüsyon faktörü de dikkate alınarak kob/yüzey veya kob/ml şeklinde belirlenmiştir.

3.2.5.2. Koliform bakteri ve *E. coli* sayısının belirlenmesi

Portakal suyu örneklerindeki ve ekstraktör yüzey örneklerindeki koliform bakteri sayısı AOAC'nin önerdiği klasik yöntem temel alınarak belirlenmiştir. Bu amaçla ilk aşamada; seçilen her bir dilüsyondan 3'er adet olmak üzere, içinde ters konumda Durham tüpü bulunan tüpteki 10 ml LST broth besiyerine 1'er ml aşılanmış ve tüpler 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gaz oluşumu gözlenen tüplerin her birinden 10'ar ml Durham tüplü BGGB besiyeri içeren tüplere ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gaz oluşumu gözlenen BGGB kültürleri koliform bakteri sayım sonuçları için kaydedilmiştir. Sonuçlar EMS tablosundan yararlanılarak

EMS/yüzey ve EMS/ml olarak verilmiştir (Halkman ve ark., 1994; Çakır, 2000; Anonymous, 2002).

Gıdalarda standart yöntemlerle *E. coli* aranması EMS yöntemi ile yapılmakta ve bu analiz uluslararası kontrol kuruluşları tarafından önerilen standartlara göre 5-10 gün sürmektedir. 4-Methyl-Umbelliferyl- β -D-Glucuronide içeren (MUG) besiyerlerinin kullanılması ile bu süre 24-48 saate düşmüştür. *E. coli* suşlarının % 98-99 kadarı β -D-glucuronidase enzimi içerir. Diğer bakterilerde çok ender olarak görülen bu enzim MUG substratını parçalar ve parçalanma ürünlerinden 4-methylumbelliferone uzun dalga boylu (366nm) UV lambası ile floresan ışımaya verir. Bu enzimin varlığı kromojenik besiyerlerinde de belirlenebilir. Tüp içinde aşırı asit gelişiminin floresan ışımalarını engellememesi için tüplere 1'er ml 1 N NaOH ilave edilmektedir. MUG reaksiyonunda sahte pozitif sonuçlardan kaçınmak için indol testi uygulanmaktadır. Kovacs' ayırıcından 1 ml eklendikten sonra besiyeri yüzeyinde vişne çürüğü renkli halka toplanması bakterinin indol pozitif olduğunu gösterir. *E. coli* MUG ve indol pozitif olan tek bakteridir. MUG, VRBA gibi katı besiyerlerine katıldığı gibi LST Broth gibi sıvı besiyerlerine de eklenebilmektedir. *E. coli* içinde % 1-2 oranında MUG negatif suş olması, bu yöntemle *E. coli* sayımında standart yöntemlere göre %1-2 oranında daha az sayım sonucu alınacağını gösterir. Fakat bu yöntem hızlı olması nedeniyle kabul görmüştür. MUG yöntemi FDA tarafından hızlı *E. coli* analizinde 1998 yılından beri önerilmektedir (Halkman, 2005).

Portakal suyu örneklerindeki *E. coli* bakteri sayısı Fluorocult® LST (MUG'lu) besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla ilk aşamada; seçilen her bir dilüsyondan 3'er adet olmak üzere, içinde ters konumda Durham tüpü bulunan tüpteki 10 ml Fluorocult® LST broth besiyerine 1'er ml aşılanmış ve tüpler 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 24. ve 48. saati sonunda gaz oluşumu gözlenen tüplerin her birine 1'er ml 1N NaOH ilave edilmiştir. Daha sonra 366 nm dalga boyundaki UV lambası altında floresan veren tüpler ayrılarak üzerlerine 1'er ml Kovacs' ayırıcı ilave edilmiş ve indol pozitif olan tüpler *E. coli* sayım sonuçları için kaydedilmiştir (gaz oluşumu, floresans ve indol pozitif olanlar). Sonuçlar EMS tablosundan yararlanılarak EMS/ml olarak verilmiştir (Anonymous, 2002; Halkman, 2005).

E. coli ATCC 25922 kültürü ile inoküle edilmiş portakallardan elde edilen portakal sularında *E. coli* sayısının belirlenmesi amacıyla TPS içinde hazırlanmış uygun dilüsyonlardan TSA besiyeri kullanılarak dökme plak yöntemine göre ekimler yapılmış ve Petri kutuları oda sıcaklığında (yaklaşık 25 °C'de) 2 saat inkübe edilmiştir. Bu işlemle incelenen örneklerdeki hasar görmüş bakterilerin onarımına fırsat verilmesi amaçlanmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyerinin üzeri 8-10 ml miktarda yaklaşık 48 °C'deki VRBA besiyeri ile kaplanmış ve Petri kutuları 45.5 °C'de 20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda 1-2 mm çapında kırmızımsı bir presipitat zonu ile çevrili kırmızı-mor koloniler sayılarak sonuçlar bulunmuştur *E. coli* olarak sayılmış ve sayım sonuçları kob/ml olarak verilmiştir (Pao et al., 1999; Pao et al., 2001; Anonymous, 2002; Halkman 2005;).

3.2.5.3. *E. coli* O157:H7 aranması

Analizler, *E. coli* O157 serotipi üzerine kurulmuştur. *E. coli* O157 olarak elde edilen izolatin *E.coli* O157:H7 olup olmadığı, ancak H7 antiserumu kullanılarak veya verotoksin oluşturup oluşturmadığının analizi ile belirlenebilmektedir (Halkman, 2005).

Portakal suyu örneklerinde *E. coli* O157:H7 varlığının saptanması amacıyla FDA/BAM (Bacteriological Analytical Manual) AOAC tarafından önerilen standart analiz yönteminden yararlanılmıştır. Portakal suyu örneklerinden 25 ml alınarak novobiocin içeren 225 ml mTSB besiyerine aktarılmış ve Erlenler 37°C'de 24 saat inkübe edilerek selektif zenginleştirme yapılmıştır. Bu selektif zenginleştirme kültüründen uygun dilüsyonlar hazırlanmış ve dilüsyonlardan 0.1'er ml alınarak Petri kutusundaki steril cefixime-tellurite (CT) ilave edilmiş SMAC (CT supplementi sterilizasyon sonrası 48°C'de ilave edilerek besiyeri Petri kutularına dökülmüştür) besiyeri yüzeyine yayma tekniği ile ekimler yapılmış ve Petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda besiyerinde oluşmuş renksiz koloniler (sorbitol negatif) *E. coli* O157:H7 şüphesi ile izole edilmiştir. Daha sonra bu *E. coli* O157:H7 şüpheli izolatlara RIM *E.coli* O157 latex test kiti (Oxoid) uygulaması yapılmıştır (Anonymous, 2002).

3.2.5.4. *Salmonella* aranması

Bu amaçla TS 7438 nolu “Mikrobiyoloji-*Salmonella* aranması metodlarında genel kurallar” standardında ve International Standard Organization (ISO) 6579’da tarif edilen yöntem temel alınmıştır (Anonymous, 1996).

25 ml portakal suyu örneğinde *Salmonella*, selektif olmayan besiyerinde ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besiyerine sürme ve tipik kolonilerin biyokimyasal testlerle doğrulanması olan standart var/yok yöntemiyle analiz edilmiştir (Anonymous, 1996; Anonymous, 2003; Halkman, 2005).

Ön zenginleştirmede 25 ml portakal suyu TPS içinde 37°C’de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Seçici zenginleştirme aşamasında; Erlenlerde 100 ml hacminde hazırlanan Selenite cystine broth besiyeri ve tüpte hazırlanan 10 ml Rappaport-Vassiliadis broth besiyerinden yararlanılmıştır. Bu amaçla ön zenginleştirme kültüründen 10 ml Selenite cystine broth besiyerine, 0.1 ml’de Rappaport-Vassiliadis broth besiyerine ekimler yapılmış sırasıyla 37°C’de ve 42°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Seçici izolasyon aşamasında Petri kutusundaki BGPR agar, XLD agar ve Rambach agar besiyerlerine tek koloni düşürme yöntemiyle seçici zenginleştirme kültürlerinden ayrı ayrı ekimler yapılmış ve Petri kutuları 37°C’de 24 saat inkübe edilmişlerdir. Her bir besiyerinden *Salmonella* şüpheli tipik koloniler seçilerek bunların stok kültürleri hazırlanmıştır.

Doğrulama aşamasında ise biyokimyasal ve serolojik testlerden yararlanılmıştır. Biyokimyasal testler için stok kültürlerden tüpteki steril TSI agar, Lysine Iron agar ve Urea agar besiyerlerine ayrı ayrı ekimler gerçekleştirilmiş ve tüpler 37°C’de 24 saat inkübe edilirler. TSI agarda incelenen bakterinin H₂S oluşturma ve glukoz, laktoz ve sakkaroz kullanımı, Lysine Iron agar besiyerinde lizin dekarboksilaz varlığı ve H₂S oluşturma, Urea agarda ise üreaz aktivitesi özellikleri incelenmiştir. *Salmonella* türleri ve serotipleri genelde glukoz pozitif, laktoz ve sakkaroz negatif, lizin dekarboksilaz pozitif, H₂S pozitif ve üre negatif bir bakteridir. Serolojik testler polivalent antiserumlar kullanılarak test edilmiştir.

3.2.5.5. İstatiksel analizler

Mikrobiyolojik analiz sonuçlarından elde edilen veriler varyans analizi ve Duncan's Multiple Range istatistik testi ile değerlendirilmiş ve örneklerdeki mikrobiyal popölasyonu en aza indiren yüzey dekontaminasyon yöntemi belirlenmeye çalışılmıştır. İstatiksel analizlerin uygulanmasında SPSS 12.0 istatistik paket programından yararlanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Piyasadan Sağlanan Şişelenmiş Taze Sıkılmış Portakal Suyu Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesi

Ankara piyasasındaki beş farklı satış noktasından altı farklı dönemde sağlanan 90 adet şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerindeki toplam canlı aerobik mezofilik bakteri, koliform bakteri ve *E. coli* sayıları ile *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığı ve örneklerin pH ölçüm sonuçları satış noktaları dikkate alınarak Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'te ayrı ayrı gösterilmiştir

Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı :

Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı 1. satış noktasında 2.76-4,75 log kob/ml (5.75×10^2 – 5.62×10^4 kob/ml), 2. satış noktasında 2.66-6,71 log kob/ml (4.57×10^2 – 5.13×10^6 kob/ml), 3. satış noktasında 1,30-7,62 log kob/ml (2.00×10^1 – 4.17×10^7 kob/ml), 4. satış noktasında 1,30-6,75 log kob/ml (2.00×10^1 - 5.62×10^6 kob/ml) ve 5. satış noktasında 1,30-5.81 log kob/ml (2.00×10^1 - 6.45×10^5 kob/ml) arasında değişim göstermiştir. En düşük toplam aerobik mezofilik canlı bakteri bakteri sayısı 2.00×10^1 kob/ml ile 3. satış noktasında 3. dönem üçüncü gün, 4. satış noktasında 3. dönem ikinci gün ve 5. satış noktasında 4. dönem ikinci gün; en yüksek toplam aerobik mezofilik canlı bakteri bakteri sayısı 4.17×10^7 kob/ml ile 3. satış noktasında 1. dönem üçüncü gün bulunmuştur.

Birinci günler dikkate alındığında en düşük sayım sonucu 1,84 log kob/ml ile 5. satış noktasında 4. dönemde, en yüksek sayım sonucu ise 5.39 log kob/ml ile 3. satış noktasında 5. dönemde bulunmuştur.

Çizelge 4.1 1. Satış noktalarından altı farklı dönemde alınan portakal suyu örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayıları ile *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı ve örneklerin pH'ları

1. Satış Noktası	Toplam canlı bakteri	Koliform bakteri	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i>	pH
1. Dönem						
1.Gün	2,76	<3	<3	-	-	3,42
1.2.Gün*	3,34	<3	<3	-	-	3,32
1.3.Gün*						
2. Dönem						
2.Gün	3,77	<3	<3	-	-	3,29
3.Gün	3,97	<3	<3	-	-	3,33
1. Satış Noktası						
2. Dönem						
1.Gün	3,41	<3	<3	-	-	3,38
1.2.Gün	3,79	<3	<3	-	-	3,38
1.3.Gün						
2.Gün	3,84	<3	<3	-	-	3,37
3.Gün	4,75	<3	<3	-	-	3,41
1. Satış Noktası						
3. Dönem						
1.Gün	3,43	75	<3	-	-	3,44
1.2.Gün	3,22	7	<3	-	-	3,42
1.3.Gün	3,26	21	<3	-	-	3,44
2.Gün	4,03	750	<3	-	-	3,40
3.Gün	4,10	460	<3	-	-	3,38
1. Satış Noktası						
4. Dönem						
1.Gün	3,56	4	<3	-	-	3,35
1.2.Gün	3,94	<3	<3	-	-	3,40
1.3.Gün	4,40	<3	<3	-	-	3,40
2.Gün	3,64	<3	<3	-	-	3,25
3.Gün	3,81	<3	<3	-	-	3,38
1. Satış Noktası						
5. Dönem						
1.Gün	3,76	<3	<3	-	-	3,28
1.2.Gün	3,97	<3	<3	-	-	3,30
1.3.Gün	4,42	<3	<3	-	-	3,30
2.Gün	3,74	<3	<3	-	-	3,32
3.Gün	3,84	<3	<3	-	-	3,31
1. Satış Noktası						
6. Dönem						
1.Gün	3,06	<3	<3	-	-	3,52
1.2.Gün	3,62	<3	<3	-	-	3,55
1.3.Gün	4,11	<3	<3	-	-	3,55
2.Gün	4,48	<3	<3	-	-	3,53
3.Gün	4,43	<3	<3	-	-	3,47

* Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 2. ve 3 gün sayımları

Çizelge 4.2 2. Satış noktalarından altı farklı dönemde alınan portakal suyu örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayıları ile *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı ve örneklerin pH'ları

2. Satış Noktası	Toplam canlı bakteri	Koliform bakteri	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i>	pH
1. Dönem						
1.Gün	4,04	240	15	-	-	3,35
1.2.Gün*	4,12	9	<3	-	-	3,27
1.3.Gün*						
2. Dönem						
2.Gün	4,03	1100	15	-	-	3,29
3.Gün	4,42	43	9	-	-	3,26
2. Satış Noktası						
2. Dönem						
1.Gün	4,09	93	9	-	-	3,79
1.2.Gün	4,25	93	7	-	-	3,8
1.3.Gün	4,23	23	4	-	-	3,78
2.Gün	4,02	23	9	-	-	3,77
3.Gün	3,67	<3	<3	-	-	3,75
2. Satış Noktası						
3. Dönem						
1.Gün	2,66	93	<3	-	-	3,39
1.2.Gün	3,05	15	<3	-	-	3,34
1.3.Gün	3,24	<3	<3	-	-	3,36
2.Gün	2,79	<3	<3	-	-	3,33
3.Gün	2,67	<3	<3	-	-	3,36
2. Satış Noktası						
4. Dönem						
1.Gün	3,14	240	15	-	-	3,42
1.2.Gün	3,18	93	<3	-	-	3,42
1.3.Gün	3,08	7	<3	-	-	3,4
2.Gün	2,97	93	<3	-	-	3,46
3.Gün	3,06	<3	<3	-	-	3,5
2. Satış Noktası						
5. Dönem						
1.Gün	4,73	<3	<3	-	-	3,35
1.2.Gün	5,01	<3	<3	-	-	3,35
1.3.Gün	6,71	<3	<3	-	-	3,33
2.Gün	4,84	<3	<3	-	-	3,36
3.Gün	4,08	<3	<3	-	-	3,34
2. Satış Noktası						
6. Analiz						
1.Gün	4,62	4	<3	-	-	3,29
1.2.Gün	4,79	<3	<3	-	-	3,32
1.3.Gün	6,17	<3	<3	-	-	3,37
2.Gün	6,49	<3	<3	-	-	3,45
3.Gün	5,68	<3	<3	-	-	3,38

* Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 2. ve 3 gün sayımları

Çizelge 4.3 3. Satış noktalarından altı farklı dönemde alınan portakal suyu örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayıları ile *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı ve örneklerin pH'ları

3. Satış Noktası	Toplam canlı bakteri	Koliform bakteri	<i>E.coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i>	pH
1. Dönem						
1.Gün	4,98	<3	<3	-	-	3,28
1.2.Gün*	5,31	<3	<3	-	-	3,29
1.3.Gün*						
2.Gün	7,32	4	<3	-	-	3,35
3.Gün	7,62	4	<3	-	-	3,33
3. Satış Noktası						
2. Dönem						
1.Gün	4,32	<3	<3	-	-	3,58
1.2.Gün	4,56	<3	<3	-	-	3,61
1.3.Gün						
2.Gün	4,94	<3	<3	-	-	3,43
3.Gün	5,29	<3	<3	-	-	3,42
3. Satış Noktası						
3. Dönem						
1.Gün	4,14	<3	<3	-	-	3,35
1.2.Gün	4,59	<3	<3	-	-	3,31
1.3.Gün	5,51	<3	<3	-	-	3,39
2.Gün	4,43	<3	<3	-	-	3,28
3.Gün	4,87	<3	<3	-	-	3,41
3. Satış Noktası						
4. Dönem						
1.Gün	4,99	<3	<3	-	-	3,36
1.2.Gün	4,88	<3	<3	-	-	3,35
1.3.Gün	3,74	<3	<3	-	-	3,35
2.Gün	2,92	<3	<3	-	-	3,32
3.Gün	1,3	<3	<3	-	-	3,41
3. Satış Noktası						
5. Dönem						
1.Gün	5,39	4600	<3	-	-	3,69
1.2.Gün	5,52	11000	<3	-	-	3,72
1.3.Gün	5,41	9300	<3	-	-	3,74
2.Gün	5,18	11000	<3	-	-	3,76
3.Gün	4,21	11000	<3	-	-	3,75
3. Satış Noktası						
6. Dönem						
1.Gün	5,26	46000	<3	-	-	3,59
1.2.Gün	5,13	11000	<3	-	-	3,55
1.3.Gün	5,08	4300	<3	-	-	3,6
2.Gün	5,39	93	<3	-	-	3,66
3.Gün	5,17	460	<3	-	-	3,52

* Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 2. ve 3 gün sayımları

Çizelge 4.4 4. Satış noktalarından altı farklı dönemde alınan portakal suyu örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayıları ile *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı ve örneklerin pH'ları

4. Satış Noktası	Toplam canlı bakteri	Koliform bakteri	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i>	pH
1. Dönem						
1.Gün	4,41	7	4	-	-	3,34
1.2.Gün*	4,93	<3	<3	-	-	3,37
1.3.Gün*						
2.Gün	4,57	4	<3	-	-	3,35
3.Gün	4,43	4	<3	-	-	3,4
4. Satış Noktası						
2. Dönem						
1.Gün	4,89	7	<3	-	-	3,62
1.2.Gün	4,97	15	<3	-	-	3,67
1.3.Gün	5,18	7	<3	-	-	3,6
2.Gün	4,74	9	<3	-	-	3,62
3.Gün	4,79	7	<3	-	-	3,55
4. Satış Noktası						
3. Dönem						
1.Gün	2,69	<3	<3	-	-	3,32
1.2.Gün	2,56	<3	<3	-	-	3,43
1.3.Gün	3,79	<3	<3	-	-	3,43
2.Gün	1,3	<3	<3	-	-	3,39
3.Gün	3,24	<3	<3	-	-	3,57
4. Satış Noktası						
4. Dönem						
1.Gün	2,23	<3	<3	-	-	3,3
1.2.Gün	2,28	<3	<3	-	-	3,32
1.3.Gün	2,11	<3	<3	-	-	3,27
2.Gün	2,97	<3	<3	-	-	3,35
3.Gün	2,36	<3	<3	-	-	3,27
4. Satış Noktası						
5. Dönem						
1.Gün	3,53	<3	<3	-	-	3,57
1.2.Gün	3,93	<3	<3	-	-	3,56
1.3.Gün	4,49	<3	<3	-	-	3,57
2.Gün	4,14	9	<3	-	-	3,51
3.Gün	4,03	<3	<3	-	-	3,54
4. Satış Noktası						
6. Dönem						
1.Gün	5,09	11000	<3	-	-	3,44
1.2.Gün	5,25	4600	<3	-	-	3,4
1.3.Gün	6,75	1100	<3	-	-	3,46
2.Gün	5,68	460	<3	-	-	3,38
3.Gün	5,39	11000	<3	-	-	3,39

* Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 2. ve 3 gün sayımları

Çizelge 4.5 5. Satış noktalarından altı farklı dönemde alınan portakal suyu örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayıları ile *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı ve örneklerin pH'ları

5. Satış Noktası	Toplam canlı bakteri	Koliform bakteri	<i>E.coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i>	pH
1. Dönem						
1.Gün	4,28	<3	<3	-	-	3,39
1.2.Gün*	5,41	<3	<3	-	-	3,36
1.3.Gün*						
2.Gün	5,09	<3	<3	-	-	3,35
3.Gün	5,49	<3	<3	-	-	3,4
5. Satış Noktası						
2. Dönem						
1.Gün	4,31	2400	11	-	-	3,4
1.2.Gün	4,2	43	9	-	-	3,38
1.3.Gün	4,26	7	<3	-	-	3,38
2.Gün	4,18	23	<3	-	-	3,36
3.Gün	4,12	7	<3	-	-	3,37
5. Satış Noktası						
3. Dönem						
1.Gün	2,04	<3	<3	-	-	3,51
1.2.Gün	2,07	<3	<3	-	-	3,5
1.3.Gün	1,95	<3	<3	-	-	3,48
2.Gün	1,95	<3	<3	-	-	3,44
3.Gün	1,95	<3	<3	-	-	3,48
5. Satış Noktası						
4. Dönem						
1.Gün	1,84	<3	<3	-	-	3,22
1.2.Gün	2,41	<3	<3	-	-	3,24
1.3.Gün	2,23	<3	<3	-	-	3,24
2.Gün	1,3	<3	<3	-	-	3,2
3.Gün	1,63	<3	<3	-	-	3,26
5. Satış Noktası						
5. Dönem						
1.Gün	4,04	930	<3	-	-	3,41
1.2.Gü	4,06	430	<3	-	-	3,4
1.3.Gün	4,21	930	<3	-	-	3,41
2.Gün	4,64	430	<3	-	-	3,38
3.Gün	4,39	210	<3	-	-	3,4
5. Satış Noktası						
6. Dönem						
1.Gün	4,53	<3	<3	-	-	3,44
1.2.Gün	5,2	<3	<3	-	-	3,44
1.3.Gün	5,81	<3	<3	-	-	3,46
2.Gün	5,1	<3	<3	-	-	3,5
3.Gün	4,74	4	<3	-	-	3,57

* Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 2. ve 3 gün sayımları

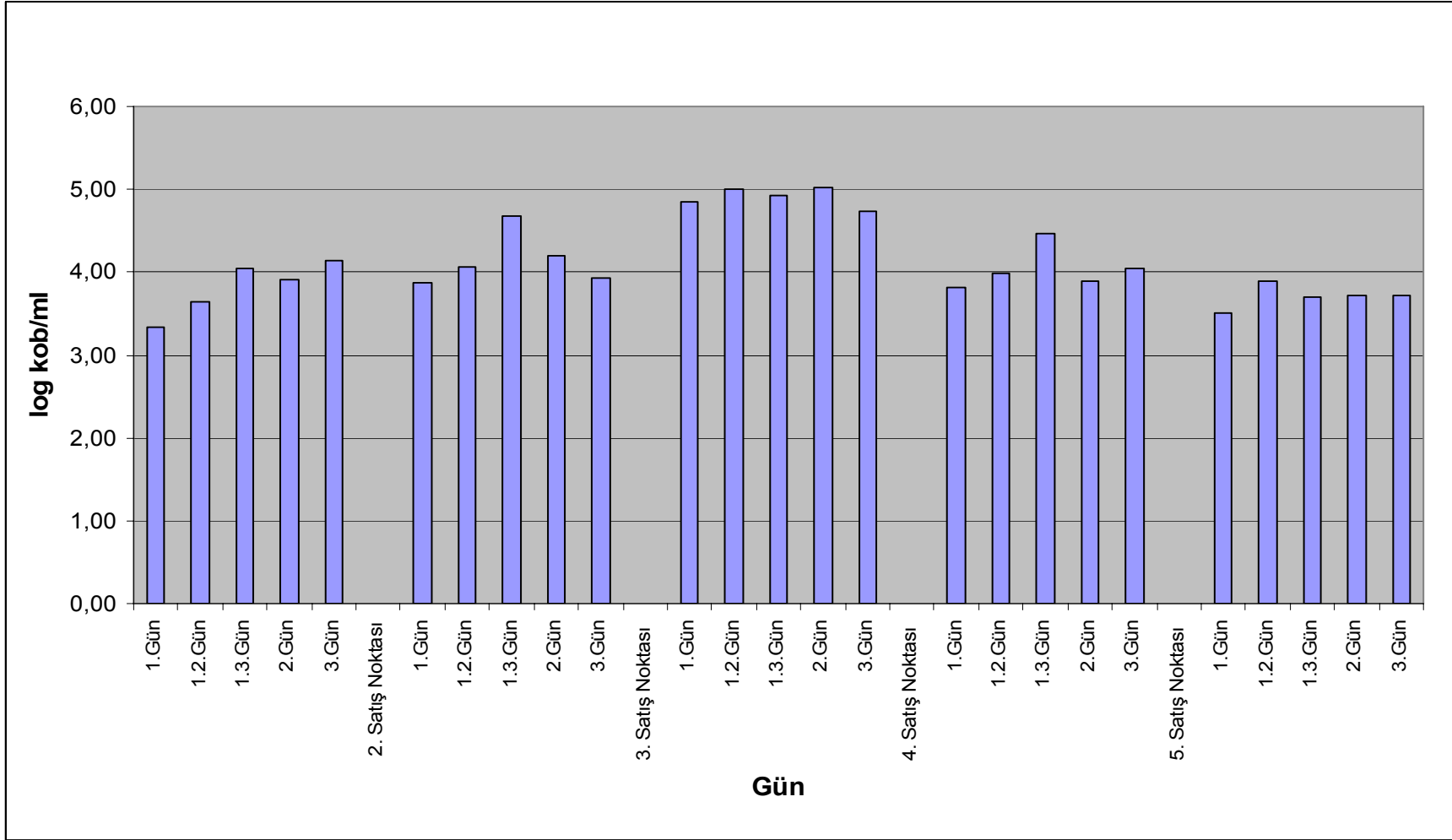
Fellers (1988) şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyunun raf ömrü ve kalitesini incelediği çalışmasında örneklerdeki ortalama başlangıç toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısını 1.7×10^3 - 1.9×10^5 kob/ml arasında bulmuştur. Bu sonuçlar bizim gerçekleştirdiğimiz çalışmada bulunan 3.33-4.85 log kob/ml ($2,1 \times 10^3$ - $7,1 \times 10^4$ kob/ml) sayıları ile uyum içerisindedir (Çizelge 4.6).

Bölüm 3.2.1'de değinildiği gibi örnek alımı her bir satış noktasından farklı dönemlerde olmak üzere 6 kez tekrarlanmıştır. Beş satış noktası ayrı ayrı ele alınıp bir değerlendirme yapılmış ve her bir satış noktasından farklı dönemlerde alınarak incelenen portakal suyu örneklerinin tümünde depolama boyunca belirlenen toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayılarına ait dönemler arası ortalama değerler Çizelge 4.6'da ve Şekil 1'de verilmiştir. Bu çizelge ve şekilden de görülebileceği gibi en düşük ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı 2.1×10^3 kob/ml (3.32 log kob/ml) ile 1. satış noktasında 1. gün, en yüksek ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı 1.1×10^5 kob/ml (5.03 log kob/ml) ile 3. satış noktasında 2. gün bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Satış noktalarından altı farklı dönemde alınan örneklerin tümünde depolama günlerindeki dönemler arası ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform bakteri (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayıları ile örneklerin pH'ları

1. Satış Noktası	Toplam canlı bakteri	Koliform bakteri	<i>E. coli</i>	pH
1.Gün	3,32	13	<3	3,40
1.2.Gün*	3,65	1	<3	3,40
1.3.Gün*	4,05	4	<3	3,42
2.Gün	3,92	125	<3	3,36
3.Gün	4,15	77	<3	3,38
2. Satış Noktası				
1.Gün	3,88	112	13	3,43
1.2.Gün	4,07	35	7	3,42
1.3.Gün	4,69	5	4	3,45
2.Gün	4,19	199	12	3,44
3.Gün	3,93	7	9	3,43
3. Satış Noktası				
1.Gün	4,85	8433	<3	3,48
1.2.Gün	5,00	3667	<3	3,47
1.3.Gün	4,94	3400	<3	3,52
2.Gün	5,03	1850	<3	3,47
3.Gün	4,74	1911	<3	3,47
4. Satış Noktası				
1.Gün	3,81	1836	<3	3,43
1.2.Gün	3,99	769	<3	3,46
1.3.Gün	4,46	185	<3	3,47
2.Gün	3,90	80	<3	3,43
3.Gün	4,04	1835	<3	3,45
5. Satış Noktası				
1.Gün	3,51	555	11	3,40
1.2.Gün	3,89	187	9	3,39
1.3.Gün	3,69	80	<3	3,39
2.Gün	3,71	76	<3	3,37
3.Gün	3,72	37	<3	3,41

* Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 2. ve 3 gün sayımları



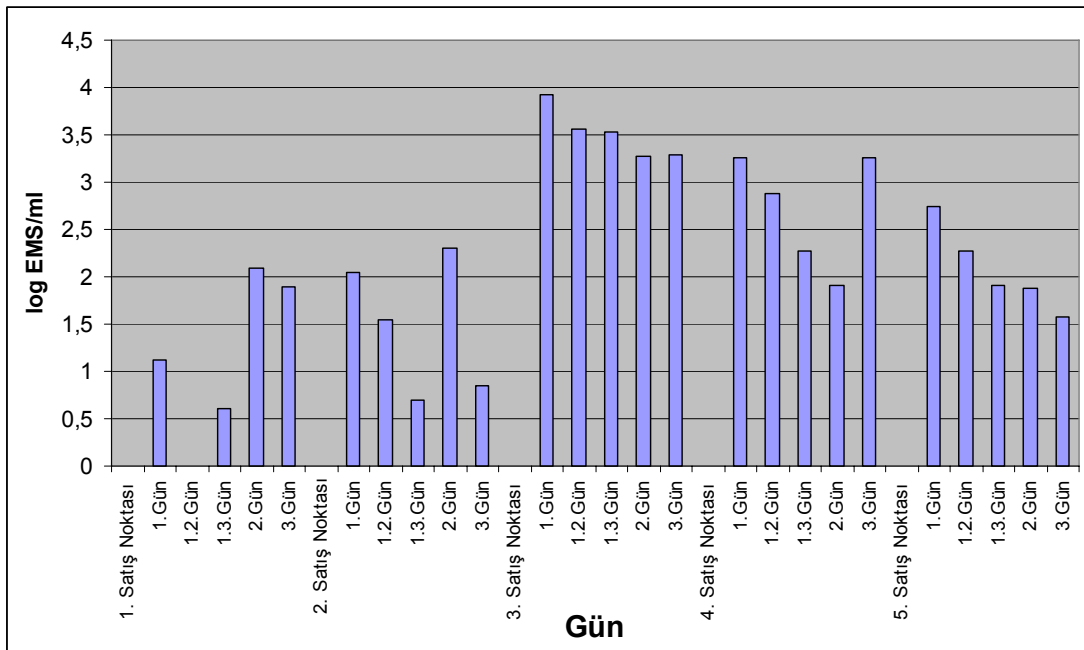
Şekil 4.1. Depolama süresince örneklerdeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri ortalama sayısı

Koliform bakteri sayısı:

Örneklerdeki koliform bakteri sayısı 1. satış noktasında <3-750 MPN/ml, 2. satış noktasında <3.00-1100 MPN/ml, 3. satış noktasında <3-46000 MPN/ml, 4. satış noktasında <3.00-11000 MPN/ml ve 5. satış noktasında <3-2400 MPN/ml arasında değişmiştir (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5).

En düşük koliform bakteri sayısı <3 EMS/ml ile 1., 2., 3., 4. ve 5. satış noktalarında, en yüksek koliform bakteri sayısı 46000 EMS/ml ile 3. satış noktasında 6. dönem birinci gün bulunmuştur.

Beş satış noktası ayrı ayrı ele alınıp bir değerlendirme yapılmış ve her bir satış noktasından farklı dönemlerde alınarak incelenen portakal suyu örneklerinin tümünde depolama boyunca belirlenen koliform bakteri sayılarına ait dönemler arası ortalama değerler Çizelge 4.6'da ve Şekil 4.2'de verilmiştir (Şekil 4.2'deki değerler gösterim kolaylığı açısından log EMS/ml olarak verilmiştir). Çizelge 4.6'dan da görülebileceği gibi en düşük ortalama koliform bakteri sayısı 1 EMS/ml ile 1. satış noktasında 1.2. gün, en yüksek ortalama koliform bakteri sayısı 8433 EMS/ml ile 3. satış noktasında 1. gün bulunmuştur.



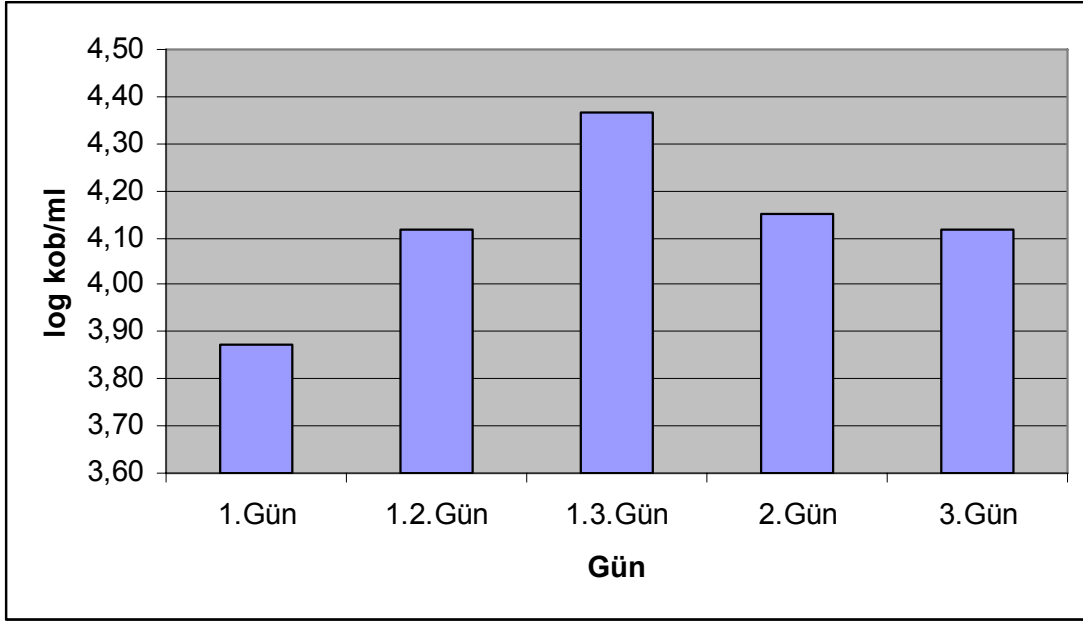
Şekil 4.2. Depolama süresince örneklerdeki toplam koliform bakteri ortalama sayısı

Taze sıkılmış portakal suyunda depolama ile koliform sayısında düşüş meydana gelmiştir. Günler arası fark değerlendirildiğinde ise 1.3 gün ile diğer günler arası fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Çizelge 4.6'dan da takip edilebileceği gibi depolamanın 1.3. gününde (Birinci gün kapağı açılıp kapanan örneğe ait 3 gün sayımı) koliform bakteri sayıları 1. ve 1.2. güne göre düşüşler göstermektedir. Buna göre de portakal suyu şişesinin kapağının açılması özellikle depolamanın 3. gününde koliform bakterileri olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmaktadır.

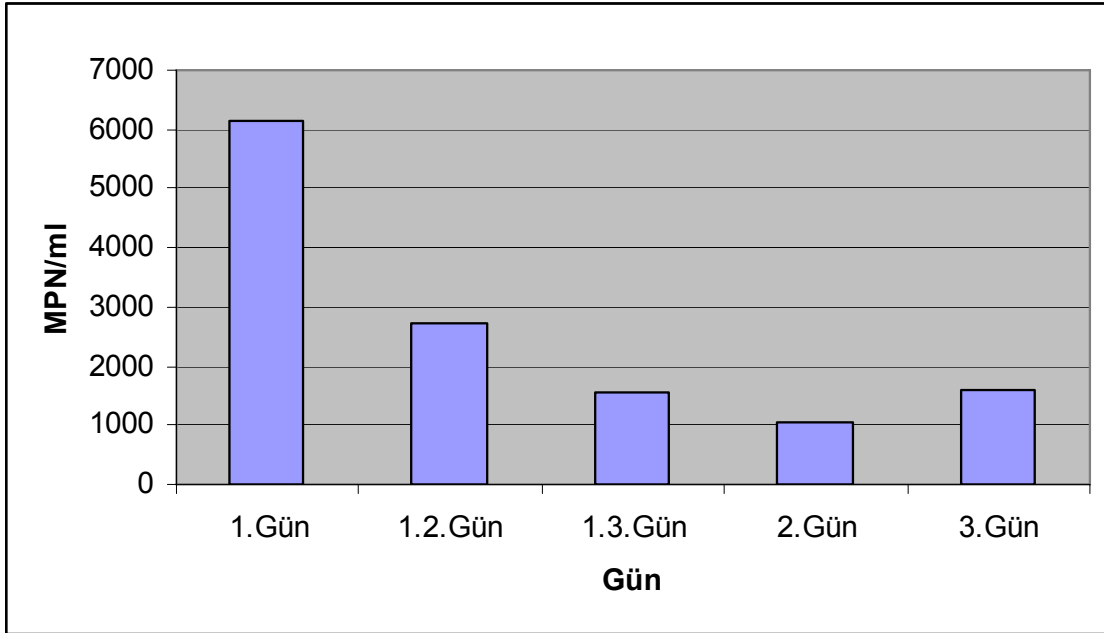
Ankarada'ki beş farklı satış noktasından altı farklı dönemde alınarak incelenen 90 adet portakal suyu örneğinin tümü bir bütün halinde ele alınıp bir değerlendirme yapılmış ve örneklerin tümünde depolama boyunca belirlenen toplam aerobik mezofilik canlı bakteri ($\log \text{ kob/ml}$) ve koliform (EMS/ml) sayılarına ait ortalama değerler Çizelge 4. 7'de verilmiştir. Depolama süresince toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısının arttığı gözlemlenmiş ve incelenen örneklerdeki ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısının başlangıç sayısına göre 2. gün 0.25 $\log \text{ kob/ml}$, üçüncü gün ise 0.49 $\log \text{ kob/ml}$ arttığı bulunmuştur. Ortalama koliform sayısı ise 1. gün 6158 EMS/ml, 2. gün 2720 EMS/ml, 3. gün 1571 EMS/ml olarak bulunmuştur. Koliform bakteri sayısının depolama süresi boyunca azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3 ve 4.4).

Çizelge 4.7. Beş farklı satış noktasından altı farklı dönemde alınarak incelenen tüm portakal suyu örneklerinde depolama boyunca belirlenen toplam aerobik mezofilik canlı bakteri ($\log \text{ kob/ml}$) ve koliform bakteri (EMS/ml) sayılarının ortalamaları

	Toplam canlı	Koliform
1.Gün	3,87	6158
1.2.Gün	4,12	2720
1.3.Gün	4,36	1572
2.Gün	4,15	1040
3.Gün	4,12	1614



Şekil 4.3. Depolama süresince örneklerdeki ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı



Şekil 4.4. Depolama süresince örneklerdeki ortalama koliform bakteri sayısı

Depolama günlerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml) sayıları arasında fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Aynı şekilde

koliform bakteri sayıları arasında da bu yönde istatistiksel açıdan önemli fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Fellers (1988) şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyunun raf ömrü ve kalitesini incelediği çalışmasında 4.4 °C ve daha düşük sıcaklıklarda depolama koşullarında portakal suyundaki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısının 2 hafta depolama süresince azaldığını göstermiştir (Çizelge 2.1). Bu araştırmada depolamanın 1. ve 2. hafta sonlarında sayım sonuçları takip edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise depolamanın 1., 2. ve 3. günleri dikkate alınmıştır. Çalışmamızda 3 günlük depolama sonucunda toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısında bir yükselme gözlemlenmesine rağmen daha uzun depolama süresince çalışılmadığından, bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla Fellers (1988)'in elde ettiği sonuçların tam bir karşılaştırmasını yapmak mümkün olamamıştır.

E. coli sayısı:

Ankara piyasasındaki beş satış noktasından farklı dönemlerde alınan toplam 90 adet şişelenmiş portakal suyu örneğinden sadece 2. satış noktasında 1.,3. ve 4. örnek alma dönemlerinde, 4. satış noktasında 1. dönemde ve 5. satış noktası 2. dönemde olmak üzere 8 adet portakal suyu örneğinde *E. coli* varlığına rastlanabilmiştir. (Çizelge 4.1,4.2, 4.3, 4.4, 4.5). Tespit edilen en yüksek *E. coli* sayısı 15 EMS/ml'dir ve bu örnek 2. satış noktasında 1. döneme aittir.

Salmonella ve *E. coli* O157:H7 varlığı:

Çalışmada spesifik izolasyon besiyerlerinden 12 adet *E. coli* O157:H7 ve 21 adet *Salmonella* şüpheli koloni izole edilmiş ve bu kolonilerden elde edilen saf kültürlerle biyokimyasal ve serolojik testler uygulanmıştır. *E. coli* O157:H7 veya *Salmonella* şüpheli izolatların tümünde de bu testlerle negatif sonuç alınmıştır. Buna göre de Ankara piyasasındaki beş satış noktasından farklı dönemlerde alınan toplam 90 adet şişelenmiş portakal suyu örneğinin hiçbirisinde *E.coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığına rastlanamamıştır.

Souza ve ark., (2004) şişelenmiş taze sıkılmış portakal suyu stabilitesini inceledikleri bir çalışmada portakal suyu örneklerinde fekal koliform ve *Salmonella* varlığını rastlamadıklarına değinmektedirler.

İncelenen örneklerin pH'sı:

İncelenen portakal suyu örneklerinin pH'sı 3.27 ile 3.80 arasında değişmektedir. Portakal suyu pH'sı 3.30-4.19 olarak belirtilmektedir (Anonymous, 2005c). Buna göre de portakal sularına ait pH sonuçları belirtilen bu değerlerle uyum içinde görülmektedir.

4.2. Portakalların Yüzey Dekontaminasyonu

Deneme gününde Ankara Toptancı Hali ile Ankara'daki çeşitli süpermarketler ve semt pazarlarındaki satış noktalarından 75'er adet meyve suyuna işlenecek portakal örnekleri biri kontrol grubu olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu dışında kalan gruplara ayrı ayrı çeşme suyu ile yıkama, klor çözeltisi ile yıkama, H₂O₂ çözeltisi ile yıkama ve kaynar suya daldırma şeklinde yüzey dekontaminasyon işlemleri uygulanmıştır. Dekontaminasyon işlemleri sonrasında örnekler ekstrakte edilerek portakal suları elde edilmiş ve bu örneklerde mikrobiyolojik analizler (toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı, koliform bakteri sayımı, *E. coli* sayımı, *Salmonella* aranması ve *E. coli* O157:H7 aranması) yapılmıştır. Portakalların yüzey dekontaminasyonu çalışmaları 6 kez tekrarlanmış ve mikrobiyolojik analiz sonuçları ile örneklerin pH değerleri Çizelge 4.8'de topluca verilmiştir.

Çizelge 4.8. Yüzey dekontaminasyon işlemleri uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/ml), koliform (EMS/ml) ve *E. coli* (EMS/ml) sayım sonuçları; *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı sonuçları; örneklerin pH'ları

Ekstraksiyon Denemeleri	Kontrol	Çeşme suyu ile yıkama	Kaynar suya daldırma	Klor çözeltisi (200ppm) ile yıkama	H ₂ O ₂ çözeltisi (%5) ile yıkama	pH
1. Ekstraksiyon						
Toplam Canlı Bakteri	2,47 ^a	2 ^a	1,24 ^b	1,6 ^b	0,78 ^b	3,32
Koliform Bakteri	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i>	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	
2. Ekstraksiyon						
Toplam Canlı Bakteri	2,26 ^a	2,11 ^a	1,3 ^b	1,38 ^b	0,9 ^b	3,41
Koliform Bakteri	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i>	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	
3. Ekstraksiyon						
Toplam Canlı Bakteri	2,08 ^a	2 ^a	N ^b	0,48 ^b	N ^b	3,36
Koliform Bakteri	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i>	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	
4. Ekstraksiyon						
Toplam Canlı Bakteri	2,00 ^a	1,84 ^a	1,47 ^b	N ^b	N ^b	3,56
Koliform Bakteri	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i>	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	
5. Ekstraksiyon						
Toplam Canlı Bakteri	2,46 ^a	2,23 ^a	1,9 ^b	1,3 ^b	1,3 ^b	3,44
Koliform Bakteri	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i>	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	
6. Ekstraksiyon						
Toplam Canlı Bakteri	1,90 ^a	1,85 ^a	N ^b	0,7 ^b	N ^b	3,36
Koliform Bakteri	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i>	<3	<3	<3	<3	<3	
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-	-	-	-	
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	
Toplam Canlı Bakteri (Ortalama)	2,20	2,01	1,30	0,94	0,99	3,41

*Aynı harflerle gösterilen değerler arasında Duncan testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.

*N; Uygulanan dökme plak yöntemiyle sayım sonucu alınamayan örnekler

Kontrol grubu portakallardan (yüzey dekontaminasyonu uygulanmamış) elde edilen portakal suyu örneklerinde toplam mezofilik aerobik canlı bakteri sayısı 1,90-2,47 log kob/ml (2.95×10^2 - 7.9×10^1 kob/ml) arasında değişim göstermiştir.

Pao ve Brown (1998) portakal ve mandalinaların hasat sonrası paketleme işlemlerinde mikroorganizma sayısında meydana gelen azalmayı incelemişler ve tüm proses hattı boyunca alınan meyve örnekleri ile meyve sularında *Salmonella*, proses sonrası alınan meyve sularında ise *E. coli* varlığı tespit edememişlerdir.

Elde edilen portakal suyu örneklerinin pH'sı 3.32-3.56 arasında bulunmuştur. Bu değerler portakal suları için belirtilen normal sınırlar içinde kalmaktadır. Portakal suyu pH'sı 3.30-4.19 olarak belirtilmektedir (Anonymous, 2005c). Portakal sularındaki mikrobiyal yükün düşüklüğünün belli ölçüde bu ürünlerdeki pH düşüklüğünden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

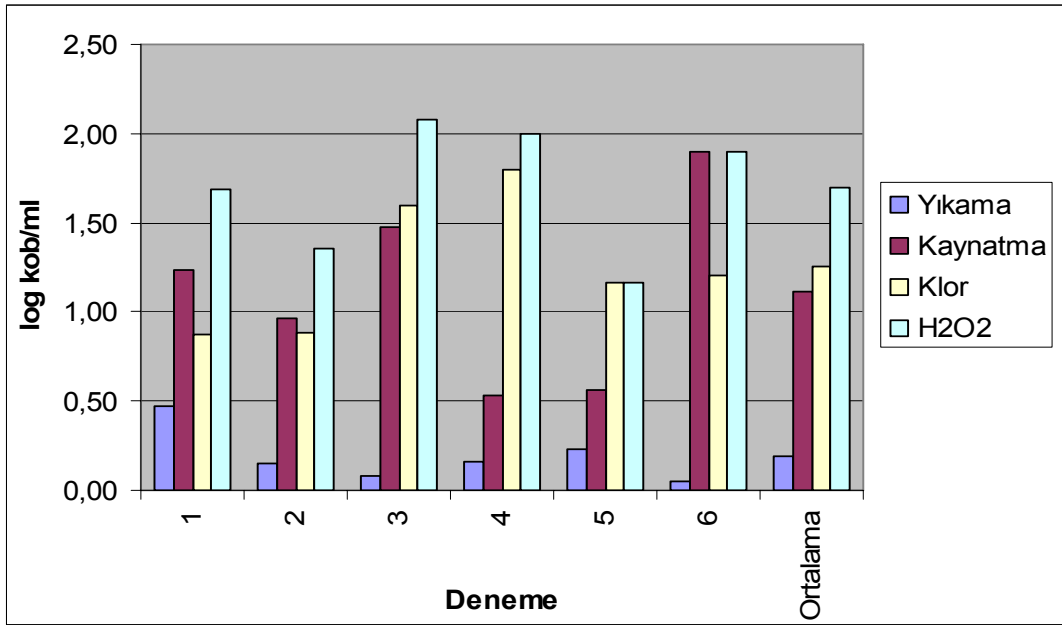
Örneklere koliform bakteri, *E. coli*, *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığı tespit edilememesi nedeniyle, uygulanan dekontaminasyon işlemlerinin etkinliği ancak toplam mezofilik aerobik canlı bakteri sayısı üzerinden değerlendirilebilmiştir.

Yüzey dekontaminasyon işlemleri sonucunda toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki kontrol örneğine göre logaritmik azalma oranları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Bu çizelge ve şekilden de takip edilebileceği gibi uygulanan dekontaminasyon işlemlerinde en etkili yöntemin H₂O₂ çözeltisi ile yıkama olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla klor çözeltisi ile yıkama, kaynar suya daldırma ve çeşme suyu ile yıkama işlemleri takip etmektedir. Ortalama değerler üzerinden bir değerlendirme yapıldığında; mezofilik aerobik canlı bakteri sayısında kontrol grubuna göre H₂O₂ çözeltisi ile yıkamada 1.70 log kob/ml, klor çözeltisi ile yıkamada 1.25 log kob/ml, kaynar suya daldırmada 1.11 log kob/ml ve çeşme suyu ile yıkamada 0.19 log kob/ml oranlarında azalmalar meydana getirdiği görülmektedir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.4).

Çizelge 4.9. Yüzey dekontaminasyon işlemleri sonucunda portakal sularındaki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki logaritmik azalmalar

Deneme	Çeşme suyu ile yıkama	Kaynar suya daldırma	Klor çözeltisi (200ppm) ile yıkama	H ₂ O ₂ çözeltisi (%5) ile yıkama
1	0,47 ^a	1,23 ^b	0,87 ^{bc}	1,69 ^c
2	0,15 ^a	0,96 ^b	0,88 ^{bc}	1,36 ^c
3	0,08 ^a	1,48 ^b	1,60 ^{bc}	2,08 ^c
4	0,16 ^a	0,53 ^b	1,80 ^{bc}	2,00 ^c
5	0,23 ^a	0,56 ^b	1,16 ^{bc}	1,16 ^c
6	0,05 ^a	1,90 ^b	1,20 ^{bc}	1,90 ^c
Ortalama	0,19	1,11	1,25	1,70

*Aynı harflerle gösterilen değerler arasında Duncan testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.



Şekil 4.5. Yüzey dekontaminasyon işlemleri sonucunda kontrol grubuna göre toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki logaritmik azalma miktarları

Dekontaminasyon tekniklerinin etkinliği istatistiksel yönden değerlendirildiğinde;

Kaynar suya daldırma yöntemiyle H₂O₂ çözeltisiyle yıkama ve çeşme suyuyla yıkama arasındaki farklar önemli ($p < 0.05$), kaynar suya daldırma yöntemiyle klor çözeltisiyle yıkama arasındaki fark ise önemsizdir ($p > 0.05$). H₂O₂ çözeltisiyle yıkamayla kaynar suya daldırma ve çeşme suyuyla yıkama arasındaki farklar

önemli ($p < 0.05$), H_2O_2 çözeltisiyle yıkamayla klor çözeltisiyle yıkama arasındaki fark ise önemsizdir ($p > 0.05$). Bu sonuçlara göre de aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmayan H_2O_2 çözeltisiyle yıkama ve klor çözeltisiyle yıkama en iyi yüzey dekontaminasyon yöntemleri olarak görülmektedir.

FDA'nın hazırladığı tüzük gereğince üreticilerin taze meyve sularında halk sağlığı açısından önemli olan en dirençli mikroorganizma sayısında 5 log düzeyinde bir azalma sağlamaları gerekmektedir (Anonymous, 1998). Bu çalışmada kontrol grubunda (ve diğer gruplarda) incelenen portakal suyu örneklerinde *E. coli*, *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* varlığına rastlanmadığı için, çalışma sonuçlarını FDA'nın yukarıda anılan direktifi yönünden değerlendirmek mümkün olamamıştır. Bu direktifi toplam mezofilik aerobik canlı mikroorganizma sayısı yönünden değerlendirmek de mümkün olmamıştır. Çünkü bu çalışmada kontrol gruplarındaki en yüksek toplam mezofilik aerobik canlı mikroorganizma sayısı 2.47 log kob/ml'dir ve değer üzerinden 5 log birimlik azalmayı belirlemek mümkün değildir. Diğer taraftan, Çizelge 4.8'de den de takip edilebileceği gibi; 3., 4. ve 6. denemelerde bazı yüzey dekontaminasyon işlemlerinde belirli sayım sonuçlarına da ulaşılamamıştır ve bu sonuçlar N şeklinde gösterilmiştir.

Bu sebeplerden dolayı çalışmaya ayrı bir deneme dahil edilmiş ve portakallar *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilerek yüzey dekontaminasyon işlemlerinin etkinliği ve bu işlemlerin FDA'nın direktiflerine uygun sonuçlar verip vermediği belirlenmeye çalışılmıştır.

4.3. *E. coli* ATCC 25922 Kültürü İnoküle Edilmiş Portakalların Yüzey Dekontaminasyonu

Portakal suyunun bakteri canlılığı üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada kullanılan *E. coli* test kültürüne portakal suyu ortamının etkisi 15 dakika süresince incelenmiş ve *E. coli* sayısında bu süre boyunca değişme olmadığı dolayısı ile de bu bakterinin portakal suyu pH'sına dirençli olduğu sonucuna varılmıştır (Pao et al., 2001). Bu nedenlerle bu çalışmada da inokülasyon işlemi için bazı araştırmacıların portakalların yüzey dekontaminasyonu çalışmalarında da test ettikleri *E. coli* ATCC 25922 kültürü kullanılmıştır (Davis and Pao, 1999; Pao et al., 2000; Pao et al., 2001).

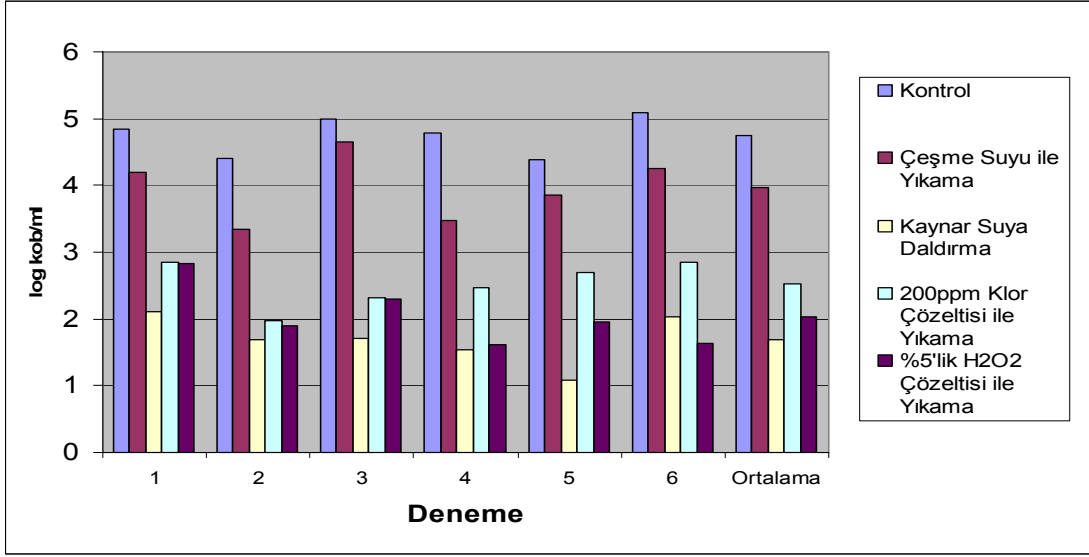
E. coli ATCC 25922 kültürü inoküle edilmiş portakalların yüzey dekontaminasyonu çalışmaları Bölüm 3.1’de anlatıldığı şekilde 6 kez tekrarlanmıştır. Yüzey dekontaminasyon işlemleri uygulanmış portakallardan elde edilen portakal sularındaki *E. coli* ATCC 25922 sayıları ile örneklerin pH değerleri Çizelge 4.10’da topluca verilmiştir.

E. coli ATCC 25922 ile inoküle edilmiş portakallardan elde edilen kontrol portakal suyu örneklerindeki *E. coli* sayısı 4.39-5.08 log kob/ml arasında değişmekte olup denemeler arası ortalama *E. coli* sayısı 4.75 log kob/ml’dir. Kontrol örneklerindeki *E. coli* sayısının uygulanan yüzey dekontaminasyon işlemlerinin etkinliğini tespit etmek için uygun düzeyde olduğu görülmektedir. Uygulanan yüzey dekontaminasyon işlemleri sonucu bulunan ortalama *E. coli* sayısı; kaynar suya daldırmada 1.69 log kob/ml, % 5’lik H₂O₂ çözeltisi ile yıkamada 2.04 log kob/ml, 200 ppm klor çözeltisi ile yıkamada 2.53 log kob/ml ve çeşme suyu ile yıkamada 3.96 log kob/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.10, Şekil 4.6).

Çizelge 4.10. *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilmiş portakallara uygulanan yüzey dekontaminasyon işlemlerinin portakal suyundaki *E. coli* ATCC 25922 sayısına (log kob/ml) etkisi ve örneklerin pH değerleri

Deneme (Yüzey yıkama)	Kontrol	Çeşme suyu ile yıkama	Kaynar suya daldırma	Klor çözeltisi ile yıkama (200ppm)	H ₂ O ₂ çözeltisi ile yıkama (%5)	pH
1	4,85 ^a	4,19 ^b	2,1 ^c	2,85 ^d	2,83 ^c	3,32
2	4,41 ^a	3,34 ^b	1,69 ^c	1,98 ^d	1,90 ^c	3,41
3	5,00 ^a	4,65 ^b	1,71 ^c	2,32 ^d	2,29 ^c	3,51
4	4,79 ^a	3,48 ^b	1,54 ^c	2,46 ^d	1,62 ^c	3,39
5	4,39 ^a	3,85 ^b	1,08 ^c	2,69 ^d	1,96 ^c	3,42
6	5,08 ^a	4,25 ^b	2,03 ^c	2,85 ^d	1,64 ^c	3,38
Ortalama	4,75	3,96	1,69 ^c	2,53	2,04 ^c	3,41

*Aynı harflerle gösterilen değerler arasında Duncan testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.

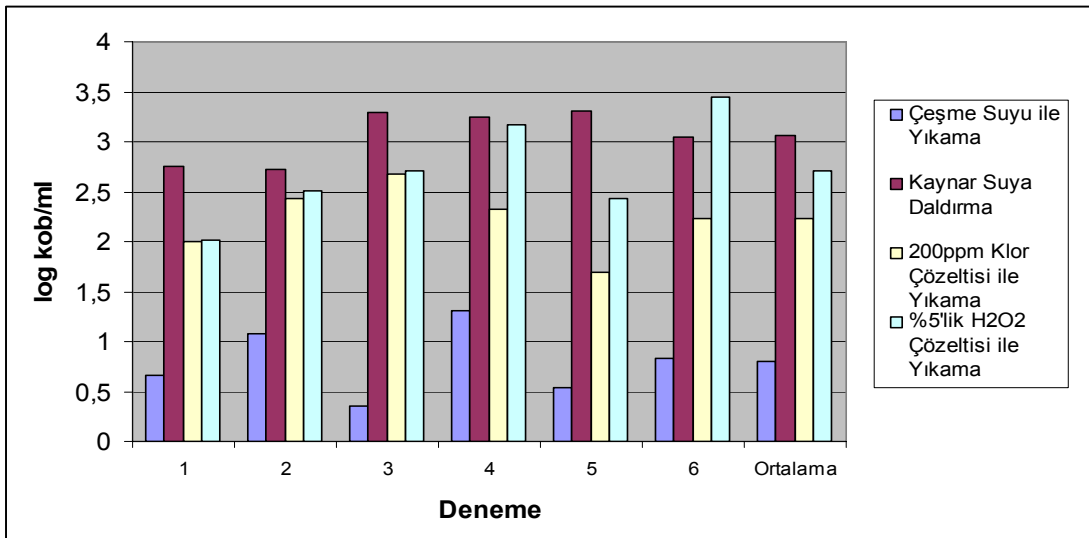


Şekil 4.6.. *E. coli* ATCC 25922 inoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu örneklerindeki *E. coli* ATCC 25922 sayısı

İncelenen örneklerde *E. coli* sayısındaki kontrol grubuna göre azalmalar;

“kontrol grubundaki log *E. coli* sayısı - uygulanan dekontaminasyon yöntemi sonucunda elde edilen log *E. coli* sayısı “

şeklinde hesaplanmış ve bulunan değerler Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. İnoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu örneklerinde *E. coli* sayısındaki kontrol grubuna göre azalmalar.

En yüksek dekontaminasyon etkisi 3.06 log kob/ml azalma ile kaynar suya daldırma yöntemi ile elde edilmiştir. Bunu sırasıyla 2.71 log kob/ml ile % 5'lik H₂O₂ çözültisi ile yıkama, 2.23 log kob/ml ile 200ppm klor çözültisi ile yıkama ve 0.79 log kob/ml ile çeşme suyu ile yıkama yöntemleri takip etmektedir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.7).

Uygulanan istatistiksel analiz sonucunda kaynar suya daldırma ile H₂O₂ çözültisi ile yıkama yöntemleri arasındaki farkın önemsiz olduğu bulunmuştur ($p>0.05$). Diğer gruplar arası farklar ise istatistiksel açıdan önemli çıkmıştır. Bu sonuçlara göre de aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmayan kaynar suya daldırma ve H₂O₂ çözültisiyle yıkama yöntemleri en iyi yüzey dekontaminasyon yöntemleri olarak görülmektedir. Bu da portakalların yüzey dekontaminasyonunda bu iki yöntemden de yararlanılabileceğine işaret etmektedir.

Fleischman, (2001) kaynar suya daldırma yöntemiyle inokülasyonda *E. coli* hücrelerinin internalizasyonu (meyve kabuğundaki porlara ve girintilere yerleşmesi) sonucu yüzey sıcaklığından korunması nedeniyle dekontaminasyon etkisinin azalabileceğini belirtmektedir.

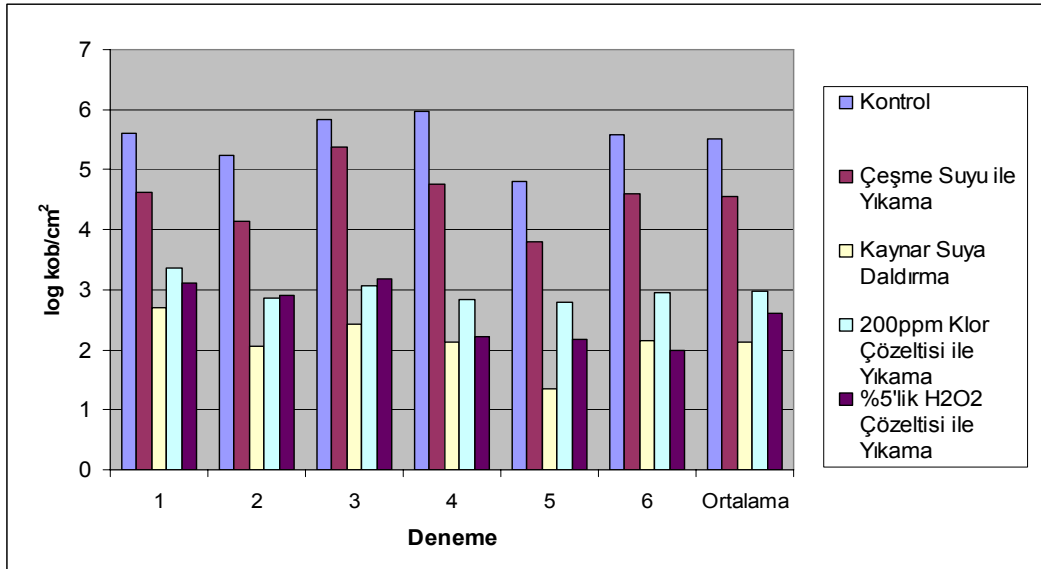
E. coli ATCC 25922 ile inoküle edilmiş portakallardan elde edilen portakal sularında en yüksek dekontaminasyon etkisi kaynar suya daldırma işlemi ile sağlanırken, inoküle edilmemiş portakallar kullanılarak yapılan dekontaminasyon çalışmasında (Bölüm 3.2.3) kaynar suya daldırma işlemi H₂O₂ ve klor çözültisi ile yıkama işlemlerinden daha az etki göstermiştir. Bunun nedeninin inoküle edilmemiş portakallardaki yüzey florasının daha fazla internalize olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İnoküle edilmiş portakalların yüzeyindeki *E. coli* ATCC 25922 sayısının belirlenmesi Bölüm 3.2.3'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu sayılar kontrol örneklerinde 4.80-5.98 log kob/cm² arasında değişmekte olup ortalama *E. coli* ATCC 25922 sayısı 5.51 log kob/cm²'dir. Uygulanan yüzey dekontaminasyon işlemleri sonucu bulunan ortalama *E. coli* ATCC 25922 sayıları ise kaynar suya daldırmada 2.14 log kob/cm², % 5'lik H₂O₂ çözültisi ile yıkamada 2.60 log kob/cm², 200ppm klor çözültisi ile yıkamada 2.98 log kob/cm² ve çeşme suyu ile yıkamada 4.55 log kob/cm² olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11, Şekil 4.8).

Çizelge 4.11. *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilmiş portakallara uygulanan yüzey dekontaminasyon işlemlerinin portkal yüzeyindeki *E. coli* ATCC 25922 sayısına (log kob/cm²) etkisi

Deneme (Yüzey yıkama)	Kontrol	Çeşme suyu ile yıkama	Kaynar suya daldırma	Klor çözeltisi ile yıkama (200ppm)	H ₂ O ₂ çözeltisi ile yıkama (%5)
1	5,61 ^a	4,61 ^b	2,71 ^c	3,36 ^d	3,11 ^{cd}
2	5,25 ^a	4,14 ^b	2,05 ^c	2,86 ^d	2,90 ^{cd}
3	5,84 ^a	5,38 ^b	2,43 ^c	3,06 ^d	3,18 ^{cd}
4	5,98 ^a	4,76 ^b	2,12 ^c	2,84 ^d	2,22 ^{cd}
5	4,80 ^a	3,80 ^b	1,34 ^c	2,78 ^d	2,18 ^{cd}
6	5,58 ^a	4,59 ^b	2,16 ^c	2,95 ^d	1,99 ^{cd}
Ortalama	5,51 ^a	4,55 ^b	2,14 ^c	2,98 ^d	2,60 ^{cd}

*Aynı harflerle gösterilen değerler arasında Duncan testi sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.



Şekil 4.8. *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakalların yüzeyindeki *E. coli* ATCC 25922 sayısı

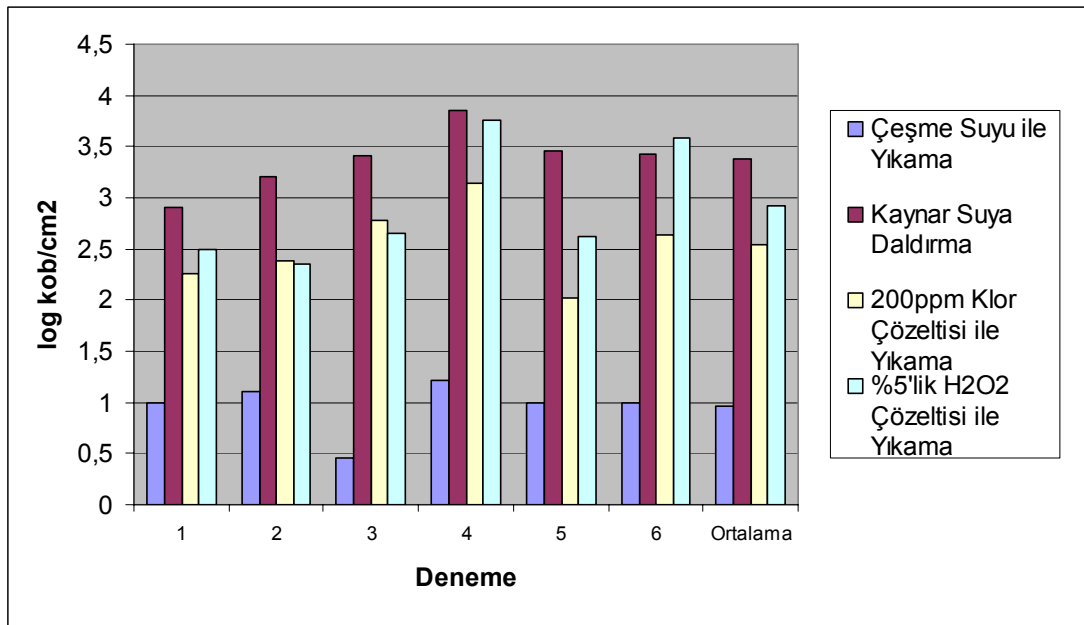
İncelenen örneklerde *E. coli* sayısındaki kontrol grubuna göre azalmalar;

“kontrol grubundaki log *E. coli* sayısı - uygulanan dekontaminasyon yöntemi sonucunda elde edilen log *E. coli* sayısı “

şeklinde hesaplanmış ve bulunan değerler Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

Buna göre en yüksek dekontaminasyon etkisi 3.38 log kob/cm² azalma ile kaynar suya daldırma yöntemi ile elde edilmiştir. Bunu 2.91 log kob/cm² ile % 5'lik H₂O₂ çözeltisi ile yıkama, 2.54 log kob/cm² ile 200ppm klor çözeltisi ile yıkama ve 0.96 log kob/cm² ile çeşme suyu ile yıkama yöntemleri takip etmektedir (Şekil 4.9).

Uygulanan istatistiksel analiz sonucunda kaynar suya daldırma yöntemiyle H₂O₂ çözeltisiyle yıkama yöntemi arasındaki fark ve klor çözeltisiyle yıkamayla H₂O₂ çözeltisiyle yıkama yöntemleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Diğer gruplar arası farklar ise istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05). Bu sonuçlara göre de aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmayan kaynar suya daldırma ve H₂O₂ çözeltisiyle yıkama yöntemleri en iyi yüzey dekontaminasyon yöntemleri olarak görülmektedir. Bu da portakalların yüzey dekontaminasyonunda bu iki yöntemden de yararlanılabileceğine işaret etmektedir.



Şekil 4.9. *E. coli* ATCC 25922 inoküle edilmiş ve çeşitli dekontaminasyon yöntemleri uygulanmış portakalların yüzeyindeki *E. coli* ATCC 25922 sayısındaki azalma miktarları

Sapers et al. (1999), *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilmiş elmalarla yaptıkları bir çalışmada; *E. coli* sayısında 200 ppm klor çözeltisi ile yıkama sonucunda 1.8 kob/g azalma bulurken, 50 °C'de % 5'lik H₂O₂ uygulama sonunda 3.9 kob/g gibi

daha yüksek düzeyde bir azalma bulmuşlardır. Bizim gerçekleştirdiğimiz çalışma ile bu çalışma arasındaki fark özellikle H₂O₂ uygulaması ile dekontaminasyonda ortaya çıkmaktadır. Bu durumun, Sapers et al. (1999)'un gerçekleştirdiği çalışmada H₂O₂'nin 50°C'de uygulanması bizim çalışmamızda ise uygulamanın oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Pao ve Davids (1999) yaptıkları çalışmada sıcak su uygulaması şeklindeki yüzey dekontaminasyon tekniği ile *E. coli* ATCC 25922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları ile inoküle edilmiş portakallarda 70 °C'de 2 dakika ve 80 °C'de 1 dakika ısıtma işlemi sonrasında *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 4.5 log kob/cm², inokülasyon yapılmamış portakal örneklerindeki toplam canlı mikroorganizma sayısında ise yaklaşık 3,5 log kob/cm² azalma olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada 30 °C'de 8 dakika 200 ppm klor uygulaması ile *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 2,0 log kob/cm² azalma olduğu bulunmuştur.

Fleischman et al. (2001) *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş elmalarla yaptıkları çalışmada 95 °C'de sıcak su uygulamasının elma yüzeyindeki mikrobiyal yük üzerine etkisini incelemişler ve 30 saniye sıcak su uygulaması sonrasında *E. coli* O157:H7 sayısında 2,40 log kob/g düzeyinde azalma görülmüştür.

Pao ve ark. (2000) tarafından yapılan diğer bir çalışmada; *E. coli* ATCC 2922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP 1-97 suşları ile inoküle edilen portakalların % 2 SOPP (Sodium salt of Ortho phenyl phenate) çözeltisi ile dekontaminasyonu sonucunda *E. coli* sayısının 3,5 log kob/cm² düzeyinde azaldığı belirlenmiştir.

Davis ve Pao (1999)'nun portakal yüzeyini çeşitli sanitizerlerle yıkayarak taze sıkılmış portakal suyunun mikrobiyolojik güvenliğini arttırmayı hedefleyen bir çalışmada *E. coli* sayısında en fazla azalmayı 3,1 log düzeyinde klordioksit'in sağladığını ortaya koymuşlardır.

Wisniewsky ve ark. (2000) yaptığı bir çalışmada ise *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilmiş elma yüzeyinin peroksiasetik asit, klordioksit ve klor fosfat çözeltisi ile yıkanarak *E. coli* O157:H7 sayısında 5 log düzeyinde bir azalmanın sağlanması amaçlanmıştır. Ancak önerilen konsantrasyonlarda uygulanan çözeltilerin hiç birinin 5 log düzeyinde azalma sağlayamadığı saptanmıştır.

Bu çalışmada uygulanan yüzey dekontaminasyon yöntemleriyle incelenen test bakterisi (*E. coli* ATCC 25922) sayısında 5.0 log'luk bir azalma sağlanamamıştır. Yukarıda değinilen çalışmaların tümünde de uygulanan yüzey dekontaminasyon yöntemleriyle test bakterisi sayısında 5.0 log'luk bir azalma sağlanamadığı görülmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde bizim çalışmamız ile yukarıda değinilen çalışmalar bu yönde uyum göstermektedir.

4.4. Ankara Piyasasındaki Ticari Bir Otomatik Ekstraktörden Alınan Yüzey Örneklerinin Mikrobiyolojik Kalitesi

Ankara'daki bir süpermarketin satış noktasında taze sıkılmış portakal suyu üretiminde kullanılan otomatik ekstraktörde (Zumex Z32) üretim öncesi ve sonrası belirlenen noktalardan Bölüm 3.2.4'de anlatıldığı şekilde eküvyon ile yüzey örnekleri alınarak ekstraktördeki üretim boyunca meydana gelen mikrobiyal kirliliğin boyutlarının tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen yüzey örneklerinde toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayım ve koliform grubu bakteri sayım analizleri yapılmıştır.

Deneme gününde ekstraktör temiz ve kullanıma hazır halde iken (ekstraksiyon öncesi) ve üretim bittikten sonra ekstraktör kirli iken (ekstraksiyon sonrası) alınan yüzey örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri ve koliform bakteri sayıları Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısında en yüksek değişim 3.10 log kob/yüzey ile 2. Deneme'de portakal haznesinden alınan örnekte, en az değişim ise 0.91 log kob/yüzey ile 2. Deneme'de ekstraksiyon topundan alınan örnekte bulunmuştur (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Ekstraksiyon öncesi ve sonrasında toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (log kob/yüzey) ve koliform sayıları (EMS/yüzey)

	Toplam Mezofilik Aerobik Canlı Bakteri Ekstraksiyon Öncesi	Toplam Mezofilik Aerobik Canlı Bakteri Ekstraksiyon Sonrası		Koliform Ekstraksiyon Öncesi	Koliform Ekstraksiyon Sonrası
1. Deneme					
Portakal haznesi 1	2.05	3.93	Portakal haznesi 1	<3	93
Portakal haznesi 2	2.68	4.03	Portakal haznesi 2	<3	240
Ekstraksiyon topu	2.26	3.41	Ekstraksiyon topu	<3	21
Bıçak	2.19	3.59	Bıçak	<3	93
Süzgeç	2.54	4.37	Süzgeç	<3	210
2. Deneme					
Portakal haznesi 1	1.33	4.43	Portakal haznesi 1	<3	23
Portakal haznesi 2	1.75	4.49	Portakal haznesi 2	<3	93
Ekstraksiyon topu	1.55	2.46	Ekstraksiyon topu	<3	<3
Bıçak	2.04	2.96	Bıçak	<3	<3
Süzgeç	1.33	2.67	Süzgeç	<3	4
3. Deneme					
Portakal haznesi 1	1,97	4.27	Portakal haznesi 1	<3	43
Portakal haznesi 2	1.83	4.08	Portakal haznesi 2	<3	210
Ekstraksiyon topu	1.73	3.24	Ekstraksiyon topu	<3	15
Bıçak	2.07	3.41	Bıçak	<3	9
Süzgeç	2.28	4.45	Süzgeç	<3	43

İncelenen yüzey örneklerinde toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki ekstraksiyon öncesi ve sonrası arasındaki değişimler;

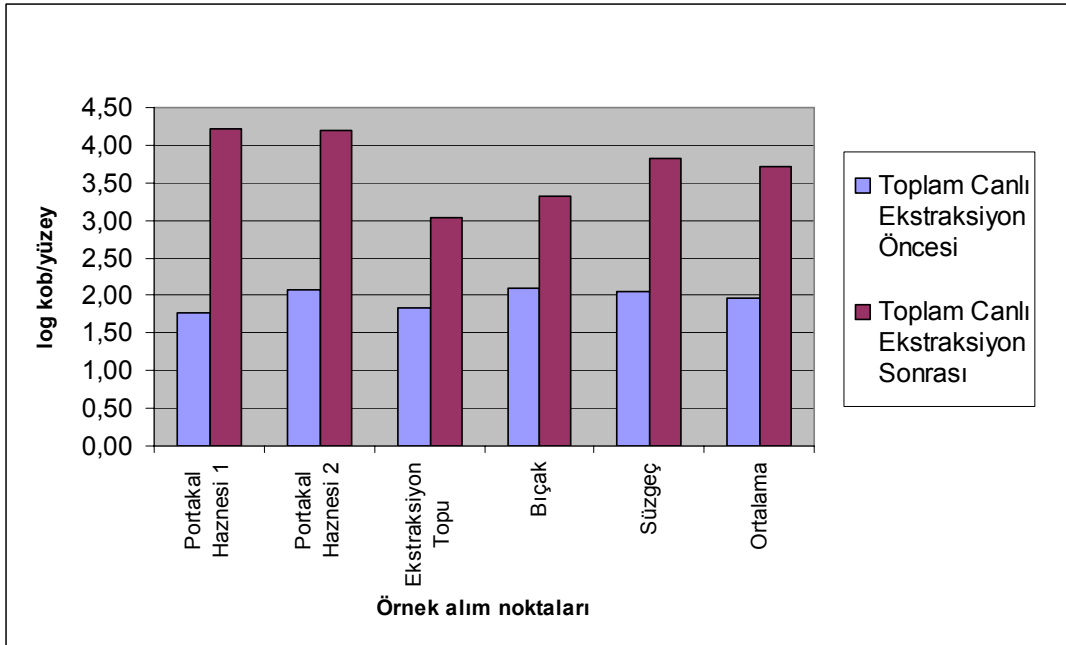
“Ekstraksiyon sonrası log kob/yüzey - Ekstraksiyon öncesi log kob/yüzey “

şeklinde hesaplanmıştır.

Alınan yüzey örneklerindeki toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayılarının ortalamaları Çizelge 4.13 ve Şekil 4.10’da verilmiştir. Ekstraksiyon öncesi ve sonrası ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki değişim 1.75 log kob/yüzey olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Alınan yüzey örneklerindeki ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayıları (log kob/yüzey)

	Toplam Mezofilik Aerobik Canlı Bakteri Ekstraksiyon Öncesi	Toplam Mezofilik Aerobik Canlı Bakteri Ekstraksiyon Sonrası	Fark
Portakal haznesi 1	1,78	4,21	2,43
Portakal haznesi 2	2,08	4,20	2,11
Ekstraksiyon topu	1,84	3,03	1,19
Bıçak	2,10	3,32	1,22
Süzgeç	2,05	3,83	1,78
Ortalama	1,97	3,71	1,75



Şekil 4.10. Alınan yüzey örneklerindeki ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayıları

İncelenen tüm yüzey örneklerinde ekstraksiyon öncesi koliform bakteri sayısı <3 EMS/yüzey olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon sonrası 2. Denemede ekstraksiyon topu ve bıçak yüzeylerinde koliform bakteri sayısı hiç bir değişim göstermemiş ve sayı <3 EMS/yüzey olarak kalmıştır. Buna karşılık diğer yüzey örneklerinde koliform bakteri sayısında belli düzeylerde artışlar gerçekleşmiştir. Bu artışlar 4-250 EMS/yüzey arasında değişim göstermiş ve en yüksek artış 240 EMS/yüzey ile 1. Denemede portakal haznesi 2'nin yüzeyinde bulunmuştur (Çizelge 4.12).

İstatiksel analizler; toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayılarında ve koliform bakteri sayılarında ekstraksiyon sonrası ve öncesi arasındaki değişimlerin önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$). Ekstraksiyon sonrası ekstraktörde incelenen örnek alma noktalarında toplam canlı aerobik mezofilik bakteri sayımı ve koliform bakteri sayımlarında yüksek miktarda artış gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar ekstraktörün kontaminasyon kaynağı olmasını önlemek amacıyla gün içinde sürekli kullanılmaması ve belli periyotlarla temizlenmesi ve sanitize edilmesinin önemine işaret etmektedir.

Çizelge 4.12'den de takip edilebileceği gibi ekstraktörde incelenen yüzeylerdeki kirlilik düzeyi denemeler arasında farklılıklar göstermektedir. Denemeler arası ortalama değerler dikkate alındığında ekstraktörün her üretim gününde farklı düzeyde kirlendiği görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Taze sıkılmış meyve suları doğal ve besleyici değeri yüksek olduğu için günümüzde tüketiciler tarafından daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Taze sıkılmış meyve suyu üretim prosesi mikroorganizmaları öldürme yönünde herhangi bir işlem içermemektedir. Bu nedenle de taze meyve suyunun güvenliğini sağlayabilmek amacıyla, meyvelere yüzey dekontaminasyon yöntemlerinin uygulanmasına gereksinim duyulmaktadır.

Bu araştırmada, taze sıkılmış portakal suları patojen ve indikatör bakteri varlığı ve sayısı yönünden incelemeye alınmıştır. Araştırmanın amacı bu ürünlerdeki mikrobiyal popülasyonun çeşitli kimyasal ve fiziksel meyve yüzey dekontaminasyon yöntemleriyle güvenli düzeye indirilmesidir.

Çalışmanın ilk aşamasında, Ankara piyasasındaki beş farklı satış noktasından altı farklı dönemde alınan 90 adet taze sıkılmış portakal suyu, toplam canlı aerobik mezofilik bakteri, koliform bakteri ve *E. coli* sayısı ile *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden incelemeye alınmıştır. Elde edilen sonuçlar genel hatlarıyla aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Ankara piyasasından sağlanan portakal suyu örneklerindeki toplam mezofilik aerobik canlı mikroorganizma sayısı 10^1 - 10^7 kob/ml arasında, koliform bakteri sayısı ise <3-46000 EMS/ml arasında değişim göstermiştir.
- Portakal suyu örneklerinin 8 adedinde değişik düzeylerde *E. coli* varlığı tespit edilmiştir.
- Portakal suyu örneklerinin hiç birisinde *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığı tespit edilememiştir.

Bu sonuçlara göre de aşağıda sıralanan genel değerlendirme ve yorumlar yapılabilir:

- Örneklerde ortalama 10^4 - 10^5 kob/ml düzeyinde toplam aerobik mezofilik bakteri yükü bulunması ve bazı portakal suyu örneklerinde koliform bakteri ve *E. coli* varlığına rastlanması, genel olarak taze sıkılmış portakal suyu üretiminde hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu

sonuçlar üreticilerin portakal suyu üretiminde genel hijyen ve sanitasyon kurallarına daha bilinçli ve dikkatli bir şekilde uymalarının gerekli olduğuna işaret etmektedir.

Araştırmada ayrıca Ankara'daki bir süpermarketin satış noktasında taze sıkılmış portakal suyu üretiminde yararlanılan otomatik ekstraktöre (Zumex Z32) ait yüzey örneklerinin mikrobiyolojik analizi ile ekstraktörde gün boyunca meydana gelebilecek mikrobiyal kirliliğin boyutlarının tespiti amaçlanmıştır. Toplam mezofilik aerobik canlı bakteri sayısında ekstraksiyon öncesi ve sonrası arasındaki en yüksek değişimin 3,10 log kob/yüzey düzeyinde ve ortalama toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısındaki farkın 1,75 log kob/yüzey olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde, yapılan analizler sonucunda ekstraksiyon sonrası örnek alım noktalarında koliform bakteri sayısının da önemli düzeyde arttığı gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon öncesinde hiç bir örnekte uygulanan sayım yöntemiyle koliform bakteri varlığı belirlenemezken (<3 EMS/yüzey), ekstraksiyon sonrası koliform bakteri sayısı 250 EMS/yüzey düzeyine kadar çıkabilmiştir.

Bu sonuçlara göre de piyasada kullanılan ekstraktörlerin hijyen ve sanitasyonu hakkında aşağıda sıralanan genel değerlendirme ve yorumlar yapılabilir:

- Üreticilerin ekstraktörün hijyen ve sanitasyonu konusunda bilinçli davranmadıkları ve bu konularda gerekli önlemleri almadıkları ortaya çıkmıştır. Üreticilerin hijyen ve sanitasyon konusunda bilinçlendirilmesi ve eğitilmesi, portakal suyu eldesinde kullandıkları ekstraktörün gün içinde belli periyotlarla temizlenmesi ve uygun yöntemlerle sanitize edilmesi önerilebilir.

- Ayrıca aynı ekstraktörde farklı meyvelerin sıkılması kontaminasyon riskini arttıracadığından, böyle bir durumda meyvelerin partiler halinde sıkılması ve geçişler arasında ekstraktörün temizlenmesi ve sanitize edilmesi önerilebilir.

İnoküle edilmemiş portakallara uygulanan yüzey dekontaminasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre en etkili yüzey dekontaminasyon yöntemlerinin sırasıyla H₂O₂ özeltisiyle yıkama ve klor çözeltisiyle yıkama olduğu belirlenmiştir. Aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmayan H₂O₂ özeltisiyle yıkama ve klor çözeltisiyle yıkama en iyi yüzey dekontaminasyon yöntemleri olarak görülmektedir.

FDA'nın da 1998 yılında yayınladığı HACCP tüzüğü gereğince üreticilerin taze sıkılmış meyve sularında halk sağlığı açısından önemli olan en dirençli mikroorganizma sayısında 5 log düzeyinde bir azalma sağlamaları gerekmektedir.

İnoküle edilmemiş portakallara uygulanan yüzey dekontaminasyon çalışmalarından elde edilen mikrobiyal yüke ait sonuçlar, FDA'nın belirttiği 5 log düzeyinde bir azalmayı ortaya koyabilecek düzeyde olmadığı için yüzey dekontaminasyon etkinliğini belirlemek mümkün olamamıştır. Bu amaçla portakal yüzeyi *E. coli* ATCC 25922 suşu ile inoküle edilmiş ve daha sonra yüzey dekontaminasyon yöntemlerinin etkinliği portakal sularında ve portakal yüzeyindeki sayılar yönünden ayrı ayrı araştırılmıştır. Bu uygulama ile elde edilen sonuçlar genel hatlarıyla aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Uygulanan dekontaminasyon yöntemleri sonucunda *E. coli* ATCC 25922 sayısında 5 log'luk düşüş elde edilememiştir. Yine de bu yöntemlerle hem portakal sularında hem de portakal yüzeylerinde *E. coli* ATCC 25922 sayılarında önemli ölçülerde düşüşler sağlanmıştır. Portakal sularında en yüksek dekontaminasyon etkisi 3,06 log kob/ml azalma ile kaynar suya daldırma yöntemi ile elde edilmiştir. Portakal yüzelerinde ise en yüksek dekontaminasyon etkisi 3.38 log kob/cm² azalma ile yine kaynar suya daldırma yönteminden elde edilmiştir.

- Portakal suları ve portakal yüzeyleri ile yapılan çalışmaların her ikisinde de kaynar suya daldırma yöntemi uygulanan yüzey dekontaminasyon yöntemleri arasında en etkili olarak bulunmuş bunu sırasıyla % 5'lik H₂O₂ çözültisi ile yıkama, 200ppm klor çözültisi ile yıkama ve çeşme suyu ile yıkama yöntemleri takip etmiştir. Kaynar suya daldırma ve H₂O₂ çözültisi ile yıkama yöntemleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz çıkması (p<0.05), portakalların yüzey dekontaminasyonunda bu iki yöntemden de yararlanılabileceğine işaret etmektedir.

Bu sonuçlara göre de aşağıda sıralanan genel değerlendirme ve yorumlar yapılabilir:

- En yüksek dekontaminasyon etkisinin kaynar suya daldırma yöntemiyle olmasına rağmen bu uygulamanın yüksek maliyeti ve uygulama zorluğu nedeniyle diğer yöntemler ön plana çıkmaktadır. Hidrojen peroksit toksik olmayan ürünlere hızla

parçalanması ve yüksek etkisiyle ön plana çıkarken, klor ise geniş kullanım alanı ve ucuzluğuyla ön plana çıkmaktadır.

- Kaynar suya daldırma ile yüzey dekontaminasyon işleminin piyasada pratik uygulanmasının zor olacağı düşüncesinden hareketle iki yöntem arasındaki farkın önemsiz olması da dikkate alınarak portakalların yüzey dekontaminasyonunda H₂O₂ kullanımı önerilebilir

Taze sıkılmış portakal sularının güvenliği konusunda genel bir değerlendirme yapılacak olursa aşağıda sıralanan öneriler yapılabilir:

- Taze sıkılmış meyve suyu üretiminde kaliteli hammadde kullanılmalı, çürük hasarlı ve yüzeyi kirli meyve kullanımından sakınılmamalıdır.

- Sıkım işleminden önce meyveler etkin bir şekilde yıkanmalı ve uygun bir yöntemle yüzeyleri dekontamine edilmelidir.

- Proses esnasında yere düşen meyveler kesinlikle sıkımda kullanılmamalıdır. İşletme ortamı, alet ve ekipman temizlik ve sanitasyonuna gerekli önem verilmelidir.

- Üretimde her bir farklı meyve suyu için farklı bir ekstraktör kullanılmalıdır. Üretimde kullanılan ekstraktör gün içinde sürekli kullanılmamalı ve belli periyotlarla temizlenmeli ve sanitize edilmelidir.

- Ambalajlamada yeni, temiz ve porsuz kaplar kullanılmalıdır. Ambalaj üzerinde raf ömrü ve ürünün saklanması gereken sıcaklık belirtilmelidir. Ayrıca FDA' nın bildirisi üzerine ürünün pastörize edilmediğinin de ambalajda belirtilmesi önerilmektedir.

- Özellikle personel hijyenine dikkat edilmeli, portör muayneleri zamanında yapılmalıdır.

- Üretimi gerçekleştiren personel hijyen ve sanitasyon konusunda bilinçlendirilmeli ve gerekli eğitimlerden geçirilmelidir.

- Üretici sık olarak sorumlu kuruluşlar tarafından denetlenmelidir.

KAYNAKLAR

- Acar, J., Bahçeci, K.S., 2001, Microbiological safety of fresh-squeezed juices, Fruit Processing, 10, 410-412.
- Acar, J., Bahçeci, K.S., 2002, Taze sıkılmış meyve sularında patojenlerin önemi, Gıda Teknolojisi, 4, 62-64.
- Acar, J., Gökmen, V., 2005, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi-Cilt 1 Meyve ve Sebze Suları Üretimi, Birinci Baskı, Hacettepe Üniversitesi Basımevi, Ankara, s.510-529.
- Anonymous, 1986, İçme suları. Türk Standartları Enstitüsü, TS 266.
- Anonymous, 1996, Mikrobiyoloji- *Salmonella* Aranması Metodlarında Genel Kurallar. Türk Standartları Enstitüsü, TS 7438.
- Anonymous, 1998 1, Food and Drug Administration, Food Labeling: Warning and Notice Statement: Labeling of Juice Products; Final Rule. Fed. Regist. 63:37029-37056.
- Anonymous, 2000, <http://www.cdc.gov>
- Anonymous, 2001a, Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations. 21 CFR 178.1005.
- Anonymous, 2001b, Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations. 21 CFR 181.1366.
- Anonymous, 2001c, Bacteriological Analytical Manual Online (BAM), R12a.
- Anonymous, 2002, Bacteriological Analytical Manual Online (BAM), Chapter 4. *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. 8th Edition. Food and Drug Administration (FDA). Published and Distributed by AOAC international. USA.
- Anonymous, 2003, Bacteriological Analytical Manual Online (BAM), 2003. Chapter 5. *Salmonella*. 8th Edition. Food and Drug Administration (FDA). Published and Distributed by AOAC international. USA.
- Anonymous, 2005a, <http://www.zumex.com>.
- Anonymous, 2005b, <http://www.Salmonella.org/info.html>
- Anonymous, 2005c, <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/lacf-phs.html>
- Anzai, K., Kunitaka, O., Goto, Y., Yamamoto, H., Ozawa, T., 1999, Oxidation dependent changes in the stability and permeability of lipid bilayers, Atioxid. Redox Signal., 1(3), 339-347.
- Baldy, M.G.C. 1983. The bactericidal, fungicidal, and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. J. Appl. Bacteriol. 54:417-423.

- Bean, N.H., and P.M. Griffin. 1990. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends. *J. Food Prot.* 53(9):804-817.
- Bell, C. And Kyriakides, A., 2002, Pathogenic *Escherichia coli*. Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis and controls, Blackburn, C.W. and McClure, P.J. (eds), CRC Press, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England, pp. 279-307.
- Beuchat, L.R., 1998, Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review, FOOD SAFETY UNIT-WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO/FSF/FOS/98.2.
- Benjamin, M.M., Datta, A.R., 1995, Acid tolerance of enterohemorrhagic *E. coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(4), 1669-1672.
- Block, S.S. 2001. Disinfection, Sterilization and Preservation, Fifth Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 135-146, 185-191.
- Brundzinski, R.L., Harrison, M.A., 1998, Influence of incubation conditions on survival and acid tolerance response of *E. coli* O157:H7 and non-O157:H7 isolates exposed to acetic acid, *J. of Food Protection*, 61(5), 444-450.
- Buchanan, R.L., Doyle, M.P., 1997. Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Food Technology*, 51 (10), 69-76.
- Cook, K.A., 1998, Outbreak of *Salmonella* serotype hartford infections associated with unpasteurized orange juice. *JAMA*, 280(17), 1504.
- Çakır, İ., 2000, Koliform grup bakteriler ve *E. coli*, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, 12. Baskı, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, s. 335-344.
- Fellers, P.J., 1988, Shelf life and quality of freshly squeezed, unpasteurized, polyethylene- bottled citrus juice, *Journal of Food Science*, 53(6), 1699-1703.
- Ferreira, M.A.S.S. and B.M. Lund. 1987. The influence of pH and temperature on initiation of growth of *Salmonella* spp. *Lett. Appl. Microbiol.* 5:67-70. Lin, J. M.P. Smith, K.C. Chapin, H.S. Baik, G.N. Bennett, and J.W. Foster. 1996.
- Fleischman, G.J., Bator, C., Merker, R., Keller, S.E., 2001, hot water immersion to eliminate *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of whole apples: thermal effects and efficacy, *Journal of Food Protection*, 64(4), 451-455.
- Grönholm, L., Wirtanem, G., Ahlgren, K., Nordström, K., Sjöberg, A., 1999, Screening of antimicrobial activities of disinfectants and cleaning agents against foodborne spoilage microbes, *Z. Lebensm. Unters. Forsch A*, 208, 289-298.

- Halkman, A.K., Doğan, H.B., Noveir, M.R., 1994, Gıda Maddelerinde *Salmonella* ve *E.coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Armoni Matbaacılık, Ankara, s.4-15, 26-35.
- Halkman, A.K., Noveir, M.R., Doğan, H.B., 2001, *Esherichia coli* O157:H7 Serotipi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Müh. Bölümü. Ankara, 46 s.
- Halkman, A.K., 2005, Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Birinci Baskı, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri, Ankara, s. 141-193.
- Hayes, P.R. 1992. Food Microbiology and Hygenie, Second Edition, Chapman & Hall, 34 p, pp. 360-369.
- Jay, J.M., 1996, Modern Food Microbiology, Fifth Edition, Chapman and Hall, New York.
- Juven, B.J. and M.D. Pierson. 1996. Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantitation. J. Food Prot. 59(11):1233-1241.
- Karapınar, M. ve Gönül, Ş.A. 1998, Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar. Gıda Mikrobiyolojisi. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (edt.), Birinci baskı, Mengi Tan Basımevi, 140, 112-122, 134-135.
- Kenney, S.J., Beuchat, L.R., 2002, Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Muenchen on apples as affected by application of commercial fruit waxes, International Journal of Food Microbiology, 77: 223-231.
- Koohmaraie, M., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Guerini, M., Shachelford, S.D., and Wheeler, T.L., 2005, Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef, Meat Science, xx, xxx-xxx (basımda).
- Lin, J., Smith, M.P., Chapin, K.C., Baik, H.S., Bennet, G.N., Foster, J.W., 1996, Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic *E. coli*, Appl. Environ. Microbiol., 62(9), 3094-3100.
- Linton, M., J.M.J. McClements, and M.F. Patterson. 1999. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during storage in pressure-treated orange juice. J. Food Prot. 62(9):1038-1040.
- Lück, E., Jager, M., 1997, Antimicrobial Food Additives: characteristics, uses, effects. 2nd ed., Springer-Verlag, Germany.
- Marriot, N.G., 1989, Principles of Food Sanitation, Second edition, An avi book, pp. 101-113.
- Mazzotta, A.S., 2001, Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juices, Journal of Food Protection, 64(3): 315-320.
- Parish, M.E., Narciso, J.A., Friedrich, L.M., 1997, Survival of Salmonellae in orange juice, Journal of Food Safety, 17, 273-281.

- Parish, M.E., 1998, Coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars associated with a citrus-processing facility implicated in a salmonellosis outbreak, *Journal of Food Protection*, 61(6), 667-671.
- Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N., Busta, F.F., 2003, Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 161-172.
- Pao, S., Brown, G.E., 1998, Reduction of microorganisms on citrus fruit surfaces during packinghouse processing, *Journal of Food Protection*, 61(7), 903-906.
- Pao, S., Davis, C.L., 1999, Enhancing the microbiological safety of fresh orange juice by fruit immersion in hot water and chemical sanitizers, *Journal of Food Protection*, 62(7), 756-760.
- Pao, S., Davis, C.L., Kelsey, D.F., Petracek, P.D., 1999, Sanitizing effects of fruit waxes at high pH and temperature on orange surfaces inoculated with *Escherichia coli*, *Journal of Food Science* 64(2):359-362.
- Pao, S., Davis, C.L., Kelsey, D.F., 2000, Efficacy of alkaline washing for the decontamination of orange fruit surfaces inoculated with *Escherichia coli*, *Journal of Food Protection*, 63(7), 961-964.
- Pao, S., Davis, C.L., Parish, M.E., 2001, Microscopic observation and processing validation of fruit sanitizing treatments for the enhanced microbiological safety of orange juice, *Journal of Food Protection*, 64(3), 310-314.
- Pao, S., Davis, C.L., 2001, Transfer of natural and artificially inoculated microorganisms from orange fruit to fresh juice during extraction, *Lebensm.-Wiss. u-Technol.*, 34, 113-117.
- Rijal, K., Leung, A., Shankar, P.M. and Mutharasan, R., 2005, Detection of pathogen *Escherichia coli* O157:H7 at 70 cells/ml using antibody-immobilized biconical tapered fiber sensors, *Biosensors and Bioelectronics*, xx, xxx-xxx (basimda).
- Ryu, J.H., Deng, Y., Beuchat, L.R., 1999, Behavior of acid-adapted and unadapted *E. coli* O157:H7 when exposed to reduced pH achieved with various organic acids, *Journal of Food Protection*, 62(5), 451-455.
- Sapers, G.M., Miller, R.L., Mattrazzo, A.M., 1999, Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in golden delicious apples, *Journal of Food Science*, 64(4), 734-737.
- Sapers, G.M., Miller, R.M., Mattrazzo, A.M., 2000, Factors limiting the efficacy of hydrogen peroxide washes for decontamination of apples containing *Escherichia coli*, *Food Microbiology and Safety*, 65(3), 529-532.

- Sander, J.E., Wilson, J.L., 1999, Effect of Hydrogen Peroxide disinfection during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity, *Avian Diseases*, 43, 227-233.
- Schmidt, R.H., Sims, C.A., Parish, M.E., Pao, S., Ismail, M.A., 1997, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, CIR1179.
- Slonczewsky, J.L., T.N. Gonzalez, F.M. Bartholomew, and N.J. Holt. 1987. Mu d-directed *lacZ* fusions regulated by low pH in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 169(7):3001-3006.
- Souza, M.C.C., Benassi, M.T., Meneghel, R.F.A., Silva, R.S.S.F., 2004, Stability of unapsteurized and refrigerated orange juice, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47(3), 391-397.
- Steele, B.T., Murphy, N., Rance, C.P., 1982, An outbreak of the hemolytic uremic syndrome associated with ingestion of apple juice. *J.Pediatr*, 101, 963.
- Temiz, A., 1999, Gıdalarda İndikatör Mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi. A. Ünlütürk ve F. Turantaş (edt.), İkinci Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir, s. 83-106.
- Temiz, A., 2001, Gıda işletmelerinde Hijyen ve Sanitasyon. Gıda Denetçisi Eğitim Semineri. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 7-9 Şubat 2001, Ankara. 19s.
- Temiz, A., 2002, Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Üçüncü Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, s. 216-232.
- Uljas, H.E. and S.C. Ingham. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in synthetic gastric fluid after cold and acid habituation in apple juice or trypticase soy broth acidified with hydrochloric acid or organic acids. *J. Food Prot.* 61(8):939-947.
- Ünlütürk, A. and F. Turantas. 1987. Bactericidal effect of hydrogen peroxide on *Salmonella typhimurium* in liquid whole egg. *J. Appl. Bacteriol.* 62:25-28.
- Wallace, D.J., Gilder, T.V., Shallow, S., Fiorentino, T., Segler, S.D., Smith, K.E., Shiferaw, B., Etzel, R., Garthright, W.E., Angulo, F.J., FoodNet Working Group. 2000. Incidence of Foodborne illnesses reported by the foodborne diseases active surveillance network (foodNet)-1997. *Journal of Food Protection*, 63 (6), 807-809.
- Wisniewsky, M.A., Glatz, B.A., Gleason, M.L., Reitmeier, C.A, 2000, Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 counts on whole fresh apples by treatment with sanitizers, *Journal of Food Protection*, 63(6), 703-708.
- Zhao, T., M.P. Doyle, and R.E. Besser. 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:2526-2530.

Ek 1. Taze sıkılmış meyve suyu üreten işletmeler için model HACCP planı (Schmidt et al. (1997))

Proses Basamağı	Tehlike / Uyarı	CCP / Tipi	Kritik Limit / Kriterler
Sanitasyon Programı	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma Kimyasal <ul style="list-style-type: none"> • Uygunsuz depolama ve kullanım 	CCP1/ Koruma	Temiz, sanitize edilmiş, uygun ekipman kullanılması Kontaminasyonun önlenmesi, Personel hijyeni Uygun kullanım ve depolama, 200ppm klor veya eşleniği dezenfektan kullanımı
Meyve Kaynağı ve Kalitesi	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma Kimyasal <ul style="list-style-type: none"> • Tarımsal Kimyasallar 		Yüksek kalitede uygun meyve kullanımı Uygun tarımsal kimyasalların kullanımı
Hammadde İşleme ve Depolama	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 		Temiz, sanitize edilmiş kasaların kullanımı ve 4.4°C veya altı sıcaklıkta depolama
Meyve Ayırma ve Yıkama	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma Kimyasal <ul style="list-style-type: none"> • Uygunsuz depolama ve kullanım 	CCP2/ Koruma	Meyve reddetme standartlarının belirlenmesi Minimum çevre kontaminasyonu Uygun yıkama ve durulama prosedürleri
Meyve Suyu Ekstraksiyonu	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 		Temiz, sanitize edilmiş ekipman kullanılması
Soğutma / Dolum	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 	CCP3/ Koruma	Temiz, sanitize edilmiş ekipman ve ambalaj kullanılması 4.4°C'ye soğutma
Depolama	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 		4.4°C veya altı sıcaklıkta depolama

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ufuk BAĞCI

Doğum Yeri : Konya

Doğum Yılı : 06.10.1977

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1988-1994 Yenimahalle Mustafa Kemal Lisesi, Ankara

Lisans 1994-2000 Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe Ankara

Yüksek Lisans 2003-2005 Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe Ankara

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

2002-2003 Hacettepe Üniversitesi, Kaman Meslek Yüksekokulu, Araştırma Görevlisi

2003- - Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Araştırma Görevlisi