

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ATIMLI ELEKTRİK ALANI VE OZON UYGULAMALARININ
LAHANA TOHUMLARININ KALİTE ÖZELLİKLERİ VE
YÜZEY DEZENFEKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERNA KARATAŞ

BOLU, ŞUBAT - 2019

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI



ATIMLI ELEKTRİK ALANI VE OZON UYGULAMALARININ
LAHANA TOHUMLARININ KALİTE ÖZELLİKLERİ VE
YÜZEY DEZENFEKSİYONU ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERNA KARATAŞ

BOLU, ŞUBAT - 2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

BERNA KARATAŞ tarafından hazırlanan “**ATIMLI ELEKTRİK ALANI VE OZON UYGULAMALARININ LAHANA TOHUMLARININ YÜZEY DEZENFEKSİYONU VE KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**” adlı tez çalışması Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda 16/01/2019 tarihinde **BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ Fen Bilimleri Enstitüsü** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Danışman
Prof. Dr. Gülsün Akdemir Evrendilek
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Doç. Dr. İlkay Şensoy
Orta Doğu Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Sibel Uzuner
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

İmza


.....

.....

.....

Mezuniyet Tarihi :

Prof. Dr. Ömer ÖZYURT 
.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Aileme,

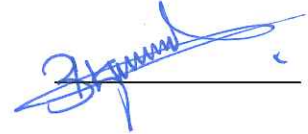
ETİK BEYAN

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

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

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

BERNA KARATAŞ



ÖZET

**ATIMLI ELEKTRİK ALANI VE OZON UYGULAMALARININ LAHANA TOHUMLARININ YÜZEY DEZENFEKSİYONU VE KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BERNA KARATAŞ
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. GÜLSÜN AKDEMİR EVRENDİLEK)**

BOLU, ŞUBAT - 2019

Tohumlar yüzeylerinde toprak kökenli birçok mikroorganizma barındırmaktadır. Özellikle patojen mikroorganizmaların kontaminasyonu tohumun kalitesini olumsuz etkilemekte ve üründe kayıplar yaşanmasına neden olmaktadır. Tohum kalitesini muhafaza edebilmek amacıyla kimyasal kullanımının yaygın olduğu bilinmektedir; ancak bu kimyasalların insan ve çevre sağlığı açısından önemli problemler oluşturması sebebiyle alternatif mikrobiyal inaktivasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Atımlı elektrik alanı (pulsed electric fields, PEF) ve ozon gıda endüstrisinden sağlık sektörüne kadar yaygın bir şekilde kullanım alanı bulmaktadır. Ancak, tohum yüzeyinin dezenfeksiyonuna yönelik çalışmalar literatürde oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, PEF ve ozon uygulamalarının lahana tohumlarında doğal mikroflora (toplam aerobik mezofilik bakteri, TAMB ve toplam maya-küf, TMK) inaktivasyonuna ek olarak patojen mikroorganizmalardan olan *Alternaria brassica* ve *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* (*Xcc*)'in inaktivasyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Bununla birlikte uygulanan yöntemlerin etkisi tohum gücü testleri ile de incelenmiştir. Tohumların nem içeriğinin etkisini gözlemlemek amacıyla tohum nem oranı % 6, 10.5 ve 15'e ayarlanmıştır. Uygulamalarda PEF için 16.4 kV/cm elektrik alan şiddeti; 50, 170 ve 290 Hz frekans ve 60, 240 ve 420 µs uygulama süreleri kullanılırken, ozon için 8.5, 16.5 ve 24.5 g/m³ ozon konsantrasyonu; 15, 27.5 ve 40 dk uygulama süreleri kullanılmıştır. PEF uygulamaları sonucunda tohumun doğal mikroflorasında bulunan TAMB ve TMK üzerinde sırasıyla 1.9 ve 1.2 log inaktivasyon ve ozon uygulamaları sonucunda her iki TAMB ve TMK üzerinde 6.5 log kob/g inaktivasyon elde edilmiş ve tohum yüzeyinin dezenfeksiyonu sağlanmıştır. İnokülasyon çalışmaları sonucunda PEF uygulaması sonrasında *A. brassica* ve *Xcc* sayısında sırasıyla 0.7 ve 0.42 log kob/g'lık mikrobiyal düşüş sağlanmıştır. Ozon uygulamalarında da *Xcc* ve *A. brassica* için en fazla logaritmik düşüş sırasıyla 4.3 log kob/g ve 2.43 log kob/g olarak bulunmuştur. Tohum gücü testlerinde elde edilen sonuçlara göre uygulamaların genel olarak tohum kalitesini olumsuz olarak etkilemediği belirlenmiştir. Dolayısıyla, PEF ve ozon uygulamalarının tarım sektöründe özellikle organik tarım konsepti çerçevesinde organik tarım üretiminde kullanım alanı bulması büyük önem taşımaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: Atımlı elektrik alanı, Mikrobiyal inaktivasyon, Ozon, Tohum dezenfeksiyonu

ABSTRACT

EFFECTS OF PULSED ELECTRIC FIELDS AND OZONE TREATMENTS ON DISINFECTION OF CABBAGE SEEDS SURFACE AND QUALITY FEATURES

MSC THESIS

BERNA KARATAŞ

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
(SUPERVISOR: PROF. DR. GÜLSÜN AKDEMİR EVRENDİLEK)

BOLU, FEBRUARY 2019

Seeds harbor different microorganisms of soil originated, and the contamination of pathogenic microorganisms adversely affects the quality of the seeds causing product loss. Widespread use of chemicals to maintain seed quality is well known, however, because these chemicals cause important health and environmental problems; alternative microbial inactivation methods have been developed. Pulsed electric fields (PEF) and ozone are commonly used from food industry to the health sector. However, studies involved disinfection of the seed surface in the literature are very limited. Therefore, effects of PEF and ozone treatments on the inactivation of *Alternaria brassica* and *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* (*Xcc*) pathogenic microorganisms, in addition to the inactivation of natural microflora (total aerobic mesophilic bacteria, TAMB and total yeast-mold, TMY) were investigated in this study. In addition, effects of both applications on seed vigor have also been tested. The seed moisture content of the seeds was adjusted to 6, 10.5 and 15 % in order to observe the influence of moisture content on inactivation level. While 16.4 kV/cm electric field strength, 50, 170 and 290 Hz frequencies and 60, 240 and 420 μ s treatment times used for PEF; 8.5, 16.5 and 24.5 g/m³ ozone concentrations for 15, 27.5 and 40 min treatment times were used for ozone applications. PEF treatments resulted in 1.9 and 1.2 log cfu/g inactivations on TAMB and TMY, and ozone treatments resulted in 6.5 log cfu/g inactivations on both TAMB and TMY, respectively providing surface disinfections of the seeds. PEF treatment provided 0.7 and 0.42 log cfu/g reductions of *A. brassica* and *Xcc* whereas ozone treatment provided 2.43 log cfu/g and 4.3 log cfu/g reductions, respectively. According to the results obtained in the seed vigor tests, it was determined that both the applications, in general, did not adversely impress the seed quality. Therefore, both PEF and ozone technologies carry significant importance in agriculture and especially in the organic agriculture concept for the production of organic seeds.

KEYWORDS: Microbial inactivation, Ozone, Pulsed electric fields, Seed disinfection

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	xiii
TEŞEKKÜR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1 Kara Lahana Tohumu	4
2.2 Patojen Mikroorganizmalar	4
2.2.1 <i>Alternaria brassica</i>	5
2.2.2 <i>Xanthomonas campestris</i> pathovar <i>campestris</i>	5
2.3 Atımlı Elektrik Alanı	6
2.3.1 Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması	6
2.3.2 Partikül Halindeki Ürünlerde Atımlı Elektrik Alanı ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar	7
2.4 Ozon.....	10
2.4.1 Ozon Uygulamalarının Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizmasına Etkisi	14
2.4.2 Partikül Halindeki Ürünlerde Ozon ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Kara Lahana Tohumu	20
3.1.2 Mikrobiyal Kültürler	20
3.2 Yöntem.....	21
3.2.1 Laboratuvar Ölçekli Atımlı Elektrik Alanı Sistemi	21
3.2.2 Laboratuvar Ölçekli Ozon Sistemi	24
3.2.3 Deneysel Tasarım.....	26
3.2.4 Uygulama Öncesindeki İşlemler	26
3.2.4.1 Tohum Nemlendirilmesi	26
3.2.4.2 Tohumlara Patojen Mikroorganizma İnokülasyonu	27
3.2.5 Mikrobiyolojik Çalışmalar.....	28

3.2.5.1	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı	28
3.2.5.2	Toplam Maya-Küf Sayımı	28
3.2.5.3	<i>Alternaria brassica</i> Sayımı	29
3.2.5.4	<i>Xanthomonas campestris</i> pathovar <i>campestris</i> Sayımı.....	29
3.2.6	Tohum Gücü Testleri.....	30
3.2.6.1	Elektriksel İletkenlik Testi	30
3.2.6.2	Çimlenme Testi.....	30
3.2.6.3	Soğuk Test.....	30
3.2.7	Veri Analizi.....	31
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1	Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyindeki TAMB Üzerine Etkisi.....	34
4.2	Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyindeki TMK Üzerine Etkisi.....	38
4.3	Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyine İnoküle Edilen <i>A. brassica</i> Üzerine Etkisi	40
4.4	Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyine İnoküle Edilen <i>Xcc</i> Üzerine Etkisi.....	43
4.5	Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohumun Elektriksel İletkenliğine Etkisi	45
4.6	Atımlı Elektrik Alanı ve Soğuk Uygulamalarının Tohumların Çimlenmesine Etkisi.....	49
4.6.1	Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Lahana Tohumu Çimlenmesine Etkisi	52
4.7	Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumu Yüzeyindeki TAMB Üzerine Etkisi	56
4.8	Ozon Uygulamalarının Lahana Tohum Yüzeyindeki TMK Üzerine Etkisi	60
4.9	Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumlarına İnoküle Edilen <i>A. brassica</i> Üzerine Etkisi.....	63
4.10	Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumlarına İnoküle Edilen <i>Xcc</i> Üzerine Etkisi.....	66
4.11	Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumlarının Elektriksel İletkenliğine Etkisi	69
4.12	Ozon ve Soğuk Uygulamalarının Lahana Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi.....	73
4.12.1	Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumu Çimlenmesine Etkisi	76
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	80
6.	KAYNAKLAR	84
7.	ÖZGEÇMİŞ	91

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1.	(a) Siyah kimyon tohumlarının uygulama öncesi (kontrol) SEM görüntüleri, (b) PEF uygulamasına maruz kalan siyah kimyon tohumu örneklerinin SEM görüntüleri	8
Şekil 2.2.	Ozonun oluşumu (sol) ve parçalanması (sağ)	13
Şekil 2.3.	Korona akım metodu	13
Şekil 2.4.	Sporların ozon uygulaması öncesi (sol) ve sonrasındaki (sağ) yapısal değişimlerinin SEM görüntüleri.....	18
Şekil 2.5.	Sporların ozon uygulaması öncesi (a) ve sonrasındaki (b) yapısal değişimlerinin TEM görüntüleri.....	18
Şekil 3.1.	<i>Xcc</i> (sol) ve <i>A.brassica</i> (sağ) görüntüleri.....	20
Şekil 3.2.	Denemelerde kullanılan laboratuvar ölçekli atımlı elektrik alanı cihazının görüntüsü.....	21
Şekil 3.3.	Denemelerde kullanılan osiloskop cihazının görüntüsü	21
Şekil 3.4.	Atımlı elektrik alanı sisteminin basit bir gösterimi	22
Şekil 3.5.	Uygulama ünitesinin gösterimi	22
Şekil 3.6.	Osiloskopta atımlı elektrik alanı sistemine gönderilen dalga boylarının görüntüsü (A: 50 Hz, B: 170 Hz, C: 290 Hz).....	24
Şekil 3.7.	Ozon uygulamasının basit gösterimi	25
Şekil 3.8.	Çalışma kapsamında planlanan ve uygulanan deneysel akış planı	26
Şekil 3.9.	Soğuk uygulamaları öncesinde hazırlık aşamaları	31
Şekil 4.1.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumu yüzeyindeki TAMB sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.....	34
Şekil 4.2.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumu yüzeyindeki TMK sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.....	38
Şekil 4.3.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen <i>A. brassica</i> sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.....	40
Şekil 4.4.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen <i>Xcc</i> sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi	43
Şekil 4.5.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarının elektriksel iletkenliği üzerine etkisi.....	45
Şekil 4.6.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının soğuk test öncesi ve sonrasında tohumların çimlenmesi üzerine etkisi.	49
Şekil 4.7.	Atımlı elektrik alanı ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 50 Hz, 240 µs; C: 170 Hz, 60 µs; D: 170 Hz, 420 µs; E: 290 Hz, 240 µs)	53
Şekil 4.8.	Atımlı elektrik alanı ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 290 Hz, 60 µs; C: 170 Hz, 240 µs; D: 50 Hz, 420 µs; E: 290 Hz, 420 µs)	54
Şekil 4.9.	Atımlı elektrik alanı ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol, B: 290 Hz, 240 µs; C: 170 Hz, 420 µs; D: 50 Hz, 240 µs; E: 170 Hz, 60 µs)	55
Şekil 4.10.	Ozon uygulamalarının lahanaya tohumların doğal mikroflorasındaki TAMB sayısına (log kob/g) etkisi	56

Şekil 4.11. Ozon uygulamalarının lahanaya tohumların doğal mikroflorasındaki TMK sayısına (log kob/g) etkisi.....	60
Şekil 4.12. Ozon uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen <i>A. brassica</i> sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.....	63
Şekil 4.13. Ozon uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen <i>Xcc</i> sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.....	66
Şekil 4.14. Ozon uygulamalarının tohumların elektriksel iletkenliği üzerine etkisi	69
Şekil 4.15. Ozon uygulamalarının soğuk test öncesi ve sonrasında tohumların çimlenmesi üzerine etkisi.....	73
Şekil 4.16. Ozon ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: 16.5 g/m ³ , 40 dk; B: 24.5 g/m ³ , 27.5 dk; C: 16.5 g/m ³ , 15 dk; D: Kontrol; E: 8.5 g/m ³ , 27.5 dk)	77
Şekil 4.17. Ozon ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 24.5 g/m ³ , 40 dk; C: 16.5 g/m ³ , 27.5 dk; D: 24.5 g/m ³ , 15 dk; E: 8.5 g/m ³ , 40 dk; F: 8.5 g/m ³ , 15 dk)	78
Şekil 4.18. Ozon ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 8.5 g/m ³ , 27.5 dk; C: 16.5 g/m ³ , 40 dk; D: 16.5 g/m ³ , 15 dk).....	79

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1.	Ozonun fiziksel özellikleri.....	11
Çizelge 2.2.	Oksidasyon ajanlarının moleküler formülleri ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli.....	12
Çizelge 2.3.	Farklı ozon dozları ve sürelerde buğday tohumlarının ortalama çimlenme oranı (%).....	16
Çizelge 3.1.	Tohum nemlendirilmesi.....	26
Çizelge 3.2.	Tohumlarda patojen mikroorganizma inokülasyon protokolü.....	28
Çizelge 3.3.	Atımlı elektrik alanı uygulamaları için Box-Behnken deneme dizaynı	32
Çizelge 3.4.	Ozon uygulamaları için Box-Behnken deneme dizaynı.....	32
Çizelge 4.1.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının TAMB sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları.....	35
Çizelge 4.2.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının mikrobiyal inaktivasyon ve tohum kalitesi üzerindeki etkisi	37
Çizelge 4.3.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının TMK sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları.....	39
Çizelge 4.4.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarına inoküle edilen <i>A. brassica</i> sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları....	41
Çizelge 4.5.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarına inoküle edilen <i>Xcc</i> sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları	44
Çizelge 4.6.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarının 2 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları.....	47
Çizelge 4.7.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarının 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları.....	47
Çizelge 4.8.	Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları	50
Çizelge 4.9.	Atımlı elektrik alanı uygulamaları ve soğuk testinin lahanaya tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları...	51
Çizelge 4.10.	Ozon uygulamalarının TAMB sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları.....	57
Çizelge 4.11.	Ozon uygulamalarının mikrobiyal inaktivasyon ve tohum kalitesi üzerindeki etkisi	59
Çizelge 4.12.	Ozon uygulamalarının TMK sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları.....	61
Çizelge 4.13.	Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarına inoküle edilen <i>A. brassica</i> sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları	64
Çizelge 4.14.	Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarına inoküle edilen <i>Xcc</i> sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları	67

Çizelge 4.15. Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarının 2 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları...	70
Çizelge 4.16. Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarının 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları...	71
Çizelge 4.17. Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları	74
Çizelge 4.18. Ozon uygulamaları ve soğuk testinin lahanaya tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları	75



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

°C	: derece Celcius
dk	: dakika
f	: frekans
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
g	: gram
GRAS	: genel olarak güvenilir (Generally Recognized as Safe)
Hz	: hertz
k	: konsantrasyon
kg	: kilogram
µL	: mikrolitre
µs	: mikrosaniye
mL	: mililitre
n	: nem
OSHA	: İş Sağlığı ve Güvenliği Dairesi (Occupational Safety and Health Administration)
PCA	: Plate Count Agar
PDA	: Potato Dextrose Agar
PEF	: Pulsed Electric Fields
pv	: pathovar
spp	: türler
s	: saniye
SD	: standart sapma (standard deviation)
t	: süre
UV	: ultraviyole
J	: Joule
W	: Watt

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan, tezimin oluşmasında çok büyük katkısı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Gülsün AKDEMİR EVRENDİLEK'e,

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Sibel UZUNER'e,

Tez jüri üyeliğini kabul ederek katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. İlkey ŞENSOY'a,

Projeye finansal desteklerinden dolayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: 2016.09.04.1118),

Kongrelere katılım sağlamamda finansal desteklerinden dolayı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı'na,

Teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Tohum, sağlıklı ürün elde etmede önemli bir tarım girdisidir. Üründe kalite ve verimin sağlanmasında tohumun mikrobiyolojik özelliklerinin rolü büyüktür. Tohumdan ürün oluşumuna kadar geçen sürede toprak, su ve havadan kaynaklanan kontaminasyonlar, tohumun kalitesi üzerinde problemlere neden olmaktadır. Tohum kaynaklı hastalık etmenleri bitkisel üretimde kalite, verim ve çimlenme oranını önemli düzeyde etkilemektedir. Nitekim tüm Dünya ülkelerinde tohumların büyük bir kısmı patojen mikroorganizmalarla kontamine olduğu için kullanılamamaktadır. Patojen mikroorganizmaların düşük seviyede bir kontaminasyonunun bile bitkide büyük bir etki oluşturduğu, ayrıca Dünya’da her yıl 600 milyon insanın beslenmesi için yeterli olan 125 milyon ton ürünün yok olduğu belirtilmiştir. Özellikle ekonomik yönden önemli olan sebzeler, yağlı tohumlar, baharatlar ve yem ürünlerinin çoğunda *Alternaria* spp. görülmektedir (Belmas vd., 2018; Chandrashekar vd., 2015). Yaklaşık 3500 tür içeren Brassicaceae familyasında (lahana grubu sebzelerde) tespit edilen en önemli patojen mikroorganizmalardan olan *Alternaria* spp. ve *Xanthomonas* spp.’nin (Kolasinac vd., 2017; Vicente ve Holub, 2013) verimde sırasıyla % 47 (Prateeksha vd., 2017) ve % 50 (Tortosa vd., 2018) ürün kaybına neden olduğu açıklanmıştır.

Patojen mikroorganizmaların tohumlara zarar vermesini önlemek, tohumları hastalıklardan ve zararlılardan koruyabilmek amacıyla pek çok yöntem uygulanmaktadır. Tohum yüzeyindeki toprak kökenli mikroflora inaktivasyonu için en yaygın yöntem kimyasal uygulamasıdır. Hidrojen peroksit, trisodyum fosfat, etanol, kalsiyum hipoklorit tohum dezenfeksiyonunda kullanılan kimyasallardan bazılarıdır (Ding vd., 2013). Bununla birlikte, kimyasal zirai mücadelelerin kesintisiz ve sürekli uygulanması, hayvan ve insanlarda sağlık problemlerine neden olmakla birlikte çevreye de büyük zararlar vermektedir. Son yıllarda özellikle Batı’da çok sayıda sentetik böcek ilacı, yüksek ve akut toksisiteye neden olduğundan yasaklanmıştır. Buna rağmen Hindistan gibi gelişmekte olan ülkelerde kullanımı halen devam etmektedir. Birçok patojen mikroorganizma ve böcek zararlılarına karşı kimyasal zirai mücadele ilaçları kullanılmaktadır. Bu zararlı mikroorganizmalar, bitkilerin ve tarım ürünlerinin gelişimini ciddi olarak engellemektedir. Sentetik pestisitlerin ve

kimyasalların insan sağlığı ve evre üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle uygulamaların azaltılması gerekliliği anlaşılmıştır (Satish vd., 1999).

Tohum yüzeyinin dezenfeksiyonu sıcak su yöntemi (Vicente ve Holub, 2013), termal olmayan plazma yöntemi (Jo vd., 2014), ışınlama (Ding vd., 2013), yüksek basınç (Peñasa vd., 2010), elektrolize su (Kim vd., 2006), korona deşarj plazma jet (Puligundla vd., 2017) gibi farklı yöntemlerle incelenmiş ancak, uygulamaların mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin yetersiz olduğu anlaşılmıştır (Vicente ve Holub, 2013). Bu nedenle, tohum yüzeyi dezenfeksiyonunda evre ve insan sağlığını tehdit etmeyen ve tohum kalitesini muhafaza eden alternatif teknolojiler geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Atımlı elektrik alanı (Pulsed Electric Fields, PEF) mikrobiyal inaktivasyon sağlayan etkili bir yöntemdir ve gıdaların pastörizasyonunda, kalite özelliklerini muhafaza etmede ve raf ömrünü uzatmada başarılı sonuçlar alınmıştır. Sıvı yumurta (Hermawan vd., 2004), portakal suyu (Yeom vd., 2000) ve sütte (Jeyamkondan vd., 1999) raf ömrünü arttırdığı belirtilmiştir. Ayrıca, taze şeker kamışı suyunun mikrobiyal içeriği, kimyasal özellikleri, besin içeriği ve raf ömrüne olumlu etkileri olduğu görülmüştür (Kayalvizhi vd., 2016). Kayısı ve şeftali nektarlarının pastörize edilmesinde, aroma aktif bileşiklerin minimum kaybıyla başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Evrendilek, 2016). PEF teknolojisi, geleneksel ısıl işlemlere göre hem fiziko-kimyasal ve duyuşal özellikler daha iyi korunmakta hem de daha az enerji harcanmaktadır (Au vd., 2014). PEF uygulamaları, mikrobiyal ve enzim inaktivasyonunu sağladığı için yapılan çalışmaların sayısı artmakta ve gıda endüstrisinde geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. Fakat, PEF teknolojisinin tohum yüzeyinin dezenfeksiyonuna ilişkin çalışmalar literatürde oldukça sınırlıdır.

Ozon, suların arıtılmasında (Uzun, 2011) ve meyve-sebzelerin yüzeyi dezenfeksiyonunda (Koukounaras vd., 2016) etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, yumurtanın raf ömrünü uzatmak (Yüceer vd., 2016) ve çiğ sütün kalite özelliklerini belirlemek (Cavalcante vd., 2013) amacıyla da kullanıldığı bilinmektedir. Tahılların depolandığı silolarda kf gelişiminin engellenmesi (Santos vd., 2016), ördek ve tavuk göğsü filetolarında mikrobiyal inaktivasyonun sağlanması yönünde çalışmalar yapılmıştır. 1997 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından GRAS statüsüne alınması ve gıda uygulamalarında antimikrobiyal ajan olarak kullanımının

onaylanması ile ozon uygulamalarına olan ilgi artmıştır (Muhlisin vd., 2016). Ozonun en büyük avantajı, atık ve yan ürün oluşturmaması ve ekonomik olmasıdır. PEF teknolojisinde olduğu gibi ozon uygulamalarının farklı amaçlarla kullanımı söz konusu olmakla birlikte, tohum yüzeyinde mikrobiyal inaktivasyonun sağlanması amacıyla kullanımı ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu nedenle bu çalışmanın amaçları;

- Sebze tohumlarının (lahana) yüzey dezenfeksiyonu amacıyla farklı uygulama parametreleri altında PEF ve ozon etkinliğinin test edilmesi
- PEF ve ozon uygulamalarının tohumların doğal mikroflorası üzerindeki etkisinin belirlenmesi
- PEF ve ozon uygulamalarının tohumlara kontamine edilmiş olan patojen mikroorganizmalar (*Alternaria brassica* ve *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris*) üzerindeki etkisinin belirlenmesi
- PEF ve ozon uygulamaları sonrasında tohumların kalite özelliklerindeki değişimlerin tespit edilmesidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Kara Lahana Tohumu

Kara lahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*); brokoli, karnabahar, brüksel lahanası, kırmızı lahana gibi çok sayıda türün bulunduğu Brassicaceae veya Cruciferae ailesinin bir üyesidir (Kent vd., 2016). Avrupa'da bütün bir yıl boyunca, Türkiye'de ise yılın 10 ayında yetiştirilmekte ve pazara sunulmaktadır. Soğuk iklim sebzesi olan kara lahana güz başı ve ilkbahar sonu arasında dönemlerde yetiştirilirse en verimli ürün elde edilir. Yaz aylarında sıcaklığın artması ile birlikte ürün kalitesi olumsuz etkilenmektedir (Anonim, 2011). Dolayısıyla, sebzenin mevsiminde tüketimi gıdanın besleyici özellikleri açısından da önem teşkil etmektedir. Besin değerinin yüksek olması nedeniyle önemli bir gıda kaynağı olarak tüm Dünya'da yetiştirilmektedir (Villett vd., 2016; Sotelo vd., 2015).

Vitamin ve mineral açısından çok zengin olmakla beraber yeşil klorofil pigmentleri içinde bol miktarda β karoten, askorbik asit (vitamin C) ve kalsiyum içerir. Yaprakları koyulaştıkça β karoten miktarı artar. Özellikle kanser ve kalp hastalıklarında antioksidan ve fotokimyasal etkisi nedeniyle çok faydalıdır. İçerisinde az miktarda sodyum ve yağ bulunan kara lahana, insanların günlük besin ihtiyacını karşılamak açısından oldukça zengin bir sebzedir. Yüz gr kara lahana bitkisinde 5.69 g karbonhidrat, 2.45 g protein, 0.42 g yağ, 91.4 g su ve 1 g selüloz bulunmaktadır (Yıldız, 2015).

2.2 Kara Lahana Tohumlarında Bulunan Önemli Patojen Mikroorganizmalar

Dünya çapında üretimi sınırlandıran, verimde düşüğe neden olan faktörler arasında patojen mikroorganizma kaynaklı hastalıklar yer almaktadır. Çalışma kapsamında bakteri ve fungal kaynaklı olmak üzere 2 farklı patojen mikroorganizmanın inaktivasyonuna yönelik araştırmalar yapılmıştır.

2.2.1 *Alternaria brassica*

Deuteromycetes üyesi olan *Alternaria* birçok saprofitik, endofitik ve patojen türleri içermektedir. Ekonomik ve yaygın olarak üretilen bitki türlerinde önemli fungal hastalıklara neden olduğu bilinmektedir. Özellikle *Alternaria brassica*, tohumda nitel ve nicel verim kaybına neden olan en yıkıcı mantar hastalıklarından biri olarak literatürde yer almaktadır (Ayuke vd., 2017; Saha vd., 2016). Tohum yüzeylerindeki kontaminasyon ise tohum gücünü ve çimlenme oranını etkilemektedir. Brassicaceae familyasında *A. brassica*'nın neden olduğu küf oluşumu, bitkinin yapraklarında siyah lekelerin ortaya çıkması ile belirlenmektedir (Rombouts, 2017). Avrupa'da bu patojen mikroorganizma nedeniyle *Brassica oleracea* tohumu veriminin % 86 oranında zarara uğradığı tahmin edilmektedir. Kolombiya'da ise Brassicaceae tohumları üretiminde % 30 oranında kayıp görülmüştür. Hindistan'da karnabahar ve lahananın yetiştirildiği bölgelerde verim kaybı % 5-30 arasındadır (Saha vd., 2016).

2.2.2 *Xanthomonas campestris pathovar campestris*

Xanthomonas campestris pathovar campestris (*Xcc*), gram negatif patojen bir bakteridir. Brokoli, lahana, karnabaharı içeren turpgil ailesindeki pek çok bitkiyi enfekte etmektedir. Bu etki tarımsal verimde Dünya çapında ciddi kayıplar meydana getirmektedir. *Xcc*'in sebep olduğu siyah damar çürüklüğü hastalığı en fazla probleme neden olan bakteriyel bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Villett vd., 2016).

Xcc'in neden olduğu hastalık ilk kez 1895'te ABD'de şalgamlarda ortaya çıkmıştır. 1904-1921 yıllarında patojen olan bu bakterinin tohum kaynaklı olduğu ve hastalığın tohumla yayıldığı tespit edilmiştir. *Xcc* için optimum gelişme sıcaklığı 25-30°C iken, minimum ve maksimum gelişme sırasıyla 5°C ve 35°C'de gerçekleşmektedir. Optimum nem oranı ise % 80-100 olarak görülmektedir. Tohum kaynaklı patojen bakteri olan *Xcc*, tarım ürünleri yetiştiriciliğinin yapıldığı ülkelere tohumla taşınmıştır (Mirik vd., 2008).

2.3 Atımlı Elektrik Alanı (Pulsed Electric Fields, PEF)

Şehir şebekesinden alınan elektrik akımının sinyal jeneratörü yardımıyla belirlenen frekansa dönüştürülmesi sağlanır. Frekans ayarlaması yapıldıktan sonra PEF ünitesine elektrik akımı gönderilir ve proses gerçekleştirilir (Vito, 2006). PEF prosesi, paralel iki elektrot arasına yerleştirilmiş olan tohumlara kısa dalga boylu düşük voltajlı (1-20 kV/cm) elektrik akımının periyodik olarak uygulanması ile gerçekleştirilir. Yumuşak dokuya sahip meyveler için 0.1-10 kV/cm elektrik alan şiddeti yeterli olabilmektedir, ancak tohum gibi sert dokulu materyallerde etkili olmadığı belirtilmiştir. Bu nedenle, tohumlarda 10-20 kV/cm elektrik alan şiddeti uygulamasının başarılı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, atım süresi (ms-µs) ve frekans (Hz, saniyede uygulanan atım sayısı), atım şekli (pulse shape) (tek/çift kutuplu, kare/üstel bozunma), enerji miktarı (kJ/kg) da uygulamanın etkinliğini belirleyen diğer önemli parametrelerdir (Puertolas ve Barba, 2016; Sharma vd., 2014).

2.3.1 PEF Uygulamasının Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması

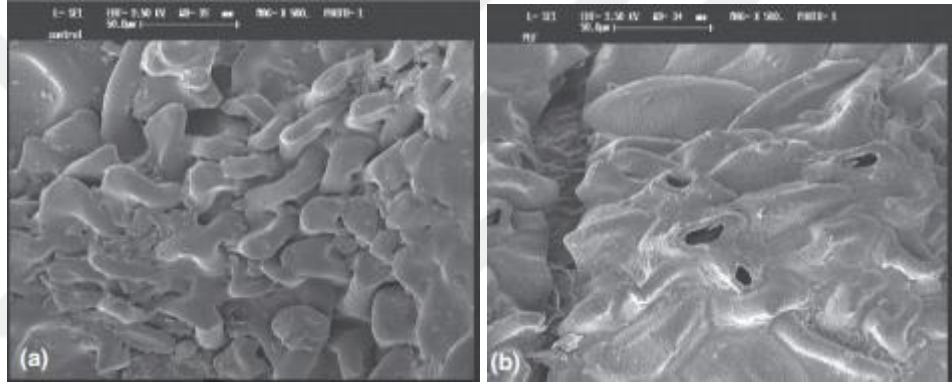
Mikrobiyal inaktivasyon, temelde dielektrik yıkım ve elektroporasyon kavramları ile açıklanabilir (Sharma vd., 2014; Vito, 2006). Elektroporasyon kısaca açıklayacak olursak hücrenin geçirgen duruma gelmesidir. PEF uygulamasına maruz kalan materyalde ilk etkilenen organel hücre zarıdır. Düzenli bir yapıda olan bu zar, mikroorganizmayı dış ortam koşullarına karşı korur, hücre içerisine ihtiyaç duyulan maddeleri alırken, metabolik faaliyetler sonucunda oluşan atıkların hücre dışına çıkmasını kontrol eder. Elektroporasyon sonucunda hücre zarının yarı geçirgen yapısı geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz olarak zarar görür (Puertolas ve Barba, 2016). Net yük dengesi bozulur, madde alışverişi kontrol edilemediğinden sızıntılar oluşur. Hücre zarının yapısında bulunan öğelerden özellikle çift katmanlı yağ tabakası, serbest iyonlar, protein kanalları elektrik akımına karşı duyarlıdır. Elektrik akımı uygulandığında yağ tabakalarının formunda değişiklikler olmaktadır. Protein kanallarında açılmalar olur, protein denatürasyonu gerçekleşir. Bu durum hücrenin inaktivasyonuna neden olur (Jeyamkondan vd., 1999; Castro vd., 1993).

Dielektrik yıkım kavramını şöyle açıklayabiliriz: Hücre zarının iki tarafına dizilmiş olan iyonlar ile lipid tabakası bir kondansatör (kapasitör) oluşturur. Hücre zarının lipid tabakası dielektrik özelliğe (yalıtkan) sahiptir (Jaeger ve Jung, 2014). Seçici geçirgen olan hücre zarının iç ve dış yüzeylerindeki (+) ve (-) yüklü iyonlar elektrik akımı uygulaması sonrasında zardan geçer, iyon (yük) dengesi bozulur. Hücre zarının kritik transmembran potansiyeli 0.1 V iken elektrik akım uygulaması sonrasında transmembran potansiyeli 1 V olduğunda, hücre zarının geçirgenlik derecesi değişir. Geçirgenlik derecesi, elektrik akım şiddeti ve uygulama süresine bağlıdır (Vito, 2006). Genel olarak 2-20 kV/cm aralığındaki elektrik alan şiddeti ve ns, μ s gibi kısa sürelerde atımlı elektrik akımına maruz kalan hücre zarında transmembran potansiyel (elektriksel potansiyel fark) oluşur. Uygulamada elektrik alan şiddeti, kritik transmembran potansiyelinden yüksek olduğunda mikrobiyal inaktivasyon gerçekleşir. Hücre zarı yaklaşık 1-10 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 20 ns ile 10 ms süre elektrik akımı maruz kaldığında, hücre zarında geri dönüşümlü bir hasar meydana gelir. Elektrik akımı uygulaması son bulduğunda hücre zarı ilk haline dönebilir. Ancak uygulama, 10-15 ms'den daha uzun sürerse hücre zarında geri dönüşümü olmayan, kalıcı bir hasar meydana gelir (Castro vd., 1993).

2.3.2 Partikül Halindeki Ürünlerde PEF ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Guderjan vd. (2007) yüksek yağ oranına sahip kabuklu ve kabuksuz kolza tohumlarında atımlı elektrik akımının etkisinin incelenmesi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Takribi % 50-60 nem içeriği kazandırılan tohumlardan yağ ve fonksiyonel gıda bileşenlerinin elde edilmesinde 5-7 kV/cm elektrik alan şiddeti ve 60-120 atım uygulamalarının etkili olduğu belirtilmiştir. PEF uygulaması sonrasında kabuksuz tohumların kabuklu tohumlara göre daha yüksek membran geçirgenliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yağ verimi yönünden her iki tohum çeşidinde de etkili olan uygulama, özellikle kabuksuz tohumlarda daha avantajlı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, PEF uygulamasının kolza tohumu yağının doymamış özellikleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir. PEF uygulamalarının antioksidan kapasitelerine etkisine bakıldığında hem kabuklu hem de kabuksuz kolza tohumlarında % 11-13 oranında artış sağladığı tespit edilmiştir.

PEF teknolojisinin siyah kimyon tohumu yağının ekstraksiyonu, fiziksel özellikleri, oksidatif kararlılığı ve kimyasal bileşimleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elektrik alan şiddetinin 3.25 kV/cm, atım sayısının 30 olduğu uygulamada, yağ ekstraksiyonunun hızlı ve verimli hale getirildiği belirtilmiştir. PEF uygulaması ile hücre duvarında oluşan hasarın, ekstraksiyonu kolaylaştırdığı belirlenmiştir. PEF uygulamasının siyah kimyon tohumlarında yağı ekstrakte etmenin yanı sıra fiziksel özellikler, oksidatif kararlılık ve kimyasal bileşim açısından da olumlu etkisi tespit edilmiştir. PEF teknolojisinin siyah kimyon tohumu yüzeyindeki etkisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir (Şekil 2.1). Uygulama sonrasında tohum yüzeyinin önemli derecede tahribata uğradığı tespit edilmiştir (Bakhshabadi vd., 2018).



Şekil 2.1. (a) Siyah kimyon tohumlarının uygulama öncesi (kontrol) SEM görüntüleri, (b) PEF uygulamasına maruz kalan siyah kimyon tohumu örneklerinin SEM görüntüleri.

Keten tohumları polifenol ekstrakte etmek amacıyla PEF uygulamasına maruz bırakılmıştır. Uygulama 10, 15 ve 20 kV/cm olmak üzere üç farklı elektrik alan şiddetinde gerçekleştirilmiştir. Elektrik alan şiddetinin düşük olması durumunda ekstrakte edilen polifenol miktarının da düşük olduğu belirtilmiştir. Uygulama süresi arttığında ise polifenol ekstraksiyonunun arttığı tespit edilmiştir. Nitekim 20 kV/cm elektrik alan şiddetinin 10 ms uygulanmasıyla polifenollerin % 80'i ekstrakte edilebilmiştir (Boussetaa vd., 2014).

Kurutulmuş şarap mayasının (*Saccharomyces cerevisiae*) PEF ile muamele edildikten sonra inaktivasyonunun incelendiği bir çalışmada elektrik alan şiddeti arttıkça hücrelerin ölüm oranı (L değeri) da artmıştır, elektrik alan 25 kV/cm

düzeylerine ulaştığında ise L değerinin 0.84 olduğu görülmüştür. Hücrelerin subletal oranı (S değeri) ise 10 kV/cm'lik elektrik alan şiddetine kadar artmış ve 0.89 olarak belirtilmiş, 10-30 kV/cm elektrik alan şiddetine maruz kalan hücrenin S değeri azalırken 30 kV/cm'den daha yüksek elektrik alan şiddetindeki PEF uygulamalarında ise S değeri sabit kalmıştır. Uygulama süresi arttığında 1.2-4.8 ms aralığında L değeri 0.21'den 0.92'ye yükselmiş, S değeri 0.39'dan 0.05'e düşmüştür. Aynı zaman aralığında L değerinde sürekli bir artış, S değerinde ise sürekli bir azalma görülmüştür. Sonuç olarak PEF uygulamasının elektrik alan şiddeti ve süre dikkate alındığında *S. cerevisiae* inaktivasyonunda etkili olduğu saptanmıştır (Wang vd., 2015).

Ayçiçeği tohumlarından ekstrakte edilen yağın verimliliğini arttırmak amacıyla PEF uygulamasından yararlanılmıştır. Yapılan çalışmada 55 farklı uygulama sonucunda en yüksek yağ veriminin elektrik alan şiddeti 7 kV/cm, frekans 1.5 Hz, uygulama süresi 90 s, atım genişliği 30 µs parametreleri ile % 9 arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, ayçiçeği tohumunun dokusunun da PEF uygulamasından etkilendiği ve elektroporasyon oranının 7 kV/cm elektrik alan şiddetinde en yüksek orana (% 41) ulaştığı belirtilmiştir (Shorstki vd., 2015).

Elektrik alan uygulamalarının domates tohumlarında çimlenme kabiliyetini etkileyebileceği düşünülerek farklı çalışmalar yapılmış ve tohumların yüksek yoğunluktaki elektrik alana maruz kalmasıyla çimlenme oranının arttığı belirtilmiştir. Çimlenme oranı % 92 olan kontrol grubundaki tohumlara 2 kV/mm elektrik alan şiddetinin 20 s süresince uygulanması tohumların çimlenme oranını % 100'e çıkarmıştır. Elektrik alan uygulamasının tohum kalitesi ve depolama süresini iyileştirici etkisinin olduğu belirtilmiştir (Patwardhan ve Gandhare, 2013).

PEF uygulamasının pirinç tohumlarının çimlenmesine olan etkisi araştırılmış ve yapılan incelemelerde en yüksek çimlenme yüzdesi 30 kV-50 atım sayısı ve 20.1 kV/cm elektrik alan şiddetinde gözlenmiştir. Kontrol tohumlarının çimlenme yüzdesi % 60 iken, PEF uygulamasına maruz kalmış tohumların çimlenme yüzdesi en yüksek % 78 düzeyinde bulunmuştur. Uygulamalarda 20 kV-50 atım sayısı ile 20 kV-20 atım sayısının uygulandığı tohumlar karşılaştırıldığında atım sayısının artması ile çimlenme yüzdesinin arttığı belirtilmiştir. Sonuçta uygulamanın parametreleri geliştirilerek çimlenme yüzdesinin artırılması sağlanmıştır (Gowrishankar ve Gowri, 2013).

İsviçre’de yapılan bir çalışmada PEF uygulamasının maltlık arpa tohumlarının çimlenme gücü üzerindeki etkisi test edilmiş ve 275-1000 V/cm aralığındaki elektrik alan şiddetlerinde gerçekleştirilen uygulamanın genel olarak tohumların çimlenme gücünde istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığı belirtilmiştir. Bir ms darbe genişliği ve 1200 V/cm elektrik alan şiddetinin tohumun çimlenmesinde azalmaya neden olduğu saptanmıştır (Dymek vd., 2012).

PEF uygulamasının mısır tanelerinin fitosterol ve yağ verimi üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada ise 0.6 kV/cm elektrik alan şiddeti, 2 Hz frekans ve 1 dk uygulama süresinde fitosterol veriminin % 32, yağ veriminin ise % 88 arttığı belirtilmiştir. Ayrıca, PEF uygulamalarının mısır tanelerinde membran hasarına neden olduğu tespit edilmiştir. Uygulamanın tohumda oluşturduğu hasarı etkileyen önemli faktörü olarak nem oranı da gösterilmiştir. Çalışmada % 66.7 nem içeriğine sahip mısır tanelerinin membranında % 29.7 hasar tespit edilmişken, % 33.2 nem içeriğindeki tohumlarda % 8.9 oranında membranda hasar olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla nem miktarı arttıkça elektroporasyon etkisinin arttığı belirtilmiştir (Guderjan vd., 2005).

Tohumların verimliliğini arttırabilmek amacıyla yapılan bir çalışmada fasulye tohumları *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Mucor* spp. ile kontamine edildikten sonra elektrik alanına maruz bırakılmıştır. Tohumlara uygulanan elektrik alan şiddeti 2-16 kV/cm, uygulama süresi 1-30 sn aralığındadır. Uygulama sonrasında tohumların % 99’unun çimlendiği saptanmıştır. Elektrik alanı uygulanmış tohumların kontrole (uygulama yapılmamış tohumlara) göre 10 kat daha iyi derecede ve daha hızlı çimlendiği belirtilmiş ve 12 kV/cm’lik elektrik alan şiddetinin 10 sn boyunca uygulanmasının tohum yüzeyindeki patojenlere karşı en iyi etkiyi gösterdiği ve tohum yüzeyinin inoküle edilen mikroorganizmalardan arındığı saptanmıştır (Morar vd., 1999).

2.4 Ozon

Türk Dil Kurumu’na göre ozon; molekülünde üç atom bulunan oksijenden oluşan, ağır kokulu, gaz durumundaki basit elementtir. Atmosferde doğal olarak bulunmaktadır (Yıldız ve Yangılar, 2014). Gaz haldeyken mavi renkli olan ozon, sıvı ve katı halde ise opak mavi-siyah renkte olmaktadır. Katı, sıvı ve gaz halinde olması

sebebiyle kararsız bir maddedir. Suda kısmen çözünebilen ozon, çözünürlüğü sıcaklıkla ters orantılı olarak değişkenlik göstermektedir (Çatal ve İbanoğlu, 2010; Ekici vd., 2006).

Çizelge 2.1. Ozonun fiziksel özellikleri (Çatal ve İbanoğlu, 2010; Ekici vd., 2006)

Fiziksel Özellikler	Değerler
Kaynama Noktası	-111.9°C
Yoğunluk	2.14 kg/m ³
Oluşma Isısı	144.7 kJ/mol
Erime Noktası	-192.7°C
Molekül Ağırlığı	47.9982 g/mol
Oksidasyon Kuvveti	2.075 V
Özgül Ağırlık	1.658
Kritik Basınç	54.6 atm
Kritik Sıcaklık	-12.1°C

OSHA (Occupational Safety and Health Administration) tarafından 0.01-0.05 ppm ozonun hissedilir bir değer olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, 0.1 ppm ozona en fazla 8 saat, 0.3 ppm ozona ise en fazla 1.5 dakika maruz kalınması gerektiği, 1700 ppm'den daha yüksek ozonun birkaç dakika içerisinde ölümcül sonuçlara neden olacağı bildirilmiştir. Dolayısıyla ozona maruz kalma süresi ve ozon konsantrasyonları önem arz etmektedir (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Ozon, oksidasyon potansiyelinin yüksek (2.07 V) olması sebebiyle gıda endüstrisinde en fazla kullanım alanı bulan dezenfektandır. Birçok ülkede ozon uygulamasının GRAS (Generally Recognized as Safe, genellikle güvenilir olarak kabul edilen) olarak kabul edilmesi ile gıda sanayinde kullanımı yaygınlaşmaktadır (Yıldız ve Yangılar, 2014).

Çizelge 2.2. Oksidasyon ajanlarının moleküler formülleri ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli (Kim vd., 2003).

Oksidasyon Ajanı	Moleküler Formülü	Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli (V)
Flor	F ₂	2.87
Ozon	O₃	2.07
Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂	1.78
Potasyum Permanganat	KMnO ₄	1.70
Hipobromik Asit	HOBr	1.59
Hipoklorik Asit	HOCl	1.49
Klor	Cl ₂	1.36
Klor Dioksit	ClO ₂	1.27
Oksijen	O ₂	1.23
Kromik Asit	H ₂ CrO ₄	1.21
Brom	Br ₂	1.09
Nitrik Asit	HNO ₃	0.94

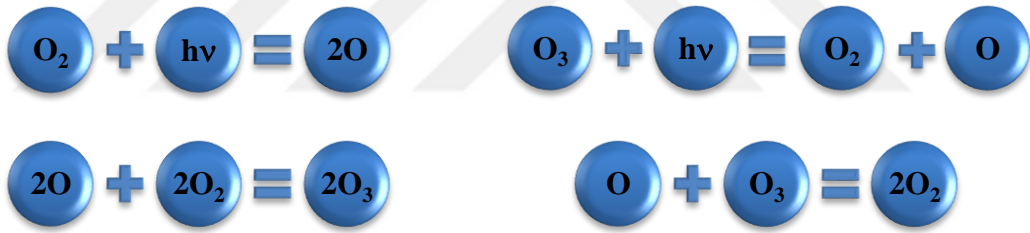
Çizelge 2.2’de oksidasyon ajanlarından bazılarının oksidasyon redüksiyon potansiyelleri gösterilmiştir. Florun oksidasyon potansiyeli ozondan yüksek olmasına rağmen, endüstriyel kullanım alanlarına baktığımızda ozonun etkin bir şekilde kullanıldığı görülmektedir. Bunun nedeni, ozon tabakasının delinmesine neden olan maddelerden biri olmasıdır. 2007 yılında BM Montreal Protokolü’nün 20. yılı için düzenlenen konferansta ozon tabakasına zarar veren gazların kullanımına yönelik bir anlaşma yapılmıştır. Bu anlaşmada, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler sırasıyla 2030 ve 2040 yılına kadar, ozon tabakasına zarar veren hidrokloroflorokarbonların kullanımının yasaklamasına karar verilmiştir (Çetin, 2008). Dolayısıyla flordan sonra en yüksek oksidasyon potansiyeline sahip olan ozonun kullanımı ön planda olmuştur.

Klorun gıda endüstrisinde dezenfeksiyon amaçlı kullanımının yaygın olduğu bilinmektedir. Mikrobiyal inaktivasyon açısından değerlendirildiğinde 1-2 log kob/g azalma sağlayan klorun kısıtlı bir etkisinin olduğu belirtilmiştir. Ozon, klora kıyasla hem oksidasyon potansiyelinin güçlü olması hem de mikrobiyal inaktivasyonda daha

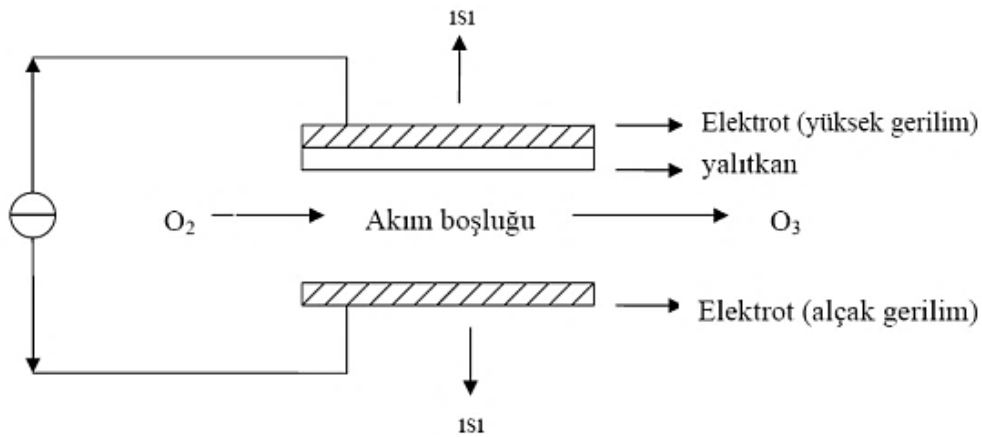
etkili olması nedeniyle önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Ayrıca, ozon çevrede herhangi bir atık ya da kalıntı oluşturmazken (Yıldız ve Yangılar, 2014); klorun tıpkı flor gibi ozon tabakasına zarar verme durumu söz konusudur (Çetin, 2008). Dolayısıyla ozon dezenfeksiyon amacıyla en makul madde olarak endüstride kullanım alanı bulmaktadır (Yıldız ve Yangılar, 2014).

Ozon ilk olarak 1839 yılında Christian Fredrick Schönbein tarafından keşfedilmiştir. 1907 yılında belediyeye ait bir su rezervinde ilk ticari uygulaması gerçekleştirilmiştir (Seydim vd., 2004). Suda kısmen çözünebilen bir madde olan ozon, havadan (% 1-2) ve saf haldeki oksijenden (% 2-4) üretilmektedir (Oğuz ve Çelik, 2001). Ozon 10-20 kV elektriksel potansiyelin olduğu bir sistemde oksijen ya da havanın iki elektrot arasından geçişinin sağlanması ile elde edilir. Böylece ozonu yapay olarak üretmek mümkün olmaktadır.

Ozon ve oksijen arasındaki ilişkiyi gösteren kimyasal denklemler Şekil 2.2’de belirtilmiştir. Denklemlerde h sembolü Plank sabitini, v sembolü ise UV-B ışının frekansını göstermektedir.

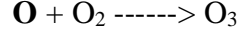
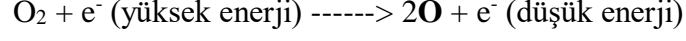


Şekil 2.2. Ozon oluşumu (sol) ve parçalanması (sağ).



Şekil 2.3. Korona akım metodu (Yıldız ve Yangılar, 2014).

Ozon üretim yöntemlerinden biri olan korona akım metodu geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu yöntemde şekilde görüldüğü gibi iki farklı gerilimdeki elektrotlar kullanılmaktadır ve paralel elektrotlar arasında elektriksel bir alan oluşmaktadır. Oksijen molekülünün oluşan elektriksel alandan geçirilmesi ile ozon üretimi gerçekleşmektedir (Şekil 2.3).



Ozon elde edilmesinde kullanılan jeneratörden saf oksijen ya da oksijence zengin hava geçirilerek sistemin daha etkin çalışması sağlanabilir. Jeneratör, oksijen molekülünü (O_2) atomlarına ayırdıktan sonra mevcut atomlardan (O) her birini yeni bir oksijen molekülüne bağlayarak ozon (O_3) oluşumunu sağlar. Jeneratörde gerçekleşen tepkimelerde oluşan ısı, ozon gazının oksijene dönüşmesine neden olacaktır. Bu durumu önlemek amacıyla sisteme soğutucu ekipman eklenebilir (Perincek, 2006).

Herhangi bir kalıntı veya yan ürün bırakmadan oksijene dönüşümü mümkün olan ozon, bu özelliğiyle çevre dostu bir dezenfektan olarak endüstride önemli bir potansiyel teşkil etmektedir. Ayrıca, oda koşullarında ozonun yarılanma süresi 20 dk olduğundan depolanması imkansızdır. Dolayısıyla ozon üretimi, kullanım sırasında gerçekleştirilmelidir (Korkut, 2016). Ozonun en belirgin özelliği, tohum yüzeyindeki kontaminantlara karşı düşük toksisitede etki etmesidir. Çimlenme performansını muhafaza etmesi de ozon uygulamasının bir diğer özelliğidir (Marique vd., 2012).

2.4.1 Ozon Uygulamasının Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizmasına Etkisi

Ozonun yüzey dezenfeksiyonunda etkili olduğu iyi bilinmektedir (Marique vd., 2012). Ozon, mikrobiyal inaktivasyonda, mikotoksinleri yok etmede etkili ekonomik, çevreye zarar vermeyen doğal bir dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Tiwari vd., 2010). Güçlü bir oksidatif madde olarak ozon gazı hem gram pozitif, gram negatif bakterilere, mantarlara, virüslere, protozoalara hem de bakteriyel ve fungal spora karşı etkilidir (Piemontese vd., 2018; Marique vd., 2012). Ozon etkinliğini daha iyi

belirlemek amacıyla uygun mikroorganizma ya da sporla inokülasyon çalışmaları yapılmalıdır (Kim vd., 2003).

Moleküler ozon ya da serbest radikallerin bozunması durumunda mikroorganizmaların inaktivasyonu sağlanmış olur. Ozonun organik bileşenlerle doğrudan reaksiyonu genelde uzun zaman aldığından pek çok ozon uygulaması radikal-zincir reaksiyonu ile ilişkili olarak gerçekleşmektedir. Bu sayede mikroorganizmalar, radikallerin etkisiyle daha kısa sürede inaktive edilmektedir (Kim vd., 2003). Ozonun etkinliği; moleküler yapı, serbest radikallerin singlet oksijen gibi reaktif türler ile ilişkilidir. Mikroorganizmaların hücre zarında bulunan doymamış lipitler, gram negatif bakterilerin lipopolisakkarit tabakası, intraselüler enzimler, mikroorganizma genetik materyali gibi hücrenel bileşenler, ozon uygulamalarından etkilenir. Bakterilerin hücre zarında bulunan lipitlerin oksidasyonuna neden olur. Oksidasyon arttıkça intraselüler hücre içeriğinde sızıntılar meydana gelir, genetik materyalde hasar görülür, hücrenin ölümü gerçekleşebilir (Kim vd., 2003).

2.4.2 Partikül Halindeki Ürünlerde Ozon İle İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Ozon uygulamalarının buğday tanelerinde toplam bakteri, maya ve küf inaktivasyonunda önemli düzeyde azalma sağladığı belirtilmiştir. Altı farklı ozon uygulamasının (12 saat, 32.5 g O₃/h; 12 saat, 48 g O₃/h; 16 saat, 32.5 g O₃/h; 6 saat, 55 g O₃/h; 8 saat, 55 g O₃/h; 10 saat, 55 g O₃/h) gerçekleştirildiği çalışmada bakteri, maya ve küf sayılarının uygulamaların tümünde azaldığı saptanmış, 55 g O₃/h ile 6 saat sonunda bakteri sayısında 1.76 log kob/g ve 55 g O₃/h ile 10 saat sonunda ise maya-küf sayısında 3.5 ve 2.75 log kob/g azalma tespit edilmiştir (Piemontese vd., 2018).

Fusarium türlerinde ozon tedavisinin etkinliğini değerlendirmek ve arpa tohumu çimlenmesindeki etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada; 40 ve 60 mg/kg O₃ ile 30, 60, 120 ve 180 dk süren uygulamalarda *Fusarium poae* için % 93.3 ve *Fusarium graminearum* için % 92.6 oranında azalma sağladığı saptanmıştır. Arpa tohumunun çimlenmesi üzerine ozonun etkili olmadığı belirtilmiştir (Piacentini vd., 2017).

Ozonun buğday tohumlarının çimlenme kabiliyetleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada tohumların başlangıçta çimlenme gücünün % 69 olduğu belirtilmiştir. En etkili ozon uygulaması 16.8 ve 18.9 gs/m³ ozon konsantrasyonuna maruz bırakılan tohumlarda çimlenmenin 14. gününde görülmüştür. Bu koşullarda çimlenme oranının % 69'dan % 91'e yükseldiği saptanmıştır (Çizelge 2.3) (Avdeeva vd., 2016).

Çizelge 2.3. Farklı ozon dozları ve sürelerde buğday tohumlarının ortalama çimlenme oranı (%)

Ozon Dozu (gs/m ³)	Uygulama Süresi (24 saat)			Ortalama Çimlenme Oranı (%)
	0.gün	7.gün	14.gün	
2.1	72.0	72.5	71.3	71.9
8.4	82.0	81.0	84.0	82.3
9.9	83.0	81.0	84.0	82.7
10.5	83.0	81.0	84.0	82.7
12.6	87.0	87.0	88.7	87.6
14.7	87.0	87.0	90.0	88.0
16.8	88.0	88.0	91.0	89.0
18.9	88.0	88.0	91.0	89.0
19.8	72.0	73.5	73.3	73.2

Alpin bitkisi tohumunun çimlenmesi üzerine yaz sıcakları ile ozon konsantrasyonlarının etkisi incelenmiş ve tohum çimlenme sırasında farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde ozon uygulanmıştır (5 ve 10 gün boyunca 125 ppb; 5 gün boyunca 185 ppb). Araştırma sonucuna göre yüksek konsantrasyonda ozon uygulaması ilk çimlenme süresini geciktirmiş, ortalama çimlenme süresini uzatmış ve çimlenme yüzdesini düşürmüştür. Ancak uygulamadan 3 hafta sonra ozonun etkili olmadığı belirlenmiştir. Dört tür tohumda yapılan ozon uygulaması ölüm oranını arttırırken, çimlenme üzerindeki etkisi genelde tohumun uygulamaya maruz kaldığı süre ile sınırlıdır. Ozonun alpin bitkisi tohumuna direkt etkisine bakıldığında, çimlenme sırasında bitkinin performansını çok az etkilediği belirtilmiştir (Abeli vd., 2017).

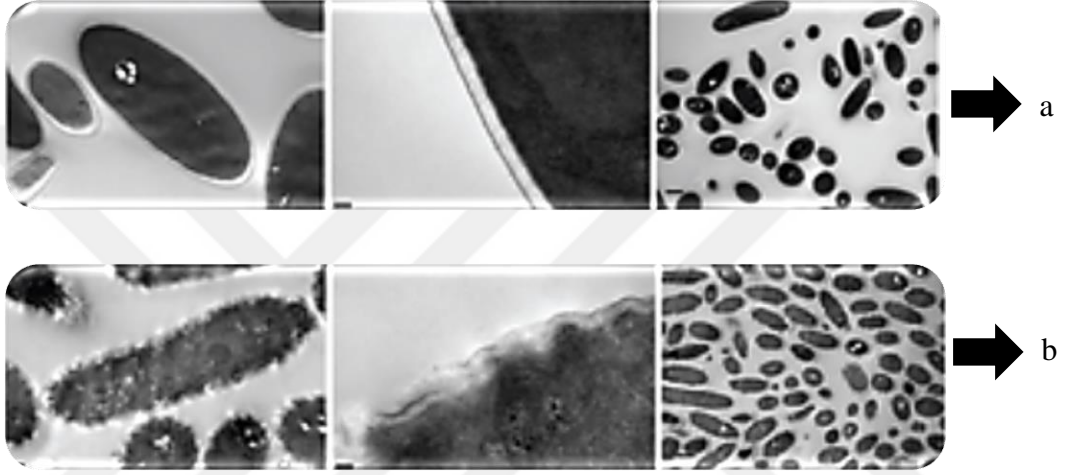
Las Villas Merkez Üniversitesi Marta Abreu Tarımsal Araştırma Merkezi (CIAP) Böcek Patolojisi Laboratuvarı'nda, ozon (O₃) muamelesinin *Sorghum bicolor* (L.) Moench tohumlarının canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. Çimlenme testi, elektriksel iletkenlik testi ve fidan büyüme oranı testi sonuçları değerlendirilmiş ve 48 saatlik işlemden sonra elektriksel iletkenlik düşükken, 72 saatlik işlemden sonra elektriksel iletkenliğin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Kök ve sürgün uzunluğu ozondan etkilenmemiştir. Ozon, çimlenme yüzdesini arttırmıştır, ancak *S. bicolor* tohumlarının canlılığını etkilememiştir (Montalvo vd., 2017).

Savi vd. (2014) ozon uygulamasının buğday tohumu mikroflorasında bulunan *Fusarium graminearum*'a karşı etkisini incelemek için bir çalışma yapmışlardır. Ozonun buğday tohumunda bulunan *F. graminearum*'un inaktivasyonunda etkili olduğu, tohumun çimlenme kapasitesinin 180. dakikadan sonra % 12 düzeyinde azaldığı bildirilmiştir. Ancak, tohumun fiziksel ve biyokimyasal özelliklerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı da belirtilmiştir.

Pirinç tohumlarında hastalık etmeni olan *Fusarium fujikuroi*'nin inaktivasyonu amacıyla ozon uygulamalarından yararlanılmıştır. *F. fujikuroi* gibi fungal sporlar tohumlara kontamine edilerek ozonun antifungal aktivitesi belirlenmiştir. İşlem görmemiş tohumlarda başlangıçta *F. fujikuroi* sporunun mikrobiyal yükü 9.7 log kob/g'dır ve 30 s ozon uygulamasına maruz kalan tohumlarda *F. fujikuroi* sporunun 1.9 log kob/g azaldığı belirtilmiştir. Uygulama süresi iki katına çıkarıldığında tohumun *F. fujikuroi* sporundan tamamen arındırıldığı ifade edilmiştir. Ozonun *F. fujikuroi* sporu üzerinde yapısal değişikliklere neden olabileceği düşüncesiyle SEM ve TEM analizleri ile incelemeler yapılmıştır. SEM analizi ile ozonun sporun yapısında önemli bir değişikliğe neden olmadığı anlaşılmıştır. TEM analizinde ise ozon uygulaması sporun sitoplazmasında çok az bir değişime neden olmuştur. İşlem görmemiş sporların sitoplazmasının biraz daha yoğun olduğu görülmüştür. Hücre zarında hasara neden olduğu belirtilen uygulamanın görüntüleri Şekil 2.4 ve Şekil 2.5'te verilmiştir (Kang vd., 2015).



Şekil 2.4. Sporların ozon uygulaması öncesi (sol) ve sonrasındaki (sağ) yapısal değişimlerinin SEM görüntüleri.



Şekil 2.5. Sporların ozon uygulaması öncesi (a) ve sonrasındaki (b) yapısal değişimlerinin TEM görüntüleri.

Bir başka çalışmada ozon, kakule (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) tohumlarında mikroorganizmalara karşı bir dekontaminasyon ajanı olarak kullanılmıştır. Yirmi dört saat süreyle 3 kez uygulanan ve proses parametrelerinden ozon konsantrasyonunun $160-165.0 \text{ g/m}^3$, akış hızının 0.1 L/dk , basıncın 0.5 atm , zamanın 30 dk olduğu belirtilmiştir. Belirtilen şartların tohum yüzeyindeki toplam mezofilik bakteri sayısında 2.2 log kob/g , toplam küf sayısında 1.15 log kob/g *Enterobacteriaceae* sayısında ise 1.04 log kob/g azalma sağladığı tespit edilmiştir. Kakule tohumlarından izole edilen bakteriler; *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus pumilus*'dir. Ozon uygulamasının *A. hydrophila* ve *B. cereus*'a göre diğer bakterilerin inaktivasyonunda daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik değerlendirmelere ek olarak toplam polifenol içeriği, serbest radikal temizleme aktivitesi, toplam antioksidan kapasite, ferrik indirgeyici antioksidan gücü ve sıvı kromatografisi kütle spektrofotometresi (liquid

chromatography mass spectrophotometer, LC-MS) polifenol analizleri yapılmıştır. Ozon uygulaması sonrasında kakule tohumlarının kontrol numunesine göre daha iyi bir serbest radikal temizleme aktivitesi ile karakterize edildiği belirtilmektedir. Yine ozon uygulamasının ardından yapılan ferrik indirgeyici antioksidan güç analizinde kakule tohumlarından elde edilen ekstrakttan elde edilen sonuçlarda kontrol numunesine kıyasla artış olmuştur. Uygulama öncesinde % 96.6 olan toplam polifenol içeriğinin, ozonlama işlemi sonrasında % 56.8 seviyesine düştüğü saptanmıştır. Kakule tohumlarının toplam antioksidan kapasitesinin ise % 16.2 azaldığı tespit edilmiştir (Brodowska vd., 2014).

Ozonun mikrobiyal inaktivasyon ve çimlenme üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada buğday, arpa ve bezelye tohumlarının mikrobiyal inaktivasyonunda etkili bir şekilde kullanılabilceği ve bunun için 3 dk süre ozon verilmesinin yeterli olacağı belirtilmiştir. Ozon uygulamasına maruz kalan buğday, arpa ve bezelye tohumlarının çimlenme oranlarındaki değişimler de incelenmiştir. Her 3 tohum için çimlenme oranları ozon uygulanmadan önce sırasıyla % 65, 90 ve 97 olarak belirtilmiştir. Tohumlar 1, 1.5 ve 3 dk ozona maruz kaldığında çimlenme oranlarında önemli bir değişim olmadığı saptanmıştır. Belirtilen uygulama sürelerinde ozonun etkisine bakıldığında çimlenme oranlarının buğday için % 60, 57 ve 63; arpa için % 93, 86 ve 90; bezelye için % 95, 100 ve 93 olduğu görülmüştür (Ciccarese vd., 2007).

Akbaş ve Özdemir (2006) Antep fıstığına inoküle edilen *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus*'un inaktivasyonunu sağlamak için ozon uygulamışlardır. Çalışma kapsamında 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm düzeylerinde ve 0-360 dk süresince ozona maruz bırakılan örneklerde inaktivasyon miktarları belirlenmiş ve 0.1 ve 0.5 ppm ozon konsantrasyonlarında *E. coli* 2-3 log azalırken *B. cereus* 1.5-2 log azalmıştır. Ozon konsantrasyonunun 1 ppm olması durumunda *E. coli* ve *B. cereus* üzerinde sırasıyla 3.5 ve 3 log azalma sağlayarak daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Araştırma bulgularında ozon konsantrasyonu artması ile *E. coli* ve *B. cereus* inaktivasyonunun arttığı belirtilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

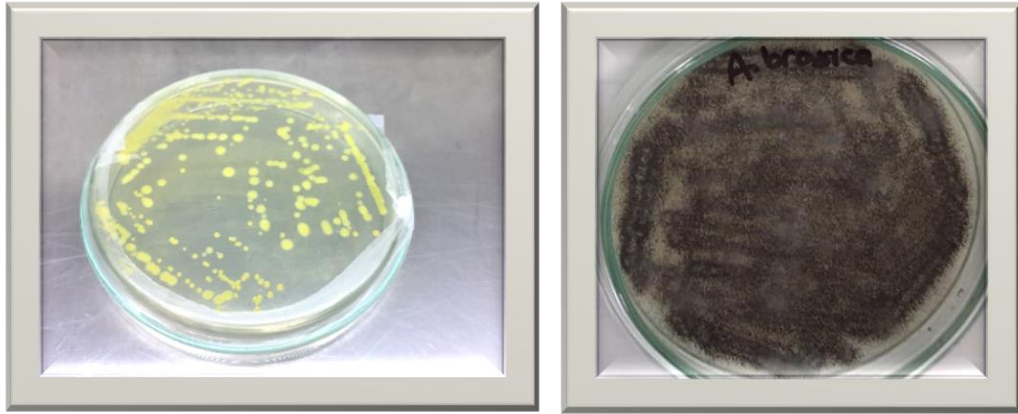
3.1 Materyal

3.1.1 Kara Lahana Tohumu

Proje kapsamında kullanılan kara lahana tohumları Karabük İli'ndeki yerli tohumculardan alınmıştır. Tohumlar oda koşullarında muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Mikrobiyal Kültürler

Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan *Alternaria brassica* ve *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* (*Xcc*) suşları, Dr. Steven P.C. Groot (Wageningen Üniversitesi ve Araştırma Merkezi, Gelderland, Hollanda) tarafından sağlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Xcc* (sol) ve *A. brassica* (sağ) görüntüleri.

3.2 Yöntem

3.2.1 Laboratuvar Ölçekli Atımlı Elektrik Alanı Sistemi



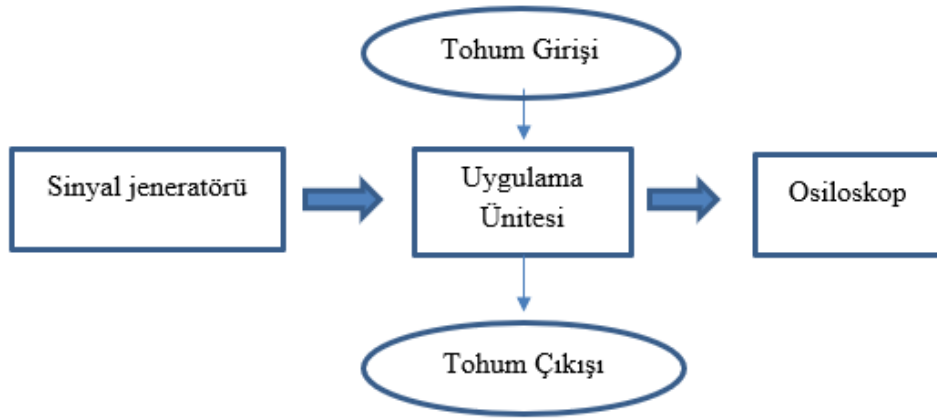
Şekil 3.2. Denemelerde kullanılan laboratuvar ölçekli atımlı elektrik alanı cihazının görüntüsü.



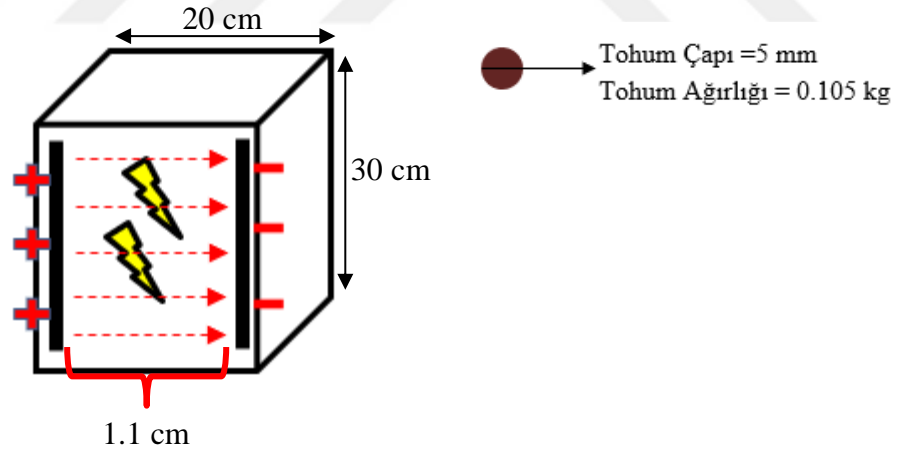
Şekil 3.3. Denemelerde kullanılan osiloskop cihazında monopolar atım görüntüsü.

Çalışma kapsamında partikül halindeki örneklerin test edilmesi için laboratuvar ölçekli PEF sistemi dizayn edilmiştir (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye). PEF prosesi, paralel iki elektrot arasında (1.1 cm) yerleştirilmiş olan tohumlara kısa dalga boylu düşük voltajlı elektrik akımının periyodik olarak uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Tek kutuplu (monopolar) bir sistem olan PEF uygulamasında her bir tohum için uygulama süresi μ s düzeyinde olmaktadır. Şehir şebekesinden gelen elektrik akımının (220 V~50 Hz) uygulama

sırasında çalışılan 170 ve 290 Hz frekanslara dönüşümü sinyal jeneratörü sayesinde mümkün olmuştur. Sistemde uygulanan voltaj 18 kV, kapasitörün kapasitans değeri 60 pF, darbe genişliği 1.2 μ s, uygulama ünitesinin yüksekliği ise 0.3 m olarak belirlenmiştir. Osiloskopta sinyallerin kare dalga biçiminde ayarlanmasından sonra uygulamalar gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2-Şekil 3.6).



Şekil 3.4. PEF sisteminin basit bir gösterimi.



Şekil 3.5. Uygulama ünitesinin gösterimi.

Tohumlara uygulanan PEF sistemi ile ilgili enerji hesabı aşağıda verilen eşitliğe göre yapılmıştır:

$$E = P \times t$$

Formülde E enerji (J), P güç (W) ve t süre (s) olarak verilmiştir.

$$P = V \times I$$

$$V = I \times R$$

$$P = V^2 / R$$

Formülde V sistemde uygulanan voltaj (kV), I akım şiddeti (A) ve R direnç (Ohm) olarak belirtilmiştir.

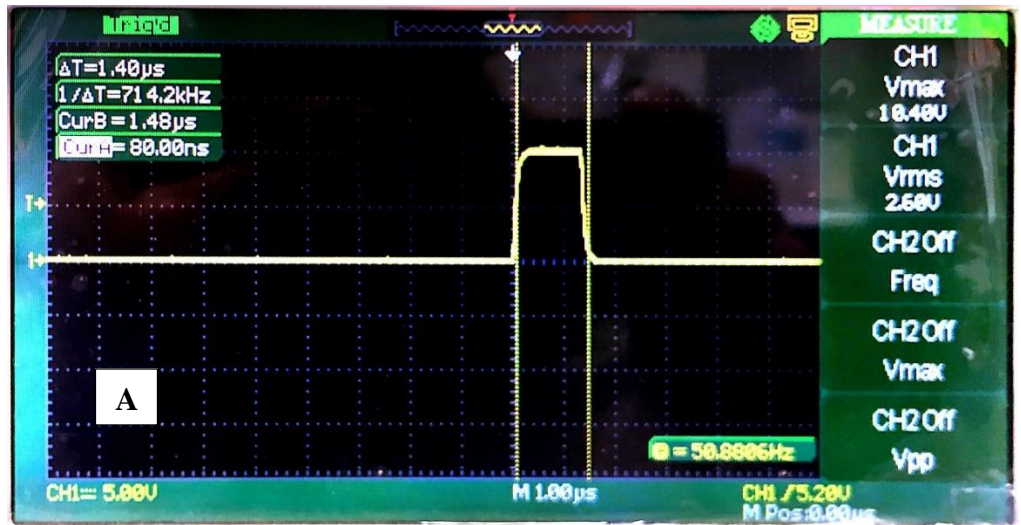
$$q = C \times V$$

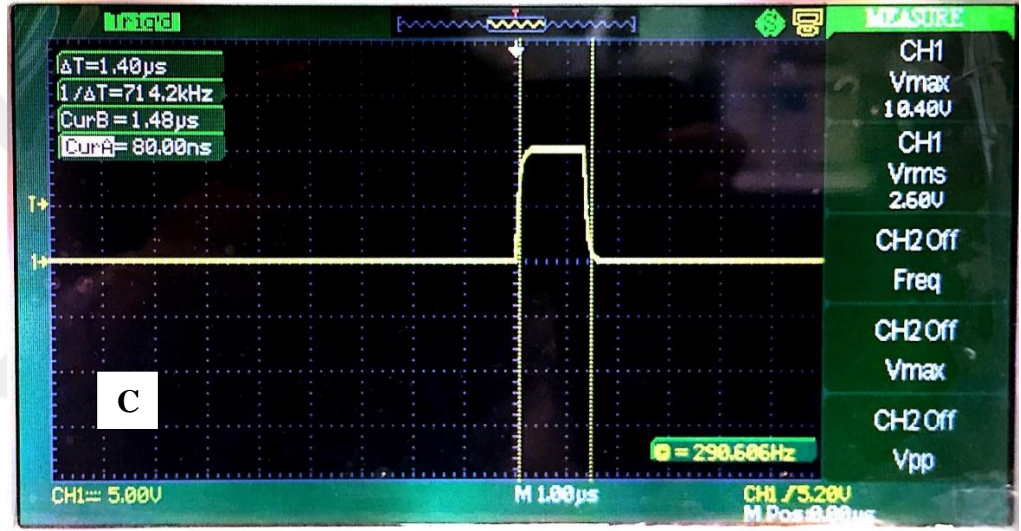
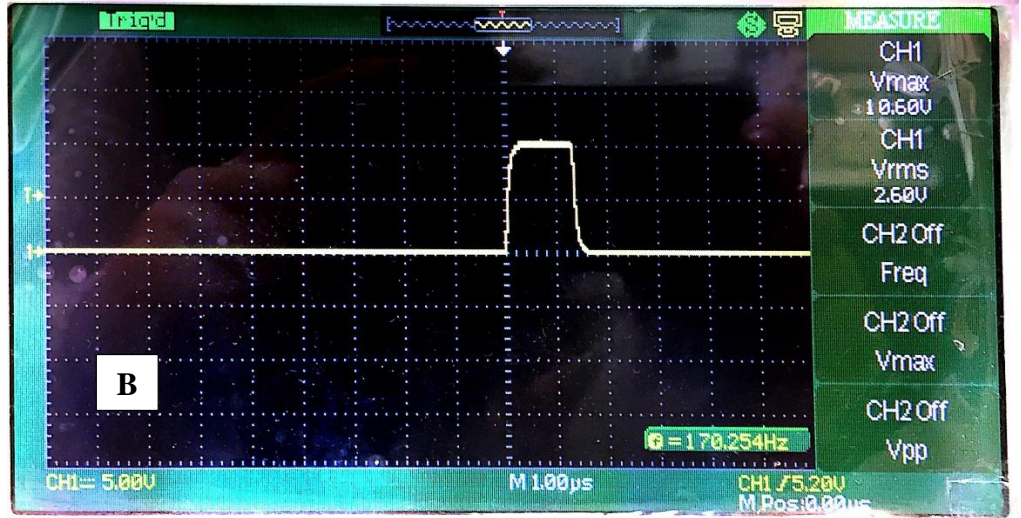
$$E = q \times V / 2$$

$$E = C \times V^2 / 2$$

$$P = C \times V^2 \times f / 2$$

Formülde q kapasitörün yükü (Coulomb), C kapasitörün kapasitans değeri (pF) olarak SI birim sisteminde belirtilmekte ve C değeri sabit olduğunda q ve V doğru orantılı olmaktadır. Dolayısıyla enerji ve güç hesaplamalarında bu orantıdan yararlanılmaktadır.



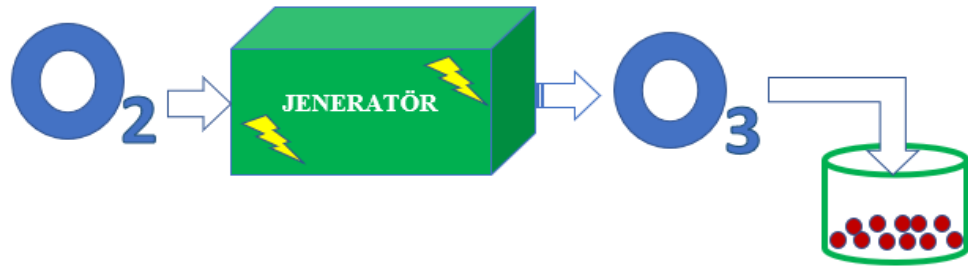


Şekil 3.6. Osiloskopta PEF sistemine gönderilen dalga boylarının görüntüsü (A: 50 Hz, B: 170 Hz, C: 290 Hz).

3.2.2 Laboratuvar Ölçekli Ozon Sistemi

Çalışma kapsamında kullanılan voltajı 230 VAC, akımı 2A olan ozon jeneratörü 1 L/dk O₃ üretmektedir (Model 7F 5 mini, OXYTIME, Ankara, Türkiye). Cihazda ozon jeneratörü için 70 Watt/saat enerji kullanılmaktadır. Uygulamaların gerçekleştirildiği ozon sistemi Şekil 3.7’de gösterilmiştir. Her uygulamada 2-2.5 g tohum örneği kullanılmıştır. Çalışmada 50 mL’lik steril cam beherlerdeki tohumlara ozon jeneratörünün çıkış bağlantısının olduğu borunun ucundaki prob, beherdeki tohumlara temas ettirildikten sonra alüminyum folyo ile beher hava almayacak şekilde

kapatılmıştır. Tohumlara uygulanacak doz belirlendikten sonra sistem aktif hale getirilmiştir. İşlem sonrasında tohumlar analizlerde kullanılmak amacıyla önceden otoklavda steril edilmiş olan 15 mL'lik falkon/plastik tüplere aktarılmıştır.



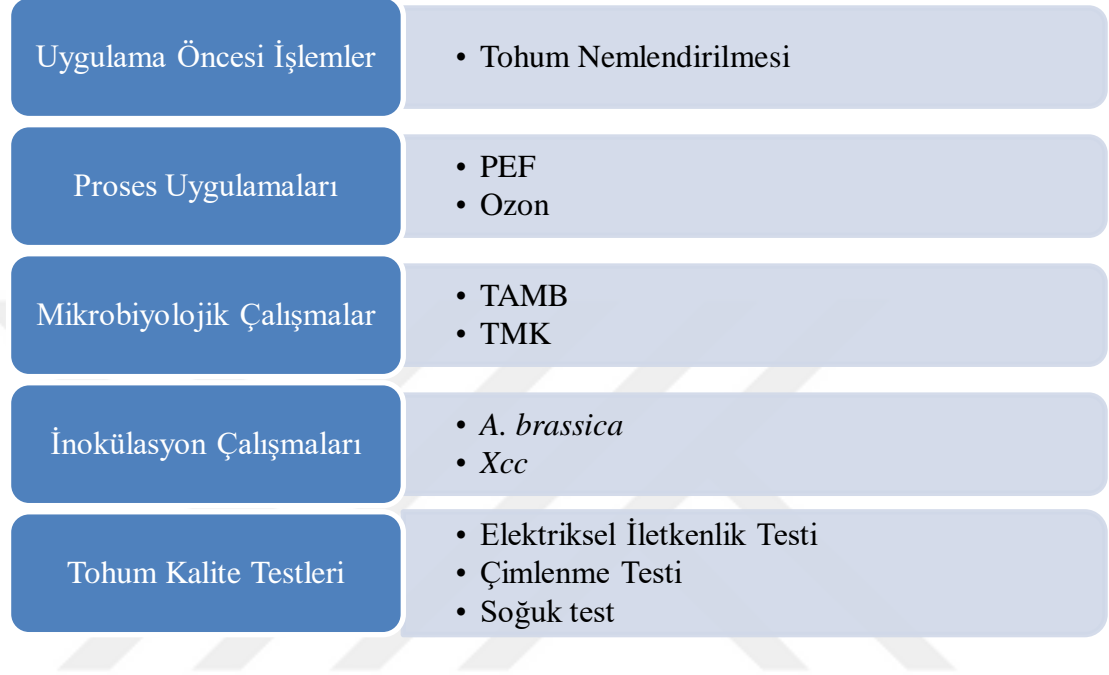
Şekil 3.7. Ozon cihazı ve ozon uygulamasının gösterimi.

Ozon uygulamalarının tohumlarla ilgili enerji hesabı aşağıda verilen eşitliğe göre yapılmıştır:

$$\text{Ozon (g)} = \frac{\text{ozon konsantrasyonu (g/m}^3\text{)} \times \text{uygulama süresi (dk)} \times \text{oksijen miktarı (L/dk)}}{1000}$$

3.2.3 Deneysel Tasarım

Çalışmalarda tohumlar belirlenen nem değerlerine getirildikten sonra PEF ve ozona maruz bırakılmıştır. Sonrasında mikrobiyolojik çalışmalar, inokülasyon çalışmaları ve tohum kalite analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Çalışma kapsamında planlanan ve uygulanan deneysel akış planı.

3.2.4 Uygulama Öncesindeki İşlemler

3.2.4.1 Tohum Nemlendirilmesi

Çizelge 3.1. Tohum nemlendirilmesi

NEM (%)	STERİL SU MİKTARI (mL)	İNKÜBASYON SÜRESİ (saat)
6.0	5.0	1.5
10.5	7.0	2.5
15.0	8.0	3-3.5

Steril petrielerde tartılan 10 gr kara lahana tohumlarına % 6.0, 10.5 ve 15.0 nem içeriğine gelmesi için sırasıyla 5.0, 7.0 ve 8.0 mL steril su eklenmiştir. Etüvde 35°C’de Çizelge 3.1’de belirtilen sürelerde inkübasyon gerçekleşmiştir. Etüvden alınan tohumlar desikatörde 20-25 dk bekletilerek tartım öncesinde oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Tartım sonrası hesaplamalar yapılmıştır. Belirlenen nem içeriğine sahip olan tohumlar, petrielerde parafilm ile çevrilerek tohumların analize kadar geçen sürede nem kaybetmesi önlenmiştir. Nem içeriğinin her partideki tohumlarda dengeye gelmesi için parafilm ile kaplanan tohumlar buzdolabında 4°C’de 17-18 saat bekletilmiştir.

$$\text{Tohum nemi (\%)} = \left[\frac{(M_2 - M_3)}{(M_2 - M_1)} \right] * 100$$

Formülde M_1 boş kap ağırlığı (g), M_2 nemlendirme işlemi öncesi tohum ve kap ağırlığı (g) ve M_3 nemlendirme işlemi sonrası tohum ve kap ağırlığı (g) olarak verilmiştir.

3.2.4.2 Tohumlara Patogen Mikroorganizma İnokülasyonu

Uygulama öncesinde Çizelge 3.2’de belirtildiği gibi her 10 gr tohum partisinde, 3 farklı nem oranına göre *A. brassica* ve *Xcc* inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. Buzdolabında depolanan patojen mikroorganizmalardan steril öze yardımıyla kültürler alındıktan sonra 1 mL steril su ile süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra petrielerdeki tohumlara steril pipet yardımıyla aktarılmıştır. İstenen nem oranına göre sonrasında steril su ilavesi yapıldıktan sonra inoküle edilen mikroorganizmaların tohumlara eşit düzeyde yayılması için iyice karışması sağlanmıştır. Etüvde 35°C’de belirlenen sürelerde tohumların beklenen nem oranlarına getirilmesi amacıyla inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 4°C’de 17-18 saat bekletilerek nem dengesinin tohum partilerinde dengelenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanarak istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.2. Tohumlarda patojen mikroorganizma inokülasyon protokolü

%6.0 NEM	%10.5 NEM	%15.0 NEM
10 g tohum	10 gr tohum	10 gr tohum
2 öze suş	3 öze suş	4 öze suş
5 mL steril su	7 mL steril su	8 mL steril su
35°C 1.5 saat	35°C 2.5 saat	35°C 3-3.5 saat

3.2.5 Mikrobiyolojik Çalışmalar

3.2.5.1 Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı

Tohumların mikrobiyal yüklerinin ve toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) inaktivasyonunun incelenmesi amacıyla uygulama öncesi (kontrol) ve sonrası tohum örnekleri steril falkon tüplerinde her bir analiz için 1 gr tohum olacak şekilde tartılmıştır. Falkon tüplerindeki tohumunun içerisine (% 0.1) peptonlu sudan 9 mL ilave edilerek 10^{-1} oranındaki ilk dilüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan ilk dilüsyon karıştırıcıda karıştırılmış ve içerisinden 0.1 mL alınarak 10^{-2} dilüsyonu hazırlanmıştır. Bu işlem belirlenen dilüsyon oranlarına kadar tekrar edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan 0.1 mL alınarak steril petrielerde ekim gerçekleştirilmiştir. TAMB sayısının belirlenmesinde Plate Count Agar (PCA) kullanılarak yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petrieler TAMB gelişimi için 35°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrielerdeki TAMB sayımları yapılmış ve sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.5.2 Toplam Maya-Küf (TMK) Sayımı

Tohumların toplam maya küf (TMK) inaktivasyonunu incelemek için uygulama öncesi ve sonrasında 1 gr tohum falkon tüplerde tartılmıştır. TAMB analizinde olduğu gibi dilüsyonlar hazırlanmıştır. Önceden hazırlanan Potato Dextrose

Agar (PDA), steril petrilere dökülerek paralelleri olacak şekilde analiz için hazır hale getirilmiştir. Uygun dilüsyonlardan steril pipetle 0.1 mL alınarak hazırlanan petrilere aktarılmıştır. Daha sonra 0.1 mL aktarılan inokülumlar besiyeri yüzeyinde eşit olacak şekilde yayılmıştır. Bir süre bekletilen petrilere 25°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Petrilere gelişen maya ve küf kolonileri sayılmış ve sonuçlar kob/g olarak hesaplanmıştır.

3.2.5.3 *Alternaria brassica* Sayımı

A. brassica sayımı için PDA besiyeri kullanılmıştır. Çizelge 3.2'de görüldüğü üzere belirlenen % 6, 10.5 ve 15 nem düzeylerine göre 2, 3 ve 4 öze *A. brassica* suşu inoküle edilmiştir. Farklı miktarlarda suşlar kullanılmasının nedeni, 3 farklı kontrol örneğinde benzer seviyelerde *A. brassica* oluşturmaktır. Uygulama öncesi ve sonrasında tohumlar falkon tüplerine 1 gr koyulduktan sonra tüp içerisine (% 0.1) peptonlu sudan 9 mL ilave edilerek 10^{-1} oranındaki ilk dilüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan ilk dilüsyon karıştırıcıda karıştırılmış ve içerisinden 0.1 mL alınarak 10^{-2} dilüsyonu hazırlanmıştır. Bu işlem belirlenen dilüsyon oranlarına kadar tekrar edilmiştir. Ekimler, tıpkı TMK analizinde olduğu gibi yayma yöntemi ile yapılmıştır. Petrilere oda sıcaklığında 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. PDA besiyerinde gelişen siyah renkli koloniler *A. brassica* olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar kob/g olarak hesaplanmıştır.

3.2.5.4 *Xanthomonas campestris pathovar campestris* Sayımı

Xanthomonas campestris pathovar campestris (*Xcc*) analizi için PCA besiyeri kullanılmıştır. Çizelge 3.2'de belirtilen miktarlarda tohumlara *Xcc* suşu inoküle edilmiştir. TAMB analizinde olduğu gibi dilüsyonlar hazırlanmış ve yayma yöntemi ile ekimler tamamlanmıştır. Petrilere oda koşullarında 5-6 gün bekletilerek inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda sarı renkli koloniler *Xcc* olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.6 Tohum Gücü Testleri

3.2.6.1 Elektriksel İletkenlik Testi (EC)

Yaklaşık olarak 250 mL saf su içeren cam beherlere her tekerrürde 50 adet tohum tartılıp, her bir beherin ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak oda sıcaklığında (23-24°C) karanlık ortamda 2 ve 24 saat bekletilmiş ve Sension 5 model (HACH, CO, ABD) kullanılarak elektriksel iletkenlik $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak ölçülmüştür. Elde edilen ölçüm sonuçları, tohum ağırlığına bölünerek 1 g tohumdan sızan maddelerin elektriksel iletkenliği belirlenmiştir. Tohum membranından sızan şekerler, serbest amino asitler, organik asitler ve çeşitli iyonlar, hücre zarının bütünlüğü ve tohumdaki ölü dokuların varlığı ile ilgili sonuçlar alınmıştır. Aynı zamanda, tohumda gücünü belirlemek amacıyla da yararlanılmıştır (Mavi, 2009).

$$\text{EC } (\mu\text{S}/\text{cmg}) = \frac{\text{EC Ölçümü} - \text{Saf Suyun EC Ölçümü} (\mu\text{S}/\text{cm})}{\text{Tohum Başlangıç Ağırlığı (g)}}$$

3.2.6.2 Çimlenme Testi

Steril petrielerde 3 mL steril su ile nemlendirilen kurutma kağıtlarının üzerine her partide 20 adet tohum olacak şekilde eşit aralıklarla dizilmiştir. Çimlenme sırasında oluşabilecek küflenmelerin test sonucunu etkilememesi için fungusit olarak Thiram kullanılmıştır. Hazırlanan % 0.2'lik Thiram (fungusit) çözeltisinde 10 dk bekletilen tohumlar, saf suyla durularak pens yardımıyla petrilere yerleştirilmiştir. Karanlık ortamda tohumlar çimlenmeye bırakılmıştır. Radika uzunluğu 2 mm veya daha fazla olan tohumlar çimlenmiş kabul edilmiştir. Tohumların 10 gün boyunca çimlenmesi gözlenmiş ve günlük çimlenme miktarları kaydedilmiştir (Mavi, 2009).

3.2.6.3 Soğuk Test

Boyutları 40×20 cm olan 2 adet kurutma kağıdı üzerine 200 g elenmiş toprak serilmiş ve 35 mL saf su ile nemlendirildikten sonra 60-80 adet lahana tohumu

yerleştirilmiştir. Daha sonra 2 adet kurutma kağıdı ile örtülerek rulo halinde sarılmıştır. Nem kaybını engellemek amacıyla kilitli buzdolabı poşetlerinde muhafaza edildikten sonra 10°C 'lik inkübatörde 7 gün bekletilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Soğuk uygulamaları öncesinde hazırlık aşamaları.

İnkübasyon sonunda tohumlara çimlenme testi uygulanmıştır. Sonuç olarak soğuk testin tohumların çimlenmesinde etkili olup olmadığı tespit edilmiştir (Mavi, 2009).

3.2.7 Veri Analizi

PEF uygulamasının lahana tohumlarının yüzey dezenfeksiyonu ve kalite özellikleri üzerine etkisini etkileyen faktörler frekans (Hz), uygulama süresi (μ s) ve nem içeriği (%) olarak belirlenirken, ozon uygulamalarının lahana tohumlarının yüzey dezenfeksiyonu ve kalite özellikleri üzerine etkisini etkileyen faktörler ozon konsantrasyonu (g/m^3), nem (%) ve uygulama süresi (dk) olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4). Lahana tohumlarının yüzey dezenfeksiyonunda PEF uygulamasında ön-denemeler sonucunda frekans 50, 170 ve 290 Hz, uygulama süresi 60, 240 ve 420 μ s ve nem içeriği % 6.0, 10.5 ve 15.0 olarak ön-denemeler sonucunda belirlenmiştir (Çizelge 3.3). On beş farklı deney seti ile iki tekrarlı olarak deneysel analizler gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4).

Çizelge 3.3. Atımlı elektrik alanı uygulamaları için Box-Behnken deneme dizaynı

StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	Frekans (Hz)	Süre (µs)	Nem (%)
5	1	2	1	50	240	6.0
2	2	2	1	290	60	10.5
3	3	2	1	50	420	10.5
8	4	2	1	290	240	15.0
13	5	0	1	170	240	10.5
12	6	2	1	170	420	15.0
9	7	2	1	170	60	6.0
15	8	0	1	170	240	10.5
14	9	0	1	170	240	10.5
10	10	2	1	170	420	6.0
7	11	2	1	50	240	15.0
1	12	2	1	50	60	10.5
6	13	2	1	290	240	6.0
11	14	2	1	170	60	15.0
4	15	2	1	290	420	10.5

Lahana tohumlarının yüzey dezenfeksiyonunda ozon uygulamasında ozon konsantrasyonu (g/m^3) 8.5, 16.5, 24.5, nem içeriği % 6.0, 10.5 ve 15.0 ve uygulama süresi 15.0, 27.5, 40.0 dakika ve ön-denemeler sonucunda belirlenmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Ozon uygulamaları için Box-Behnken deneme dizaynı

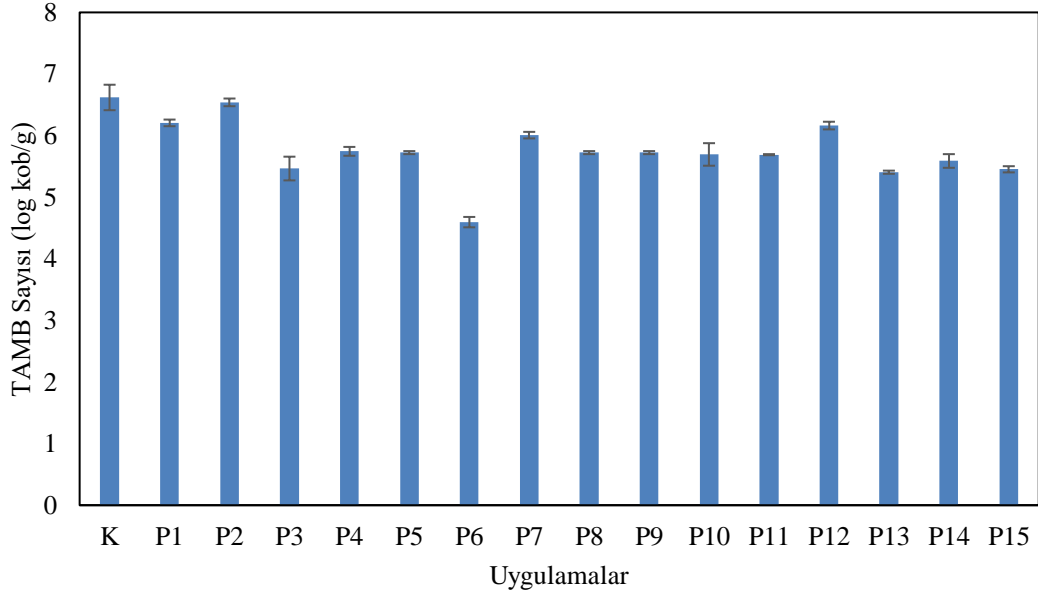
StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	Ozon Konsantrasyonu (g/m^3)	Nem (%)	Süre (dk)
8	1	2	1	24.5	10.5	40.0
3	2	2	1	8.5	15.0	27.5
12	3	2	1	16.5	15.0	40.0
10	4	2	1	16.5	15.0	15.0
14	5	0	1	16.5	10.5	27.5
11	6	2	1	16.5	6.0	40.0
9	7	2	1	16.5	6.0	15.0
4	8	2	1	24.5	15.0	27.5
15	9	0	1	16.5	10.5	27.5
1	10	2	1	8.5	6.0	27.5
2	11	2	1	24.5	6.0	27.5
6	12	2	1	24.5	10.5	15.0
7	13	2	1	8.5	10.5	40.0
13	14	0	1	16.5	10.5	27.5
5	15	2	1	8.5	10.5	15.0

İstatistiksel analizler MINITAB 17 (Minitab State College, PA) kullanarak test edilmiştir. PEF ve ozon uygulamalarının varyans analizleri ANOVA ile değerlendirilmiştir (alfa 0.05). Karşılaştırma testleri % 95 güven aralığında Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyindeki Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Üzerine Etkisi



Şekil 4.1. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumu yüzeyindeki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TAMB) sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.

*K: Kontrol, P: PEF; P1: 240 μ s, 50 Hz, % 6.0 Nem; P2: 60 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem; P3: 420 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P4: 240 μ s, 290 Hz, % 15.0 Nem; P5: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P6: 420 μ s, 170 Hz, % 15.0 Nem; P7: 60 μ s, 170 Hz, % 6.0 Nem; P8: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P9: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P10: 420 μ s, 170 Hz, % 6.0 Nem; P11: 240 μ s, 50 Hz, % 15.0 Nem; P12: 60 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P13: 240 μ s, 290 Hz, % 6.0 Nem; P14: 60 μ s, 170 Hz, % 15.0 Nem; P15: 420 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem

Tez çalışması kapsamında kullanılan PEF cihazı yeni bir tasarımın test edilmesini kapsadığı için bir ilki oluşturmaktadır. Sistemde kullanılan elektrik alan şiddeti 16.4 kV/cm ve frekanslar 50, 170 ve 290 Hz'tür. Lahana tohumları % 6, 10.5 ve 15 nem seviyelerine getirildikten sonra uygulamalar gerçekleştirilmiştir. PEF uygulanmamış lahana tohumlarının doğal mikroflorası incelendiğinde ortalama

toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TAMB) 6.61 ± 0.24 (log kob/g) olarak bulunmuş ve 240 μ s-50 Hz olan P1, 60 μ s-50 Hz olan P12 ve 60 μ s-170 Hz olan P7 uygulamalarının TAMB inaktivasyonuna en az etki gösterdiği tespit edilmiş ve uygulama sonunda mikrobiyal değişimlerin sırasıyla 0.2, 0.39 ve 0.40 log kob/g olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 170 Hz-420 μ s olan P6 uygulaması sonrasında 1.9 log kob/g azalma ile en yüksek TAMB inaktivasyonu sağlanmıştır. 420 μ s-170 Hz olan P10 ile 0.75 log kob/g azalma sağlanırken, 240 μ s-290 Hz olan P13 1.04 log kob/g ve 420 μ s-290 Hz olan P15 uygulamalarda 1.42 log kob/g mikrobiyal inaktivasyon belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada PEF uygulamasının (elektrik alan şiddeti 12 kV/cm, frekans 50-200 Hz) marul ve lahana tohumlarının TAMB sayısında sırasıyla 2.81 ve 0.22 log kob/g azalma sağladığı belirtilmiştir (Evrendilek ve Tanasov, 2017). Hurma meyvesinin mikrobiyal yükünü azaltmak için 4 farklı elektrik alan şiddeti (4.76, 6.82, 8.84, 10.82 kV/cm ve 3 farklı atım sayısında PEF uygulamaları irdelenmiştir. PEF'in mikrobiyal inaktivasyona etkisi incelendiğinde elektrik alan şiddeti ve atım sayısı ile uygulamanın etkisinin doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. Elektrik alan şiddetinin 10.82 kV/cm ve atım sayısının 120 olduğu durumlar en iyi uygulama parametreleri olarak saptanmış ve hurma meyvesinin aerobik bakteri sayısında 3.70 log azalma sağlandığı belirtilmiştir (Mohammed vd., 2016). Bir başka çalışmada çavdar ununun TAMB inaktivasyonu amacıyla farklı elektrik alan şiddetlerinde (6-33 kV/cm) PEF uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Deneme sonuçlarına göre TAMB sayısında elektrik alan şiddetinin 10-20 kV/cm olduğu durumda % 60, 20 kV/cm'den büyük olduğu durumda ise %80'e varan azalma tespit edilmiştir (Keith vd., 1998).

Çizelge 4.1. PEF uygulamalarının TAMB sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Model	5	3.8571	0.77142	12.77	0.000	Önemli
Süre	1	1.9638	1.96384	32.52	0.000	Önemli
Nem	1	0.7912	0.79119	13.10	0.000	Önemli
Frekans*Frekans	1	1.3884	1.38843	6.43	0.018	Önemli

Frekans*Nem	1	0.3956	0.39562	6.55	0.017	Önemli
Süre*Nem	1	0.3180	0.31800	5.27	0.031	Önemli
Saf Hata	17	0.1688	0.00993			
Düzeltilmiş Toplam	29	5.3066				

Uygulamalarda belirlenen parametrelerin tohumların doğal mikroflorasında bulunan TAMB inaktivasyonuna etkisi istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre süre ve nem parametrelerinin önem seviyesinin yüksek olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Nem ve frekansın ikili etkileşim etkisinin yanı sıra süre ve nemin ortak etkisi de istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Frekansın ikinci derece etkisi incelendiğinde istatistiksel analiz sonucunda önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Belirleme katsayısı (R^2) % 72.68 olan bu modelde düzeltilmiş ve tahmini R^2 değeri sırasıyla % 66.99 ve % 51.91’dir. Modelin standart sapması 0.24 olarak bulunmuştur.

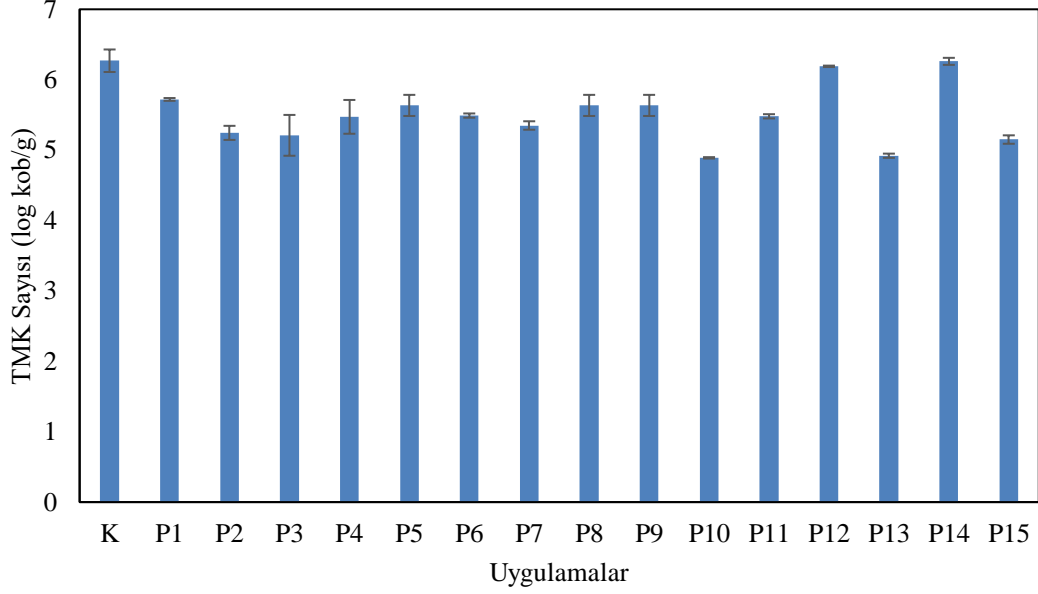
Uygulamalarda elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Tukey testi kullanılarak Çizelge 4.2’de değerlendirilmiştir. Kontrol grubundaki lahana tohumu yüzeyinde ortalama 6.61 ± 0.24 log kob/g seviyesinde tespit edilen TAMB sayısında PEF1 ve PEF2 uygulamalarının dışında istatistiksel olarak önemli seviyede inaktivasyon sağlanmıştır ($p \leq 0.05$). Yapılan uygulamalarda en fazla inaktivasyon PEF6 (1.9 log kob/g inaktivasyon) örneklerinde tespit edilmiş olup istatistiksel olarak önemli düzeyde TAMB sayısının azaltıldığı belirlenmiştir ($p \leq 0.05$).

Çizelge 4.2. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının mikrobiyal inaktivasyon ve tohum kalitesi üzerindeki etkisi

PEF	TAMB (log kob/g)	TMK (log kob/g)	<i>A. brassica</i> (log kob/g)	<i>Xcc</i> (log kob/g)	EC (µS/cm)		Çimlenme (%)	
					2 saat	24 saat	Oda Şartları	Soğuk Test
K	6.61±0.24 ^a	6.26±0.16 ^a	5.97±0.27 ^a	7.68±0.56 ^{de}	35.83±10.07 ^d	110.67±12.97 ⁱ	2.12±0.86 ^{cde}	17.22±2.22 ^{bcd}
1	6.20±0.07 ^{abc}	5.71±0.02 ^b	5.70±0.05 ^{ab}	6.64±0.05 ^f	20.00±0.00 ⁱ	82.00±0.00 ^l	1.83±0.24 ^{de}	19.16±1.18 ^b
2	6.53±0.08 ^{ab}	5.22±0.10 ^{cde}	5.78±0.12 ^{ab}	7.95±0.03 ^{ab}	28.50±0.70 ^g	110.00±0.00 ⁱ	0.00±0.00 ^e	19.16±1.18 ^b
3	5.45±0.26 ^{ef}	5.35±0.29 ^{cde}	5.85±0.07 ^a	7.81±0.08 ^{bcd}	35.00±0.00 ^d	123.00±0.00 ^g	5.00±0.00 ^{bcd}	16.33±0.46 ^{bcd}
4	5.77±0.06 ^{cdef}	5.47±0.24 ^{cd}	4.99±0.06 ^c	8.01±0.01 ^a	38.00±0.00 ^c	135.00±0.00 ^d	4.16±1.18 ^{bcd}	11.83±0.24 ^{ef}
5	5.72±0.02 ^{def}	5.63±0.15 ^{cd}	5.80±0.06 ^{ab}	7.81±0.03 ^{bcd}	30.00±0.00 ^f	131.50±0.70 ^e	7.33±0.94 ^{ab}	17.91±0.58 ^{bc}
6	4.66±0.14 ^g	5.49±0.03 ^{cd}	5.13±0.02 ^c	7.61±0.02 ^e	40.00±0.00 ^b	124.00±0.00 ^f	9.16±1.18 ^a	15.50±0.70 ^{cd}
7	6.00±0.07 ^{cd}	5.34±0.06 ^{cde}	5.75±0.02 ^{ab}	6.61±0.04 ^f	22.50±0.70 ^h	80.00±0.00 ^m	4.16±1.18 ^{bcd}	24.16±1.18 ^a
8	5.72±0.02 ^{def}	5.63±0.15 ^{cd}	5.80±0.06 ^{ab}	7.81±0.03 ^{bcd}	30.00±0.00 ^f	131.50±0.70 ^e	7.33±0.94 ^{ab}	17.91±0.58 ^{bc}
9	5.72±0.02 ^{def}	5.63±0.15 ^{cd}	5.80±0.06 ^{ab}	7.81±0.03 ^{bcd}	30.00±0.00 ^f	131.50±0.70 ^e	7.33±0.94 ^{ab}	17.91±0.58 ^{bc}
10	5.87±0.10 ^{cde}	4.89±0.01 ^e	5.49±0.03 ^b	6.52±0.06 ^f	20.00±0.00 ⁱ	96.00±0.00 ^j	5.50±1.41 ^{bc}	25.50±0.70 ^a
11	5.69±0.01 ^{def}	5.48±0.03 ^{cd}	5.49±0.01 ^b	7.78±0.03 ^{bcd}	43.00±0.00 ^a	137.00±0.00 ^c	7.33±0.94 ^{ab}	14.16±1.18 ^{de}
12	6.16±0.08 ^{bc}	6.19±0.01 ^{ab}	5.81±0.15 ^{ab}	7.94±0.01 ^{abc}	35.00±0.00 ^d	156.00±0.00 ^a	4.16±1.18 ^{bcd}	9.16±1.18 ^f
13	5.40±0.03 ^f	4.92±0.03 ^e	5.66±0.09 ^{ab}	6.58±0.07 ^f	28.00±0.00 ^g	95.00±0.00 ^k	6.00±1.41 ^{ab}	25.25±0.35 ^a
14	5.58±0.15 ^{def}	6.26±0.05 ^a	5.73±0.05 ^{ab}	7.86±0.01 ^{abc}	33.50±0.70 ^e	112.00±0.00 ^h	0.00±0.00 ^e	10.25±0.35 ^f
15	5.50±0.05 ^{ef}	5.15±0.06 ^{de}	5.70±0.14 ^{ab}	7.77±0.04 ^{cde}	30.00±0.00 ^f	148.00±0.00 ^b	5.50±0.70 ^{bc}	25.50±0.70 ^a

Çizelge 4.2’de PEF uygulama sonuçları ortalama±ortalama sapma olarak gösterilmiştir. Aynı sütunda farklı üstsel harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.05$).

4.2 Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyindeki Toplam Maya Küf Üzerine Etkisi



Şekil 4.2. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumu yüzeyindeki toplam maya küf (TMK) sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.

*K: Kontrol, P: PEF; P1: 240 μ s, 50 Hz, % 6.0 Nem; P2: 60 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem; P3: 420 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P4: 240 μ s, 290 Hz, % 15.0 Nem; P5: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P6: 420 μ s, 170 Hz, % 15.0 Nem; P7: 60 μ s, 170 Hz, % 6.0 Nem; P8: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P9: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P10: 420 μ s, 170 Hz, % 6.0 Nem; P11: 240 μ s, 50 Hz, % 15.0 Nem; P12: 60 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P13: 240 μ s, 290 Hz, % 6.0 Nem; P14: 60 μ s, 170 Hz, % 15.0 Nem; P15: 420 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem

PEF uygulanmamış lahana tohumlarının doğal mikroflorası incelendiğinde ortalama toplam maya küf sayısının 6.26 ± 0.16 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. 240 μ s-290 Hz P13 uygulaması toplam maya küf (TMK) inaktivasyonunda 1.23 log kob/g azalma sağlamıştır. Denemelerde 60 μ s-170 Hz P12 uygulamasının TMK inaktivasyonunda etkili olmadığı belirlenmiştir. Mikrobiyal inaktivasyonun en iyi olduğu uygulama ise % 6 nem içeren tohumlara 420 μ s süreyle 170 Hz akım verilmesi ile gerçekleşmiş ve 1.28 log kob/g azalma sağlanmıştır.

Yapılan bir çalışmada başlangıçta TMK sayısının 4.8 log kob/g olduğu taze yaban mersinine 2 kV/cm elektrik alan şiddetinde 2 ve 4 dk 100 atımın gerçekleştiği elektrik akımı uygulanmıştır. Uygulama sonrasında TMK sayısında 1.3 ve 1.7 log kob/g azalma olduğu belirtilmiştir (Jin vd., 2017). Bir başka çalışmada hurma meyvelerinin doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmaların inaktivasyonu amacıyla PEF uygulamaları test edilmiştir. Uygulama parametrelerinden 4 farklı elektrik alan şiddeti (4.76, 6.82, 8.84, ve 10.82 kV/cm) ve 3 farklı atım sayısının (60, 90, ve 120) hurma meyvesi yüzeyindeki maya küf miktarına olan etkisi irdelenmiştir. Elektrik alan şiddeti 10.82 kV/cm, atım sayısı 90 iken maya küf sayısında ortalama 3.91 log azalma saptanmıştır. Atım sayısı 120 ve elektrik alan şiddeti 8.84 ve 10.82 kV/cm olduğunda ise maya küf sayısında 3.85 log'luk inaktivasyon tespit edilmiştir. Mikrobiyal inaktivasyonun en düşük olduğu uygulama 4.76 kV/cm elektrik alan şiddetinde atım sayısı 60, 90 ve 120 olduğunda gerçekleşmiş ve sırasıyla 0.39, 0.76, ve 0.85 log azalma sağlandığı belirtilmiştir (Mohammed vd., 2016).

Çizelge 4.3. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının TMK sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

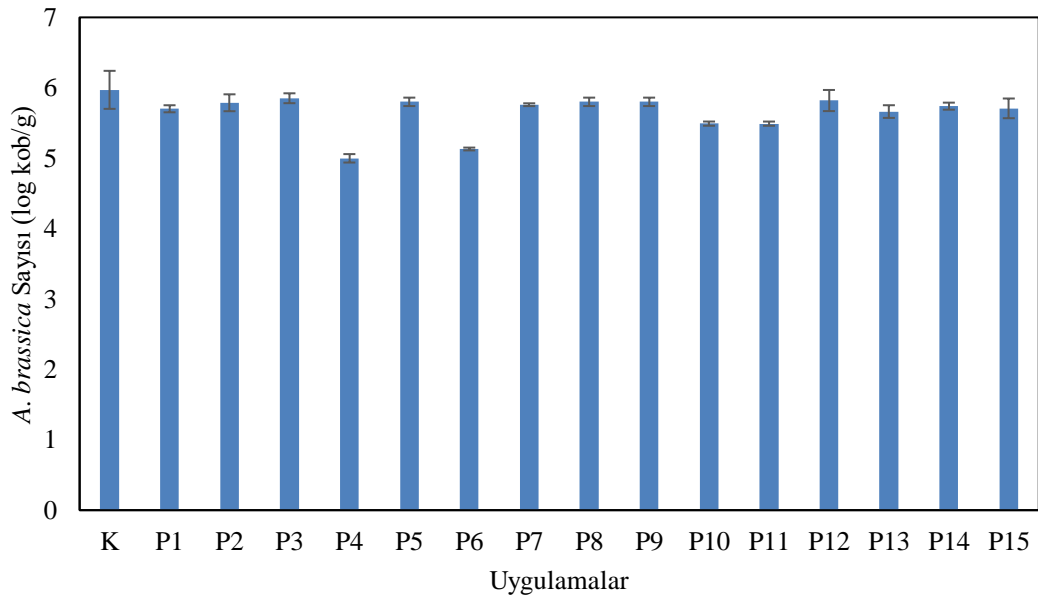
Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Frekans	1	0.9720	0.97199	24.46	0.000	Önemli
Süre	1	1.1591	1.15910	29.17	0.000	Önemli
Nem	1	0.7962	0.79624	20.04	0.000	Önemli
Frekans*Süre	1	0.2974	0.29743	7.48	0.012	Önemli
Frekans*Nem	1	0.3024	0.30244	7.61	0.011	Önemli
Saf Hata	17	0.2974	0.01749			
Düzeltilmiş Toplam	29	4.4810				

Tohumların doğal mikroflorasında bulunan TMK varlığını en aza indirebilmek amacıyla PEF uygulamaları gerçekleştirilmiş ve Çizelge 4.3'te uygulama parametrelerinin istatistiksel analiz değerlendirmeleri yapılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde tohum nem içeriği, uygulama süresi ve frekansın p değerlerinin 0.05'ten küçük olması nedeniyle bu 3 faktör istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Faktörlerin etkileşim etkisine bakıldığında frekans ve süre ile birlikte frekans ve nemin ikili etkilerinin uygulamalar açısından önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). TMK

sayısındaki değişkenliğin % 78.71'i faktörler ve etkileşim etkileri ile ilgilidir ve bu durum belirleme katsayısı (R^2) ile tanımlanmaktadır. Düzeltilmiş ve tahmini R^2 değerleri ise % 74.28 ve % 66.35 olarak hesaplanmış, ayrıca sistemin standart sapması 0.19 olarak bulunmuştur.

PEF uygulamaları öncesi ve sonrasında elde edilen verileri karşılaştırabilmek amacıyla Tukey testi kullanılmış ve istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Çizelge 4.2'de irdelenmiştir. PEF uygulanmamış lahana tohumu örneklerinin doğal mikroflorasında bulunan TMK sayısının 6.26 ± 0.16 log kob/g olduğu tespit edilmiş ve PEF uygulamaları içerisinde özellikle PEF12 ve PEF14 dışındaki uygulamaların istatistiksel olarak önemli seviyede inaktivasyon sağladığı belirlenmiştir ($p \leq 0.05$). PEF uygulamaları kontrol grubu tohumlarla karşılaştırılmış ve TMK inaktivasyonunda PEF10 deneme grubunun en fazla etkisinin olduğu belirtilmiş ve ikinci etkili uygulama olan PEF 13 deneme grubu tohumlarda önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0.05$).

4.3 Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyine İnoküle Edilen *Alternaria brassica* Üzerine Etkisi



Şekil 4.3. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *A. brassica* sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.

*K: Kontrol, P: PEF; P1: 240 μ s, 50 Hz, % 6 Nem; P2: 60 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem; P3: 420 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P4: 240 μ s, 290 Hz, % 15 Nem; P5: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P6: 420 μ s, 170 Hz, % 15 Nem; P7: 60 μ s, 170 Hz, % 6 Nem; P8: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P9: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P10: 420 μ s, 170 Hz, % 6 Nem; P11: 240 μ s, 50 Hz, % 15 Nem; P12: 60 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P13: 240 μ s, 290 Hz, % 6 Nem; P14: 60 μ s, 170 Hz, % 15 Nem; P15: 420 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem

PEF uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *A. brassica*'nın inaktivasyonunda etkisi incelenmiştir. Lahana tohumları % 6, 10.5 ve 15 nem seviyelerine getirildikten sonra uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda *A. brassica*'nın başlangıçtaki ortalama mikrobiyal yükü 5.97 ± 0.27 log kob/g olarak bulunmuştur. Mikrobiyal inaktivasyonda en düşük etki 60 μ s, 170 Hz ve % 15 nem içeriğine sahip olan tohumlarda P14 uygulaması sonrasında görülmüştür. Uygulamalarda genel olarak tohumlara inoküle edilen *A. brassica* üzerine mikrobiyal inaktivasyon etkisinin 0.5-0.7 log kob/g olduğu saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada *Candida albicans* üzerinde PEF uygulamalarının etkisi incelenmiştir. Mikrobiyal inaktivasyon amacıyla 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, ve 25 kV/cm olmak üzere 5 farklı elektrik alan şiddetinin 100 ve 200 μ s sürede uygulanmasıyla elektrik alan şiddetinin artışına bağlı olarak inaktivasyonun arttığı belirtilmiştir. Özellikle 15-25 kV/cm aralığındaki elektrik alan şiddetlerinde gerçekleştirilen uygulamaların istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. Elektrik alan şiddetinin en yüksek (25 kV/cm), uygulama süresinin 100 ve 200 μ s, atım sayısının 25 ve 50 olduğu uygulama sonuçlarına göre *C. albicans* sayısında sırasıyla 1.25 ve 2.67 log kadar azalma saptanmıştır (Novickij vd., 2017).

Çizelge 4.4. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumlarına inoküle edilen *A. brassica* sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

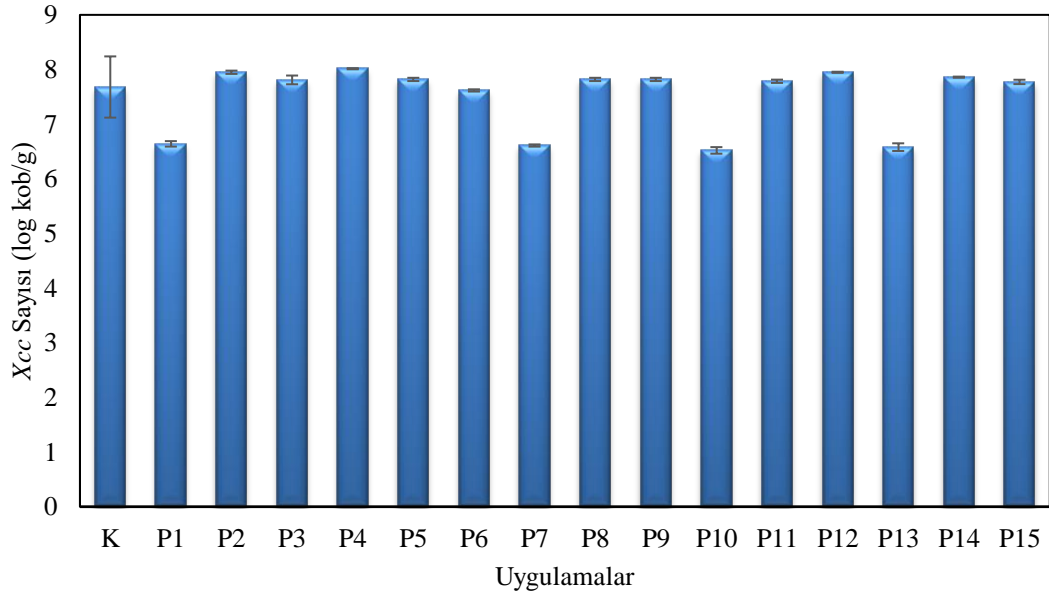
Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Frekans	1	0.1254	0.125441	6.68	0.016	Önemli
Süre	1	0.2135	0.213514	11.36	0.003	Önemli
Nem	1	0.3940	0.394044	20.97	0.000	Önemli

Nem*Nem	1	0.6288	0.628762	33.46	0.000	Önemli
Frekans*Nem	1	0.1028	0.102824	5.47	0.028	Önemli
Saf Hata	17	0.1036	0.006096			
Düzeltilmiş Toplam	29	1.9156				

PEF uygulamalarında lahana tohumlarına inoküle edilen *A. brassica*'in inaktivasyon sonuçları istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve Çizelge 4.4'te ANOVA çıktıları verilmiştir. Uygulamalar frekans, süre ve nem olmak üzere 3 faktör üzerinden gerçekleştirilmiş olup bu faktörlerden süre ve nemin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Belirlenen faktörlerden frekans ve nemin etkileşim etkisi ile nemin ikinci derece etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Standart sapması 0.13 olan modelin belirleme katsayısı (R^2) % 76.46 iken düzeltilmiş R^2 , tahmini R^2 değerleri sırasıyla % 71.55 ve % 61.99 olarak hesaplanmıştır.

Lahana tohumlarına inoküle edilen *A. brassica*'nın inaktivasyonunda kullanılan PEF uygulamalarının öncesi ve sonrasında elde edilen verileri karşılaştırabilmek amacıyla Tukey testinden yararlanılmış ve deneme grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Çizelge 4.2'de değerlendirilmiştir. Lahana tohumlarına kontamine edilen *A. brassica* sayısı 5.97 ± 0.27 log kob/g seviyesinde olup PEF4 ve PEF6 deneme gruplarının istatistiksel olarak önemli seviyede inaktivasyon sağladığı Çizelge 4.2'deki Tukey test sonuçlarından anlaşılmıştır ($p \leq 0.05$). Kontrol grubu örneklerine göre en etkili inaktivasyon 0.7 log kob/g azalma ile PEF4 deneme grubunda saptanmış ve bunu 0.5 log kob/g azalma ile PEF6 deneme grubu izlemiştir ($p \leq 0.05$).

4.4 Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohum Yüzeyine İnoküle Edilen *Xanthomonas campestris pathovar campestris* Üzerine Etkisi



Şekil 4.4. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *Xcc* sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.

*K: Kontrol, P: PEF; P1: 240 μ s, 50 Hz, % 6 Nem; P2: 60 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem; P3: 420 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P4: 240 μ s, 290 Hz, % 15 Nem; P5: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P6: 420 μ s, 170 Hz, % 15 Nem; P7: 60 μ s, 170 Hz, % 6 Nem; P8: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P9: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P10: 420 μ s, 170 Hz, % 6 Nem; P11: 240 μ s, 50 Hz, % 15 Nem; P12: 60 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P13: 240 μ s, 290 Hz, % 6 Nem; P14: 60 μ s, 170 Hz, % 15 Nem; P15: 420 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem

PEF uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *Xcc*'in inaktivasyonunda etkisi incelenmiştir. Uygulama öncesinde tohumlara inoküle edilen (kontrol grubu) ortalama *Xcc* sayısı 7.68 ± 0.56 log kob/g olarak bulunmuştur. P4 ve P2 uygulamalarında sırasıyla 0.2 ve 0.1 log kob/g azalma tespit edilmişken, 420 μ s 170 Hz olan P6 uygulamasının ise 0.42 log kob/g azalma ile *Xcc*'in inaktivasyonunda en fazla etkisinin olduğu belirlenmiştir. İlave olarak 420 μ s 170 Hz olan P10 uygulaması da tohum yüzeyinde 0.33 log kob/g'lık inaktivasyon sağlanmıştır. Ayrıca, P15 uygulaması ile 0.28 log kob/g azalma sağlanmıştır. Elde edilen veriler, bakteri patojeni

olan *Xcc*'in fungal patojen olan *A. brassica*'ya göre PEF uygulamalarına daha dirençli olduğunu göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada fasulye tohumları, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Mucor* spp. inoküle edildikten sonra elektrik alan şiddetinin 2-16 kV/cm, uygulama süresinin 1-30 sn aralığında olduğu elektrik akımına maruz bırakılmıştır. 12 kV/cm'lik elektrik alan şiddetinin 10 sn boyunca uygulanması sonucunda tohum yüzeyindeki patojenlere karşı en iyi etkiyi gösterdiği ve tohum yüzeyinin inoküle edilen mikroorganizmalardan arındığı saptanmıştır (Morar vd., 1999).

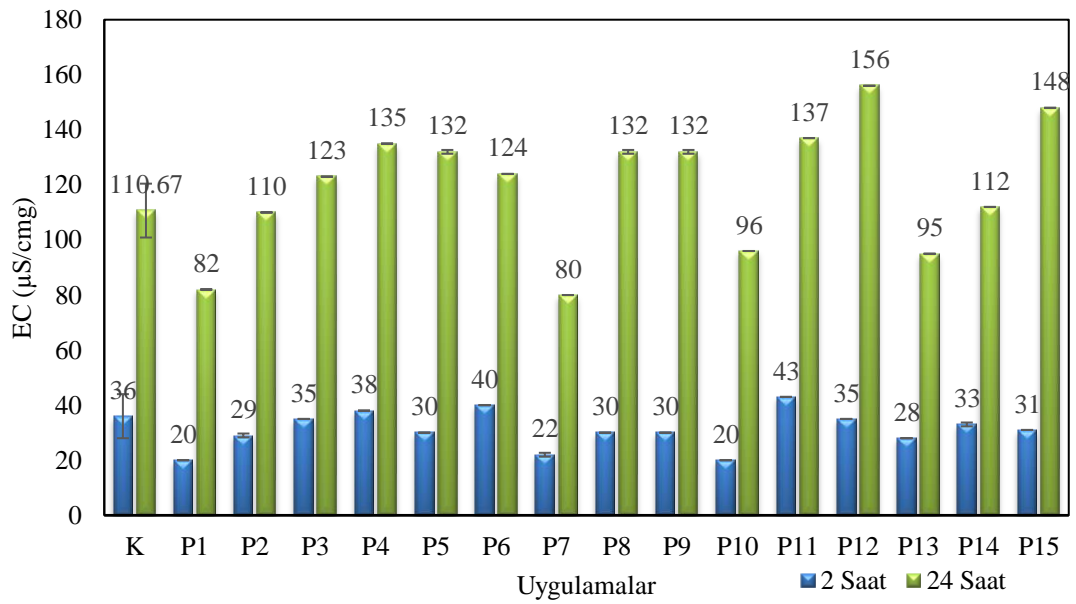
Çizelge 4.5. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumlarına inoküle edilen *Xcc* sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Süre	1	0.10750	0.10750	38.09	0.000	Önemli
Nem	1	6.05553	6.05553	2145.75	0.000	Önemli
Frekans*Frekans	1	0.04724	0.04724	16.74	0.000	Önemli
Nem*Nem	1	3.01928	3.01928	1069.87	0.000	Önemli
Frekans*Nem	1	0.04041	0.04041	14.32	0.001	Önemli
Süre*Nem	1	0.01293	0.01293	4.58	0.043	Önemli
Saf Hata	17	0.03129	0.00184			
Düzeltilmiş Toplam	29	9.41776				

Lahana tohumlarına kontamine edilen *Xcc* için PEF uygulamalarının belirlenen parametreler ile etkisi istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. PEF sisteminde süre ve nemin istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Parametrelerin etkileşim etkilerine bakıldığında frekans ve nem ile süre ve nemin ortak etkilerinin önemli olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Aynı zamanda frekans ve nemin ikinci derece etkilerinin istatistiksel olarak önemli bulunduğu tespit edilmiş ($p < 0.05$) olup, tüm durumlar için standart sapma, belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş ve tahmini R^2 değerleri hesaplanmış ve sırasıyla 0.05, % 99.31, % 99.13 ve % 98.71 olarak bulunmuştur.

PEF uygulamaları ve kontrol grubu arasında X_{cc} inaktivasyonu açısından istatistiksel anlamda önemli bir fark olup olmadığı Tukey testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.2’de karşılaştırılmıştır. Denemelerde kullanılan tohumlara elektrik akımı verilmeden önce X_{cc} sayısı 7.68 ± 0.56 log kob/g iken PEF uygulaması sonrasında X_{cc} sayısında belirli miktarda azalma belirlenmiştir. PEF1, PEF2, PEF4, PEF7, PEF10, PEF12, PEF13 ve PEF14 denemelerinde önemli düzeyde X_{cc} inaktivasyonu sağlanmışken ($p \leq 0.05$); geriye kalan uygulamaların başlangıçtaki X_{cc} sayısını önemli oranda azaltmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$).

4.5 Atımlı Elektrik Alanı Uygulamalarının Tohumun Elektriksel İletkenliğine Etkisi



Şekil 4.5. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahanaya tohumlarının elektriksel iletkenliği üzerine etkisi.

*K: Kontrol, P: PEF; P1: 240 µs, 50 Hz, % 6 Nem; P2: 60 µs, 290 Hz, % 10.5 Nem; P3: 420 µs, 50 Hz, % 10.5 Nem; P4: 240 µs, 290 Hz, % 15 Nem; P5: 240 µs, 170 Hz, % 10.5 Nem; P6: 420 µs, 170 Hz, % 15 Nem; P7: 60 µs, 170 Hz, % 6 Nem; P8: 240 µs, 170 Hz, % 10.5 Nem; P9: 240 µs, 170 Hz, % 10.5 Nem; P10: 420 µs, 170 Hz, % 6

Nem; P11: 240 µs, 50 Hz, % 15 Nem; P12: 60 µs, 50 Hz, % 10.5 Nem; P13: 240 µs, 290 Hz, % 6 Nem; P14: 60 µs, 170 Hz, % 15 Nem; P15: 420 µs, 290 Hz, % 10.5 Nem

Elektriksel iletkenlik analizinde uygulamaların tohum kalitesi üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Uygulama öncesinde tohumların ortalama elektriksel iletkenlik değerleri 2. saat ve 24. saat sonunda sırasıyla 35.83 ± 10.07 ve 110.67 ± 12.97 µS/cm olarak bulunmuştur. Tohumların 2 saat sonraki elektriksel iletkenlik değerleri 20.00 ± 0.00 ile 43.00 ± 0.00 µS/cm olarak hesaplanmış olup 24 saat sonraki elektriksel iletkenlik değerleri ise 80.00 ± 0.00 ile 156.00 ± 0.00 µS/cm aralığında hesaplanmıştır. İlave olarak % 6, 10.5 ve 15 nem içeriğine sahip tohumlarda uygulamaların elektriksel iletkenlik sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlarda 2 ve 24. saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerinde genel olarak % 6 nem oranına sahip tohumlarda uygulamaların tohum kalitesini olumsuz şekilde etkilemediği belirlenmiştir. Nem içeriği % 10.5 olan tohumlara 290 Hz frekans ve 420 µs sürede elektrik akımı uygulaması sonunda elektriksel iletkenlik testinin 24. saatinde % 18.4 oranında iletkenliğin arttığı tespit edilmiştir. Öte yandan % 15 neme sahip olan tohumlarda ise elektriksel iletkenlik testinin yine 24. saati sonunda % 23.42 oranında iletkenliğin arttığı görülmüştür. PEF uygulamalarının tohum yüzeyinde hasarlar oluşturması nedeniyle elektriksel iletkenlik yükselebilmektedir. Sadece uygulamadan kaynaklı değil, aynı zamanda tohumun düşük nem içeriğine sahip olmasının da artışı tetikleyebileceği düşünülmektedir. Tohum kalitesinin bir göstergesi olarak düşünülen bu analiz sonucunda elektriksel iletkenliğin düşük olduğu deneme sonuçları da tespit edilmiştir. Dolayısıyla, genel olarak uygulamaların tohum kalitesini olumsuz etkilemeyeceği öngörülmektedir.

Yapılan bir çalışmada soğan örneklerine PEF uygulanarak elektriksel iletkenlik ölçümleri ile sızıntı tespiti yapılmıştır. 67, 133, 200, 267 ve 333 V/cm elektrik alan şiddetlerinin 30-300 dk aralığındaki sürelerde uygulanmasıyla elektriksel iletkenliğin değişimi belirlenmiştir. Elektrik alan şiddeti ve uygulama süresi ile örneklerden sızan madde miktarının doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir (Asavasanti vd., 2010).

Çizelge 4.6. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumlarının 2 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	<i>F</i> Değeri	<i>p</i> Değeri	Yorum
Frekans	1	18.06	18.06	6.30	0.019	Önemli
Nem	1	1024.00	1024.00	357.19	0.000	Önemli
Frekans*Frekans	1	56.83	56.83	19.82	0.000	Önemli
Frekans*Nem	1	84.50	84.50	29.48	0.000	Önemli
Süre*Nem	1	40.50	40.50	14.13	0.001	Önemli
Saf Hata	17	1.50	0.09			
Düzeltilmiş Toplam	29	1292.70				

PEF uygulamalarının etkisini açıklayabilmek için frekans, nem ve süre faktörlerinin lahana tohumlarının elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları üzerine etkisi istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir (Çizelge 4.6). Analiz bulguları değerlendirildiğinde frekans ve nem parametrelerinin temel etkilerinin yanı sıra uygulama parametrelerinden frekans-nem ve süre-nemin etkileşim etkisinin önemli olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). İstatistiksel analiz sonucunda frekansın ikinci dereceden etkisinin de önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Uygulamalarda önemli bulunan bu parametrelerin lahana tohumlarının 2 saat sonundaki elektriksel iletkenlik test sonuçlarını belirlediği saptanmış ve sistemin belirleme katsayısı (R^2) % 94.68; düzeltilmiş R^2 değeri % 93.57; tahmini R^2 değeri % 90.95 iken modelin standart sapması 1.69 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumlarının 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	<i>F</i> Değeri	<i>p</i> Değeri	Yorum
Süre	1	272.2	272.25	7.11	0.014	Önemli
Nem	1	6006.2	6006.25	156.77	0.000	Önemli
Frekans*Frekans	1	290.2	290.18	7.57	0.011	Önemli
Nem*Nem	1	4642.9	4642.86	121.18	0.000	Önemli
Frekans*Süre	1	2520.5	2520.5	65.79	0.000	Önemli

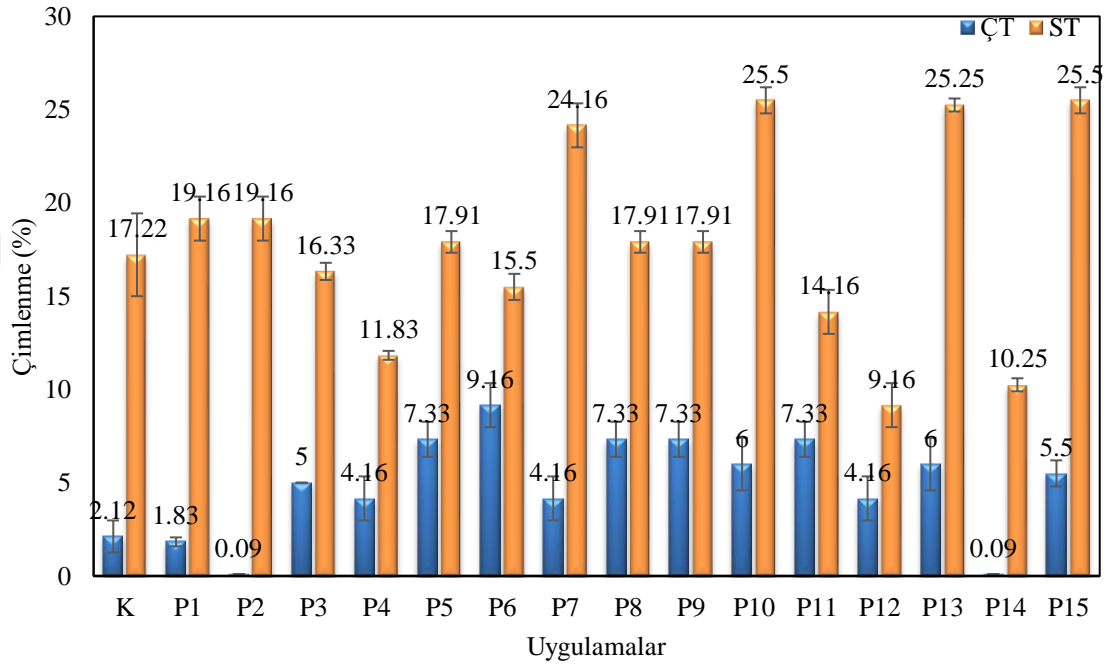
Saf Hata	17	1.5	0.09			
Düzeltilmiş Toplam	29	14843.5				

Uygulamaların elektriksel iletkenliğe etkisinde önemli olan parametreler Çizelge 4.7’de istatistiksel analizlerle irdelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre süre ve nem parametrelerinin yanı sıra frekans ve süre faktörlerinin etkileşim etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). İstatistiksel analiz sonucunda frekans ve tohum nem içeriğinin ikinci dereceden etkisinin de önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Tohumların elektriksel iletkenliği sonuçlarının % 93.81’i (belirleme katsayısı) önemi yüksek bulunan faktörler tarafından açıklanmaktadır. Modelin düzeltilmiş ve tahmini belirleme katsayıları (R^2) sırasıyla % 92.51 ve % 89.78 olarak belirlenmiş, ayrıca standart sapması 6.18 olarak bulunmuştur.

Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen verileri karşılaştırabilmek amacıyla istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Tukey testi kullanılarak Çizelge 4.2’de değerlendirilmiştir. PEF uygulaması öncesinde lahana tohumunun elektriksel iletkenliği $35.83 \pm 10.07 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmış ve (PEF3 ile PEF12 uygulamaları hariç) uygulamalardan 2 saat sonraki tohumların elektriksel iletkenlik değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Tohum kalitesinin göstergesi olan bu test sonucunda PEF11 uygulamasının tohumun elektriksel iletkenliğini arttırmada en etkili uygulama olduğu ($43.00 \pm 0.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$) tespit edilmiş olup sonuçta tohumdan sızan maddelerin artması ile tohum kalitesinin zarar görebileceği tahmin edilmektedir. PEF1 ($20.00 \pm 0.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$) ve PEF10 ($20.00 \pm 0.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$) uygulamalarının diğer PEF uygulamalarına kıyasla tohumlardan sızan madde miktarının en az seviyede olmasına katkı sağlayacağı öngörülmekte ve bu uygulamalar istatistiksel açıdan önemli bulunmaktadır ($p \leq 0.05$). PEF uygulanmamış (kontrol grubu) tohumların elektriksel iletkenlik değerleri tohum için $110.67 \pm 12.97 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmış ve uygulamalardan sonra elde edilen veriler Çizelge 4.2’de belirtilmiştir. PEF uygulamalarından 24 saat sonra tohumların elektriksel iletkenlik değerleri (PEF2 uygulaması dışında) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). PEF12 uygulamasının 24 saat sonundaki tohum için elektriksel iletkenlik değeri $156.00 \pm 0.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$ iken; PEF15 uygulamasının $148.00 \pm 0.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmıştır. Ancak, PEF7 uygulamasının ardından 24 saat sonunda tohumların elektriksel iletkenlik değeri $80.00 \pm 0.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmış ve uygulamalar

içerisinde en düşük sonuç elde edilmiş ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

4.6 Atımlı Elektrik Alanı ve Soğuk Uygulamalarının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi



Şekil 4.6. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının soğuk test öncesi ve sonrasında tohumların çimlenmesi üzerine etkisi.

*K: Kontrol, P: PEF; P1: 240 μ s, 50 Hz, % 6 Nem; P2: 60 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem; P3: 420 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P4: 240 μ s, 290 Hz, % 15 Nem; P5: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P6: 420 μ s, 170 Hz, % 15 Nem; P7: 60 μ s, 170 Hz, % 6 Nem; P8: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P9: 240 μ s, 170 Hz, % 10.5 Nem; P10: 420 μ s, 170 Hz, % 6 Nem; P11: 240 μ s, 50 Hz, % 15 Nem; P12: 60 μ s, 50 Hz, % 10.5 Nem; P13: 240 μ s, 290 Hz, % 6 Nem; P14: 60 μ s, 170 Hz, % 15 Nem; P15: 420 μ s, 290 Hz, % 10.5 Nem

PEF uygulama parametrelerinin soğuk test öncesi ve sonrasında lahana tohumunun çimlenmesindeki etkileri görülmektedir. Yapılan denemelerde % 6 ve 10.5 nem içeriğine sahip tohumlarda % 15 neme göre daha iyi çimlenme görülmektedir (Şekil 4.6). Frekans ve uygulama süresinde genel olarak orta ve yüksek düzeydeki

uygulamaların çimlenme üzerinde benzer etkileri olduğu tespit edilmiştir. Oda koşullarında en iyi çimlenme oranının ise % 15 nem içeriğindeki tohumlara 420 µs uygulama süresinde 170 Hz frekansın PEF uygulamasında olduğu Çizelge 4.2'de belirtilmiştir. Genel olarak uygulamaların tohumun çimlenmesini olumsuz yönde etkilemediği öngörülmektedir. Yapılan bir çalışmada, 0.5, 1.4 ve 2 kV/cm olmak üzere 3 farklı elektrik alan şiddetinin uygulanması ile buğday tohumunun çimlenmesindeki değişim incelenmiştir. Uygulama öncesi ve sonrasında tohumların çimlenmeye bırakılmasından sonra oluşan fideler değerlendirilmiş ve 0.5 kV/cm elektrik alan şiddetinin fide büyümesine önemli bir katkısı olmazken; 1.4 kV/cm elektrik alan şiddeti uygulamasının fide büyümesinde etkili olduğu belirtilmiş; 2 kV/cm elektrik alan şiddetinin ise fide büyümesini azalttığı tespit edilmiştir (Leong vd., 2016).

PEF uygulamalarından sonra soğuk testten geçirilen lahana tohumlarının çimlenme oranları % 9.16 ve % 25.50 aralığında bulunmuştur. Kontrol gruplarında ise ortalama çimlenme oranı % 17.22 olarak tespit edilmiştir. Başlangıçta % 18.33 olan tohumun çimlenme oranı, P15 uygulaması sonrasında soğuk test etkisi ile % 39.11 oranında artmıştır. Bir başka kontrol grubunda başlangıçta % 11.66 olan tohumun çimlenme oranının, P6 uygulaması sonrasında soğuk test etkisi ile % 32.93 oranında arttığı belirlenmiştir. Nem içeriği % 6 olan tohumlarda ise başlangıçta % 21.66 olan çimlenme oranı, P10 ve P13 uygulamaları sonrasında soğuk test etkisiyle sırasıyla % 17.72 ve % 16.57 düzeyinde artmıştır.

Çizelge 4.8. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının lahana tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Süre	1	70.85	70.8543	47.17	0.000	Önemli
Frekans*Frekans	1	21.82	21.8222	14.53	0.001	Önemli
Süre*Süre	1	25.09	25.0871	16.70	0.001	Önemli
Frekans*Süre	1	10.88	10.8811	7.24	0.013	Önemli
Frekans*Nem	1	26.90	26.9011	17.91	0.000	Önemli
Süre*Nem	1	30.65	30.6544	20.41	0.000	Önemli
Saf Hata	17	12.23	0.7192			
Düzeltilmiş Toplam	29	217.63				

PEF uygulamalarının oda sıcaklığında tohum çimlenmesi üzerine etkisi istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8’de verilmiştir. Verilerin elde edilmesinde önemli olduğu düşünülen frekans, nem ve süre parametrelerinden sadece sürenin temel etkisinin önem seviyesinin yüksek olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Bu 3 parametrenin etkileşim etkilerinin yanı sıra ikinci dereceden etkileri incelenmiş ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Belirleme katsayısının (R^2) % 84.13 olduğu bu modelde PEF uygulanmış tohumların çimlenme oranındaki değişkenliğin % 84.13’ünün Çizelge 4.8’de önemli bulunan faktörlerin belirlediği tespit edilmiştir. Modelin standart sapması 1.22; düzeltilmiş değeri % 79.98 ve tahmini R^2 değeri ise % 71.99 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9. Atımlı elektrik alanı uygulamalarının soğuk testinde lahana tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Frekans	1	131.33	131.332	31.03	0.000	Önemli
Süre	1	100.85	100.852	23.83	0.000	Önemli
Nem	1	448.06	448.063	105.87	0.000	Önemli
Frekans*Nem	1	35.45	35.448	8.38	0.008	Önemli
Saf Hata	17	10.03	0.590			
Düzeltilmiş Toplam	29	821.50				

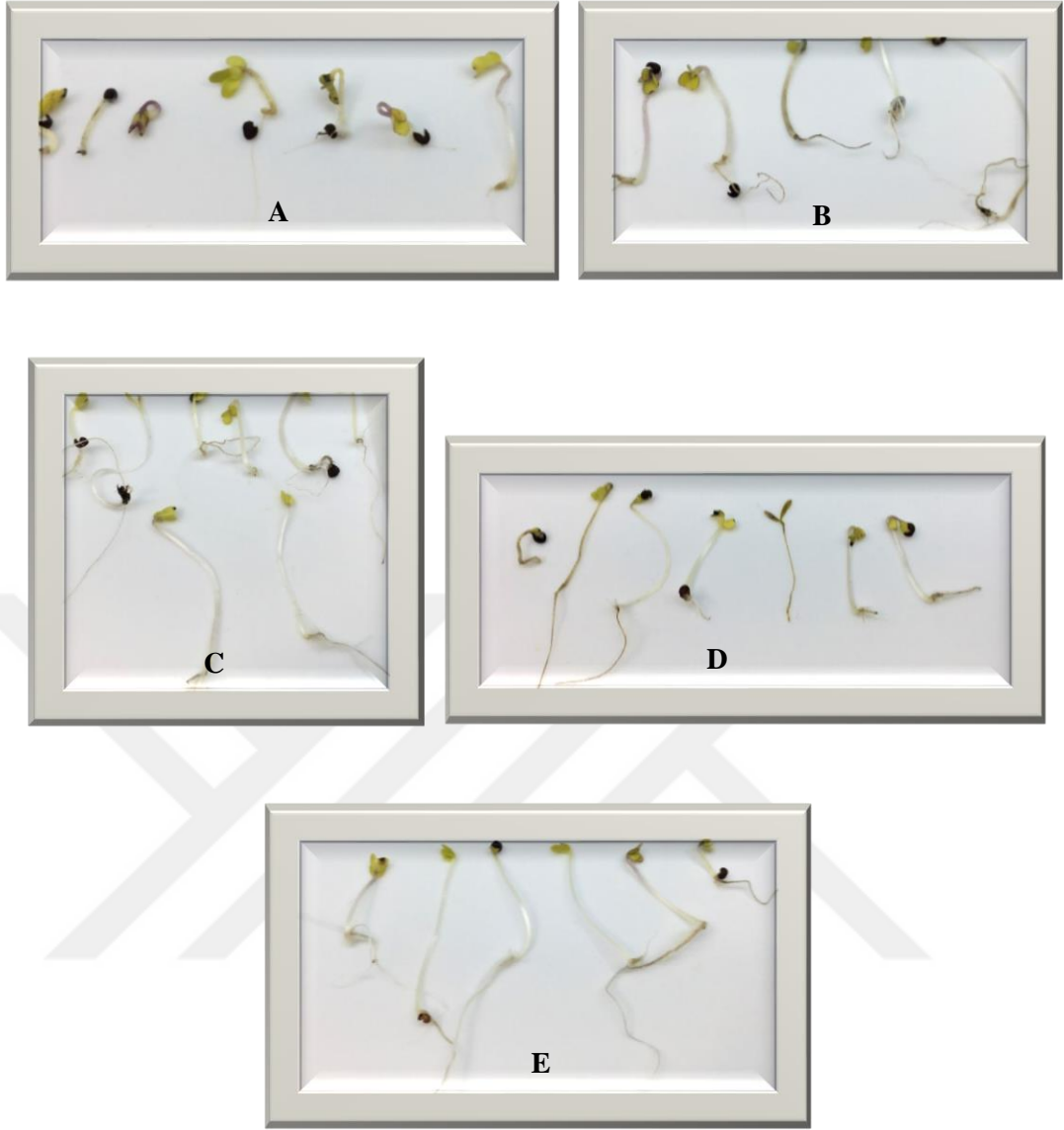
Lahana tohumları PEF uygulamalarının ardından soğuk teste tabi tutulmuş ve tohumların çimlenme oranları istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir (Çizelge 4.9). Sistemde standart sapma 2.05; belirleme katsayısı % 87.12; düzeltilmiş R^2 değeri % 85.06 ve tahmini R^2 değeri % 79.41 olarak hesaplanmıştır. Sonuçları önemli düzeyde etkilediği belirlenen faktörler frekans, nem ve süre iken bu faktörlerin temel etkilerinin yanı sıra nem ve frekansın etkileşim etkisi de istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tohumların çimlenmelerinde PEF uygulamalarının etkisini karşılaştırabilmek amacıyla Tukey testi kullanılmış ve istatistiksel açıdan önemli bulunan uygulamalar farklı üstsel harflerle gösterilerek Çizelge 4.2’de değerlendirilmiştir. Kontrol grubu lahana tohumları oda koşullarında % 2.12 ± 0.86 seviyesinde çimlenme göstermiş ve

özellikle PEF5, PEF6, PEF8, PEF9, PEF11, ve PEF 13 uygulamalarının her birinin tohumların çimlenmesi üzerinde istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). Özellikle PEF6 uygulaması mikrobiyolojik çalışmaların yanı sıra tohum çimlenmesi üzerinde de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). PEF6 uygulamasından sonra tohum çimlenme oranı % 9.16'ya ulaşmış ve bu deneme grubunu tohum çimlenme potansiyelini % 7.33 oranındaki PEF5, PEF8, PEF9 ve PEF11 uygulamaları takip etmiştir. Çizelge 4.2'de PEF uygulaması sonrasındaki tohumlar ile kontrol grubu (PEF uygulanmamış) tohumların soğuk ortamda çimlenmeleri de incelenmiş ve PEF4, PEF7, PEF10, PEF12, PEF13, PEF14, ve PEF15 uygulamalarının tohum çimlenmesi üzerinde istatistiksel olarak önemli etkisinin olduğu belirtilmiştir ($p \leq 0.05$).

4.6.1 Atımlı Elektrik Alanı ve Soğuk Uygulamalarının Lahana Tohumu Çimlenmesine Etkisi

PEF uygulamasının % 6 nem içeren tohumlarda soğuk test sonrası çimlenme üzerindeki etkisi Şekil 4.7'de gösterilmektedir. Kontrol grubu ile deneme grupları arasında farklılıklar görülmektedir ($p < 0.05$). Tohum çimlenmesi en yüksek olan grup (E), frekansın 290 Hz ve uygulama süresinin 240 μ s olduğu deneme sonuçlarında elde edilmiştir. Frekansın 170 Hz ve uygulama süresinin 420 μ s olduğu deneme grubunda da çimlenme oranı yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, genel olarak uygulamaların çimlenme üzerinde olumlu etkisinin olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. PEF ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 50 Hz, 240 µs; C: 170 Hz, 60 µs; D: 170 Hz, 420 µs; E: 290 Hz, 240 µs).

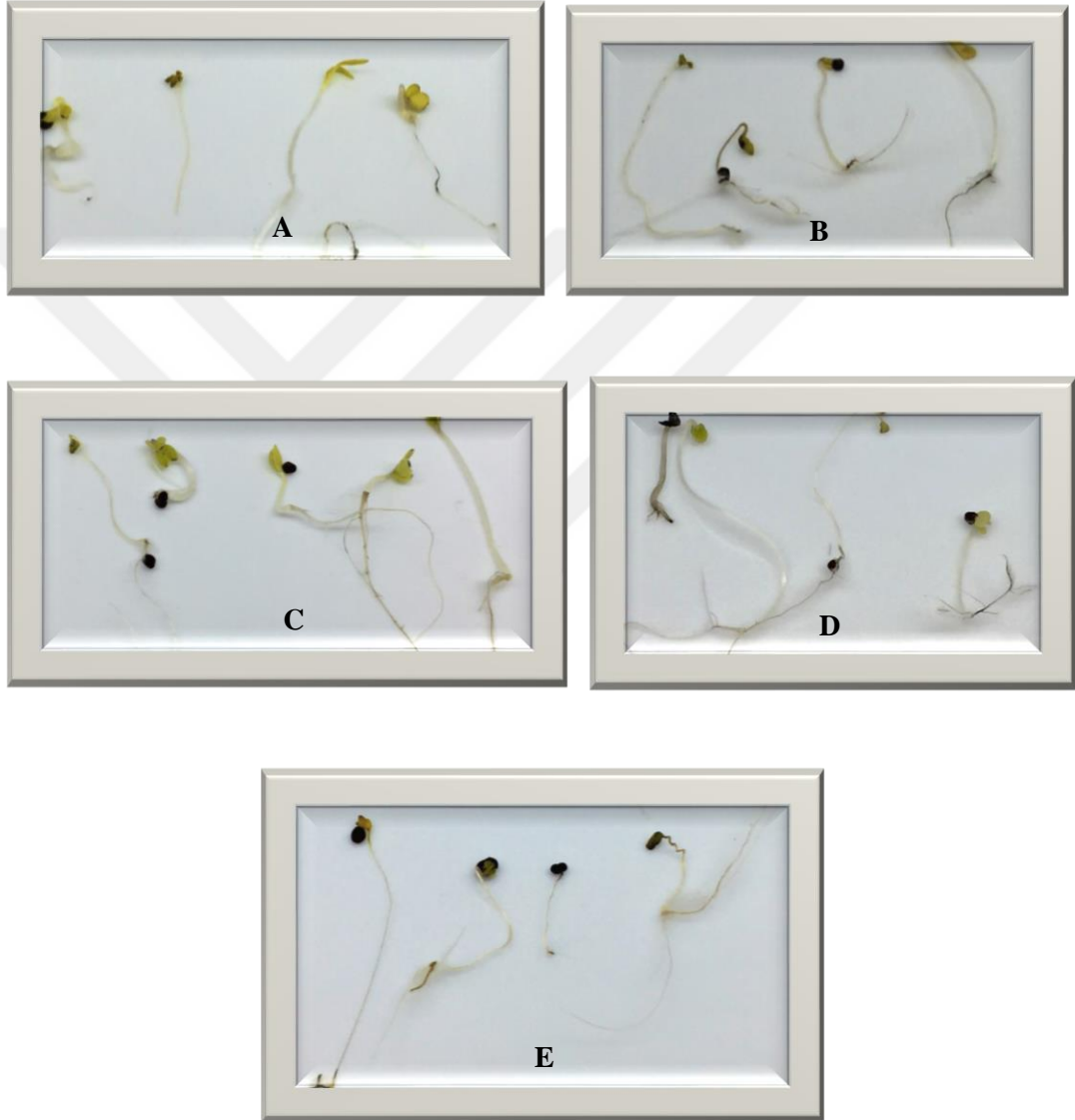
PEF uygulamasının % 10.5 nem içeren tohumlarda soğuk test sonrası çimlenme üzerindeki etkisi Şekil 4.8'de gösterilmektedir. Uygulamaların içerisinde çimlenmeye en iyi etkisi olan deneme grubu frekans 290 Hz, uygulama süresi 420 µs iken elde edilmiştir. Diğer deneme gruplarında da kontrole göre daha iyi çimlenme görülmektedir. Dolayısıyla, PEF uygulamalarının çimlenme üzerinde olumlu etkisinin olduğu sonucuna varılmaktadır.



Şekil 4.8. PEF ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 290 Hz, 60 μ s; C: 170 Hz, 240 μ s; D: 50 Hz, 420 μ s; E: 290 Hz, 420 μ s).

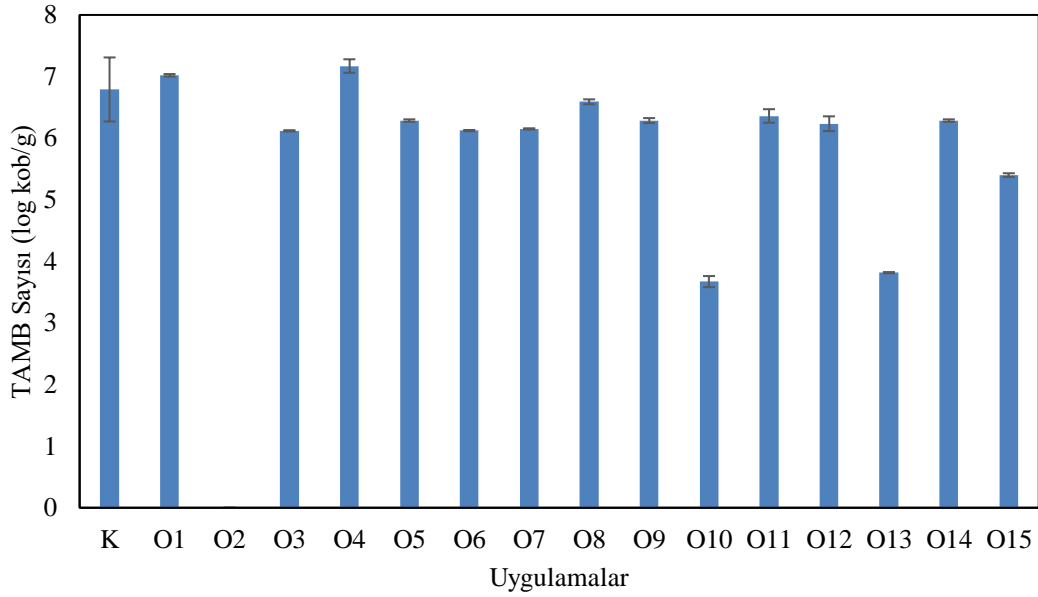
PEF uygulamasının % 15 nem içeren tohumlarda soğuk test sonrası çimlenme üzerindeki etkisi Şekil 4.9'da gösterilmektedir. Deneme grupları içerisinde tohum

çimlenmesinin en iyi olduğu PEF uygulaması, frekans 170 Hz ve uygulama süresi 420 μ s iken saptanmıştır. Genel olarak bakıldığında PEF uygulamalarının % 15 nem içerikli tohumların çimlenmeleri % 6 ve % 10.5 nem içerikli tohumlara göre daha düşük oranlarda gerçekleşmiştir. Tüm uygulamaların sonuçları irdelendiğinde % 6, % 10.5 ve % 15 nem içeriğine sahip tohumların PEF uygulamalarından olumsuz olarak etkilenmediği görülmektedir.



Şekil 4.9. PEF ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol, B: 290 Hz, 240 μ s; C: 170 Hz, 420 μ s; D: 50 Hz, 240 μ s; E: 170 Hz, 60 μ s)

4.7 Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumu Yüzeyindeki Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısına Etkisi



Şekil 4.10. Ozon uygulamalarının lahana tohumların doğal mikroflorasındaki toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısına (log kob/g) etkisi.

*K: Kontrol, O: Ozon; O1: 24.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O2: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O3: 16.5 g/m³, 40 dk, % 15 nem; O4: 16.5 g/m³, 15 dk, % 15 nem; O5: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O6: 16.5 g/m³, 40 dk, % 6 nem; O7: 16.5 g/m³, 15 dk, % 6 nem; O8: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O9: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O10: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O11: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O12: 24.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem; O13: 8.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O14: 16.5 g/m³; 27.5 dk, % 10.5 nem; O15: 8.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem

Lahana tohumları % 6, 10.5 ve 15 nem seviyelerine getirildikten sonra uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Ozon uygulanmamış lahana tohumlarının doğal mikroflorası incelendiğinde ortalama toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı (TAMB) 6.79±0.52 log kob/g olarak bulunmuştur. Ozon konsantrasyonunun 8.5 g/m³ olduğu uygulamanın 27.5 dk süresince uygulanmasının % 15 nem içeriğine sahip olan tohumların yüzeylerinde 6.5 log kob/g azalma tespit edilmiştir. En etkili uygulamaların ozon konsantrasyonunun 8.5 g/m³ olduğu deneylerde belirlenmiş ve tohum yüzeyinin dezenfekte edilebildiği proses parametreleri tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, toplam mezofilik bakteri sayısı 6.47 ± 0.28 log kob/g olan kırmızı biber örneklerine 40 mg/L ve 80 mg/L ozon, 20 ve 40 dk uygulanmış ve 80 mg/L ozonun 40 dk uygulanması ile toplam mezofilik bakteri sayısında 1.43 log kob/g azalma olmuştur (Kamber vd., 2016). Mikrobiyal yükü azaltmak amacıyla yapılan bir çalışmada kurutulmuş kekik örneklerine 2.8 ve 5.3 mg/L ozon, 4 farklı sürede uygulanmış ve 5.3 mg/L ozonun 120 dk uygulanması sonucunda TAMB sayısında 3.2 log'dan daha fazla azalma olduğu tespit edilmiştir (Torlak vd., 2013).

Çizelge 4.10. Ozon uygulamalarının TAMB sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Ozon Konsantrasyonu	1	44.3546	44.3546	68.90	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Ozon Konsantrasyonu	1	15.5321	15.5321	24.13	0.000	Önemli
Nem*Nem	1	3.4024	3.4024	5.29	0.031	Önemli
Süre*Süre	1	4.5595	4.5595	7.08	0.014	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Nem	1	7.5938	7.5938	11.80	0.002	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Süre	1	2.8380	2.8380	4.41	0.047	Önemli
Saf Hata	17	0.0584	0.0034			
Düzeltilmiş Toplam	29	94.0814				

Ozon uygulamalarının tohumların doğal mikroflorasında bulunan TAMB üzerine etkisi ile ilgili elde edilen bulgular Çizelge 4.10'da istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve ozon konsantrasyonunun TAMB inaktivasyonunda temel etkisi önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). İnaktivasyon sonuçlarına etkisi olan ozon konsantrasyonu, süre ve nemin ikinci derece etkileri de istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Sadece ozon konsantrasyonu ve nemin değil aynı zamanda ozon konsantrasyonu ile sürenin de etkileşim etkisinin önemli olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Değerlendirmeler sonucunda istatistiksel önemi olan tüm etkenlerin TAMB sayısını belirleme katsayısı (R^2) % 84.26; düzeltilmiş R^2 % 80.16; tahmini R^2 değeri % 68.12 ve standart sapması 0.80 olarak bulunmuştur.

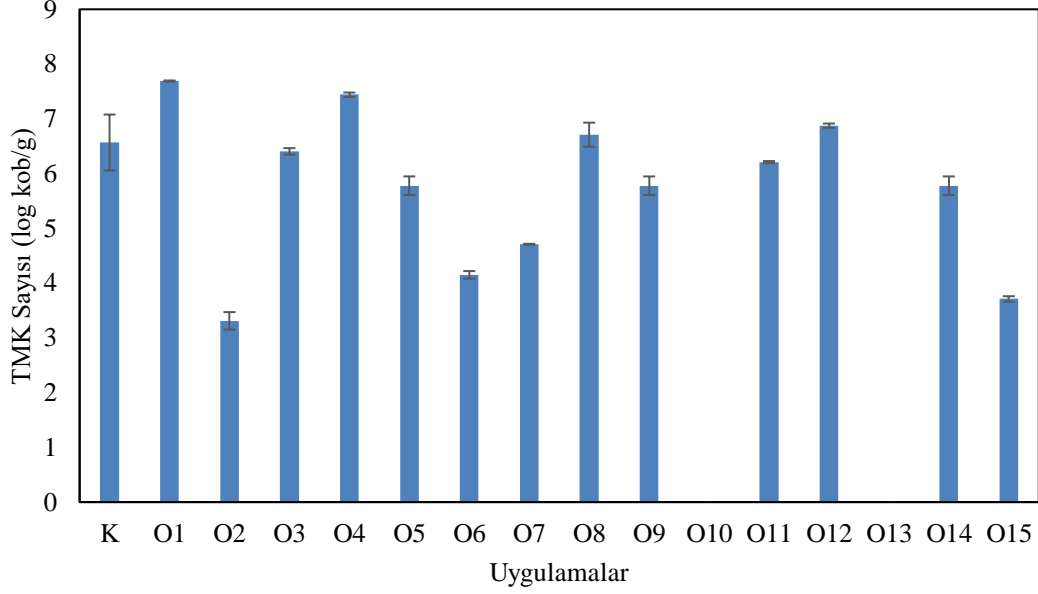
Lahana tohumu yüzeyindeki TAMB inaktivasyonu ile ilgili olarak ozon uygulamaları ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Tukey testi kullanılarak Çizelge 4.11’de değerlendirilmiştir. Ozon uygulanmamış lahana tohumlarının yüzeylerinde 6.79 ± 0.52 log kob/g seviyesinde TAMB tespit edilmiş olup OZON1 ve OZON8 uygulaması dışındaki uygulamalarda istatistiksel olarak önemli seviyede inaktivasyon gerçekleşmiştir ($p \leq 0.05$). Uygulamalar içerisinde TAMB üzerinde en fazla etkisi olan OZON2 uygulaması ile tohum yüzeyinin tamamen dezenfekte edilebildiği saptanmış ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). İstatistiksel açıdan önemli olan OZON10 ve OZON13 uygulamalarında TAMB sayısında sırasıyla 2.46 ve 2.32 log kob/g azalma belirlenmiştir ($p \leq 0.05$).

Çizelge 4.11. Ozon uygulamalarının mikrobiyal inaktivasyon ve tohum kalitesi üzerindeki etkisi

OZON	TAMB (log kob/g)	TMK (log kob/g)	<i>A. brassica</i> (log kob/g)	<i>Xcc</i> (log kob/g)	EC (μ S/cm g)		Çimlenme (%)	
					2 saat	24 saat	Oda Şartları	Soğuk Test
K	6.79±0.52 ^{bc}	6.56±0.51 ^{bcd}	7.09±1.19 ^b	7.84±0.71 ^a	35.00±6.26 ^c	103.67±16.93 ^d	2.22±2.27 ^{de}	12.11±7.33 ^{ef}
1	7.02±0.02 ^{ab}	7.69±0.01 ^a	6.75±0.02 ^b	7.19±0.01 ^c	43.00±0.00 ^a	124.00±0.70 ^a	6.83±0.24 ^{ab}	15.25±0.35 ^{cd}
2	0.00±0.00 ^h	3.31±0.16 ⁱ	7.92±0.10 ^a	5.08±0.03 ^f	32.00±0.00 ^{ef}	95.50±0.70 ^{fg}	1.83±0.24 ^{de}	13.16±0.23 ^{de}
3	6.11±0.01 ^e	6.40±0.06 ^{cd}	8.21±0.14 ^a	8.03±0.22 ^a	31.00±0.00 ^f	97.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	21.83±0.24 ^a
4	7.17±0.11 ^a	7.44±0.04 ^a	8.02±0.12 ^a	8.21±0.05 ^a	33.00±0.00 ^{de}	107.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^e	4.16±1.18 ^h
5	6.28±0.02 ^e	5.77±0.17 ^e	5.59±0.12 ^d	7.73±0.05 ^{ab}	26.50±0.70 ^h	95.00±0.00 ^g	4.16±1.18 ^{cd}	19.16±1.18 ^b
6	6.12±0.01 ^e	4.15±0.07 ^g	5.73±0.05 ^d	4.82±0.24 ^f	34.00±0.00 ^{cd}	100.00±0.00 ^e	9.16±1.18 ^a	20.83±0.24 ^{ab}
7	6.15±0.01 ^e	4.70±0.01 ^f	6.32±0.03 ^c	4.98±0.04 ^f	37.00±0.00 ^b	110.50±0.70 ^b	4.16±1.18 ^{cd}	15.83±1.17 ^c
8	6.58±0.04 ^{cd}	6.71±0.22 ^{bc}	8.15±0.10 ^a	8.01±0.01 ^a	25.00±0.00 ⁱ	93.00±0.00 ^h	4.16±1.18 ^{cd}	15.25±0.35 ^{cd}
9	6.28±0.02 ^e	5.77±0.17 ^e	5.59±0.12 ^d	7.73±0.05 ^{ab}	26.50±0.00 ^h	95.00±0.00 ^g	4.16±1.18 ^{cd}	19.16±1.18 ^b
10	3.67±0.09 ^g	0.00±0.00 ^j	3.93±0.08 ^e	5.72±0.17 ^e	31.00±0.00 ^f	88.00±0.00 ^j	3.16±0.23 ^{cd}	6.83±0.24 ^g
11	6.36±0.11 ^{de}	6.21±0.01 ^d	6.32±0.02 ^c	6.46±0.11 ^d	28.00±0.00 ^g	91.00±0.00 ⁱ	6.83±0.24 ^{ab}	6.25±0.35 ^{gh}
12	6.23±0.12 ^e	6.87±0.04 ^b	6.12±0.01 ^c	7.26±0.16 ^{bc}	34.00±0.00 ^{cd}	111.00±1.41 ^b	3.16±0.23 ^{cd}	11.83±0.24 ^{ef}
13	3.81±0.01 ^g	0.00±0.00 ^j	4.09±0.02 ^e	3.74±0.11 ^g	32.50±0.70 ^e	94.00±0.00 ^{gh}	1.83±0.24 ^{de}	10.25±0.35 ^f
14	6.28±0.02 ^e	5.77±0.17 ^e	5.59±0.12 ^d	7.73±0.05 ^{ab}	26.50±0.00 ^h	95.00±0.00 ^g	4.16±1.18 ^{cd}	19.16±1.18 ^b
15	5.40±0.03 ^f	3.71±0.05 ^h	4.22±0.10 ^e	5.15±0.07 ^f	31.00±0.00 ^f	97.00±0.00 ^f	5.25±0.35 ^{bc}	15.25±0.35 ^{cd}

Çizelge 4.11'de ozon uygulama sonuçları ortalama±ortalama sapma olarak gösterilmiştir. Aynı sütunda farklı üstsel harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.05$).

4.8 Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumu Yüzeyindeki Toplam Maya Küf Üzerine Etkisi



Şekil 4.11. Ozon uygulamalarının lahana tohumların doğal mikroflorasındaki toplam maya küf (TMK) sayısına (log kob/g) etkisi.

*K: Kontrol, O: Ozon; O1: 24.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O2: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O3: 16.5 g/m³, 40 dk, % 15 nem; O4: 16.5 g/m³, 15 dk, % 15 nem; O5: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O6: 16.5 g/m³, 40 dk, % 6 nem; O7: 16.5 g/m³, 15 dk, % 6 nem; O8: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O9: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O10: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O11: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O12: 24.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem; O13: 8.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O14: 16.5 g/m³; 27.5 dk, % 10.5 nem; O15: 8.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem

Lahana tohumları % 6, 10.5 ve 15 nem seviyelerine getirildikten sonra uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Ozon uygulanmamış lahana tohumlarının doğal mikroflorası incelendiğinde ortalama toplam maya küf sayısı (TMK) 6.56±0.51 (log kob/g) olarak bulunmuştur. 15 farklı ozon uygulamasının gerçekleştirildiği denemelerde özellikle 8.5 g/m³ ozon konsantrasyonu ile TMK inaktivasyonu başarılı bir şekilde sağlanmış ve tohum yüzeyi tamamen dezenfekte edilebilmiştir. Ozon uygulamalarının mikrobiyal inaktivasyon başarısına bakıldığında TMK üzerinde

(TAMB sayısına göre) daha iyi etkili olduğu elde edilen sonuçlarda görülmektedir (Şekil 4.11).

Ozon uygulamalarının kuru incirin doğal mikroflorasında bulunan bakteri, maya, küf, koliform üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada 1, 5 ve 10 ppm ozon konsantrasyonunun 3 ve 5 saat boyunca uygulanması ile mikrobiyal inaktivasyona etkisi irdelenmiştir. Başlangıçta kuru incirin maya-küf sayısı 1.46 log kob/g olarak belirlenmiş ve ozon konsantrasyonlarına göre 3 saatte sırasıyla 0.16, 0.73 ve 0.89 log kob/g azalma olduğu tespit edilmiştir. Beş saat süren ozon uygulamalarında ise konsantrasyona göre maya-küf inaktivasyonu sırasıyla 0.46, 0.89 ve 1.06 log kob/g olduğu belirtilmiştir (Öztekin vd., 2006). Tahıllarla yapılan bir çalışmada arpanın depolanması öncesi veya sırasında küf gelişimini önlemek amacıyla ozon uygulamalarının etkisi incelenmiştir. Ozon dozunun 0.10 mg/g arpa ve sürenin 5 dk olduğu denemelerin sonuçlarına göre küf miktarının % 96'sının inaktive edilebildiği tespit edilmiştir (Allen vd., 2007).

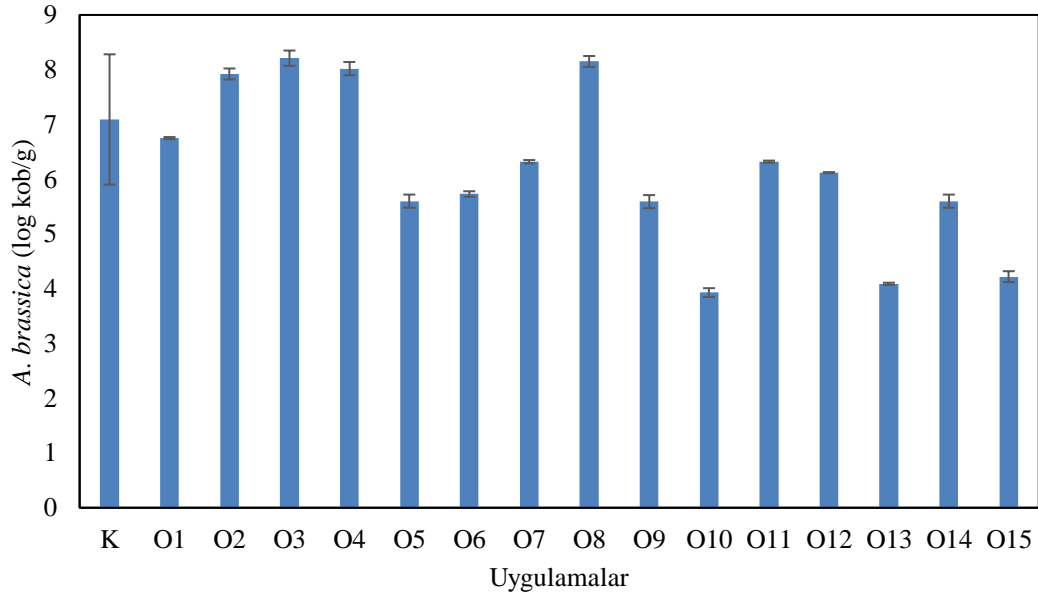
Çizelge 4.12. Ozon uygulamalarının TMK sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Ozon Konsantrasyonu	1	104.646	104.646	1511.66	0.000	Önemli
Nem	1	19.394	19.394	280.16	0.000	Önemli
Süre	1	5.063	5.063	73.14	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu* Ozon Konsantrasyonu	1	14.697	14.697	212.31	0.000	Önemli
Nem*Nem	1	0.685	0.685	9.89	0.005	Önemli
Süre*Süre	1	0.306	0.306	4.42	0.048	Önemli
Ozon Konsantrasyonu* Nem	1	3.972	3.972	57.38	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu* Süre	1	10.278	10.278	148.47	0.000	Önemli
Saf Hata	17	0.187	0.011			
Düzeltilmiş Toplam	29	160.584				

Çizelge 4.12’de ozon uygulamalarında belirlenen faktörlerin (ozon konsantrasyonu, tohum nem içeriği ve uygulama süresi) TMK sayısına etkisi istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir. Buna göre her faktörün önem seviyesinin yüksek olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Özellikle ozon konsantrasyonunun tohum yüzeyinde bulunan TMK inaktivasyonu için (süre ve nem faktörlerine göre) çok önemli etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Faktörlerin ikili ortak etkilerine bakıldığında ozon konsantrasyonunun hem nem hem de süre ile etkileşim etkisinin TMK inaktivasyonu açısından önemli olduğu gösterilmiştir ($p < 0.05$). Faktörlerin etkileşim etkileri istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde ozon konsantrasyonu ve sürenin ortak etkisinin daha iyi olduğu anlaşılmaktadır. Analiz sonucunda belirleme katsayısı (R^2) % 99.09 olarak hesaplanmış ve faktörlerin değerlendirmeler açısından uygun olduğu anlaşılmıştır. Modelin düzeltilmiş R^2 değeri % 98.75, tahmini R^2 değerleri % 98.00 iken standart sapması 0.26 olarak bulunmuştur.

Ozon uygulamaları ve kontrol grubundan elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı ve farklılığın hangi uygulamalardan kaynaklandığı Tukey testi kullanılarak irdelenmiştir (Çizelge 4.11). Kontrol grubu lahana tohumlarının doğal mikroflorasında 6.56 ± 0.51 log kob/g düzeyinde TMK belirlenmiştir. Ozon uygulamaları içerisinde OZON3, OZON8, OZON11 ve OZON12 uygulamaları ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığı, ancak diğer uygulamaların istatistiksel olarak önemli seviyede TMK inaktivasyonu sağladığı belirtilmiştir ($p \leq 0.05$). Ozon uygulamaları içerisinde en etkili uygulamaların OZON10 ve OZON13 olduğu ve TMK açısından tohumun tamamen arındırıldığı belirlenmiş olup uygulamalar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). İnaktivasyon etkisi bulunan diğer ozon uygulamaları içerisinde istatistiksel açıdan önemli olan OZON2 ve OZON15 uygulamaları ile TMK sayısında sırasıyla 3.75 ve 2.99 log kob/g azalma belirlenmiştir ($p \leq 0.05$).

4.9 Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumlarına İnoküle Edilen *Alternaria brassica* Üzerine Etkisi



Şekil 4.12. Ozon uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *A. brassica* sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.

*K: Kontrol, O: Ozon; O1: 24.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O2: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O3: 16.5 g/m³, 40 dk, % 15 nem; O4: 16.5 g/m³, 15 dk, % 15 nem; O5: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O6: 16.5 g/m³, 40 dk, % 6 nem; O7: 16.5 g/m³, 15 dk, % 6 nem; O8: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O9: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O10: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O11: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O12: 24.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem; O13: 8.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O14: 16.5 g/m³; 27.5 dk, % 10.5 nem; O15: 8.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem

Ozon uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *A. brassica* inaktivasyonunda etkisi incelenmiştir. Uygulama öncesinde tohumlara inoküle edilen (kontrol grubu) ortalama *A. brassica* sayısı 7.09±1.19 log kob/g olarak bulunmuştur. İnokülasyon sonrasında en yüksek mikrobiyal değişim, doğal mikroflorada olduğu gibi ozon konsantrasyonunun 8.5 g/m³ olduğu uygulamalarda görülmüştür. Bu ozon konsantrasyonunda % 6 nem içeren tohumlara 27.5 dk süresince ozon uygulandığında mikrobiyal yükte yaklaşık 2.19 log kob/g azalma sağlanmıştır. Aynı ozon konsantrasyonunda % 10.5 nem içeriğindeki tohumlarla 15 ve 40 dk sürelerde

çalışıldığında *A. brassica* sayısında sırasıyla 2.3 ve 2.43 log kob/g azalma belirlenmiştir.

Ozon uygulamalarının karabiberde bulunan patojen mikroorganizmalara karşı öldürücü etkisinin incelendiği bir çalışmada 6.7 ppm ozon uygulamasının *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ve *Penicillium* spp. üzerinde 3 log'dan fazla; *Aspergillus* spp. üzerinde ise 4 log'dan fazla inaktivasyon sağladığı belirtilmiştir (Maldonado vd., 2018). Bir başka çalışmada soya fasulyesinde baskın bir patojen olan *Phytophthora sojae*'nin ozon uygulamaları sonrasındaki inaktivasyonu irdelenmiştir. Tohum ve fidelerin % 73.5 oranında *Phytophthora sojae* ile kontamine durumda olduğu belirlenmiştir. Uygulama süresinin 10 dk, ozon dozunun ise 0.47 g/kg O₃ olması durumunda *P. sojae*'nin tamamen inaktive edilebildiği tespit edilmiştir (Msayleb vd., 2017).

Çizelge 4.13. Ozon uygulamalarının lahana tohumlarına inoküle edilen *A. brassica* sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

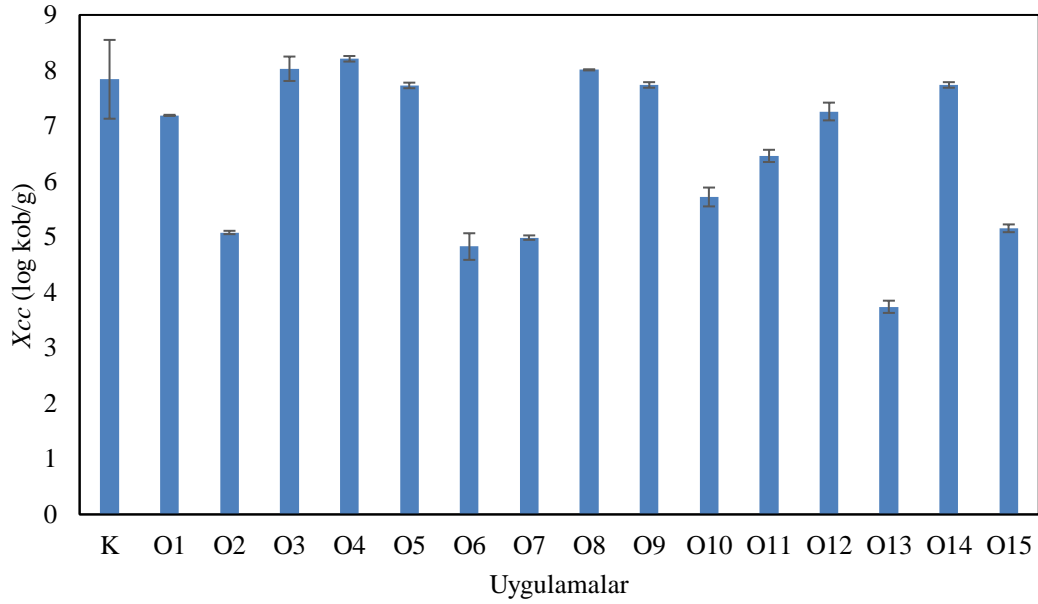
Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Ozon Konsantrasyonu	1	12.8917	12.8917	117.57	0.000	Önemli
Nem	1	24.9811	24.9811	227.83	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Ozon Konsantrasyonu	1	1.1905	1.1905	10.86	0.003	Önemli
Nem*Nem	1	14.0637	14.0637	128.26	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Nem	1	2.3154	2.3154	21.12	0.000	Önemli
Saf Hata	17	0.1341	0.0079			
Düzeltilmiş Toplam	29	58.7397				

Uygulamalarda belirlenen parametrelerde tohumlara inoküle edilen *A. brassica*'in inaktivasyon sonuçları istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir. Çizelge 4.13'te faktörlerin temel etkileri, ikili etkileşimleri ve ikinci derece etkilerinin *p* değerleri belirtilmiş ve 0,05 değerinden küçük olanlar istatistiksel açıdan önemli kabul edilmiştir. Bu durumda ozon konsantrasyonu ve tohum nem içeriğinin önem seviyesinin yüksek olduğu modelde görülmektedir ($p < 0.05$). Bununla birlikte nem ve

ozon konsantrasyonunun etkileşim etkisinin de önem seviyesi yüksek olarak görülmektedir ($p < 0.05$). Bu modelin belirleme katsayısı (R^2) % 95.52 olarak hesaplanmıştır. R^2 geliştirilerek düzeltilmiş ve tahmini R^2 değerleri elde edilmiş olup bu değerler sırasıyla % 94.59 ve % 92.33 olarak hesaplanmış ve modelin standart sapması 0.33 olarak bulunmuştur.

Ozon uygulamalarından elde edilen bulgular arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Tukey testi kullanılarak Çizelge 4.11'de değerlendirilmiştir. Lahana tohumlarına patojen mikroorganizma olan *A. brassica* 7.09 ± 1.19 log kob/g düzeyinde inoküle edilmiş ve tohumlar farklı seviyelerde ozon uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Ozon uygulamaları öncesi ve sonrasında elde edilen veriler değerlendirildiğinde istatistiksel olarak önemli seviyede *A. brassica* inaktivasyonu sağlandığı belirlenmiştir ($p \leq 0.05$). OZON13 uygulamasının lahana tohumuna kontamine edilmiş olan *A. brassica* sayısında 2.43 log kob/g azalma sağladığı tespit edilmiş ve bunu 2.19 log kob/g azalma ile OZON10 uygulaması takip etmiştir ($p \leq 0.05$). Ayrıca, OZON15 uygulamasına maruz bırakılan tohumların *A. brassica* sayısında 2.3 log kob/g düşüş sağladığı belirlenmiş ve bu uygulamanın da inaktivasyon etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

4.10 Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumlarına İnoküle Edilen *Xanthomonas campestris pathovar campestris* Üzerine Etkisi



Şekil 4.13. Ozon uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *Xcc* sayısı (log kob/g) üzerindeki etkisi.

*K: Kontrol, O: Ozon; O1: 24.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O2: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O3: 16.5 g/m³, 40 dk, % 15 nem; O4: 16.5 g/m³, 15 dk, % 15 nem; O5: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O6: 16.5 g/m³, 40 dk, % 6 nem; O7: 16.5 g/m³, 15 dk, % 6 nem; O8: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O9: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O10: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O11: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O12: 24.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem; O13: 8.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O14: 16.5 g/m³; 27.5 dk, % 10.5 nem; O15: 8.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem

Ozon uygulamalarının tohum yüzeyine inoküle edilen *Xcc*'in inaktivasyonunda etkisi incelenmiştir (Şekil 4.13). Uygulama öncesinde tohumlara inoküle edilen (kontrol grubu) ortalama *Xcc* sayısı 7.84±0.71 log kob/g olarak bulunmuştur. En düşük mikrobiyal azalma O14 ve O8 uygulamaları sonrasında yaklaşık 0.3 log kob/g olarak belirlenmiştir. % 15 nem 8.5 g/m³ 27.5 dk olan O2 uygulamasında *Xcc* sayısında 3.29 log kob/g azalma belirlenmiştir. Ozon konsantrasyonunun 8.5 g/m³ olduğu denemelerden O13 ve O15 uygulamaları sonucunda *Xcc* sayısında sırasıyla 4.36 ve 2.95 log kob/g azalma tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada marul ve kavun tohumlarına inoküle edilen *Salmonella poona* ve *Escherichia coli* O157:H7 inaktivasyonu amacıyla 5 dk boyunca 4.3 mg/L ozon uygulanmıştır. Marul tohumlarında başlangıçta *E. coli* O157:H7 sayısı 5.47 ± 0.14 log kob/g iken, ozon uygulaması sonrasında 1.94 ± 0.07 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Kavun tohumlarına inoküle edilen *S. poona*'nın ozon uygulamaları etkisi ile 4.29 log kob/g azaldığı ifade edilmiştir (Trinetta vd., 2011).

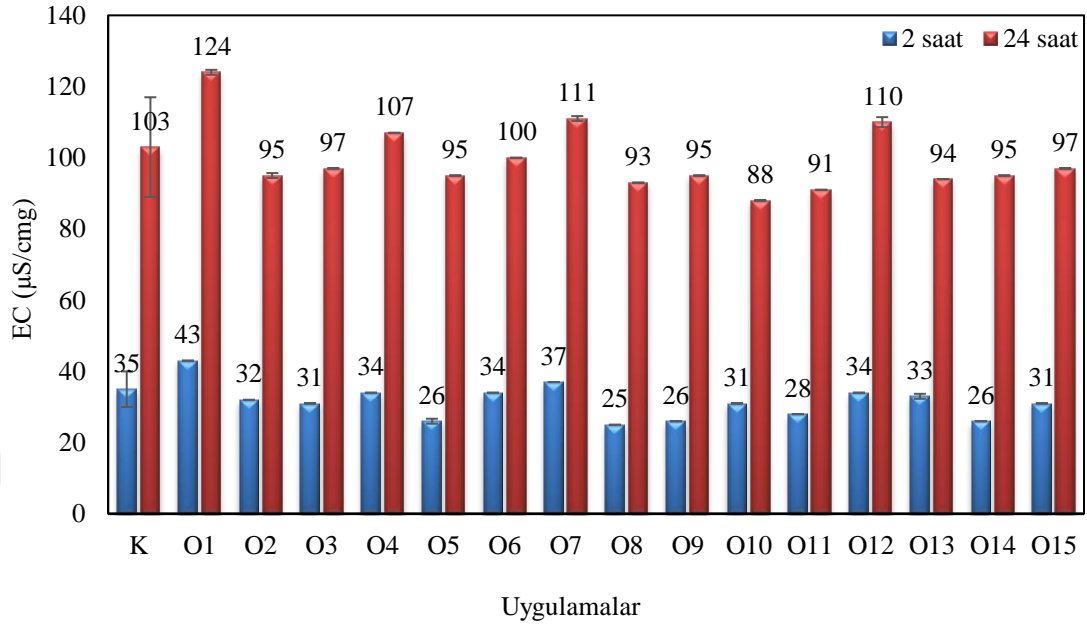
Çizelge 4.14. Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarına inoküle edilen *Xcc* sayısı üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	S D	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Ozon Konsantrasyonu	1	21.2600	21.2600	43.25	0.000	Önemli
Nem	1	13.4812	13.4812	27.42	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Ozon Konsantrasyonu	1	7.7215	7.7215	15.71	0.001	Önemli
Süre*Süre	1	5.0621	5.0621	10.30	0.004	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Nem	1	2.3865	2.3865	4.85	0.037	Önemli
Saf Hata	17	0.2165	0.0127			
Düzeltilmiş Toplam	29	60.8772				

Lahana tohumlarında önemli olan patojenlerin mikrobiyal inaktivasyonu amacıyla farklı seviyelerde ozon uygulamaları gerçekleştirilmiş ve inaktivasyon sonuçları istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir (Çizelge 4.14). ANOVA çıktısı incelendiğinde tohum nem içeriği ve ozon konsantrasyonu değişkenlerinin önem seviyelerinin yüksek olduğu anlaşılmış ve mikrobiyal inaktivasyona etkisi önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca, ozon konsantrasyonu ve nem parametrelerinin ortak etkisinin ile birlikte ozon konsantrasyonu ve süre değişkenlerinin ikinci derece etkilerinin de önemli derecede *Xcc* inaktivasyonu sağladığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Modelin belirleme katsayısı (R^2) % 80.62 iken düzeltilmiş ve tahmini R^2 değeri sırasıyla % 76.58 ve % 65.79 olarak hesaplanmış olup standart sapması 0.70 olarak bulunmuştur.

Bakteriyel patojen mikroorganizma olan *Xcc* ile kontamine edilen lahana tohumlarının başlangıçtaki ve ozon uygulamalarına maruz bırakıldıktan sonraki mikrobiyal yükü arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Tukey testi kullanılarak belirlenmiş ve Çizelge 4.11’de karşılaştırmalar gösterilmiştir. Ozon uygulaması öncesinde lahana tohumlarına inoküle edilen *Xcc* sayısı 7.84 ± 0.71 log kob/g iken ozon uygulamalarına maruz kalan tohumlarda *Xcc* sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Bu mikrobiyal düşüşte istatistiksel açıdan bazı uygulamaların önemli olduğu görülmektedir ($p \leq 0.05$). OZON1, OZON2, OZON6, OZON7, OZON10, OZON11, OZON12, OZON13 ve OZON15 deneme gruplarının *Xcc* inaktivasyonunda önemli olduğu saptanmıştır ($p \leq 0.05$). Bu deneme grupları dışındaki diğer grupların (OZON3, OZON4, OZON5, OZON8, OZON9 ve OZON14) istatistiksel olarak önemli seviyede *Xcc* inaktivasyonu sağlayamadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). İnokülasyonu yapılan *Xcc* için en anlamlı ozon uygulaması OZON13 deneme sonucunda görülmüş ve 4.3 log kob/g düzeyinde inaktivasyon gerçekleşmiştir ($p \leq 0.05$). *Xcc* sayısı üzerinde etkili olduğu belirlenen ve istatistiksel olarak önemli bulunan diğer ozon uygulamaları OZON6 ve OZON7 olup mikrobiyal yük üzerinde sırasıyla 2.12 ve 1.96 log kob/g azalma sağladıkları belirtilmiştir ($p \leq 0.05$).

4.11 Ozon Uygulamalarının Lahana Tohumlarının Elektriksel İletkenliğine Etkisi



Şekil 4.14. Ozon uygulamalarının tohumların elektriksel iletkenliği üzerine etkisi.

*K: Kontrol, O: Ozon; O1: 24.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O2: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O3: 16.5 g/m³, 40 dk, % 15 nem; O4: 16.5 g/m³, 15 dk, % 15 nem; O5: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O6: 16.5 g/m³, 40 dk, % 6 nem; O7: 16.5 g/m³, 15 dk, % 6 nem; O8: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O9: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O10: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O11: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O12: 24.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem; O13: 8.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O14: 16.5 g/m³; 27.5 dk, % 10.5 nem; O15: 8.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem

Elektriksel iletkenlik analizinde uygulamaların tohum kalitesi üzerindeki etkisi gösterilmiştir (Şekil 4.14). Uygulama öncesinde tohumların ortalama elektriksel iletkenlik değerleri 2. saat ve 24. saat sonunda sırasıyla 35.00±6.26 ve 103.67±16.93 µS/cm olarak bulunmuştur. Her bir tohum için 2 saat sonundaki elektriksel iletkenlik değerleri 25.00±0.00 ile 43.00±0.00 µS/cm aralığında hesaplanmış olup 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik değerleri ise 88±0.00 ile 124±0.00 µS/cm aralığında olduğu görülmüştür. % 6, 10.5 ve 15 nem içeriğine sahip tohumlarda uygulamaların elektriksel iletkenlik sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlarda

genel olarak % 10.5 ve % 15 nem oranına sahip tohumlarda uygulamalardan sonraki 2. saat ölçümlerinde ozonun tohum kalitesini olumsuz şekilde etkilemediği öngörülmektedir. O7 uygulamasında 2 saat sonundaki elektriksel iletkenliğin 27 $\mu\text{S}/\text{cmg}$ 'dan 37 $\mu\text{S}/\text{cmg}$ 'a arttığı tespit edilmiştir. Sadece uygulamadan kaynaklı değil aynı zamanda tohumun düşük nem içeriğine sahip olmasının da artışı tetikleyebileceği düşünülmektedir. Tohum kalitesinin bir göstergesi olarak düşünülen bu analiz sonucunda elektriksel iletkenliğin düşük olduğu deneme sonuçları özellikle % 10.5 ve % 15 nem içeren örneklerde tespit edilmiştir. O8 ve O14 uygulamalarının 2 saat sonraki ölçümleri sırasıyla 13 ve 14 $\mu\text{S}/\text{cmg}$ azalmıştır. Elde edilen bulgulara göre genel olarak % 10.5 ve % 15 nem içeriğindeki tohumlarda ozon uygulamaları sonrasındaki 24. saatteki elektriksel iletkenlik ölçümlerinin tohum kalitesini olumsuz etkilemediği öngörülmektedir. O13 uygulamasında elektriksel iletkenlik ölçümünde değişimin 23 $\mu\text{S}/\text{cmg}$ olduğu tespit edilmiştir. O8 uygulamasında ise elektriksel iletkenliğin 112 $\mu\text{S}/\text{cmg}$ 'dan 93 $\mu\text{S}/\text{cmg}$ 'a düşerek uygulamaların tohum kalitesinde problem oluşturmadığı öngörülmektedir. % 6 nem içeren tohumlarda ise elektriksel iletkenliğin genel olarak arttığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla ölçümlerdeki artışın tohum nem içeriğinin düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ozon uygulamalarının fıstık tanelerinin elektriksel iletkenliği üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada uygulamada 13 ve 21 mg/L ozon konsantrasyonunun 24, 48, 72 ve 96 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümleri yapılmıştır. Ozon uygulamaları sonrasında fıstık tanelerinin elektriksel iletkenlik değerleri 80-90 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aralığında bulunmuştur. Ozon konsantrasyonu ve süre etkileşiminin elektriksel iletkenlik üzerinde önemli bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır ($p > 0.05$) (Alencar vd., 2011).

Çizelge 4.15. Ozon uygulamalarının lahanaya tohumlarının 2 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Süre*Süre	1	316.334	316.334	29.25	0.000	Önemli
Saf Hata	17	2.000	0.118			
Düzeltilmiş Toplam	29	619.200				

Ozon uygulamaları için belirlenen parametrelerin (ozon konsantrasyonu, süre ve nem) elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçlarına etkisi istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar ANOVA çıktısında gösterilmiştir (Çizelge 4.15). Buna göre belirlenen parametrelerin hem tek hem de ortak (ikili) etkisinin modelde yer almaması sebebiyle tohumların elektriksel iletkenliği açısından öneminin olmadığı anlaşılmıştır. Parametreler arasından sadece sürenin ikinci dereceden etkisinin önemli olduğu ($p < 0.05$) ve elektriksel iletkenliği belirlemede % 51.09 oranında uygun olduğu tespit edilmiştir. Modelin standart sapması 3.28 olarak bulunmuştur. Düzeltilmiş ve tahmini belirleme katsayıları sırasıyla % 49.34 ve % 44.05 olarak hesaplanmıştır.

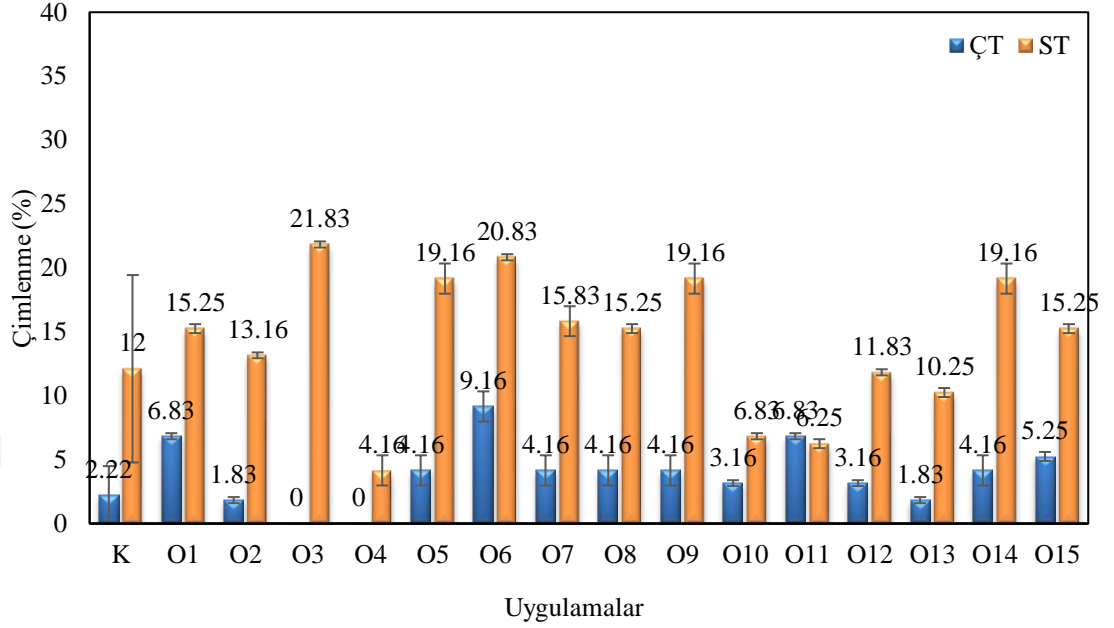
Çizelge 4.16. Ozon uygulamalarının lahana tohumlarının 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçümlerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Ozon Konsantrasyonu	1	495.06	495.06	13.21	0.001	Önemli
Süre*Süre	1	10.4817	10.4817	27.96	0.000	Önemli
Saf Hata	17	3.00	0.18			
Düzeltilmiş Toplam	29	2555.47				

Çalışma kapsamında belirlenen parametrelerin (ozon konsantrasyonu, nem ve süre) 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçları istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.16'da verilmiştir. Tohumların elektriksel iletkenliği üzerinde önemli etkisi olmayan parametrelere modelde yer verilmemiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre ozon konsantrasyonunun önem seviyesinin belirgin şekilde yüksek olduğu modelde belirtilmiştir ($p < 0.05$). İki saat sonundaki elektriksel iletkenlik ölçüm sonuçlarında görüldüğü gibi burada da sürenin ikinci dereceden etkisi önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Verilerin elektriksel iletkenlikte uygunluğu mikrobiyolojik çalışmalara kıyasla daha düşük bulunmuş ve bu durum modelin belirleme katsayısı (R^2) ile teyit edilmiştir (R^2 : % 60.39). Modelin düzeltilmiş R^2 değeri % 57.46, tahmini R^2 değeri % 49.68, standart sapması 6.12 olarak hesaplanmıştır.

Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen verileri karşılaştırabilmek amacıyla Tukey testi kullanılmış ve gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı Çizelge 4.11’de gösterilmiştir. Ozon uygulaması öncesinde lahana tohumunun 2 saat sonundaki elektriksel iletkenliği $35.00 \pm 6.26 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmıştır. Ozona maruz bırakılmış lahana tohumlarının elektriksel iletkenlik değerleri OZON6 ile OZON12 deneme grupları dışında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). En etkili ozon uygulamasının OZON8 deneme grubunda ($25.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$) olduğu belirlenmiş ve bunu OZON5 uygulaması ($26.50 \mu\text{S}/\text{cmg}$) takip etmiştir. Ozon uygulanmamış (kontrol grubu) lahana tohumlarının 24 saat sonundaki elektriksel iletkenlik değeri $103.67 \pm 16.93 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmış ve deneme gruplarından elde edilen veriler Çizelge 4.11’de belirtilmiştir. Ozon uygulamalarına maruz bırakılan lahana tohumlarının her bir deneme grubu için uygulamalardan 24 saat sonra tohumların elektriksel iletkenlik değerleri istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Tohumdan sızan bileşenlerin üzerinde OZON10 uygulamasının etkisinin en az olduğu tespit edilmiş ve tohumlara uygulanmasından 24 saat sonra elektriksel iletkenlik değeri $88.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak bulunmuştur. OZON10 uygulamasından sonra OZON11 uygulamasının da tohumun elektriksel iletkenlik değerini yükseltmediği belirlenmiş ve EC değeri $91.00 \mu\text{S}/\text{cmg}$ olarak hesaplanmıştır. OZON 11 deneme grubunun da tohumdaki bileşenlerin kaybolmasını sınırlandırmada önemli olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0.05$).

4.12 Ozon ve Soğuk Uygulamalarının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi



Şekil 4.15. Ozon uygulamalarının soğuk test öncesi ve sonrasında tohumların çimlenmesi üzerine etkisi.

*K: Kontrol, O: Ozon; O1: 24.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O2: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O3: 16.5 g/m³, 40 dk, % 15 nem; O4: 16.5 g/m³, 15 dk, % 15 nem; O5: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O6: 16.5 g/m³, 40 dk, % 6 nem; O7: 16.5 g/m³, 15 dk, % 6 nem; O8: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 15 nem; O9: 16.5 g/m³, 27.5 dk, % 10.5 nem; O10: 8.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O11: 24.5 g/m³, 27.5 dk, % 6 nem; O12: 24.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem; O13: 8.5 g/m³, 40 dk, % 10.5 nem; O14: 16.5 g/m³; 27.5 dk, % 10.5 nem; O15: 8.5 g/m³, 15 dk, % 10.5 nem

Şekil 4.15'te ozon uygulama parametrelerinin soğuk test öncesi ve sonrasında lahana tohumunun çimlenmesi üzerine etkileri belirtilmiştir. Ozon denemelerinden O6 uygulaması sonrasında oda koşullarında çimlenmenin etkisi ile % 6 nem içeriğindeki tohumların ortalama çimlenme oranı takribi % 2'den % 9.16 seviyesine yükselmiş olup uygulama en etkili proses olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, kontrol grubu ile uygulamaların etkisindeki tohumlar karşılaştırıldığında ozonun tohum çimlenmesinde probleme neden olmadığı aksine çimlenmeyi arttırdığı tespit edilmiştir. Tohumların çimlenmesinde ozon ile birlikte soğuk testin de etkili

olduğu Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Ozon denemelerinden özellikle O6 uygulaması sonrasında soğuk uygulaması etkisi ile % 6 nem içeriğindeki tohumların ortalama çimlenme oranı takribi % 4.66'dan % 20.66'a artarak en etkili proses olarak değerlendirilmiştir. Tohum nem içeriği % 6 olan tohumlarda uygulamaların çimlenme üzerinde en iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. % 15 nem içeriğindeki tohumların çimlenme kabiliyetinin ise soğuk etkisiyle birlikte azaldığı görülmektedir. Özellikle %15 nem içeren tohumlarda ortalama çimlenme oranı % 23.33 iken, ozon konsantrasyonunun 16.5 g/m³, uygulama süresinin 15 dk olduğu uygulamanın ardından soğuk uygulanması sonucunda ortalama çimlenme oranı % 3.33 seviyelerine düşmüştür. Elde edilen bulgular ışığında, kontrol grubu ile uygulamaların etkisindeki tohumlar karşılaştırıldığında tohum çimlenmesinde soğuk uygulamalarının (% 15 nem hariç) çimlenme üzerinde probleme neden olmadığı aksine çimlenmeyi arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.15). Dolayısıyla, ozon ve soğuk uygulamalarının çimlenme üzerinde sinerjistik etkilerinin olması sebebiyle sonuçlar büyük önem teşkil etmektedir.

Ozon uygulamalarının domates tohumlarında çimlenme üzerine etkisinin incelendiği çalışmada dört farklı ozon miktarının (0.001, 0.01, 0.1 ve 1 g) farklı sürelerde (10, 20 ve 30 dk) uygulandığı domates tohumlarında çimlenme oranları belirlenmiş ve 20 dk olan uygulamaların diğerlerine göre daha yüksek çimlenme oranına sahip olduğu belirtilmiştir. Tohumların 0.1 g ozona maruz bırakılması durumunda diğer ozon miktarlarına göre daha yüksek çimlenmeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ozon miktarının 1 g olması durumunda ise çimlenme oranının en alt seviyelerde olduğu belirtilmiştir (Sudhakar vd., 2011).

Çizelge 4.17. Ozon uygulamalarının lahana tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Ozon Konsantrasyonu	1	23.35	23.3531	10.81	0.003	Önemli
Nem	1	75.08	75.0822	34.77	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*Süre	1	20.07	20.0661	9.29	0.005	Önemli
Nem*Süre	1	12.50	12.5000	5.79	0.024	Önemli

Saf Hata	17	10.55	0.6204			
Düzeltilmiş Toplam	29	184.99				

Çizelge 4.17’de oda koşullarında çimlendirilen tohumlar üzerinde ozon konsantrasyonu ve tohum nem içeriği etkili olup istatistiksel analiz sonuçlarında önemli temel etkilerinin olduğu belirtilmiştir ($p < 0.05$). Faktörlerden sürenin ozon konsantrasyonu ve nem ile ikili etkileşimlerine ait p değeri 0.05’ten küçük olduğu için tohum çimlenmesine etkileri istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ve Çizelge 4.17’de gösterilmiştir ($p < 0.05$). Bu modelde faktörlerin çeşitli etkilerinin tohum çimlenmesi üzerinde % 70.82’lik payı olduğu belirleme katsayısı (R^2) hesaplaması ile anlaşılmıştır. Modelin düzeltilmiş ve tahmini R^2 değerleri sırasıyla % 66.15 ve % 55.06 iken standart sapması 1.46 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Ozon uygulamaları ve soğuk testinin lahana tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi ile ilgili ANOVA çıktıları

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	p Değeri	Yorum
Süre	1	116.478	116.478	8.35	0.008	Önemli
Ozon Konsantrasyonu*	1	248.656	248.656	17.82	0.000	Önemli
Ozon Konsantrasyonu						
Nem*Nem	1	73.328	73.328	5.25	0.031	Önemli
Nem*Süre	1	80.201	80.201	5.75	0.024	Önemli
Saf Hata	17	8.241	0.485			
Düzeltilmiş	29	849.822				

Ozon uygulamaları ve soğuk testin tohum çimlenmesinde etkili olduğu tahmin edilen faktörler istatistiksel analizlerle değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.18’de verilmiştir. Uygulamalarda sürenin önem seviyesinin yüksek olduğu belirtilmiş ($p < 0.05$), ayrıca tohum nem içeriği ve sürenin ortak etkisinin de önem seviyesi yüksek olarak bulunmuştur ($p < 0.05$). Faktörler içerisinde ozon konsantrasyonu ve nemin ikinci dereceden etkilerinin önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bu modeli kapsayan faktörlerin çimlenme üzerinde % 58.94’lük düşük bir oranda etkili olduğu belirlenirken diğer % 41.06’lık kısmı dış etkenlerin belirlediği tespit edilmiştir. Standart sapma, düzeltilmiş ve tahmini belirleme katsayıları sırasıyla 3.73, % 52.38 ve % 36.27 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.11’de ozona maruz bırakılan tohumlarla ozon uygulanmamış tohumların oda koşullarında çimlenmeleri incelenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olup olmadığı Tukey testi ile açıklanmıştır. Tohumların uygulamalar öncesindeki çimlenme oranı % 2.22 ± 2.27 olarak bulunmuş olup ozon uygulamalarının tohumların çimlenmesi üzerinde istatistiksel açıdan önemli etkisinin olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). OZON6 uygulamasının tohum çimlenme oranını % 9.16 değerine taşıdığı ve bu uygulamanın diğer uygulamalara nazaran çimlenme üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamanın yanı sıra OZON1, OZON 11 ve OZON15 uygulamaları sonucunda da tohum çimlenmesi önemli seviyede artmıştır ($p < 0.05$). Ozon uygulamaları öncesi ve sonrasında soğuk testten geçirilen tohumların çimlenme oranları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olup olmadığı % 95 güven aralığında Tukey testi kullanılarak karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.11). Çimlenme oranı başlangıçta % 12.11 ± 7.33 olan lahana tohumlarının OZON3 ve OZON6 uygulamaları sonrasında çimlenme oranları sırasıyla % 21.83 ve 20.83 seviyelerine geldiği tespit edilmiş olup uygulamaların tohum çimlenmesi üzerindeki etkisinin istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($p \leq 0.05$).

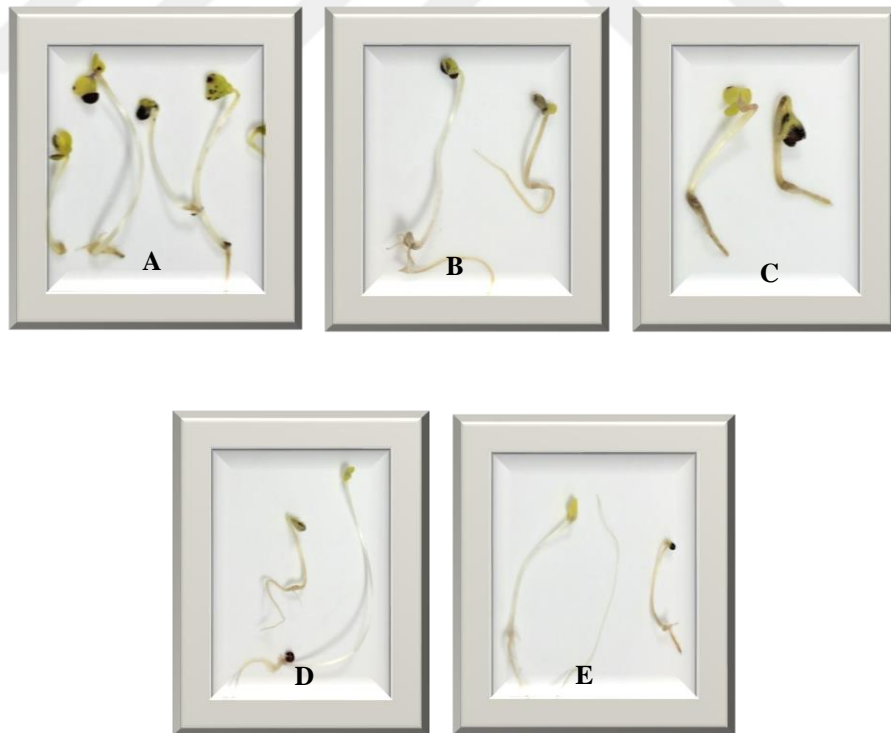
4.12.1 Ozon ve Soğuk Uygulamalarının Lahana Tohumu Çimlenmesine Etkisi

Ozon uygulamasının % 6 nem içeren tohumlarda soğuk test öncesi ve sonrası çimlenme üzerindeki etkisi Şekil 4.16’da gösterilmektedir. Kontrol grubu ile ozon ve soğuk test uygulanmış deneme grupları arasında farklılıklar olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Ozon konsantrasyonun 16.5 g/m^3 olduğu durumlarda çimlenme oranı en yüksek seviyelere ulaşmış, en düşük çimlenme ise 8.5 g/m^3 olan uygulama sonunda belirlenmiştir. Bu nem grubundaki analizlerden elde edilen bulgulara göre ozon ve soğuk uygulamalarının tamamında çimlenme oranlarının arttığı görülmüştür. Mikrobiyal inaktivasyonu amaçlayan bu çalışmada diğer önemli bir husus tohum kalitesi olduğundan bu bağlamda çimlenmenin olumsuz yönde etkilenmemiş olması ozon ve soğuk uygulamalarının önemini göstermektedir.

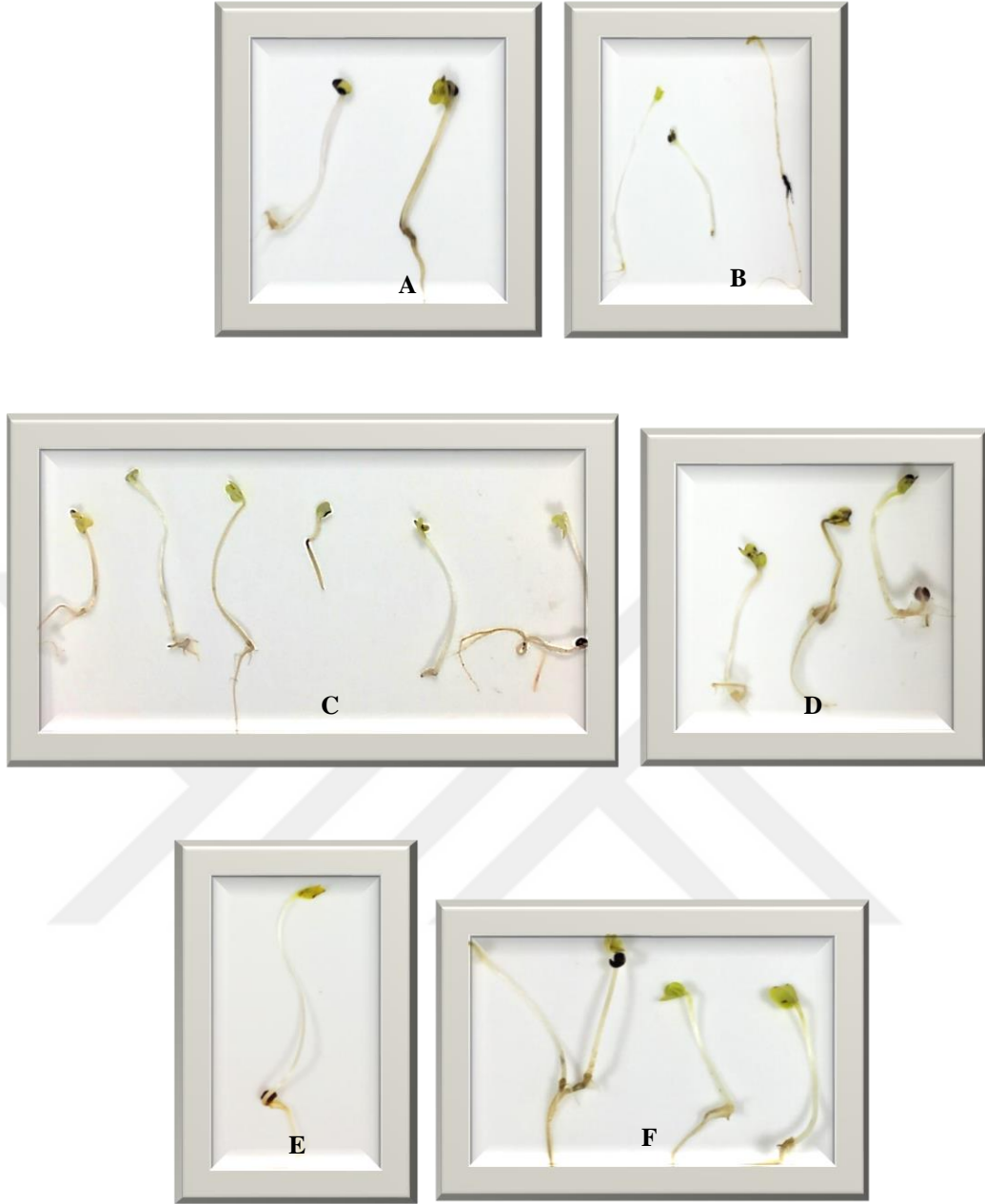
Ozon uygulamasının % 10.5 nem içeren tohumlarda soğuk test öncesi ve sonrası çimlenme üzerindeki etkisi Şekil 4.17’de gösterilmektedir. Kontrol grubuna

göre uygulamalar içerisinde çimlenmeye en iyi etkisi olan grup (C) iken, çimlenme oranı nispeten daha az olan deneme grupları 24.5 g/m³, 40 dk (B) ve 8.5 g/m³, 15 dk (F) olarak değerlendirilmiştir. Tohum nem içeriği % 6 olan örneklerde olduğu gibi çimlenme oranı üzerinde en etkili ozon konsantrasyonu 16.5 g/m³ olmuştur. Ozon ve soğuk uygulamalarının % 10.5 nem içeriğine sahip tohumların çimlenme oranlarının artırılmasında etkili olduğu anlaşılmaktadır.

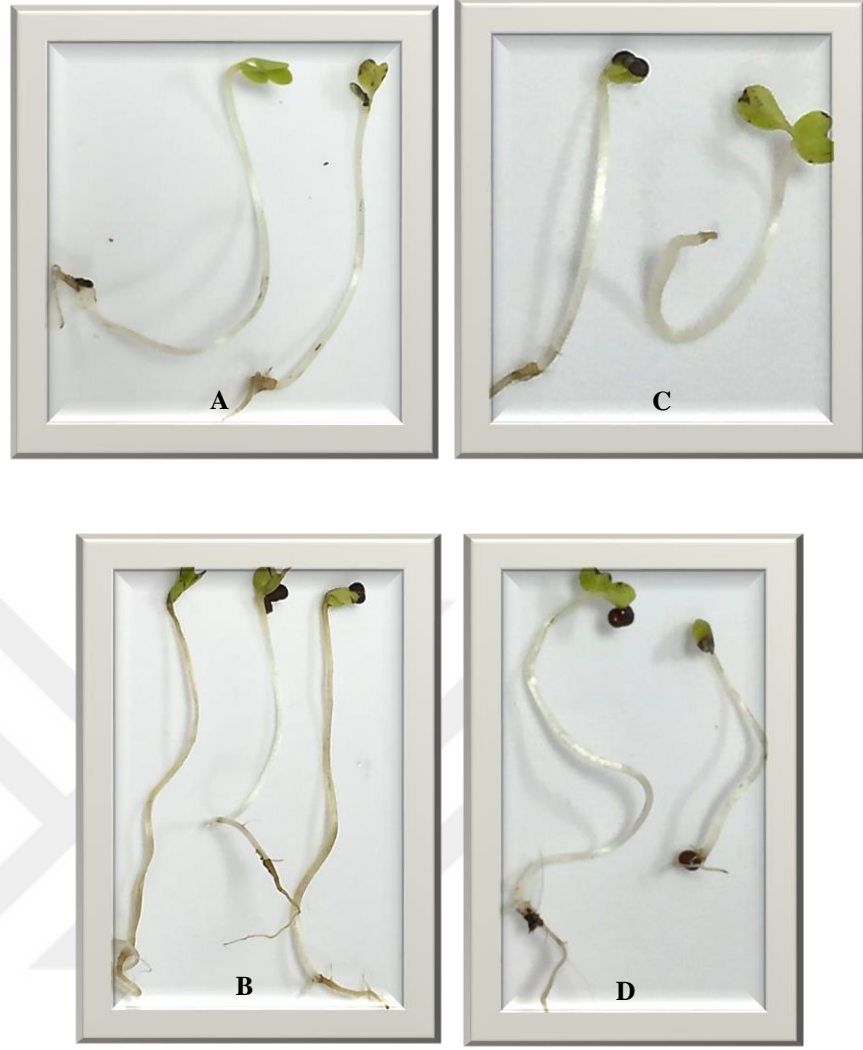
Ozon uygulamasının % 15 nem içeren tohumlarda soğuk test öncesi ve sonrası çimlenme üzerindeki etkisi Şekil 4.18'de gösterilmektedir. Kontrol grubu ile ozon ve soğuk test uygulanmış deneme grupları arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. Genel olarak bu gruptaki tohumlarda ozon ve soğuk uygulamalarının çimlenme üzerinde pek fazla etkili olmadığı görülmektedir. Kontrol grubu nem içeriği yüksek olduğu için tohumlar daha iyi çimlenirken, uygulamaların bu bağlamda daha etkili sonuçlar göstermesi beklenmiş, fakat analizler sonucunda çimlenme oranının genelde azaldığı belirlenmiştir. Ozon konsantrasyonunun 16.5 g/m³ uygulama süresinin 40 dk olduğu durumlarda çimlenme oranı kontrol grubuna daha yakın bulunmuştur.



Şekil 4.16. Ozon ve soğuk uygulamalarının lahana tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: 16.5 g/m³, 40 dk; B: 24.5 g/m³, 27.5 dk; C: 16.5 g/m³, 15 dk; D: Kontrol; E: 8.5 g/m³, 27.5 dk).



Şekil 4.17. Ozon ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 24.5 g/m³, 40 dk; C: 16.5 g/m³, 27.5 dk; D: 24.5 g/m³, 15 dk; E: 8.5 g/m³, 40 dk; F: 8.5 g/m³, 15 dk).



Şekil 4.18. Ozon ve soğuk uygulamalarının lahanaya tohumlarının çimlenmesine etkisi (A: Kontrol; B: 8.5 g/m³, 27.5 dk; C: 16.5 g/m³, 40 dk; D: 16.5 g/m³, 15 dk).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tarım sektöründe ürünlerin patojen mikroorganizmalar nedeniyle kayıpları söz konusudur. Tohumların taşıyıcı olmaları sebebiyle sağlıklı ve kaliteli tohum kullanımına yönelik birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların başında kimyasallar gelmektedir. Ancak, tüketicilerin kimyasalların insan ve çevre sağlığını tehdit etmesi üzerine bilinçlenmesi ve duyarlılığının artması sonucunda yeni yöntem arayışları söz konusu olmuştur. Bu yöntemler, tohumların hem mikrobiyal yükünü en düşük seviyelere getirmesi hem de kalite özelliklerini muhafaza etmesi, iyileştirmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu çalışmada, lahana tohumlarının yüzey dezenfeksiyonu ve kalite özelliklerine etkisi üzerinde yenilikçi yöntemlerden olan atımlı elektrik alanı (Pulsed Electric Fields, PEF) ve ozon teknolojileri test edilmiştir. PEF teknolojisinin tohum yüzeyinin dezenfeksiyonuna yönelik kullanımı bir ilk olduğundan sonuçlar son derece önem teşkil etmektedir. Tezin en önemli amacını oluşturan patojen mikroorganizmalara karşı uygulanan PEF ve ozonun etkinliği test edildiğinde her iki uygulamanın tohum yüzeyine inoküle edilen mikroorganizmalar üzerinde önemli derece etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun toprak ve çevre kirliliğinin önüne geçmede büyük bir rolü olduğu anlaşılmaktadır. Çok kısa sürelerde gerçekleşen PEF teknolojisinde harcanan enerji miktarının çok düşük olması diğer yöntemlere nazaran enerji tasarrufu sağlaması yönüyle de önem kazanmaktadır. Ozon uygulamaları ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışmaların olması sebebiyle deneme sonuçları önemli olmaktadır. Ozon uygulaması, PEF teknolojisinde olduğu gibi çok düşük enerji miktarı ve çevreye herhangi bir atık bırakmaması kimyasal kullanımının önüne geçebilecek uygulama olması sebebiyle önemlidir. Her iki uygulamayı test eden kişilerin dikkat etmesi gereken durumlar dışında uygulamaların organik tarım alanında güvenilir bir şekilde kullanılması mümkün olmaktadır.

PEF uygulamaları sonrasında mikrobiyolojik çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre toplam aerobik mezofilik bakteri ve toplam maya küf sayısı üzerinde en yüksek inaktivasyonun % 15 nem içeriğine sahip tohumlara 170 Hz frekansın 420 µs süre uygulanması ile sağlandığı görülmüş ve tohum yüzeyinin mikrobiyal yükünde sırasıyla 1.9 ve 1.28 log kob/g azalma tespit edilmiştir. İnokülasyon çalışmalarında fungal patojen mikroorganizmaların en önemlileri arasında yer alan *A. brassica*'nın mikrobiyal yükünde % 15 nemli tohumlara 290 Hz frekans ve 240 µs süren elektrik

akımının yaklaşık olarak 0.7 log kob/g azalma sağladığı tespit edilmiştir. Bir diğer inokülasyonda kullanılan bakteri patojeni mikroorganizmaların en önemlilerinden olan *Xcc*'in mikrobiyal yükünde % 15 nem içeriğine sahip tohumlara frekansın 170 Hz ve sürenin 420 µs olduğu uygulamalarda 0.42 log kob/g düşüş gerçekleştirilmiştir.

PEF uygulamalarının tohum kalitesine olan etkisinin incelendiği çalışmada tohumların elektriksel iletkenliği incelenmiş ve özellikle % 6 nem içeriğine sahip tohumlarda kontrol grubuna göre bir artış olmadığı belirlenmiş olup en etkili sonuçlar PEF1 ve PEF 10 uygulamalarında gerçekleşmiş ve % 23.07 oranında azalma sağlanmıştır. Ölçüm sonuçlarının düşük olması ile tohum kalitesinin arttığı düşünülrse, uygulamaların kalite üzerinde olumsuz etkili olmadığı hatta iyileştirici olabileceği öngörülmektedir. Tohumların çimlenmesinde PEF teknolojisinin olumlu etkili olabileceği düşünülmektedir. Uygulamalardan 420 µs boyunca 170 Hz frekansın % 15 nem içeriğine sahip tohumlarda en yüksek çimlenme oranına ulaşılacağı öngörülmektedir. PEF uygulamaları ile birlikte tohumlara soğuk uygulamasının çimlenme oranını arttırdığı tespit edilmiştir. En yüksek çimlenme oranının 420 µs sürede 290 Hz frekansın % 10.5 nem içeren tohumlara uygulanması ile gerçekleştiği saptanmıştır. Soğuk uygulanmadan çimlendirilen tohumlara kıyasla daha yüksek çimlenme oranlarına ulaşılmıştır. Dolayısıyla PEF teknolojisi ile soğuk testi uygulamalarının sinerjistik etkili olduğu görülmüştür. Tohum türüne göre değişiklik gösterebilen bu durumun Brassicaceae familyasında olumlu sonuçlanması beklenmektedir.

Ozon uygulamaları sonrasında mikrobiyolojik çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam maya küf (TMK) sayısı üzerinde en yüksek inaktivasyon 8.5 g/m³ ozon konsantrasyonunda farklı sürelerde yapılan uygulamalarda görülmüş ve tohum yüzeyinin dezenfekte edildiği tespit edilmiştir. İnokülasyon çalışmalarında fungal patojen mikroorganizmaların en önemlileri arasında yer alan *A. brassica*'nın mikrobiyal yükünde en fazla inaktivasyon % 10.5 nemli tohumlara ozon konsantrasyonunun 8.5 g/m³ ve uygulama süresinin 40 dk olduğu uygulamalarla gerçekleşmiş ve yaklaşık 2.43 log kob/g azalma sağlandığı tespit edilmiştir. İnokülasyonda kullanılan diğer mikroorganizma, bakteri patojeni mikroorganizmaların en önemlilerinden olan *Xcc* üzerinde en yüksek inaktivasyon, *A. brassica*'da olduğu gibi % 10.5 nem içeriğine sahip tohumlara ozon

konsantrasyonunun 8.5 g/m^3 ve uygulama süresinin 40 olması ile sağlandığı görülmüş ve tohum yüzeyinin mikrobiyal yükünün yaklaşık 4.36 log azalma tespit edilmiştir.

Ozon uygulamalarının tohum kalitesine olan etkisinin incelendiği çalışmada % 10.5 nem içeriğine sahip tohumlara 16.5 g/m^3 ozonun 27.5 dk süre uygulanması ile elektriksel iletkenliğin 2 saat sonundaki ölçümlerinde kontrole göre % 33.75 azalma olduğu tespit edilmiştir. Elektriksel iletkenliğin 24 saat sonundaki ölçümlerinde kontrole göre en iyi sonucun 8.5 g/m^3 ozonun 40 dk boyunca % 10.5 nem içeriğine sahip tohumlara uygulanması ile bulunduğu ve % 19.6 azalma sağlandığı saptanmıştır. Ölçüm sonuçlarının düşük olması ile tohum kalitesinin arttığı düşünülürse, uygulamaların kalite üzerinde olumsuz etkili olmadığı hatta iyileştirici olabileceği öngörülmektedir. Tohumların çimlenmesinde ozon uygulamalarının olumlu etkili olabileceği düşünülmektedir. Uygulamalardan 16.5 g/m^3 ozonun 40 dk sürede % 6 nem içeriğine sahip tohumlarda en yüksek çimlenme oranına ulaşılacağı görülmektedir. Ozon uygulamaları ile birlikte tohumlara soğuk uygulamasının çimlenme oranını arttırdığı tespit edilmiştir. En yüksek çimlenme oranı, 16.5 g/m^3 ozonun 40 dk sürede % 6 nem içeriğine sahip tohumlarda görülmüştür. PEF uygulamalarında olduğu gibi ozon uygulamalarının da soğuk uygulanmadan çimlendirilen tohumlara kıyasla daha yüksek çimlenme oranlarına ulaşılmıştır. Dolayısıyla PEF teknolojisi ile soğuk uygulamalarının sinerjistik etkili olduğu görülmüştür. Tohum türüne göre değişiklik gösterebilen bu durumun Brassicaceae familyasında olumlu sonuçlanması beklenmektedir.

Yapılan bu çalışmada, her iki uygulama da lahanaya tohumu yüzeyinin doğal mikroflorasının dezenfeksiyonunun yanı sıra inoküle edilen patojen mikroorganizmalar üzerinde olumlu sonuçlar vermesi sebebiyle oldukça önemlidir. PEF uygulamasına kıyasla ozon uygulamalarının daha etkili olduğu görülmektedir. Ayrıca, tohum kalitesi açısından da problem oluşturmayan bu uygulamaların kullanımının organik tarım sektöründe yaygınlaşması önerilmektedir. Özellikle PEF'in tarım sektöründe kullanımının bir ilk olması sebebiyle elde edilen bulgular oldukça önemli olmakla birlikte uygulama parametrelerinde ve sistem dizaynında modifikasyonlar yapılarak daha etkili sonuçlar elde edilebileceği tahmin edilmektedir. Ayrıca, PEF ve ozon uygulamalarının kombine olarak uygulanması ile yüzey dezenfeksiyonunda daha iyi sonuçlar alınabileceği düşünülmekte, tohum kalitesi

üzerine etkilerin test edilmesi tavsiye edilmektedir. Özellikle çimlenme üzerinde etkili olabilecek ortam sıcaklığının ve tohum çimlenme oranının normal seviyelerde olması durumunda analiz sonuçlarının daha etkili olması tahmin edilmektedir. Çalışmaların sadece tohumlarla sınırlı kalmayıp aynı zamanda baharatlarda mikroorganizmaların inaktivasyonu amacıyla kullanım alanı bulması beklenmektedir. Ayrıca, kurutulmuş meyve ve sebzelerde de çürümeye neden olan patojenlerin ürünlere zarar vermesini önlemek için bu gibi alternatif teknolojilerin kullanılabilmesi öngörülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Abeli T, Guasconi DB, Mondoni A, Dondi D, Bentivoglio A, Buttafava A, Cristofanelli P, Bonasoni P, Rossi G, Orsenigo S (2017) "Acute and Chronic Ozone Exposure Temporarily Affects Seed Germination in Alpine Plants" *Plant Biosystems an International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 151 (2): 304-315.
- Açu M, Yerlikaya O, Kınık Ö (2014) "Gıdalarda Isıl Olmayan Yeni Teknikler ve Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri" *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 14: 25-35.
- Akbaş MY, Özdemir M (2006) "Effectiveness of Ozone for Inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* in Pistachios" *International Journal of Food Science and Technology*, 41 (5): 513-519.
- Alencar ER, Faroni LRD, Soares NFF, Carvalho MCS, Pereira KF (2011) "Effect of the Ozonation Process on the Quality of Peanuts and Crude Oil" *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 15 (2): 154-160.
- Allen B, Wu J, Doan H (2007) "Inactivation of Fungi Associated with Barley Grain by Gaseous Ozone" *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 38 (5): 617-630.
- Alvarez I, Pagan R, Condon S, Raso J (2003) "The Influence of Process Parameters for the Inactivation of *Listeria monocytogenes* by Pulsed Electric Fields" *International Journal of Food Microbiology*, 87 (1): 87-95.
- Anonim (2011) T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Lahanagiller Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele, www.cadcom.com.tr, 22 Şubat 2018.
- Asavasanti S, Ersus S, Ristenpart W, Stroeve P, Barrett DM (2010) "Critical Electric Field Strengths of Onion Tissues Treated by Pulsed Electric Fields" *Journal of Food Science*, 75 (7): 433-443.
- Avdeeva VN, Bezgina IA, Volosova EV (2016) "Modern Technology for Improving Seed Quality" *Quarterly Research and Practice Journal*, 116-118.
- Ayuke FO, Lagerlöf J, Jorge G, Söderlund S, Muturi JJ, Sarosh BR, Meijer J (2017) "Effects of Biocontrol Bacteria and Earthworms on the Severity of *Alternaria brassicae* Disease and the Growth of Oilseed Rape Plants (*Brassica napus*)" *Applied Soil Ecology*, 117-118: 63-69.
- Bakhshabadi H, Mirzaei H, Ghodsvali A, Jafari SM, Ziiaifar AM (2018) "The Influence of Pulsed Electric Fields and Microwave Pretreatments on Some Selected Physicochemical Properties of Oil Extracted from Black Cumin Seed" *Food Science & Nutrition*, 6 (1): 111-118.

- Belmas E, Briand M, Kwasiborski A, Colou J, N'Guyen G, Iacomini B, Grappin P, Champion C, Simoneau P, Barret M, Guillemette T (2018) "Genome Sequence of the Necrotrophic Plant Pathogen *Alternaria brassicicola* Abra43" *American Society for Microbiology*, 6 (6): pp 2.
- Boussetta N, Soichi E, Lanoisellé JL, Vorobiev E (2014) "Valorization of Oilseed Residues: Extraction of Polyphenols from Flaxseed Hulls by Pulsed Electric Fields" *Industrial Crops and Products*, 52: 347-353.
- Brodowska AJ, Smigielski K, Nowak A, Brodowska K, Catthoor R, Czyzowska A (2014) "The Impact of Ozone Treatment on Changes in Biologically Active Substances of Cardamom Seeds" *Journal of Food Science*, 79 (9): 1649-1655.
- Castro AJ, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG (1993) "Microbial Inactivation of Foods by Pulsed Electric Fields" *Journal of Food Processing and Preservation*, 17 (1): 47-73.
- Cavalcante MA, Leite Júnior BRC, Tribst AAL, Cristianini M (2013) "Improvement of the Raw Milk Microbiological Quality by Ozone Treatment" *International Food Research Journal*, 20 (4): 2017-2021.
- Chandrashekar N, Ali S, Rawat S, Grover A (2015) "Gene Expression Profiling of *Arabidopsis thaliana* Chitinase Genes in Response to *Alternaria brassicae* Challenge" *Indian Phytopathological Society*, 68 (1): 106-111.
- Ciccarese F, Sasanelli N, Ciccarese A, Ziadi T, Ambrico A, Mancini (2007) "Seed Disinfestation by Ozone Treatments" IOA Conference and Exhibition Valencia, Spain, 29 – 31 October.
- Çatal H, İbanoğlu Ş (2010) "Gıdaların Ozonlanması" *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5 (3): 47-55.
- Çetin M (2008) "Ozon Tabakası" Yıldız Teknik Üniversitesi, Fizik Öğretmenliği, Alan Eğitiminde Araştırma Projesi, İstanbul, 28 s.
- Ding H, Fu TJ, Smith MA (2013) "Microbial Contamination in Sprouts: How Effective Is Seed Disinfection Treatment?" *Journal of Food Science*, 78 (4): 495-501.
- Dymek K, Dejmek P, Panarese V, Vicente AA, Wadsö L, Finnie C, Galindo FG (2012) "Effect of Pulsed Electric Fields on the Germination of Barley Seeds" *LWT-Food Science and Technology* 47 (1): 161-166.
- Ekici L, Sağdıç O, Kesmen Z (2006) "Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan: Ozon" *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1: 47-57.
- Evrendilek GA (2016) "Change Regime of Aroma Active Compounds in Response to Pulsed Electric Fields Treatment Time, Sour Cherry Juice Apricot and Peach Nectars, and Physical and Sensory Properties." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 33: 195–205.

- Evrendilek GA, Tanasov I (2017) “Configuring Pulsed Electric Fields to Treat Seeds: An Innovative Method of Seed Disinfection” *Seed Science and Technology*, 45 (1): 72-80.
- Gowrishankar S, Gowri SV (2013) “A Study on the Influence of High Electric Field Intensity Treatment on Crop Life” *IEEE 1st International Conference on Condition Assessment Techniques in Electrical Systems*, 06-08 December, India.
- Guderjan M, Töpfl S, Angersbach A, Knorr D (2005) “Impact of Pulsed Electric Fields Treatment on the Recovery and Quality of Plant oils” *Journal of Food Engineering*, 67: 281–287.
- Guderjan M, Elez-Martínez P, Knorr D (2007) “Application of Pulsed Electric Fields at Oil Yield and Content of Functional Food Ingredients at the Production of Rapeseed Oil” *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 55-62.
- Hermawan N, Evrendilek GA, Dantzer WR, Zhang QH, Richter ER (2004) “Pulsed Electric Fields Treatment of Liquid Whole Egg Inoculated with *Salmonella enteritidis*” *Journal of Food Safety*, 24: 71-85.
- Jaeger D, Jung R (2014) *Encyclopedia of Computational Neuroscience*, First Volume, Springer- Verlag, New York.
- Jeyamkondan S, Jayas DS, Holle RA (1999) “Pulsed Electric Fields Processing of Foods: A Review” *Journal of Food Protection*, 62 (9): 1088–109.
- Jin TZ, Yu Y, Gurtler JB (2017) “Effects of Pulsed Electric Fields Processing on Microbial Survival, Quality Change and Nutritional Characteristics of Blueberries” *LWT - Food Science and Technology*, 77: 517-524.
- Jo JK, Cho J, Tsai TC, Staack D, Kang MH, Roh JH, Shin DB, Cromwell W, Gross D (2014) “A Non-Thermal Plasma Seed Treatment Method for Management of a Seedborne Fungal Pathogen on Rice Seed” *Crop Science*, 54 (2): 796-803.
- Kamber U, Gülbaz G, Aksu A, Doğan A (2016) “Detoxification of Aflatoxin B1 in Red Pepper (*Capsicum Annuum* L.) by Ozone Treatment and Its Effect on Microbiological and Sensory Quality” *Journal of Food Processing and Preservation*, 41 (5): 13102.
- Kang MH, Pengkit A, Choi K, Jeon SS, Choi HW, Shin DB, Choi EH, Uhm HS, Park G (2015) “Differential Inactivation of Fungal Spores in Water and on Seeds by Ozone and Arc Discharge Plasma” *PLOS ONE*, 10 (9): 1-16.
- Kayalvizhi V, Pushpa AJS, Sangeetha G, Antony U (2016) “Effect of Pulsed Electric Fields (PEF) Treatment on Sugarcane Juice” *Journal of Food Science Technology*, 53 (3): 1371- 1379.

- Keith WD, Harris LJ, Griffiths MW (1998) "Reduction of Bacterial Levels in Flour By Pulsed Electric Fields" *Journal of Food Process Engineering*, 21 (3): 263-269.
- Kent NK, Kural BV, Örem A, Cengiz S (2016) "Karalahana Ekstraktlarının *Invitro* Okside Lipoproteinlerde Malondialdehit Seviyelerine Etkileri" *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5 (2): 42-47.
- Kim HJ, Feng H, Kushad MM, Fan X (2006) "Effects of Ultrasound, Irradiation and Acidic Electrolyzed Water on Germination of Alfalfa and Broccoli Seeds and *Escherichia coli* O157:H7" *Journal of Food Science*, 71 (6): 168-173.
- Kim JG, Yousef AE, Khadre MA (2003) "Ozone and Its Current and Future Application in the Food Industry" *Advanced in Food and Nutrition Research*, 45: 167-218.
- Kolasinac S, Golijan J, Lekic S, Moravcevic D, Popovic A (2017) "Challenges and Possibilities of Organic Seed Production with the Emphasis on Control of Pathogens" *Agro-knowledge Journal*, 18 (4): 307-315.
- Korkut GO (2016) Polietilen Tereftalat Esaslı Plastik Ambalajın Ozon ile Dezenfeksiyonu, Yüksek Lisans Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Koukounaras A, Papachristodoulou M, Chatzidimos C, Tsouvaltzi P, Gerasopoulos D, Siomos AS (2016) "The Effects of Ozone Treatment on Quality and Biochemical Parameters of Fresh-Cut Lettuce" *International Society for Horticultural Science*, 1142 (53): 349-354.
- Leong SY, Burritt DJ, Oey I (2016) "Electropriming of Wheatgrass Seeds Using Pulsed Electric Fields Enhances Antioxidant Metabolism and the Bioprotective Capacity of Wheatgrass Shoots" *Scientific Reports*, 6: 25306.
- Maldonado AFS, Lee A, Farber JM (2018) "Methods for the Control of Foodborne Pathogens in Low-Moisture Foods" *Annual Review of Food Science and Technology*, 9: 177-208.
- Marique M, Allard O, Spanoghe M (2012) "Use of Self-Organizing Map to Analyze Images of Fungi Colonies Grown from *Triticum aestivum* Seeds Disinfected by Ozone Treatment" *International Journal of Microbiology*, 2012: 1-12.
- Mavi K (2009) Kabakgil Türlerinde Tohum Gücü Testlerinin Kullanımı ve Stres Koşullarında Çıkış ile İlişkileri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Mirik M, Selçuk F, Aysan Y, Şahin F (2008) "First Outbreak of Bacterial Black Rot on Cabbage, Broccoli, and Brussels Sprouts Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the Mediterranean Region of Turkey" *Plant Disease*, 92 (1): 176.

- Mohammed MEA, Eissa AHA, Aleid SM (2016) "Application of Pulsed Electric Fields for Microorganisms Inactivation in Date Palm Fruits" *Journal of Food and Nutrition Research*, 4 (10): 646-652.
- Montalvo IM, Herrera RV, Morales MC (2017) "Effect of ozone (O₃) on seed vigor of sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) variety UDG-110" *Centro Agrícola*, 42 (1): 11-16.
- Morar R, Munteanu R, Simion E, Munteanu I, Dascalescu L (1999) "Electrostatic Treatment of Bean Seeds" *IEEE Transactions on Industry Applications*, 35 (1): 208-212.
- Muhlisin M, Utama DT, Lee JH, Choi JH, Lee SK (2016) "Effects of Gaseous Ozone Exposure on Bacterial Counts and Oxidative Properties in Chicken and Duck Breast Meat" *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36 (3): 405-411.
- Msayleb N, Kanwar RS, Wu H, Leeuwen J (2017) "Ozonation Efficacy in the Treatment of Soil-Borne *Phytophthora sojae* in Cultivating Soybeans" *Scientific Pages of Environmental Studies*, 1 (1): 1-10.
- Novickij V, Svediene J, Paskevicius A, Markovskaja S, Girkontaite I, Zinkeviciene A, Lastauskiene E, Novickij J (2017) "Pulsed Electric Fields-Assisted Sensitization of Multidrug-Resistant *Candida albicans* to Antifungal Drugs" *Future Microbiology*, 13 (5): 535-546.
- Oğuz E, Çelik Z (2001) "Suların Ozonlanmasındaki Gelişmeler" *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7 (3): 367-372.
- Öztekin S, Zorlugenç B, Zorlugenç FK (2006) "Effects of Ozone Treatment on Microflora of Dried Figs" *Journal of Food Engineering*, 75 (3): 396-399.
- Patwardhan MS, Gandhare WZ (2013) "Enhancement of Seed Germination by Applying Electrostatic Field" *Annual IEEE India Conference*, pp 4.
- Peñasa E, Gómeza R, Fríasb J, Valverd CV (2010) "Effects of Combined Treatments of High Pressure, Temperature and Antimicrobial Products on Germination of Mung Bean Seeds and Microbial Quality of Sprouts" *Food Control*, 21: 82-88.
- Perincek SD (2006) *Ozon, UV, Ultrason Teknolojileri ve Kombinasyonlarının Ön Terbiye İşlemlerinde Uygulanabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.*
- Piacentini KC, Savi GD, Scussel VM (2017) "The Effect of Ozone Treatment on Species of *Fusarium* Growth in Malting Barley (*Hordeum vulgare* L.) Grains" *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 9 (4): 383-389.
- Piemontese L, Messia MC, Marconi E, Falasca L, Zivoli R, Gambacorta L, Perrone G, Solfrizzo M (2018) "Effect of Gaseous Ozone Treatments on DON, Microbial

Contaminants and Technological Parameters of Wheat and Semolina” Food Additives & Contaminants: Part A, 35 (1): 1-12.

- Prateeksha M, Tewari AK, Taj G (2017) “Studies on Cultural, Morphological, Pathogenic and Molecular Variability of *Alternaria brassicae*, the Causal Agent of Blight Disease of Rapeseed-Mustard” Journal of Oilseed Brassica, 8 (2):106-119.
- Puertolas E, Barba FJ (2016) “Electrotechnologies Applied to Valorization of by-Products from Food Industry: Main Findings, Energy and Economic Cost of their Industrialization” Food and Bioproducts Processing, 100: 172-184.
- Puligundla P, Kim JW, Mok C (2017) “Effects of Nonthermal Plasma Treatment on Decontamination and Sprouting of Radish (*Raphanus sativus* L.) Seeds” Food and Bioprocess Technology, 10 (6): 1093-1102.
- Rombouts S (2017) Management Of The Bacterial Pathogens *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Pseudomonas Syringae* pv. *porri* in Cabbage and Leek Production Using Novel Bacteriophage, PhD Thesis, KU Leuven Science, Engineering & Technology Group, Belgium.
- Saha S, Garg R, Venkataravanappa V, Mishra PK, Rai AB, Singh RP (2016) “Molecular and Cultural Characterization of *Alternaria brassicae* Infecting Cauliflower in Uttar Pradesh, India” Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 86 (2): 485-495.
- Santos RR, Faroni LRD, Cecon PR, Ferreira APS, Pereira OL (2016) “Ozone as Fungicide in Rice Grains” Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 20 (3): 230-235.
- Satish S, Raveesha KA, Janardhana GR (1999) “Antibacterial Activity of Plant Extracts on Phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars” Letters in Applied Microbiology, 28: 145-147.
- Savi GD, Piacentini KC, Bittencourt KO, Scussel VM (2014) “Ozone Treatment Efficiency on *Fusarium graminearum* and Deoxynivalenol Degradation and its Effects on Whole Wheat Grains (*Triticum aestivum* L.) Quality and Germination” Journal of Stored Products Research, 59: 245-253.
- Seydim ZBG, Greene AK, Seydim AC (2004) “Use of Ozone in the Food Industry” LWT-Food Science and Technology, 37 (4): 453-460.
- Sharma P, Bremer P, Oey I, Everett DW (2014) “Bacterial Inactivation in Whole Milk Using Pulsed Electric Fields Processing” International Dairy Journal, 35 (1): 49-56.
- Shorstki I, Mirshekarloo MS, Koshevoi E (2015) “Application of Pulsed Electric Fields for Oil Extraction from Sunflower Seeds: Electrical Parameter Effects on Oil Yield” Journal of Food Process Engineering, 40 (1): 1-7.

- Sotelo T, Lema M, Soengas P, Cartea ME, Velasc P (2015) "In Vitro Activity of Glucosinolates and Their Degradation Products against Brassica-Pathogenic Bacteria and Fungi" *Applied and Environmental Microbiology*, 81 (1): 432-440.
- Sudhakar N, Nagendra-Prasad D, Mohan N, Hill B, Gunasekaran M, Murugesan K (2011) "Assessing Influence of Ozone in Tomato Seed Dormancy Alleviation" *American Journal of Plant Sciences*, 2: 443-448.
- T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Lahanagiller Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele, www.tarim.gov.tr, 12 Mart 2018.
- Tiwari BK, Brennan CS, Curran T, Gallagher E, Cullen PJ, Donnell CPO (2010) "Application of Ozone in Grain Processing" *Journal of Cereal Science*, 51 (3): 248-255.
- Torlak E, Sert D, Ulca P (2013) "Efficacy of Gaseous Ozone against *Salmonella* and Microbial Population on Dried Oregano" *International Journal of Food Microbiology*, 165 (3): 276-280.
- Tortosa M, Cartea ME, Rodriguez VM, Velasco P (2018) "Unraveling the Metabolic Response of *Brassica oleracea* Exposed to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*" *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 (1): 1-24.
- Trinetta V, Vaidya N, Linton R, Morgan M (2011) "A Comparative Study on the Effectiveness of Chlorine Dioxide Gas, Ozone Gas and e-Beam Irradiation Treatments for Inactivation of Pathogens Inoculated onto Tomato, Cantaloupe and Lettuce Seeds" *International Journal of Food Microbiology*, 146 (2): 203-206.
- Uzun S (2011) "Su Kalitesinin İyileştirilmesinde Ozon Kullanımı ve Kimyasal Etkileri" *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 62 (8): 105-113.
- Vicente JG, Holub EB (2013) "*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Cause of Black Rot of Crucifers) in the Genomic Era is still a Worldwide Threat to Brassica Crops" *Molecular Plant Pathology*, 14 (1): 2-18.
- Villeth GRC, Carmo LST, Silva LP, Santos MF, Oliveira Neto BO, Grossi de Sá MF, Ribeiro IS, Dessaune SN, Fragoso RR, Franco OL, Mehta A (2016) "Identification of Proteins in Susceptible and Resistant *Brassica oleracea* Responsive to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Infection" *Journal of Proteomics*, 143: 278-285.
- Vito FD (2006) "Application of Pulsed Electric Fields (PEF) Techniques in Food Processing" Department of Chemical and Food Engineering Doctor of Philosophy Thesis Department of Chemical and Food Engineering, University of the Studies of Salerno European Social Fund, Italy.

Wang MS, Zeng XA, Sun DW, Han Z (2015) “Quantitative Analysis of Sublethally Injured *Saccharomyces cerevisiae* Cells Induced by Pulsed Electric Fields” LWT - Food Science and Technology, 60 (2): 672-677.

Yeom HW, Streaker CB, Zhang QH, Min DB (2000) “Effects of Pulsed Electric Fields in the Activity of Microorganisms and Pectin Methyl Esterase in Orange Juice” Journal of Food Science, 65(8): 1359-1363.

Yıldız PO, Yangılar F (2014) “Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları” Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 3 (1): 94-101.

Yıldız Y (2015) Kocaeli İli Başiskele İlçesinde Yetiştirilen Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) Bitkisinin Beslenme Durumunun Bitki Analizleriyle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Yüceer M, Aday MS, Caner C (2016) “Ozone Treatment of Shell Eggs to Preserve Functional Quality and Enhance Shelf Life During Storage” Journal of the Science of Food and Agriculture, 96: 2755-2763.

7. ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Berna KARATAŞ
- Doğum Yeri ve Tarihi** : KARABÜK 22.03.1990
- Lisans Üniversite** : Ondokuz Mayıs Üniversitesi
- Elektronik posta** : bernakarats@gmail.com
- İletişim Adresi** : Kastamonu Yolu Üzeri Saka Koru Evleri
G Blok Daire: 2 Safranbolu/KARABÜK
- Yayınlar** : Karataş B ve Evrendilek GA (2017) “Kırmızı ve Beyaz Etlerde Biyojen Aminler” Gıda Teknolojisi Derneği Dergisi.
- Uluslararası Kongreler** : Karataş B, Uzuner S, Evrendilek GA (2018) “Tohum Yüzeyinin Dezenfeksiyonunda Çevre Dostu Bir Yöntem: Ozon” Poster Sunumu. Uluslararası Katılımlı 6. Gıda Güvelliği Kongresi. 3-4 Mayıs, İstanbul, Türkiye
- Karataş B ve Evrendilek GA (2017) “Kanatlı Etlerde Biyojen Aminler” Poster Sunumu. 4. Uluslararası Beyaz Et Kongresi. 26-30 Nisan, Antalya, Türkiye.
- Ulusal Kongreler** : Karataş B ve Evrendilek GA (2017) “Partikül Halindeki Ürünlerin Prosesi İçin Laboratuvar Ölçekli Atımlı Elektrik Akımı ve Ozon Cihazı Dizaynı, Tasarımı ve Test Edilmesi” Poster Sunumu. 10. Gıda Mühendisliği Kongresi 9-11 Kasım, Antalya.