

**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ \* FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI SEBZELERE İNOKULE EDİLEN GIDA KAYNAKLI PATOJENLER  
ÜZERİNE BAHARAT ESANSİYEL YAĞLARININ PASİF MODİFİYE  
ATMOSFERDE PAKETLEME KOŞULLARINDA ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gıda Mühendisi Dilek ÖZCAN**

**Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği**

**Programı : Gıda Bilimleri**

**MANİSA 2008**

**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ \* FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI SEBZELERE İNOKULE EDİLEN GIDA KAYNAKLI PATOJENLER  
ÜZERİNE BAHARAT ESANSİYEL YAĞLARININ PASİF MODİFİYE  
ATMOSFERDE PAKETLEME KOŞULLARINDA ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gıda Mühendisi Dilek ÖZCAN**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 5 Ağustos 2008**

**Tezin Savunulduğu Tarih : 9 Eylül 2008**

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ  
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Semra KAYAARDI (CBÜ)  
Yrd. Doç. Dr. Gökhan KAVAS (EÜ)**

**MANİSA 2008**

**ÖZET****BAZI SEBZELERE İNOKULE EDİLEN GIDA KAYNAKLI PATOJENLER ÜZERİNE BAHARAT ESANSİYEL YAĞLARININ PASİF MODİFİYE ATMOSFERDE PAKETLEME KOŞULLARINDA ETKİSİ****ÖZCAN, Dilek****Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü****Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ**

Bu çalışmada marul ve semizotu olmak üzere iki farklı yapraklı sebzeye inokule edilen *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* patojen bakterileri üzerine fesleğen ve nane esansiyel yağlarının pasif modifiye atmosfer koşullarındaki etkileri incelenmiştir. Her iki patojen, sebzelere 20°C'da 24 saat bekletme işlemi ile tutundurulmuş ve patojenlerin tutundurulduğu sebzeler esansiyel yağların farklı konsantrasyonlarıyla farklı işlem sürelerinde dezenfekte edilerek, 4050 cc/ m<sup>2</sup>/ gün (24°C) oksijen geçirgenliğine ve 14000 cc/ m<sup>2</sup>/ gün (24°C) karbondioksit geçirgenliğine sahip, linear alçak yoğunluklu polietilen ambalaj materyali ile pasif modifiye atmosfer koşullarında paketlenmiştir. Yapılan denemelerde nane ve fesleğen esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlarının, uygulanan dezenfeksiyon işlemi sürelerinin, kullanılan esansiyel yağ çeşitlerinin ve uygulandığı sebze çeşitlerinin esansiyel yağ ile dezenfeksiyon işlemi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca sebzelere inokule edilen patojen bakteri türlerinin de uygulanan dezenfeksiyon işlemlerine etkisi araştırılmıştır. Bunun yanında pasif modifiye atmosfer koşullarının, inokule edilen patojenler üzerine olan etkisi ve uygulanan esansiyel yağların bu koşullarda patojen bakteriler üzerine gösterdikleri etki incelenmiştir.

Yapılan denemeler sonucunda esansiyel yağ konsantrasyonunun, kullanılan sebze çeşidinin, inokule edilen patojen türünün ve esansiyel yağ çeşidinin uygulanan dezenfeksiyon işlemi etkilediği tespit edilmiştir. Ancak işlem sürelerinin dezenfeksiyon işlemi üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda depolama periyodunun inokule edilen patojenler üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığı ve dezenfeksiyon işleminin patojenler üzerine gösterdiği etkiyi önemli derecede etkilemediği gözlemlenmiştir. Nane ve fesleğen esansiyel yağları için 0,08 ml/L konsantrasyon değerinin, *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* patojen bakterilerine karşı her iki esansiyel yağın semizotu ve marulda, en yüksek etkinlik gösterdikleri konsantrasyon değeri olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* patojen bakterileri fesleğen esansiyel yağına karşı marul örneklerinde daha fazla direnç gösterirken, *S. typhimurium*'un nane esansiyel yağına karşı gösterdiği direncin her iki sebze de birbirine yakın olduğu ve *E. coli* O157:H7'nin ise semizotu örneklerinde daha yüksek direnç gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma fesleğen ve nane esansiyel yağlarının, marul ve semizotunda *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* patojen bakterilerine karşı farklı derecelerde etkili olduklarını ve konsantrasyonlarındaki değişimin patojenler üzerine gösterdikleri antimikrobiyal etkiyi etkilediğini ortaya koymuştur.

**Anahtar sözcükler:** Fesleğen, nane, esansiyel yağ, sebze, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, marul, semizotu

**ABSTRACT****EFFECT OF SPICE ESSENTIAL OILS ON FOODBORNE PATHOGENS INOCULATED SOME VEGETABLES IN PASSIVE MODIFIED ATMOSPHERE PACKING CONDITIONS****ÖZCAN, Dilek****MSC in Food Engineering****Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ**

Effects of essential oils of sweet basil and spearmint on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* inoculated two different vegetables, such as lettuce and purslane, in passive modified atmosphere conditions have investigated. These pathogens have been held on to vegetables with process made pathogen wait in 20°C/24 hours and firstly, these vegetables have decontaminated with different concentrations of essential oils in different process times, then they have packed with linear low density polietilen packing material which has 4050 cc/ m<sup>2</sup>/ day (24°C) oxygen permeability and 14000 cc/ m<sup>2</sup>/ day (24°C) carbon dioxide permeability. Effects of different concentration of essential oils of spearmint and sweet basil, decontamination process times, kinds of essential oils and kinds of vegetables on decontamination process have been investigated. Effect of type of pathogen inoculated vegetables on decontamination process have been researched. Effect of passive atmosphere conditions on inoculated pathogens and effect of essential oils on pathogens in passive atmosphere conditions have been studied.

Consequently, it has been determined that concentration of essential oil, type of vegetable, type of inoculated pathogen and variety of essential oil affected decontamination process. However it has been seen that process times didn't have a significant effect on decontamination process. It has observed that storage period didn't possess a significant effect on inoculated pathogens and didn't significantly affect effect of decontamination process on pathogens. It has been defined that 0,08 ml/L concentration value was most effective concentration value for essential oils of sweet basil and spearmint against *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 in lettuces and purslanes. It has been determined that resistance of *S. typhimurium* against spearmint essential oil was same in the lettuce and the purslane and *E. coli* O157:H7 had more resistant in samples of purslane, while *S. typhimurium* and *E. coli* O157:H7 had more resistant against the essential oil of sweet basil in samples of lettuces.

This study has been exhibited that essential oils of sweet basil and spearmint had different degree of effects against *S. typhimurium* and *E. coli* O157:H7 in lettuces and purslanes and changes of concentration of essential oils effected antimicrobial effect of essential oils.

**Key words:** Sweet basil, spearmint, essential oils, vegetable, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, lettuce, purslane

**TEŞEKKÜR**

Tez çalışmam süresince bana destek veren sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ'ye teşekkür ederim. Manevi destekleri ile yanımda olan yakın arkadaşlarıma ve hem maddi hem manevi desteklerini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan annem, babam ve kardeşime teşekkürü bir borç bilirim. Sonuçların istatistiksel analiz ile yorumlanmasında destek veren Öğr. Gör. Dr. Ersel OBUZ'a teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmama mali destek sağlayan Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fon Saymanlığına ve baharat esansiyel yağlarının temini konusunda destek sağlayan Aromsa Besin Aroma ve Katkı Maddeleri Ltd. Şt. ve paketlenme materyallerini sağlayan Apack Ltd. Şt. şirketlerine de teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
SEMBOL LİSTESİ.....	IX
ŞEKİL LİSTESİ.....	X
ÇİZELGE LİSTESİ.....	XI
1.GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1.Minimal İşlem Görmüş Sebzeler ve Meyveler.....	3
2.2. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Bulunan Mikroorganizmalar.....	6
2.3. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Patojen Gelişimini Etkileyen Faktörler.....	8
2.4. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Patojenlerin Bulaşma Kaynakları ve Bulaşmalarının Engellenmesi.....	14
2.5. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerin Tüketimi Sonucu Meydana Gelen Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalık Vakaları.....	16
2.6. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Bulunan Patojenlerin Doğal Koruyucular ile Uzaklaştırılması ve İnaktivasyonları.....	23
2.6.1. Esansiyel Yağlar ve Bileşenleri.....	23
2.6.2. Diğer Doğal Koruyucular.....	27
2.6.3. Modifiye Atmosferde Paketleme.....	30
3. MATERYAL VE METOT.....	32
3.1.Materyal.....	32
3.1.1.Çiğ Olarak Tüketilen Sebze Örnekleri.....	32
3.1.1.1. Marul Örnekleri.....	32
3.1.1.2. Semizotu Örnekleri.....	32
3.1.2. Mikroorganizma Kültürleri.....	32
3.1.3. Antimikrobiyal Maddeler.....	32
3.1.3.1. Fesleğen Esansiyel Yağı.....	32
3.1.3.2. Nane Esansiyel Yağı.....	32
3.1.4. Paketleme Materyali.....	33
3.2. Metot.....	33
3.2.1. Örnek Hazırlama.....	33
3.2.1.1. Marul Örnekleri.....	33



3.2.1.2. Semizotu Örnekleri.....	33
3.2.2. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması.....	33
3.2.3. Antimikrobiyal Maddelerin Hazırlanması.....	34
3.2.3.1. Fesleğen Esansiyel Yağı Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	34
3.2.3.2. Nane Esansiyel Yağı Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	34
3.2.4. Hammadde Analizleri.....	34
3.2.4.1. Sebze Örneklerinde Toplam Koliform ve <i>E.coli</i> Sayımı.....	34
3.2.4.2. Sebze Örneklerinde <i>Salmonella</i> Analizi.....	35
3.2.5. Sebze Örneklerinin <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ile İnokülasyonu.....	36
3.2.6. Nane ve Fesleğen Baharat Esansiyel Yağlarının <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması.....	36
3.2.7. Kimyasal Testler.....	39
3.2.7.1. pH Ölçümü.....	39
3.2.8. İstatistiksel Yöntemler.....	39
4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	40
4.1. Hammadde Analizi Sonuçları.....	40
4.2. Fesleğen Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Sebze Örneklerindeki <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi.....	41
4.2.1. Fesleğen Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Marullardaki <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi .....	41
4.2.2. Fesleğen Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Semizotlarındaki <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi .....	44
4.3. Nane Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Sebze Örneklerindeki <i>Salmonella Typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi.....	48
4.3.1. Nane Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Marullardaki <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi .....	49
4.3.2. Nane Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Semizotlarındaki <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi .....	52
4.4. Paketlerde Yapılan Gaz Ölçümü Sonuçları.....	57
5. SONUÇ.....	63

KAYNAKLAR.....	64
EKLER.....	74

**SEMBOL LİSTESİ**

WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü
USDA	A.B.D. Tarım Departmanı
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
IFPA	Uluslararası Minimal İşlem Görmüş Ürün Kuruluşu
AOAC	Yetkili Tarımsal Kimyacılar Organizasyonu

**ŒEKİL LİSTESİ**

2.1. Minimal iŒlem grmŒ sebzelerin genel iŒlem basamakları ve her bir proses basamağında maksimum önerilen sıcaklıklar.....	4
2.2. Engeller kavramı.....	13
2.3. Çiğ meyve ve sebzelerin patojenik mikroorganizmalarla kontamine olma mekanizmaları.....	15
3.1. Genel akım Œeması.....	38

## ÇİZELGE LİSTESİ

2.1. Bazı taze sebzelerden izole edilen patojen bakteriler.....	7
2.2. Türkiye’de tüketime hazır çiğ sebzelerin mikrobiyolojik kriterleri (yıkamış, doğrama ve paketlenme işlemlerinden geçmiş).....	7
2.3. Almanya’da önceden hazırlanmış karışık salata sebzeleri için resmi olarak önerilen kriterler.....	8
2.4. Meyve ve sebzelerin minimal olarak işlenmeleri sırasında yapılması önerilenler .....	16
2.5. Bazı patojen bakterilerin neden olduğu salgınların ortaya çıktığı minimal işlem görmüş ürünler.....	18
2.6. Minimal işlem görmüş sebzelerin tüketimiyle bağlantılı gıda kaynaklı enfeksiyon enfeksiyonlar ve görülen ülkeler .....	18
2.7. Bakteriyel hücrelere karşı bazı esansiyel yağların inhibe edici özelliklerinin yüzde dilimlere göre sınıflandırılması.....	24
2.8. Antibakteriyel özellik gösteren bazı esansiyel yağların ana bileşenleri.....	24
3.1. <i>Salmonella typhimurium</i> veya <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ile İnokule Edilmiş Sebze Örneklerine Uygulanan Farklı Dezenfeksiyon İşlemleri.....	37
4.1. Hammadde analiz sonuçları.....	40
4.2. Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g).....	42
4.3. Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde <i>Escherichia coli</i> O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g).....	43

4.4. Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine antimikrobiyal etkisi (kob/g).....	45
4.5. Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde <i>Escherichia coli</i> O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (kob/g).....	46
4.6. Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine antimikrobiyal etkisi (kob/g).....	49
4.7. Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde <i>Escherichia coli</i> O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (kob/g).....	51
4.8. Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine antimikrobiyal etkisi (kob/g).....	53
4.9. Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde <i>Escherichia coli</i> O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (kob/g).....	54
4.10. <i>Salmonella typhimurium</i> 'un tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....	58
4.11. <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....	58

- 4.12. *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....59
- 4.13. *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....59
- 4.14. *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....60
- 4.15. *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....60
- 4.16. *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....61
- 4.17. *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları.....61

## 1.GİRİŞ

Minimal işlem görmüş sebzeler son yıllarda kullanıma hazır gıdaların tüketiciler tarafından en fazla talep gören bir sınıftır. Bu doğrultuda Avrupa ve ABD'de popülerliği hızla artan bir ürün haline gelmiştir (Osornio ve Chaves, 1997; Zhou ve ark., 2004).

Dünya Sağlık Örgütü ve benzer diğer kuruluşlar (WHO, FAO, USDA, EFSA), günümüzün önemli hastalıklarından olan kardiovasküler hastalıkların ve kanserin riskini azaltmak amacıyla, günlük diyetle minerallerin ve vitaminlerin büyük bir bölümünü karşıladığımız taze meyve ve sebze tüketiminin artırılmasını önermektedir. Bu doğrultuda tüketiciler tarafından gıdaların insan sağlığını koruma ve geliştirmede oynadıkları rollerine olan ilginin ve bilincin artması nedeniyle, bu ürünlere olan talep de giderek artmaktadır. Ayrıca ürünlerin kullanıma en yüksek derecede uygun olması, buna bağlı olarak hazırlanmaları sırasında minimum işgücü kullanımı, zaman tasarrufu, düşük miktarda atık atılması, katkısız, taze olmaları ve taşıma maliyetlerinin daha düşük olması da gıda kuruluşlarının ve tüketicilerin bu ürünlere olan ilgisini arttıran etkenlerdir (Allende ve ark., 2006, (b); Barriga ve ark., 1991; Osornio ve Chaves,1997; Rico ve ark., 2007; Zhou ve ark., 2004).

Minimal işlem görmüş sebzeler, kabuk soyma, kesme, rendeleme, dilimleme gibi işlemlere tabi tutulduktan sonra, bütün haldeki sebzelere göre kendi mikroflorasında bulunan mikroorganizmaların gelişimine daha yüksek derecede destek olan bir ortam sunar. Bu floranın bir kısmını da sebzeyle fekal kontaminasyon sonucu bulaşan patojen mikroorganizmalar oluşturabilir. Bunun sonucunda da çeşitli gıda kaynaklı hastalıklar ortaya çıkabilir ki, taze minimal işlem görmüş sebzelerin tüketimi sonucunda patojenlerden kaynaklanan gıda kaynaklı hastalıklar çeşitli Avrupa ülkelerinde ortaya çıkmış ve vakalar rapor edilmiştir (Francis ve ark., 1999; Osornio ve Chaves,1997; Piagentini ve ark., 1997).

Rapor edilen vakalar incelendiğinde, minimal işlem görmüş sebzelerin tüketimi sonucu ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalıkların etmeni olan patojen mikroorganizmalar arasında, *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* 0157:H7'nin en sık rastlanan patojen mikroorganizmalar grubunda oldukları tespit edilmiştir ( Francis ve ark., 1999).

Minimal işlem görmüş sebzelerde bulunan patojen mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlamak amacıyla çeşitli teknikler ve prosesler geliştirilmiş ve bu konularla ilgili bir çok çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu çalışmalar genellikle klor gibi kimyasal maddelerle dezenfeksiyon yöntemlerini incelemiş, doğal inhibitörlerin (özellikle baharat esansiyel yağlarını



içeren sulu süspansiyonlarla sebzelerin dezenfeksiyon tekniği) patojenler üzerine olan etkileri fazla incelenmemiştir.

Baharat esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkileriyle ilgili, direk patojenler üzerinde yapılan çok sayıda araştırma bulunmaktadır ve bunların antimikrobiyal etkileri ortaya konmuştur. Ancak sebzelerdeki patojenlerin inaktivasyonu ile ilgili dezenfeksiyon çalışmaları daha çok kekik esansiyel yağında yapılmış, fesleğen ve nane ile ilgili bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Ayrıca minimal işlem görmüş sebzelerin dezenfeksiyonunda sıkça kullanılan klorlama işlemi kanserojenik yan ürünler oluşturmaktadır. Günümüzde insan sağlığını korumak amacıyla bu yöntem alternatif olabilecek yöntemler araştırılmaktadır ( Burt, 2004; Sapers ve ark., 1998).

Bu çalışmada; klorlama işlemine bir alternatif olabileceği düşünülen, doğal inhibitör etkiye sahip fesleğen ve nane baharat esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlardaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfeksiyon işleminin *Salmonella typhimurium* ve Enteropatojenik *Escherichia coli* O157:H7 patojen mikroorganizmalar üzerine olan etkisi, pasif atmosferde depolamanın meydana getirdiği etki ve depolama sırasında kullanılan esansiyel yağların etkinliğindeki değişimler araştırılmış, böylece yeşil yapraklı sebzelerde *Salmonella typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 riskinin azaltılmasındaki veya tamamen ortadan kaldırılmasındaki etkinlikleri değerlendirilmeye çalışılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

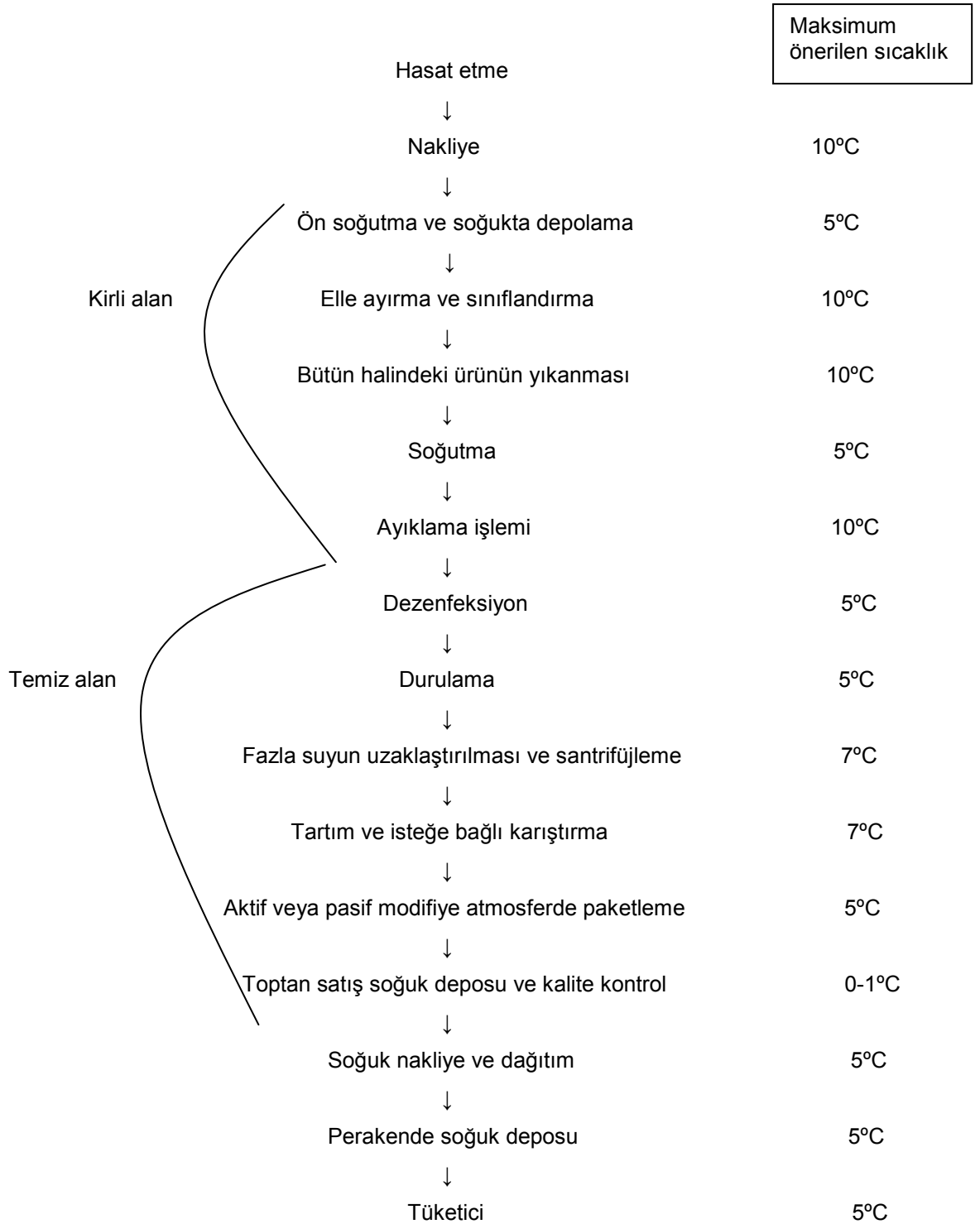
### 2.1. Minimal İşlem Görmüş Sebzeler ve Meyveler

Uluslararası Minimal İşlem Görmüş Ürün Kuruluşu (IFPA), minimal işlem görmüş meyve veya sebzeleri şu şekilde tanımlamaktadır;

Minimal işlem görmüş gıdalar, yüksek derecede besin değerine sahip, kullanıma hazır, lezzetli ve aynı zamanda tazeliğini koruyan, tüketici talebi doğrultusunda torbalanmış veya önceden paketlenmiş, kullanılmayacak kısımları kesilerek ayrılmış ve/veya kabuğu soyulmuş ve/veya dilimlenmiş % 100 kullanılabilir ürünlerdir ( Rico ve ark., 2007).

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler sağlıklı, lezzetli ve kolay hazırlanabilir bitki orjinli gıdalar doğrultusundaki tüketici talebini karşılamak amacıyla ortaya çıkmıştır. Minimal işlem, meyve ve sebzelerin olabildiğince tazeliğini korumanın yanında gıda güvenliğini ve gıdanın korunmasını garanti eden ısısal olmayan gıda işleme teknolojileridir (Allende ve ark., 2006, (b)). Minimal işleme, meyve ve sebzelerin gereksiz kısımlarının ayıklanması, kabuklarının soyulması, dilimlenmesi, küp şeklinde kesilmesi, parçalanması, kıyılması (ince bir şekilde doğranması), yıkanması ve paketlenerek depolanmasını gerektirir (Şekil 2.1.) (Barry-Ryan ve O'Beirne, 1999; Portela ve Cantwel, 2001). Minimal işlem görmüş ürünlere ayıklanmış, yıkanmış ıspanak, paketlenmiş salata karışımları, dilimlenmiş mantarlar, yıkanmış parçalanmış ve kesilmiş marullar örnek verilebilir (IFPA, 2003).

Minimal işlem görmüş sebzeler tabii tutuldukları işlemler sonucunda doku zedelenmesine uğrayarak, zedelenmiş hücreleri içerisinde bulunan öz suları damlalar halinde kesilmiş yüzeylere çıkar. Bu durum, hücre içindeki öz suyun mikroorganizmaları geliştirici bir ortam olması nedeniyle mikrobiyal gelişimin hızlanmasına ve ürünün kolaylıkla mikrobiyal bozulmaya uğramasına neden olur (Piagentini ve ark., 1997). Zedelenme ve diğer minimal işlem prosedürleri etilen üretimi, solunumun artması, membranın bozulması, su kaybı, mikrobiyal bozulmaya olan hassasiyet, klorofil kaybı, pigmentlerin oluşumu, asidite kaybı, tatlılığın artması, uçucu tatların oluşumu, dokunun yumuşaması, enzimatik kararma, lipolizis ve lipit oksidasyonunu kapsayan fizyolojik etkilere neden olur (Rico ve ark., 2007). Sonuç olarak ürünün raf ömrü kısalmış ve kalite düşer. Bu durumu etkileyen bazı faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler; kullanılan hammaddenin yaralanmayacak şekilde hasat edilmesi, hammaddenin hedeflenen kullanım için optimum zirai olgunluk basamağında olması, sıcaklık kontrolü, O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonları, kimyasal yıkama işlemiyle hücre öz suyunun ve mikroorganizmaların



**Şekil 2.1.** Minimal işlem görmüş sebzelerin genel işlem basamakları ve her bir proses basamağında maksimum önerilen sıcaklıklar (Artes ve Allende, 2005)

yüzeiden uzaklaştırılması, pH'ın modifikasyonu ve zedelenmenin derecesidir (Piagentini ve ark., 1997; Portela ve Cantwell, 2001; ; Rico ve ark., 2007; Soliva-Fortuny ve Martin-Belloso, 2003; Zagory, 1999). İşlemlerin gerçekleştirildiği ekipmanlarda keskin bıçak başlıkları kullanılarak dokularda oluşan zedelenmenin sınırlandırılabilceği ve bunun yanında kör bıçak başlıklarının gereğinden fazla tabakayı uzaklaştırmasından dolayı dokuya daha yüksek derecede zarar verdiği düşünölmektedir. (Portela ve Cantwell, 2001). Sıcaklığın kontrolü de önemlidir. Sıcaklığın 2°C'da tutulmasının 10°C'da tutulmasından, ürünün satılabilirlik kalitesini 2.5 kat uzatmakta olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir (Zagory, 1999). Ayrıca düşük sıcaklıkta ürünün depolanması enzimatik aktiviteyi ve mikrobiyolojik çoğalmanın azalmasını sağlayan en önemli etkidir (Prakash ve ark., 2000). Minimal işlem görmüş ürünlerde solunum ve terleme hızı artar. Bunun sonucu olarak oksijen düzeyinin artmasıyla kesilmiş yüzeylerdeki polifenoloksidaz enzimi oksijen ile reaksiyona girerek yüzeylerin renklerinin bozulmasına neden olabilir. Bu durumun düzeyinin azaltılabilmesi , vakumda, modifiye atmosferde paketlenme gibi yöntemler ile oksijen düzeyinin azaltılmasıyla sağlanabilir (Barriga ve ark.,1991; Rico ve ark., 2007).

Minimal işlem görmüş ürünler düşük asidik gıdalar grubuna girer (pH 5,8-6,0). Ürünün işleme ve depolama koşulları (CO<sub>2</sub> 'in yüksek düzeyleri gibi) örneklerin pH değerlerini etkileyebilir. Minimal işleme tabi tutulan ürünlerin pH değerleri için kalitenin korunması amacıyla 5-6,5 pH aralığının uygun olacağı düşünölmektedir. Örneğin, taze kesilmiş iceberg marullarının bu durumdayken depolama sırasında pH değerleri korunur veya az miktarda düşürölerek pH değerleri modifiye edilir. Ayrıca kesilmiş bir yüzeyin pH değerinin nötr olması yüzeyin renginin bozulması yönünde polifenoloksidaz enzimini katalize eder (Rico ve ark., 2007).

Sağlıklı beslenme alışkanlığına ilişkin sosyal bilinçteki artış sonucu ABD'deki taze bütün meyvelerin tüketiminde son 10 yıl boyunca sermaye yüzdesi 282,1 lb/yıl'dan 284,61 lb/yıl'a yükselmiştir. Taze meyve tüketimi yerine dondurulmuş meyve tüketiminde bir artış gözleendiğinde, taze meyveye olan bu eğilim belirli yıllarda kesintiye uğramıştır (Olivas ve Barbosa-C'Anovas, 2005). Son yıllarda piyasadaki minimal işlem gören ürünlere olan talep, yoğun yaşam tarzı, artan satın alma gücü ve tüketicilerin sağlık konusundaki bilinçleri doğrultusunda giderek hızlanmaktadır. Minimal işlem görmüş ürünlerin satış payı 2000 yılında ABD perakende satış pazarındaki tüm ürün satışlarının % 25'ne ulaşmıştır (Mchugh ve Senesi, 2000). IFPA tarafından yapılan bir çalışmada incelenen ailelerin %76'sının ayda en az bir kez, %70'inin ise ayda birkaç kez minimal işlem görmüş meyve aldığı ortaya konmuştur. Tüketicilerin yaklaşık % 30'unun işlenmemişlere karşı minimal işlem görmüş meyve ve sebzeleri tercih ettiğı tespit edilmiştir. Minimal işlem görmüş meyvelerin satışı adet olarak 1994'den beri 5 milyardan yaklaşık olarak 10-12 milyara yükselmiştir (Olivas ve Barbosa-C'Anovas, 2005). Türkiye'de de

günümüzde marketlerin raflarında minimal işlem görmüş bazı ürünlere rastlanmakta, ancak Avrupa ile kıyaslandığında ürün çeşidinin daha az olduğu görülmektedir. Ancak sağlıklı beslenmeyle ilgili olarak tüketicilerin artan bilinci bu ürünlerin ülkemizde de yaygınlaşacağını göstermektedir.

## 2.2. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Bulunan Mikroorganizmalar

Genellikle sebzeler toprağa yakın bitkiler üzerinde yetiştiği ve toprakla temas ettiği için toprak orjinli mikroorganizmalarla bulaşmaktadır. Bunun yanında toprakta yetişirken ve hasat edilirken böcekler, hayvanlar ve insanlarla da temas halinde olmaktadır (Ukuku ve ark., 2007; Ünlütürk ve Turantaş, 1999). Minimal işlem görmüş ürünlerde bulunan mikroorganizmaların miktarı ve çeşidi yüksek oranda değişkenliğe sahiptir. Toplam mezofilik bakteri sayısı tipik olarak  $10^3$ -  $10^9$  kob/g aralığında bulunurken, işlem sonrası ürün üzerindeki toplam sayı  $10^3$ - $10^6$  kob/g olarak bulunmaktadır (Zagory, 1999). Minimal işlem görmüş sebzelerde bulunan mikroorganizmaların sayısı çoğunlukla  $10^5$ - $10^7$  kob/g 'dır. Bakterilerin %80-90'nını gram(-) çubuklardan oluşmaktadır. Baskın mikroflorayı *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Flavobacterium* spp. ve *Xanthomonas* spp. oluşturur (Francis ve ark.,1999; Zagory, 1999). *Leuconosoc mesenteroides* ve *Lactobacillus* spp. gibi laktik asit bakterileri yaygın olarak minimal işlem görmüş ürünlerde bulunmaktadır (Zagory, 1999).

Laktik asit bakterileri salata karışımları ve rendelenmiş havuçlarda bulunmakta ve uygun olmayan sıcaklıkta (30°C) tutulduğunda salataların baskın florası haline gelebilmektedir. 14 farklı sebze yapıları yapılan çalışmada *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Candida* maya türleri izole edilmiştir. En yaygın izole edilen küf cinsleri *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Phoma*, *Rhizopus* ve *Penicillium*'dur (Francis ve ark.,1999). Taze sebzelerden izole edilen patojenler Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir. Çizelge 2.2 ve Çizelge 2.3'de ise çiğ tüketilen sebzelerin ülkemizde ve Almanya'da belirtilen mikrobiyolojik kriterleri verilmiştir.

Norveç marketlerindeki toplam 890 taze ürün örneğinin, ürünlerin bakteriyolojik kalitesi ve halk sağlığı riski açısından incelendiği bir çalışmada; marul, önceden hazırlanmış salata, yetiştirilen otlar, maydanoz, dereotu, mantar ve çilek örnekleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak örneklerin hiçbirinde *E.coli* 0157:H7 ve *Salmonella* spp. saptanmamıştır. Toplam koliform bakteri sayısı marulda yaklaşık 10 kob/g saptanmışken, mantarda 4500 kob/g olarak tespit edilmiştir. Toplam koliform bakterilerinin çoğu *Enterobacter* spp. veya *Klebsiella* spp. cinsi olarak tanımlanmıştır. *E.coli* beş örnekten (marul, yetiştirilen otlar, dereotu, 2 maydanoz örneği) izole edilmiştir. *Citrobacter freundii* bir dereotu örneğinde saptanmıştır. *Staphylococcus* spp.'leri mantar

örneklerinin %22.4'ünde, çilek örneklerinin %15'inde tespit edilmiştir. *Y.enterocolitica* ise marul örneklerinin %3'ünde saptanmıştır (Johannessen ve ark., 2002).

**Çizelge 2.1.** Bazı taze sebzelerden izole edilen patojen bakteriler (Brackett, 1999)

Ürün	Patojen	Ürün	Patojen
Yaban yoncası	<i>Aeromonas, E.coli</i> 0157:H7	Hindiba	<i>Salmonella</i>
Enginar	<i>Salmonella</i>	Rezene	<i>Salmonella</i>
Kuşkonmaz	<i>Aeromonas</i>	Yeşil soğan	<i>Shigella</i>
Fasulye filizi	<i>L. monocytogenes, Salmonella</i>	Marul	<i>Salmonella, Staphylococcus</i>
Pancar yaprağı	<i>Salmonella</i>		<i>Aeromonas, Shigella, E.coli</i> 0157:H7
Brokoli	<i>Aeromonas</i>	Bakla	<i>Salmonella</i>
Lahana	<i>E.coli</i> 0157:H7, <i>L.monocytogenes</i>	Mantar	<i>Campylobacter jejuni</i>
	<i>V.cholerae, Salmonella</i>	Maydanoz	<i>Salmonella, Staphylococcus,</i>
Havuç	<i>Staphylococcus</i>		<i>Shigella</i>
Karnabahar	<i>Aeromonas, Salmonella</i>	Yeşil biber	<i>Aeromonas, Salmonella</i>
Kereviz	<i>Aeromonas, E.coli</i> 0157:H7	Patates	<i>L.monocytogenes</i>
Kırmızı biber	<i>Salmonella</i>	Turp	<i>Staphylococcus, L.monocytogenes</i>
Kişniş yaprağı	<i>E.coli</i> 0157:H7	Salata	<i>Shigella, S.aureus, L.monocytogenes</i>
Tere	<i>E.coli</i> 0157:H7	sebzeleri	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Salatalık	<i>L. monocytogenes</i>	Soya filizi	<i>B.cereus</i>
Patlıcan	<i>Salmonella</i>	Ispanak	<i>Aeromonas, Salmonella</i>
		Domates	<i>L. monocytogenes, Salmonella</i>

**Çizelge 2.2.** Türkiye'de tüketime hazır çiğ sebzelerin mikrobiyolojik kriterleri (yıkamış, doğrama ve paketlenme işlemlerinden geçmiş) (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 2001)

	n	c	m	M
Koliform*	5	2	95	210
E.coli*	5	2	9	95
Salmonella spp	10	0	25 g'da bulunmayacak	

\* EMS tablosuna göre ( /g)

kob : Besiyerinde bir mikroorganizma kolonisi oluşturan birim

n : Analize alınacak numune sayısı

c : "M" değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısı

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

M : "c" sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer

EMS : En muhtemel sayı

**Çizelge 2.3.** Almanya'da önceden hazırlanmış karışık salata sebzeleri için resmi olarak önerilen kriterler (Francis ve ark., 1999)

Mikroorganizma	Limit /g
Toplam mikroorganizma sayısı (Üretim)	$< 5 \times 10^6$
Toplam mikroorganizma sayısı (Perakende Satış)	$< 5 \times 10^7$
E.coli	$< 10^2$
<i>Salmonella</i>	25 g'da bulunmayacak
<i>L.monocytogenes</i>	$< 10^2$
<i>L.monocytogenes</i> önerilen raf ömrü	$> 10^2$ (daha fazla incelemeler yapılır) 7 gün (üretim günü dahil)
Nakliye ve satış sırasındaki önerilen sıcaklık	2-7°C

Minimal işlem görmüş ince ince doğranmış maydanozların raf ömürlerini saptamak için ürünlerin aktif ve pasif atmosfer altında paketlenmesiyle yapılan bir çalışmada, örnekler 5°C'da, %90 bağıl nemde, 13-15 gün depolanmıştır. Denemeler sonucunda örneklerde fekal koliformlar ve *Listeria* spp. bulunmamıştır. Toplam mezofilik bakteri ve *Pseudomonas* spp başlangıç sayıları yaklaşık olarak sırayla  $1 \times 10^7$  kob/g ve  $1 \times 10^6$  kob/g olarak tespit edilmiş ve bu sayıların depolama periyodu boyunca neredeyse sabit kaldığı gözlenmiştir (Rosa ve ark., 2007).

### 2.3. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Patojen Gelişimini Etkileyen Faktörler

Minimal işlem görmüş sebzelerde patojen gelişimini etkileyen faktörler şunlardır;

- Sebzenin kendine ait özellikleri (pH,  $a_w$ , rekabetçi doğal mikroflorası)
- Ürüne uygulanan işlemler
- Modifiye atmosferde paketlenme
- Depolama sıcaklığı

(Francis ve ark., 1999; IFT/FDA Report on Task Order 4, 2003).

Minimal işlem görmüş sebzelerde işlem sonrası kesilen yüzeylerdeki hücrelerin zarar görmesi sonucu hücre içi sıvı yüzeye çıkar ve aynı zamanda işlem ekipmanlarına bulaşır. Bu durum mevcut bakteriler için kesici ve dilimleyici ekipmanlarını birer potansiyel kontaminasyon kaynağı haline getirir. Kesilen yüzeylerdeki ve ekipman, alet yüzeylerindeki nem ve sızan hücre sıvısı mikrobiyal gelişimi hızlandıran bir ortam sağlar. Bu yüzden dilimleme veya kesme işlemleri sırasında mevcut bakteri sayısı artabilir. Sebzenin çeşitli kesme işlemlerine maruz kalması mikrobiyal popülasyonun 6-7 kat artmasına neden olmaktadır (Francis ve ark., 1999).

*L.monocytogenes* birçok işlenmiş bitkisel gıdada, özellikle nemli ve sulu koşullarda bulunabilmekte ve hayatta kalabilmektedir. Minimal işlem görmüş sebzelerin hazırlanması için kullanılan işleme operasyonları çevresinden izole edilmiştir. Dilimleme işlemleri *L.monocytogenes*'in minimal işlem görmüş sebzeye olan kontaminasyonunu artırır. Örneğin bu patojen minimal işlem görmüş sebze karışımlarının %19'da saptanmasına rağmen karışımın her bir bileşeninin %1.8'i kontamine olmuştur (Francis ve ark., 1999).

Modifiye atmosfer; paket içindeki CO<sub>2</sub> miktarının yükseltilmesiyle bakteriyel gelişimin lag fazının uzamasına ve böylece bakteriyel çoğalmanın yavaşlamasına neden olarak raf ömrünün uzamasını sağlayan bir yöntemdir (Zagory, 1999). Modifiye atmosferin aktif ve pasif atmosfer olarak iki çeşidi vardır. Pasif atmosferde paket normal hava koşulları altında kapatılırken, aktif atmosferde paket kapatılmadan önce bir gaz karışımıyla doldurulur. Paketler içerisindeki gaz bileşimi paket içerisindeki ürünün solunumundan ve paketlenme filminin gaz geçirgenliğinden etkilenerek depolama süreci içerisinde değişikliğe uğrar. (Rico ve ark., 2007). Minimal işlem görmüş ürün paketleri içinde ürün için yararlı olabilecek modifiye atmosferlere, ürün paketi içerisindeki oksijen ve karbondioksit gazlarının uygun düzeylerini sağlayacak, doğru bir şekilde seçilen paketlenme materyalleri ile ulaşılır (Allende ve ark., 2006, (a)).

CO<sub>2</sub> miktarının yükseltilmesi ve/veya O<sub>2</sub> miktarının düşürülmesi belirli sınıf mikroorganizmalar için seçici veya destekleyici olabilir. Düşük O<sub>2</sub> düzeyinin *Listeria* ve laktik asit bakterileri gibi mikroaerofilik mikroorganizmalara destekleyici olması olasıdır. CO<sub>2</sub> düzeyinin yükseltilmesi coryneform ve laktik asit bakterileri gibi gram(+) bakterilere gram(-) bakterilerden daha çok destek verebilir. Yapılan çalışmalarda düşük düzeyde oksijen yüksek düzeyde karbondioksit içeren bir ortamda yapılan depolamanın çeşitli ürünlerin kullanılabilir raf ömürlerini 14 günden 21 güne arttırdığını rapor etmiştir. Bunun yanında kuşkonmaz ve karnabahar için bu depolama koşulu, kontrollerle karşılaştırıldıklarında mikroorganizmalar üzerinde düşük etki göstermektedir. Brokoli için ise genel mikrobiyal popülasyon üzerinde geniş bir etki göstermektedir. En azından bazı ürünler için ise raf ömrünü uzatmasının mikroorganizmalar üzerine gösterdiği etkiden bağımsız olduğu görülmüştür (Zagory, 1999).



Oksijenin aşırı düşük düzeyleri, asetaldehit oluşumuna ve istenmeyen lezzet bileşenlerinin meydana gelmesine neden olma olasılığı olan fermentatif prosesleri destekler. Bu durumun önüne geçmek için önerilen atmosfer konsantrasyonları ürüne bağlı olarak değişir. Genel olarak minimal işlem görmüş ürünler daha yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarına bütün haldeki ürünlere göre daha tolerans göstermektedir. Çünkü bu ürünlerin difüzyona karşı dirençleri daha düşüktür. Bütün haldeki marul CO<sub>2</sub>'e karşı tolerans göstermez, ama kıyılmış marul CO<sub>2</sub>'in %10-15 'lik konsantrasyonlarına karşı tolerans gösterebilmektedir (Rico ve ark., 2007).

Vescovo ve arkadaşları (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, karbondioksit konsantrasyonu, *Lactobacillus casei* inokulum miktarı ve depolama sıcaklığının modifiye atmosfer altında paketlenmiş minimal işlem görmüş karışık salata sebzelerindeki *Aeromonas hydrophila* ve laktik asit bakterilerinin gelişimi üzerine, bu değişkenlerin her birinin tek başına gösterdikleri ve interaksiyonlarının gösterdiği etkileri incelemek için Merkezi Kompozisyon Dizaynına (CCD) göre bu değişkenlerde değişiklikler yapılmıştır. İnceleme sonucunda CCD'den elde edilen sonuçlardan, *L.casei* inokulum miktarının *A. hydrophila* ve laktik asit bakterinin kinetik parametrelerini etkileyen ana faktör olduğu açıkça görülmüştür. Tepki yüzey analizinden, *L.casei* gelişim hızının desteklenmesi ve *A. hydrophila* kontrolü için uygun olan bir parametreler kombinasyonunun, *L.casei* inokulum miktarının yaklaşık 5.2 log kob/g olmasıyla ilişkili olan yüksek bir karbondioksit konsantrasyonunu içerdiği ortaya çıkmıştır. Bu koşullar laktik asit bakterilerinin en yüksek maksimum popülasyonuna ve en yüksek gelişim hızına izin vermiştir. *A. hydrophila*'nın maksimum ölüm hızına ulaşamamasına rağmen 6°C'in altında veya üstünde sebzelerin depolanmasıyla bu mikroorganizmanın ölüm fazının başlamasından önceki zamanla ilgili  $\alpha$  parametreleri oldukça düşürülmüş ve daha da kısaltılabilmektedir. Sonuç olarak MAP, soğutma sıcaklığında depolama ve laktik asit bakterileri inokulumu gibi çeşitli faktörlerin kombinasyonu minimal işlem görmüş sebzelerde bulunan *A. hydrophila* riskinin azaltılmasında bir etken olduğu görülmüştür.

Minimal işlem görmüş iceberg marulların başlangıç mikrobiyal popülasyonların saptanmasının ve bu popülasyonun farklı kontrollü atmosferler altında uğradığı değişikliklerin incelenmesinin amaçlandığı bir çalışmada marullar öncelikle parçalanmış, yıkanmış, dezenfekte edilmiş, durulanmış ve santrifüj edilmiş, sonra 12 gün normal hava, %3 O<sub>2</sub>, %3 O<sub>2</sub>+ %5 CO<sub>2</sub> veya %3 O<sub>2</sub>+ % 10 CO<sub>2</sub> koşulları altında depolanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda hiçbir insan kaynaklı patojene rastlanmamıştır. Kontrollü atmosferlerin incelenen mikrobiyal popülasyon üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı veya düşük düzeyde bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. % 3 O<sub>2</sub> + % 10 CO<sub>2</sub> atmosfer koşulunun önemsenecek düzeyde mikrobiyal gelişimi etkilemeksizin marulların kabul edilebilir görünür kalitelerini koruduğu gözlenmiştir (Barriga ve ark., 1991).

Denge modifiye atmosferde paketlenmiş minimal işlem görmüş bir ürünün mikrobiyal üremesiyle ve duyu kalitesiyle etkilenen raf ömrünün sıcaklıkla bağlantısının incelendiği bir çalışmada paketlerdeki modifiye atmosfer uygulamalarının (2-5 k Pa O<sub>2</sub> ve 3-5 k Pa CO<sub>2</sub>), patojenlerin gelişimi/hayatta kalması/ azalmasını direk etkileyen bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Bunun nedeninin uygulanan modifiye atmosferlerin, gelişimi engellemeye yeterli miktarda CO<sub>2</sub> içermemesi olduğu gözlemlenmiştir (Jacxsens ve ark., 2002).

Depolama sıcaklığı minimal işlem görmüş sebzelerde mikroorganizmaların gelişimini etkileyen en önemli faktördür. Kesilmiş hindiba salatalarından, havuç dilimlerinden, parçalanmış maruldan elde edilen sonuçlar düşük depolama sıcaklığının mezofilik mikrofloranın gelişimini önemli derecede düşürdüğünü göstermiştir (Francis ve ark., 1999).

Yapılan bir çalışmada, 4°C ve 10°C depolama sıcaklıklarında 11 gün depolanan minimal işlem görmüş sebzelerin (parçalanmış marul, salata karışımı, havuç çubukları, karnabahar çiçekçikleri, dilimlenmiş kereviz, karışık lahana salatası, brokoli çiçekçikleri ve dilimlenmiş yeşil biberler) mikrobiyal kalitelerinin işlemlerden önceki ve sonraki durumları incelenmiştir. Araştırma sonucunda 10°C'da depolanmış minimal işlem görmüş sebzelerin 4°C'da depolanana karşılaştırıldıklarında, aerobik koloni sayısının önemli derecede daha yüksek sayıda olduğu tespit edilmiştir. Minimal işlem görmüş sebzelerdeki *Listeria monocytogenes* düzeyindeki artışın 10°C'da depolanmasıyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Depolamanın 7. gününde, 10°C'da depolanan 120 örneğin 8'inde >100 MPN / g düzeyinde *L. monocytogenes* saptanırken, 4°C'da 175 örnekte *L. monocytogenes* tespit edilememiştir. Depolamanın 11. gününde 10°C'da depolanan 120 örneğin 13'ünde (%10.8) *L. monocytogenes* saptanırken, 4°C'da 176 örneğin 5'inde (%2.8) tespit edilmiştir. E.coli depolamanın 7. gününden sonra minimal işlem görmüş 120 örneğin 2'sinde saptanmıştır. Bu indikatör mikroorganizma 4°C'da depolanan minimal işlem görmüş sebze örneklerinde ise tespit edilememiştir (Odumeru ve ark., 1997).

Rendelenmiş pancarların mikrobiyal kalitesinin incelendiği bir çalışmada, örnekler soğuk suyla (8°C) veya klorlanmış suyla (8°C ve suyun litresinde 252 mg aktif klor) yıkanmış ve 0, 4 ve 20°C'da yüksek geçirgen filmle (PVC) sarılan tepsilerde paketlenmiştir. Araştırma sonucunda depolamanın 3. gününden sonra 0°C ve 4°C'da depolanan soğuk klorlu suyla işlem görmüş örneklerde maya ve toplam aerobik canlı sayısında önemli derecede azalma görülürken, 20°C'da depolanan örneklerin toplam aerobik bakteri sayısında önemli bir artış gözlemlenmiştir (Osornio ve Chaves, 1997).

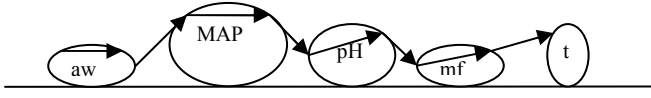
Yapılan bir çalışmada minimal işlem görmüş lahanalara inokule edilen *Salmonella hadar* patojen mikroorganizmasının hayatta kalışının ve gelişiminin üzerine depolama sıcaklıklarının

etkisi incelenmiştir. İnceleme sonucunda *S. hadar* sayısının 4°C'da depolanan örneklerde 12°C ve 20°C'da depolanan örneklerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Piagentini ve ark., 1997).

*L.monocytogenes*, *Salmonella* ve *E.coli* O157:H7 hücrelerinin normal olarak öldürücü asit streslerine karşı dirençlerinde artış sağladıkları ve böylece asit stresine maruz kaldıklarında bu duruma adapte oldukları bulunmuştur. Modifiye atmosferde paketlenmiş sebzelerdeki *Listeria monocytogenes*'in hayatta kalışı üzerine bu patojen mikroorganizmanın aside adaptasyonunun etkisinin incelendiği bir çalışmada elde edilen sonuçlar, aside adapte olabilen kültürlerin yüksek CO<sub>2</sub> içeren atmosferlerde hayatta kaldıklarını ve daha iyi geliştiklerini ortaya koymuştur. Ayrıca *L. monocytogenes* hücrelerinin orta derecedeki asit ortamlara (pH 5.5) adaptasyonunun CO<sub>2</sub>'e daha da dirençli hale gelmesine neden olduğunu göstermiştir. Hücrelerin orta derecedeki asit koşullarına maruz kalması, *L. monocytogenes*'in önemli derecede adaptasyon göstermesine ve normalde öldürücü olan asit stresine (pH 3.5) karşı direncinin armasına neden olduğu bulunmuştur (Francis ve O'Beirne, 2001, (b)).

Genel olarak bilindiği gibi mikroorganizmaların gelişimini etkileyen faktörlerden biri gıdanın sahip olduğu kendine ait özelliklerdir. Patojen mikroorganizmalar da bulaştıkları gıdalarda, gelişebilmeleri için gerekli olan optimum koşullara ihtiyaç duyar. Bu noktada patojenin gelişeceği ortam olan, bulaştığı gıdanın kendine ait özellikleri olan su aktivitesi ( $a_w$ ), pH değeri önemli bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda gıdanın rekabetçi doğal mikroflorası da patojenlerin hayatta kalışlarını ve gelişimlerini etkilemektedir (Francis ve ark., 1999; Ünlütürk ve Turantaş, 1999; IFT/FDA Report on Task Order 4, 2003).

Minimal işlem görmüş gıdaların soğuk zincirinde düşük sıcaklığı korumadaki zorluklar nedeniyle patojenlerin (özellikle psikrotrofların) gelişiminin kontrolü için ek engellere ihtiyaç vardır. Yararlı içsel, işleme ait ve dışsal inhibe edici faktörlerin kombinasyonu gıdanın mikrobiyal güvenliğinin geliştirilmesini sağlar. İnhibe edici düzeylerdeki gelişimi sınırlandırıcı faktörlerin uygun kombinasyonları "Hurdles Concept" kavramı (Engeller Kavramı) doğrultusunda belirli mikroorganizmaları inhibe edebilir. Teorik olarak, bir mikroorganizmanın muhtemel inhibisyonu için her engel katkıda bulunur ve her engelin gelişimin üstesinden gelmesi gerekir. Bu kavramın şematik gösterimi Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (Francis ve ark., 1999).



$a_w$ : su aktivitesi; MAP: modifiye atmosferde paketleme; mf: rekabetçi mikrofloranın varlığı; t: depolama sıcaklığı

**Şekil 2.2.** Engeller kavramı (Francis ve ark., 1999)

Son zamanlarda laktik asit bakterilerinin sahip oldukları antagonistik etkileri yeniden gözden geçirilmektedir. Laktik asit bakterileri bir veya daha fazla mekanizmaları nedeniyle antimikrobiyal etkileri kullanmaktadır. Bu mekanizmalar;

- pH'ın düşmesi
- Hidrojen peroksit oluşumu
- Besin maddeleri için mücadele edilmesi
- Bakteriyosin, antibiyotikler gibi antimikrobiyal maddelerin oluşumudur.

Laktik asit bakterileri sebzelerde düşük miktarlarda bulunur. Bazı minimal işlem görmüş sebzelerde varlıkları yüksek miktarlara ulaşabilir. Özellikle yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarına sahip modifiye atmosfer paketleri içindeki ürünlerde bu durum gerçekleşir. Laktik asit bakterilerinin rekabetçi etkileri minimal işlem görmüş sebzelerdeki patojen gelişimini sınırlandırabilir. Ancak bu konuyla ilgili kesin olarak, bu durumu ispatlayacak yeterli veri bulunmamaktadır (Francis ve ark.,1999).

Yapılan bir çalışmada minimal işlem görmüş marullardaki *L. monocytogenes*'in azaltılmasında laktik asit bakterilerinin gelişiminin ve ürettikleri bakteriosinlerin etkileri araştırılmıştır. Çalışmada *L. monocytogenes*'in hayatta kalışı ve çoğalması üzerine bakteriyosin içeren çözeltilerle yıkama işleminin etkisi, 4°C'da 7 gün makro delikli polipropilen torbalarda paketlenmiş minimal işlem görmüş marullarda incelenmiştir. Araştırmanın sonucunda minimal işlem görmüş marulların bu çözeltilerle yıkanmasının, işlemde hemen sonra *L. monocytogenes*'in yaşayabilirliğini 1.2-1.6 log ünite azalttığı görülmüştür. Ama 4°C'da depolama sırasında bakteriyosin işlemlerinin patojenlerin gelişimi üzerine yalnızca minimum bir kontrole sahip olduğu gözlenmiştir (Allende ve ark., 2007).

Minimal işlem görmüş geniş yapraklı hindibalarda bulunan *Listeria monocytogenes* üzerine doğal mikrofloranın etkisinin incelendiği bir çalışmada, kimyasal dezenfeksiyonla doğal mikroflorası azaltılmış hinhiba yaprakları üzerindeki *L. monocytogenes* popülasyonunda daha

yüksek bir artış olduğu gözlenmiştir. Bazı hücrelerin yüksek miktarları ( $10^6$ - $10^7$  kob/g) hindiba üzerindeki *L. monocytogenes*'in gelişimini azaltmıştır. Hindiba yapraklarından ekstrakte edilen kompleks bir bakteri popülasyonunun, hindiba yaprağı hücre öz suyundan elde edilen steril ortamda *L. monocytogenes*'in gelişimini tamamen engellediği tespit edilmiştir (Carlin ve ark., 1996).

#### **2.4. Minimal İşlem Görmüş Sebzelere Patojenlerin Bulaşma Kaynakları ve Bulaşmalarının Engellenmesi**

Minimal işlem görmüş sebzelere patojenlerin bulaşması, kullanılacak hammaddenin hasat öncesi aşamasında, hasat aşamasında ve kullanılan minimal işleme basamaklarında gerçekleşebilir (Şekil 2.3.) (Brackett, 1999).

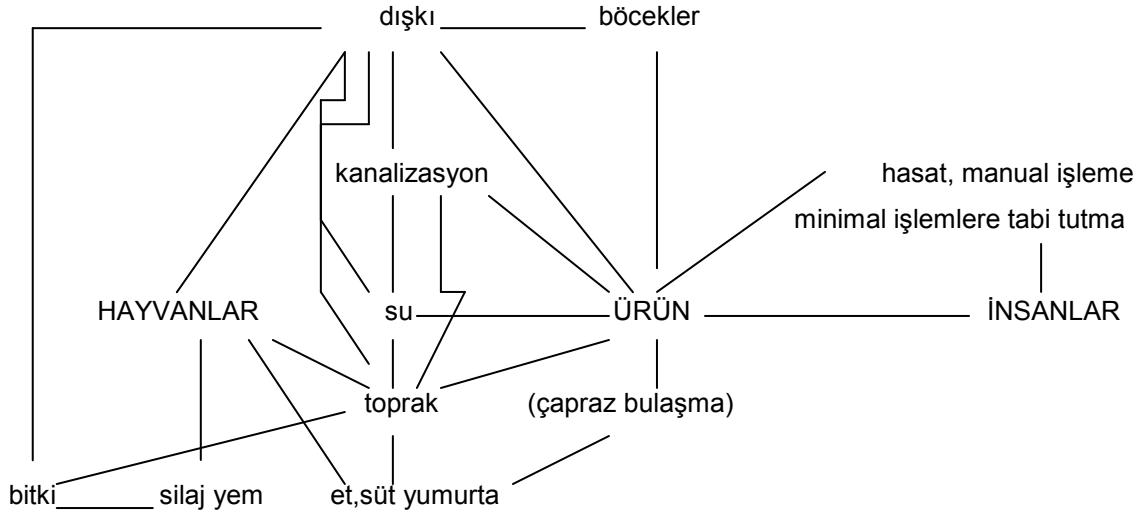
Öncelikle minimal işlem görmüş sebzeler, minimal işlemlerden sonra kullanılan hammaddenin doğal mikroflorasının çoğunu bünyesinde tuttuğundan, kullanılan hammaddenin iyi kalitede olması gerekir. Ekili olan mahsul taze ürün söz konusu olduğunda son ürünün bakteriyolojik kalitesini ve güvenliğini etkiler (Brackett, 1999; Francis ve ark., 1999; Laurila ve Ahvenainen, 2002).

Ekinin yetiştirildiği arazinin geçmişi çiftçiler tarafından genellikle önemsenmeyen bir faktördür. Önceden üzerinde çiftlik hayvanlarının veya vahşi hayvanların otladığı alanlarda enterik patojenlerin kontaminasyonu olasıdır. Bazı bakteriler aylarca veya yıllarca toprakta canlı kalabilir. Bu açıdan bakıldığında yetiştiricilerin tarla alanlarını seçerken geçmişte bu alanların hayvanlara ve kanalizasyona maruz kalmadığından emin olması gerekir (Brackett, 1999).

Sebze yetiştiriciliğinin yapıldığı alanın sınırını, yakınında hayvanlar otlayan bir akarsu oluşturuyorsa, hayvan dışkıları suyun akıntısı sayesinde taşınarak sebzeleri kontamine edebilir. Ayrıca akıntı fabrikalardan insan, kanalizasyon ve endüstriyel atıkları da taşıyarak bitkilerin kontaminasyonuna neden olabilir (Brackett, 1999).

Yetiştirilen sebzelerin sulama suları ve kullanılan su kaynağı da sebzelere patojen mikroorganizmaların bulaşmasına neden olabilir (Brackett, 1999).

Hasat sırasında insan teması ve mekanik temas taze ürünün mikrobiyal güvenliğini etkiler. Buna bağlı olarak çalışanların personel hijyeni önemli bir etkidir. Personelin gıda kaynaklı patojenlere temas etmesi halinde ürünün kontaminasyon riski ortaya çıkar. Bu nedenle el yıkama gibi hijyenik uygulamalar önemsenmeli ve ciddiyetle uygulanmalıdır. Ayrıca hasatta



**Şekil 2.3.** Çiğ meyve ve sebzelerin patojenik mikroorganizmalarla kontamine olma mekanizmaları (Rivera, 2005)

kullanılan ekipmanlar da birer bulaşma kaynağı olabilir. Ekipmanların temizliği ve sanitasyonu ciddiye alınmalıdır (Brackett, 1999).

Minimal işlem basamakları ürüne insan temasını gerektirir. Bu nedenle tüm işlem basamakları ürünün patojen bakterilerle kontaminasyonunun potansiyel kontaminantlarıdır. Yine hasat aşamasında olduğu gibi iyi bir personel hijyeni uygulaması bu riskin engellenmesini sağlar. Ayrıca paketleme odalarının, işleme alanlarının, bağlantı tesisatlarının fiziksel dizaynı da sebzelerin mikrobiyal güvenliği için önemlidir (Brackett, 1999).

Yapılan çalışmalar parçalayıcıların ve dilimleyicilerin marul ve diğer sebzelerin işlenmeleri sırasındaki ana kontaminasyon kaynağı olduklarını ortaya koymuştur. Örneğin marulların aerobik toplam canlı sayısı, parçalanmalarından sonra  $1.8 \times 10^4$  kob/g'dan  $1.4 \times 10^6$  kob/g'a yükselmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, uygun el yıkama metotları izlense bile, mikroorganizmalar hala var olabilmekte ve doğrama işlemi sırasında marullara yıkanmış ellerden geçebilmektedir (Rivera, 2005).

Minimal işlem görmüş ürünlerin iyi kalitede üretilmesi için engel kavramının kullanımı daha gelişmiş proses metotlarını ve işlemleri gerektirir. Bu önerilen işlem basamakları Çizelge 2.4.'de özetlenmiştir (Laurila ve Ahvenainen, 2002).

İyi üretim uygulamalarının (GMP) ve etkili bir HACCP yönetiminin çatısı içerisindeki hijyenik proses mikrobiyolojik ve diğer risklerin önlenmesinde son derecede önemlidir. HACCP iskeleti içerisindeki anahtar tehlikelerin ve kontrol metotlarının bazıları Ek.1'de özetlenmiştir (Laurila ve Ahvenainen, 2002).

**Çizelge 2.4.** Meyve ve sebzelerin minimal olarak işlenmeleri sırasında yapılması önerilenler (Laurila ve Ahvenainen, 2002)

- 
- İyi kaliteli çiğ materyal (doğru çeşit, doğru yetiştirme, hasat ve depolama koşulları)
  - Tam hijyen ve iyi üretim uygulamaları, HACCP
  - İşleme sırasında düşük sıcaklıklar
  - Kabuğunun soyulmasından önce ve sonra dikkatli temizleme ve/veya yıkama
  - Yıkamada kullanılan suyun iyi kalitede olması (duyusal, mikrobiyolojik, pH)
  - Dezenfeksiyon veya esmerleşmeyi önlemek için yıkamada orta derecede etkili katkıların ilavesi
  - Yıkamadan sonra hassas santrifüjlü kurutma
  - Hassas kesme / dilimleme / parçalama
  - Doğru paketleme materyalleri ve paketleme metotları
- 
- Dağıtım ve perakende satış sırasında doğru sıcaklık ve nem
- 

## **2.5. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerin Tüketimi Sonucu Meydana Gelen Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalık Vakaları**

Minimal işlem görmüş sebzeler genellikle tüketiciler tarafından güvenli olarak düşünülen ürünlerdir. Bu ürünlerin üretimi temelde ileri bir işlem gerektirmemekte ve bu ürünler çiğ olarak tüketilmektedir. Bu nedenle de bu ürünlerin tüketimi sonucunda zehirlenmelerin ortaya çıkması potansiyel bir güvenlik problemidir. Bilimsel veriler taze ürünlerin tüketimi sonucunda gıda kaynaklı hastalık salgınlarının ortaya çıkış sayısında artış olduğunu göstermektedir. (Gleeson ve O'Beirne, 2005; Johannessen ve ark., 2002).

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, meyve ve sebzelerle ilişkili gıda kaynaklı salgınları oranının 1973'ten 1987'e ve tekrardan 1988'den 1997'e iki katına çıktığını rapor etmiştir. 1973-1997 yılları arasında A.B.D.'deki minimal işlem görmüş ürünlerle ilişkili olarak ortaya çıkan gıda kaynaklı salgınların araştırıldığı son zamanlarda yapılan bir çalışmada, 32 eyalette 190 salgın rapor edilmiştir. Rapor edilen 16058 hastalık sonucu hastaların 598'nin bu nedenle hastaneye yatırıldığı ve sekizinin de öldüğü bildirilmiştir. Ek olarak araştırmacılar, 190 salgın içinde 25'inin marulla ilişkili olarak ortaya çıktığını, rapor edilen 2078 hastalık sonucu hastaların 181'inin

hastaneye yatırıldığını ve altısının da öldüğünü rapor etmiştir (Johnston ve ark., 2005; Rivera, 2005).

Yapılan bir araştırmada, A.B.D.'de 1970'li yıllarda taze sebze ve meyvelerin gıda kaynaklı hastalık vakalarının yalnızca %1'inden sorumlu olduğu ve bu oranın 1990'lı yıllarda %12'lere yükseldiği rapor edilmiştir. A.B.D. Bilim Merkezi, 1990-2003 yılları arasında taze meyve ve sebzelerin A.B.D.'de 554 gıda kaynaklı hastalık salgınına neden olduğunu ve bu sayının, aynı dönemdeki kümes hayvanlarından kaynaklanan hastalık sayısından çok daha fazla olduğunu rapor etmiştir (Bassett ve McClure, 2008).

Minimal işlem görmüş sebzelerin üretiminde kullanılan hammaddelerin yüzey florası ürünün yetiştirildiği çevrenin florasının bir göstergesidir. Ayrıca bu ürünlerin çiftlikten taşınması da ürüne olan potansiyel kontaminasyon kaynaklarını arttıran bir unsurdur (sulama suyu, organik gübreye uygun olmayan gübreleme, yıkama su sistemleri, kirli ekipman, steril olmayan uygulamalar, vb. ) (Johannessen ve ark., 2002; Rivera, 2005).

Minimal işlem görmüş sebzelerde görülen patojen bakteriler *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Shigella* spp., *Clostridium botulinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, viral patojenler ( Hepatit A, Norwalk virüs) ve protozoan patojenlerdir (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* ve *Ascaris* spp.) (Francis ve ark., 1999). En sık rastlanan patojenler ise *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Shigella* spp. ve Hepatit A virüsüdür. Bu mikroorganizmaların tümü kontamine minimal işlem görmüş sebzelerin tüketimiyle bağlantılı gıda kaynaklı hastalık salgınlarının etkenleridir (Singh ve ark., 2002, (b)). Bazı patojen bakterilerden kaynaklanan salgınların ortaya çıktığı taze ürünler Çizelge 2.5.'de ve minimal işlem görmüş sebzelerin tüketimiyle bağlantılı gıda kaynaklı enfeksiyon örnekleri Çizelge 2.6.'de verilmiştir.

*Salmonella* spp.'leri gıda kaynaklı salgınların en sık rapor edilen nedenidir. Hayvan orjinli gıdalar salmonellosis salgınlarının en yaygın görüldüğü kaynaklardır. Bununla birlikte taze sebze ve meyve ürünlerinden en fazla izole edilen patojenlerden biridir. Salmonellosis salgınları taze ürünlerin geniş bir çeşidine bağlı olarak ortaya çıkmıştır. Bu taze ürünlerin içerisinde yonca filizleri, marul, rezene, kişniş yaprağı, kavun, pastörize olmamış portakal suyu, domates, karpuz, mango, kereviz ve maydanozun olduğu ortaya konmuştur (Daş ve ark., 2006; Lapidot ve ark., 2006; Piagentini ve ark., 1997).



**Çizelge 2.5.** Bazı patojen bakterilerin neden olduğu salgınların ortaya çıktığı minimal işlem görmüş ürünler (Brackett, 1999)

Patojen	Ürün
<i>Shigella</i> spp.	Marul, yeşil soğan
<i>Salmonella</i> spp.	Dilimlenmiş domates, brüksel lahanası, dilimlenmiş karpuz, dilimlenmiş kavun, pastörilize edilmemiş meyve suyu
<i>E.coli</i> 0157:H7	Pastörilize edilmemiş elma püresi/suyu, marul çeşitleri, yonca filizleri
Enterotoksijenik <i>E.coli</i> (ETEC)	Havuçlar
<i>V. cholerae</i>	Hindistan cevizi sütü
<i>L. monocytogenes</i>	Lahana
<i>B. cereus</i>	Brüksel lahanası

**Çizelge 2.6.** Minimal işlem görmüş sebzelerin tüketimiyle bağlantılı gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve görülen ülkeler (Francis ve ark., 1999)

Mikroorganizma	Şüphelenilen ürün	Ülke
<i>L.monocytogenes</i>	Lahana salatasındaki parçalanmış lahanalar	Kanada
	Salatalardaki çiğ sebzeler	A.B.D.
<i>Cl. botulinum</i>	Lahana salatasındaki parçalanmış lahanalar	A.B.D.
<i>Salmonella</i>	Fasulye filizi	İngiltere
Enterohaemorrhagic <i>E.coli</i>	Çiğ sebze salataları	Meksika
<i>Vibrio cholerae</i>	Lahana	Peru
Hepatit A virüsü	Marul	A.B.D.

*Salmonella*'nın içerdiği bazı patojenik türler, *S.typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. heidelberg*, *S. saint-paul* ve *S. montevideo*'dur. *Salmonella* türleri fekal materyallerden, kanalizasyondan ve kanalizasyonla kirlenmiş sulardan bol miktarda izole edilmiştir. Toprak ve yetiştirilen mahsüllerin, bu kaynaklarla temas sonucu kontamine olabildikleri saptanmıştır. Ayrıca bazı *Salmonella* türleri de memelilerden, kümes hayvanlarından, sığırlardan, kuşlardan, sürüngenlerden, balıklardan, hem suda hem karada yaşayan hayvanlardan ve böceklerden izole edilmiştir. Bunun yanında gıdalar *Salmonella*'nın insanlara geçişinde birincil taşıyıcılardır. Bazı *Salmonella* türleri çeşitli taze yenen sebzelerden de izole edilmiştir (Francis ve ark., 1999).

İspanya'da tarlalardan veya perakende satış yerlerinden örnek olarak alınmış bütün halindeki sebzeler üzerine yapılan bir araştırmada toplam örneklerin % 7.5'nun *Salmonella* spp.'leri ile kontamine olduğu saptanmıştır. İtalya'da, marketlerdeki sebzelerin incelenmesinde, marul örneklerinin % 68'i ve rezene örneklerinin % 72'sinin *Salmonella* taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Mısır'da yapılan bir araştırmada ise sebzelerin ve salataların *Salmonella* spp.'leri ile kontamine olduğu ortaya konmuştur. Malezya'da marketlerden örnek olarak alınmış bütün sebzelerde yapılan bir incelemede, toplam örneklerin yaklaşık %36'sında *Salmonella* türleri saptanmıştır (Francis ve ark., 1999; Salleh ve ark., 2003) .

Sağlık uzmanları her yıl A.B.D.'de ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalıkların direk sağlık masrafları ve verimlilik kaybı göz önüne alındığında, beş ile altı milyon Amerikan dolarının harcadığını ortaya koymuştur. *Salmonella* bakterilerinden kaynaklanan enfeksiyonlar için yapılan masrafların ise tek başına yılda bir milyon doları teşkil ettiği tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalar A.B.D.'de her yıl 40000 salmonellosis vakasının meydana geldiğini ve her yıl 1000 kişinin öldüğünü açığa çıkartmıştır. Bundan yola çıkarak gıda kaynaklı hastalıkların son derece maliyetli olduğu söylenebilir ( Luksiene ve ark., 2007).

İngiltere'de *Salmonella saint-paul* ile kontamine olmuş fasulye filizlerinin tüketiminden sonra 143 vaka ortaya çıktığı rapor edilmiştir. İtalya'da *Salmonella*'nın çeşitli serotipleri rezene, marul, kereviz ve maydanozdan izole edilmiştir (Salleh ve ark., 2003).

Yapılan araştırmalar A.B.D.'de her yıl meydana gelen salmonellosis enfeksiyonlarının oranının 100000'lik nüfusta 15 – 20 vaka aralığında olduğunu ortaya koymuştur. *Salmonella* spp.'lerinin neden olduğu salgınların hem Kore'de (%20,7) hem de Japonya'da (%14,2) sıklıkla ortaya çıktığı tespit edilmiştir. *S. enterica* serovarlarından Typhimurium ve Enteritidis dünyanın her tarafında gıda kaynaklı salgınlardan en sık izole edilen serovarlar olduğu saptanmıştır (Chang ve Fang, 2007). 2005 yılında Finlandiya'da, İspanya'dan ithal edilen marullarla ilişkili olarak salmonellosis salgınının ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Bassett ve McClure, 2008).

*Escherichia coli* O157:H7'nin insanların ve sıcak kanlı hayvanların bağırsak sisteminin normal mikroflorasında yaygın olarak bulunduğu ve yayılma oranının %5,2'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Sineklerin patojenin bağırsak sisteminden vücudun diğer kısımlarına taşınmasında patojenin yayılmasına neden olan taşıyıcılar olarak görev yaptıkları görülmüştür. İnekler bu patojenin doğal kaynağı olarak görülmüştür. Çiğ meyve ve sebzelerin bu patojenle kontaminasyonu, ineklerin tarlalara yanlışlıkla girmesi veya uygun olmayan kompozisyondaki inek gübrelerinin gübrelemede kullanılması sonucu ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada *E.coli* O157:H7'nin inek dışkısında 70 gün hayatta kalabildiği saptanmıştır. Bu

yüzden araştırmacılar yönetmeliğe uygun olmayan gübrelerin kullanımlarından önce 60 gün bekletilmeleri gerektiğini bildirmişlerdir (Rivera, 2005).

*E. coli* O157:H7 patojen mikroorganizması 1975 yılında kanlı ishal hastalığına yakalanan kişilerde ilk kez izole edilmiş, 1982 yılında çeşitli gıdalarla ilişkili gıda zehirlenmeleri salgınlarında etken olmaları nedeniyle Avrupa ve Amerika'da artan bir riskin konusu olmuştur. 1993-1996 yılları arasında taze sebze salatalarını tüketen Amerikalılarda *E. coli* O157:H7 ile bağlantılı olarak ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalık vakaları rapor edilmiştir. 1996 yılında Japonya'da on binin üzerinde kişinin etkilendiği gıda kaynaklı hastalık salgınına da *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş gıda ürünlerinin neden olduğu tespit edilmiştir (Huang ve ark., 2005).

*E. coli* O157:H7 patojen mikroorganizması, son yirmi yılın kanamalı kalınbağırsak iltihabı ve kanlı üremik sendrom semptomlarına sahip gıda kaynaklı hastalığın en önemli nedeni olarak ortaya çıkmıştır. Enterotoksijenik *E. coli* halk sağlığı açısından diğer patojenler arasındaki en önemli sorun olmuştur. *E. coli* hücreleri marketlerde mevcut olan kontamine çiğ sebze salatalarının tüketimi sonucunda ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalıkta etken organizma olduğu görülmüştür (Achen ve Yousef, 2001; Bharathi ve ark., 2001).

Araştırmalar *E.coli* O157:H7 enfeksiyonu salgınlarının yonca filizleri, turp filizleri ve farklı marul çeşitleri gibi taze sebzelerle bağlantılı olarak ortaya çıktığını göstermiştir. Aynı zamanda bu patojen yapraklı sebzeleri, lahanayı, kerevizi, salatalığı, turbu, domatesi ve fasulye filizlerini içeren çeşitli meyve ve sebzelerden de izole edilmiştir (Gleeson ve O'Beirne, 2005).

Yapılan araştırmalar, 1982-1994 yılları arasında A.B.D'de gıda kaynaklı *E. coli* O157:H7 salgınlarının çoğunun (%32) kıyım tüketimi sonucu ortaya çıktığını, yaklaşık %6'sının da sebzelerin veya salataların tüketimi sonucu meydana geldiğini ortaya koymuştur (Francis ve ark., 1999).

Yapılan bir incelemede, A.B.D.'de ve Kanada'da veroksitotoksijenik *E. coli* O157:H7 salgınlarının kontamine marul ve sebze salatalarının tüketimine bağlı olarak ortaya çıktığını tespit etmiştir. 1995 yılında batı Montana, Maine, Ontario ve Alberta'da *E. coli* O157:H7 salgınları ve bu salgınların kontamine marulların tüketimi sonucu ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Odumeru ve ark., 1997).

Yapılan bir çalışmada, Tayvan'daki 116 minimal işlem görmüş meyve ve sebze örneklerinin birinin *E. coli* O157:H7 ile kontamine olduğu bulunmuştur. A.B.D'de 1973'ten 1997'ye kadar *E.*

*coli O157:H7* ve *Salmonella* neden olduğu sekiz marul tüketimi sonucu açığa çıkan salgın meydana gelmiştir (Chang ve Fang, 2007).

Son yıllarda, bazı gıda kaynaklı salgınların ortaya çıkmasında taze meyve ve sebzelerin önemli bir rolünün olduğu ve giderek bu konudaki önemlerinin arttığı görülmüştür. 2006 yılında A.B.D.'de paketlenmiş taze ıspanağa bağlı olarak enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 salgının birçok eyalette ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Bu salgın 183 kişiden daha fazla kişiyi etkilemiş ve bu kişilerden %52'si hastaneye yatırılmış, %16'sında kanlı üremik sendrom gelişmiş ve en az %1'i de ölmüştür. Danimarka'da 2005 ve 2007 yıllarında Polonya ve Çin'den ithal edilen dondurulmuş frambuazların tüketimiyle bağlantılı olarak ortaya çıkan, gastrointestinal hastalığa neden olan norovirüs salgınından 1000'den fazla kişi etkilendiği ve 2005 yılında İsveç'te iceberg maruldan kaynaklanan *E.coli* O157:H7 salgınından da 120 kişinin etkilendiği tespit edilmiştir (Bassett ve McClure, 2008).

*Listeria monocytogenes*'in hayvanların ve insanların bağırsak sistemlerinde mevcut olduğu saptanmıştır. Bu patojen mikroorganizma topraktan, dışkıdan, kanalizasyondan, silajdan, gübreden, sudan, çamurdan, samandan, hayvan yemlerinden, tozdan, kuşlardan, hayvanlardan ve insanlardan izole edilmiştir. Ayrıca birçok gıdadan da izole edilmiştir (Francis ve ark., 1999; Rivera, 2005; Sagun ve ark., 2006). Yapılan araştırmalar elmalı snack gıdaların, çeşitli işlenmiş meyve ve sebzelerin ve dilimlenmiş kavunun *Listeria monocytogenes*'in olası kontaminasyonuna maruz kalan gıdalar olduklarını ortaya çıkarmıştır. Özellikle *Listeria monocytogenes*'in lahana salatası ve salata karışımlarında bulunduğu tespit edilmiştir (Eswaranandam ve ark., 2004; Odumeru ve ark., 1997). Yapılan çalışmalar *Listeria monocytogenes*'in işleme sırasında hayatta kalabildiğini ve depolama sırasında gelişebildiğini göstermiştir (Corbo ve ark., 2005).

Yapılan araştırmalarda İspanya, Kanada ve Malezya'daki minimal işlem görmüş salata ve çiğ sebzelerin % 20- 50'sinin *Listeria* türleri veya *Listeria monocytogenes* ile kontamine olduğu saptanmıştır. Buna karşılık *Listeria* türleri Kanada'da 110 sebze örneğinden ve marketlerdeki taze ve dondurulmuş sebze örneklerinden hiçbirinde saptanmamıştır (Pingulkar ve ark., 2001).

Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi A.B.D.'de her yıl ortaya çıkan 2500'ün üzerindeki listeriosis vakasının sonucu olarak 500 kişinin hayatını kaybettiğini hesaplamıştır (Molinos ve ark., 2005). İlk kesin olarak rapor edilen listeriosis gıda kaynaklı salgını 1981 yılında Kanada'da Maritime şehrinde ortaya çıkmıştır. Bu salgında patojen mikroorganizmanın taşınmasında araç olan gıdanın lahana salatası olduğu ve *L. monocytogenes*'in kaynağının da lahana olduğu tespit edilmiştir (Francis ve ark., 1999). İşlenmemiş koyun gübreleriyle gübrelenmiş lahanalardan

Üretilen kontamine lahana salatasının da Kanada'da Nova Scotia'da 1981 yılında rapor edilmiş listeriosis salgınının nedeni olduğu saptanmıştır (Odumeru ve ark., 1997).

Gıda kaynaklı shigellosis salgınının, salmonellosis veya diğer enterik patojenlerin meydana getirdiği salgınlardan daha az görüldüğü rapor edilmesine rağmen, her yıl taze ürünlerin tüketimi sonucu önemli miktarda shigellosis salgınlarının meydana geldiği tespit edilmiştir. *Shigella*'nın enfektif dozu 10-500 organizma kadar düşük olabildiğinden, kontamine gıdaların tüketiminin gastrointestinal hastalığa neden olduğu rapor edilmiştir. Marul salataları, parçalanmış lahanalar, yeşil soğanlar ve maydanoz gibi kontamine yeşil sebzelerin tüketiminin çeşitli shigellosis salgınlarına neden olduğu saptanmıştır (etinkaya ve ark., 2007; Selma ve ark., 2007).

Yapılan alışmalarda *Shigella* türlerinin populasyon azalmaksızın 3 günden fazla buzdolabındaki kesilmiş marullarda ve çiğ meyvelerde (karpuz ve çiğ papaya) canlı kalabildiği saptanmıştır. 1994 yılında *Shigella sonnei* salgını Avrupa'nın çeşitli ülkelerinde enfekte marullara dayandırılmıştır. 1995 yılındaki A.B.D.'de meydana gelen diğer bir *Shigella* salgını yine enfekte marullardan dolayı ortaya çıkmıştır (Rivera, 2005).

*Aeromonas hydrophila* topraktan ve taze sebzeleri içine alan gıdaların geniş bir aralığından izole edilmiştir. *Aeromonas hydrophila* izole edilen gıdalar büyük olasılıkla su, toprak veya hayvan dışkısıyla kontamine olmuştur. *Aeromonas hydrophila* minimal işlem görmüş gıdalarda yüksek miktarda ( $10^4$ - $10^6$  kob/g) ortaya çıkması sonucunda potansiyel bir risk oluşturduğu rapor edilmiştir (Francis ve ark., 1999; Wan ve ark., 1998).

Yapılan bir araştırmada ticari minimal işlem görmüş sebze salatalarında *Aeromonas hydrophila* yüksek sayıda izole edilmiştir. Aynı zamanda *Aeromonas* spp.'leri yeşil salata, lahana salatısından, ceden hazırlanmış salata örneklerinden, mayonezli salata örneklerinden ve ticari karışık sebze salatalarından izole edilmiştir (Francis ve ark., 1999).

Araştırmalar A.B.D.'de meydana gelen gıda kaynaklı hastalıkların önemli bir grubunun etmeninin Norwalk virüs, Hepatit A virüsü ve diğer virüsler olduğunu rapor etmiştir. Buna karşın gıda üretim çevresi, gıda hazırlama ve depolama koşulları virüslerin hayatta kalışını ve etkinliğini son derece sınırlandırmaktadır (Francis ve ark., 1999).

Minimal işlem görmüş sebzelerle ilişkili olarak ortaya çıkan, kayıtlara geçmiş bu gıda kaynaklı salgınlar, ürünün hammaddeden üretimine ve üretiminden satış noktalarına taşınmasına kadar tüm aşamalarda patojen mikroorganizmaların kontaminasyonunun kesinlikle engellenmesi ve bu konuda tüm gerekli tedbirlerin alınması gerektiğini göstermektedir.

## 2.6. Minimal İşlem Görmüş Sebzelerde Bulunan Patojenlerin Doğal Koruyucular ile Uzaklaştırılması ve İnaktivasyonları

Hassas kişilerde ortaya çıkan alerjik reaksiyonlar ve kanserojenik yan ürünlerin (nitritten nitrozaminlerin oluşumu) oluşum potansiyeli gibi geleneksel gıda koruma yöntemlerinde karşılaşılan sorunlar doğada bulunan antimikrobiyal bileşenlere olan ilgiyi ve tüketicilerin bu yöndeki talebini özellikle Avrupa'da arttırmıştır. Bu durum minimal işlem gören meyve ve sebzeleri üreten sanayicilerin kimyasal koruyuculardan uzak durmalarına neden olmuştur. Doğal koruyucuların antimikrobiyal etkiye, bozulmayı durdurucu etkiye veya oksidatif proseslerden kaçınma özelliğine sahip olmaları nedeniyle minimal işlem görmüş ürünlerin kalitelerini korumada etkili olabilecekleri düşünülmektedir (Rico ve ark., 2007).

Doğal koruyucuların ana kaynakları bitkiler (esansiyel yağlardaki ikincil metabolitler, fitoaleksinler v.b.), mikroorganizmalar (bakteriyosinler, organik asitler v.b.) ve enzimlerdir (yumurtadaki lizozim, sütteki transferazlar v.b.) (Rico ve ark., 2007).

### 2.6.1. Esansiyel Yağlar ve Bileşenleri

Yapılan in vitro çalışmalar çeşitli baharat esansiyel yağlarının *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus* patojenik bakterilere karşı 0,2-10 µl/ml düzeyleri arasındaki konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkilere sahip olduklarını ispatlamıştır. Ayrıca gram(-) bakterilerin gram(+) bakterilere göre daha hassas olduğu saptanmıştır (Burt,2004; Ceylan ve Fung, 2004).

Esansiyel yağ bileşenlerinin bir bölümü etkili antibakteriyeller olarak tanımlanmıştır (Çizelge 2.7.). Bu bileşenlerden bazıları karvakrol, timol, eugenol, perillaldehid, sinnamaldehit ve sinamik asittir. Bu bileşenlerin minimum inhibe edici konsantrasyonları in vitro deneyler sonucunda 0,05-5 µl/ml olduğu saptanmıştır. Aynı antibakteriyel etki gıdalarda daha yüksek konsantrasyonlarda elde edilmiştir. Sebze ve meyvelerin dezenfeksiyonunda yaklaşık 0,1-10 µl/ml konsantrasyonları önemli derecede antibakteriyel etki göstermiştir (Burt,2004).

Araştırmalar esansiyel yağların atmıştan fazla bileşen içerebildiğini göstermiştir. Ana bileşenlerin esansiyel yağların %85'ni oluştururken, diğer bileşenlerin kalıntı düzeyinde olduğu saptanmıştır. Esansiyel yağların antimikrobiyal özelliği içerdiği fenolik bileşenlerden kaynaklanır. Antibakteriyel özelliklere sahip bazı esansiyel yağların ana bileşenlerini Çizelge 2.8.'de verilmiştir (Burt,2004).

**Çizelge 2.7.** Bakteriyel hücelere karşı bazı esansiyel yağların inhibe edici özelliklerinin yüzde dilimlere göre sınıflandırılması (Ceylan ve Fung, 2004)

Yüzde bakteriyel inhibisyon	Baharat
%75-100	Sarımsak, soğan, yenibahar, oregano türü kekik, kekik, tarçın, tarhun otu, kimyon, karanfil, limon otu defne yaprağı, kırmızı biber, biberiye
%50-75	Mercan köşk, hardal, karaman kimyonu, nane, adaçayı, rezene, kişniş, dereotu, küçük hindistan cevizi
%50'den daha az	Fesleğen, maydanoz, kakule, biber (siyah ve beyaz), zencefil, anason tohumu, kereviz tohumu, limon, ıhlamur

**Çizelge 2.8.** Antibakteriyel özellik gösteren bazı esansiyel yağların ana bileşenleri (Burt,2004; Ceylan ve Fung, 2004; Akgül, 1993)

Esansiyel yağın yaygın adı	Kaynak bitkinin latin adı	Ana bileşen	Yaklaşık % miktarı
Kişniş yaprağı	<i>Coriandrum sativum</i> (yaprak)	Linalool	%26
		E-2-decanal	%20
Kişniş	<i>Coriandrum sativum</i> (tohum)	Linalool	%70
		E-2-decanal	
Fesleğen	<i>Ocimum basilicum</i>	d- linalool Metil chavicol	
Tarçın	<i>Cinnamomum zeylandicum</i>	Trans- cinnamaldehyde	%65
Nane	<i>Mentha piperita</i> (peppermint)	Mentol	%30-60
		Menton	%10-30
		Mentofuran	%1-10
		mentil asetat	%3-10
		γ- terpinene	%3-10
		linalol	
		α- pinene	

		$\beta$ - pinene	
		Limonene	
		cineole	
	<i>Mentha spicata</i>	l-carvone	%40-70
	(spearmint)	Limonen	%20
		Carveol	%2
		carvil asetat	
		küminil asetat	
		mentol	
		linalol	
		menton	
Oregano (bir tür kekik)	<i>Origanum vulgare</i>	carvacrol	İz miktar-%80
		thymol	İz miktar-%64
		$\gamma$ - terpinene	%2-%52
		$\rho$ - cymene	İz miktar-%52
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i>	$\alpha$ - pinene	%2-%25
		bornyl acetate	%0-%17
		Camphor	%2-%14
		1,8- cineole	%3-89
Adaçayı	<i>Salvia officinalis</i> L.	camphor	%6-%15
		$\alpha$ - pinene	%4-%5
		1,8- cineole	%6-%14
		$\alpha$ - tujone	%20-%42
		$\beta$ - pinene	%2-%10
Karanfil	<i>Syzygium aromaticum</i>	eugenol	%75-85
		eugenyl acetate	%8-%15
Kekik	<i>Thymus vulgaris</i>	thymol	%10-%64
		carvacrol	%2-%11
		$\gamma$ - terpinene	%2-%31
		$\rho$ - cymene	%10-%56

Esansiyel yağların ve bileşenlerinin önemli bir özelliği hidrofobiteleridir. Bu özellikleri nedeniyle bakteri hücre membranının ve mitokondrinin lipitlerinden parçalanmasına, dokunun bozulmasına ve bakteri hücre membranının geçirgenliğinin artmasına neden olurlar. Daha sonra iyonlar ve diğer hücre içerikleri hücre dışına sızar. Hayati bir kayıp olmaksızın bakteri hücresindeki sızıntının belirli bir miktarını bakteri tolere edebilir. Ancak yüksek miktarda kaybın olması ve hücredeki kritik molekül ve iyonların hücre dışına çıkması bakterinin ölümüne neden



olacaktır. *E.coli* ve çay ağacıyla yapılan bir çalışmada hücre ölümünün lizisten önce meydana gelebileceğiyle ilgili bazı kanıtlar bulunmuştur (Burt,2004; Cha ve Chinnan, 2004).

Genel olarak gıda kaynaklı patojenlere karşı en kuvvetli antibakteriyel özelliklere sahip esansiyel yağların karvakrol, eugenol (2-metoksi-4-(2-propenil) fenol) ve thymol gibi fenolik bileşenlerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunların etki mekanizmasının da diğer fenoliklerle aynı olduğu ve etki mekanizmasının stoplazmik membranın bozulması, proton akış gücünün bozulması, elektron akışının bozulması, aktif taşımanın bozulması ve hücre içeriğinde koagülasyonun meydana gelmesini kapsadığı tespit edilmiştir (Burt,2004).

Tarçın ve karanfil yağları karışımının orta nemli gıdaların önemli bozucu mikroorganizmalarına karşı modifiye atmosfer koşulları altındaki inhibe edici aktivitelerinin incelendiği bir in vitro çalışmada 1000 µl'nin üstündeki miktarlardaki yağ karışımının gaz fazının *Candida lipolitica* ve *Pichia membranaefaciens*, 2000 µl'nin *Aspergillus flavus*, *Penicillium roqueforti*, *Mucor plumbeus*, *Eurotium spp.*, *D. Hansenii* ve *Z.rouxii* gelişimlerini inhibe ettiği, bunun yanında 4000 µl'nin de *Aspergillus flavus* gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır (Matan ve ark., 2006).

Türkiye'deki baharatların ekstraktlarının *Escherichia coli* O157:H7'nin gelişimi üzerine farklı konsantrasyonlardaki etkisinin incelendiği bir in vitro çalışmada kekik ve oregano türü kekiğin adaçayına, defneye, mersin yaprağına, kimyona ve *Helichrysum compactum Boiss'e (HC)* göre daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca defnenin ve HC'nin *E.coli* O157:H7 gelişimini önemli derecede teşvik ettiği bulunmuştur. Bu çalışma baharat ekstraktlarının *E.coli* O157:H7 inhibisyonunda gıda koruma alanında da kullanılabileceklerini göstermiştir (Sağdıç ve ark., 2002).

Okalüptüs, çay ağacı, biberiye, nane, rosa moschata, karanfil, limon, oregano türü kekik, çam ve fesleğen esansiyel yağlarının *E.coli* O157:H7 farklı hücrelerinin gelişimi üzerine gösterdikleri antimikrobiyal aktivite parametrelerinin incelendiği in vitro bir çalışmada elde edilen veriler, karanfil esansiyel yağının en yüksek bakterisidal ve bakteriyostatik etkiye sahip olduğunu ispatlanmıştır (Moreira ve ark., 2005).

Ev yapımı tarama salatası, Yunan geleneksel mezesine inokule edilen *Salmonella enteritidis*'u üzerine oregano esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlarının ve farklı depolama sıcaklıklarının etkisinin incelendiği bir çalışmada, *Salmonella enteritidis*'in ölüm oranının pH, depolama sıcaklığı ve oregano esansiyel yağının konsantrasyonuna bağlı olduğu tespit edilmiştir (Koutsoumanis ve ark., 1999).

Organik olarak üretilen pazıların doğal mikroflorası üzerine esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği in vitro bir çalışmada, okalüptüs, çay ağacı, anason ve karanfilinen geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur. Bu esansiyel yağların minimum bakterisidal konsantrasyonlarının 0,093-1,5 ml/100ml aralığında yer aldığı tespit edilmiştir (Ponce ve ark., 2003).

Minimal işlem görmüş sebzelerdeki *Aeromonas*'ın laktik asit, klorlu su veya kekik esansiyel yağı çözeltisiyle dezenfeksiyonuyla kontrolünün araştırıldığı bir çalışmada *Aeromonas*'ın %1 ve %2 laktik asit ve %0,5 ve %1 kekik esansiyel yağ uygulamalarına karşı hassas olduğu tespit edilmiştir (Uyttendaele ve ark., 2004).

Çileklerdeki *Botrytis cinerea* ve *Rhizopus stolonifer*'e karşı *Thymus vulgaris*'den elde edilen esansiyel yağın karakterizasyonu ve kullanımının incelendiği bir çalışmada *p*-cymene, linalool, terpinen-4-ol ve thymolü sırasıyla %53,5 ve %66,2 düzeylerinde içeren Laval-1 ve Laval-2 esansiyel yağları kullanılmıştır. Sonuçlar *Botrytis cinerea* ve *Rhizopus stolonifer* tarafından çileklerin bozulmasının kontrolünde Laval 1'in maksimum konsantrasyonu patojenlerin sırasına göre %73,6 ve %73, Laval 2 için ise %75,8 ve %74,8 olduğunu göstermiştir. Laval 2'nin Laval 1'e göre daha yüksek antifungal aktivite sahip olduğu saptanmıştır (Reddy ve ark., 1998).

Jasmonet (MJ), etanol (ETOH), bunların kombinasyonu (MJ-ETOH), çay ağacı yağı (TTO) ve sarımsak yağının (GO) gibi çeşitli doğal uçucu bileşenlerin 15 gün 5°C'da depolanan taze kesilmiş domatesler üzerine olan etkisi incelendiği bir araştırmada, mikrobiyal gelişime dayalı raf ömrünün doğal uçucu bileşenlerle muamele edilmiş taze kesilmiş domateslerde kontrol grubuna göre daha uzun olduğu belirlenmiştir. ETOH'nun MJ ile kombine uygulanmasının her bir uçucu bileşenin bireysel olarak uygulanmasından mikrobiyal gelişiminin durdurulması üzerine daha etkili olduğu saptanmıştır (Ayala-Zavala ve ark., 2008).

#### **2.6.2.2. Diğer Doğal Koruyucular**

Askorbik asit, malik asit, laktik asit, tartarik asit gibi organik asitlerin gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı öldürücü etkilerinin incelendiği birçok çalışma yapılmış ve antimikrobiyal özelliklerinin olduğu bu çalışmalar sonucunda saptanmıştır (Şengün ve Karapınar, 2004). Bu organik asitlerin bazılarını içeren limon suyu, sirke ve bunların karışımının (1:1) havuçlar üzerindeki *Salmonella typhimurium*'un yok edilmesindeki etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada, limon suyu ve sirke ile farklı işlem sürelerinde (0, 15, 30 ve 60 dakika) muamele edilen havuç örneklerinde sırasıyla 0,79-3,95 log kob/g ve 1,57-3,58 log kob/g aralıklarında bakteri sayısında önemli derecede azalmaların meydana geldiği saptanmıştır. Limon suyu ve

sirkenin kombine birlikte 30 dakika uygulanmasının ise patojen sayısını saptanamaz düzeye azalttığı görülmüştür (Şengün ve Karapınar, 2004).

Roka ve taze soğan üzerindeki *Salmonella typhimurium*'un yok edilmesinde limon suyu, sirke ve bunların karışımlarının (1:1) etkinliğinin incelendiği bir çalışmada limon suyu ve sirkenin 15 dakikalık uygulama sonucunda, rokada 1,23 log kob/g - 4,17 log kob/g ve 1,32 log kob/g- 3,12 log kob/g aralığına patojen sayısını azalttığı gözlenmiştir. 15 dakikalık işlemde maksimum azalmaya (saptanamaz düzeye) limon suyu- sirke karışımında ulaşılmıştır. Taze soğanda ise limon suyu, sirke ve bunların karışımının 0,87-2,93 log kob/g, 0,66-2,92 log kob/g ve 0,86-3,24 log kob/g azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Şengün ve Karapınar, 2005).

Salatalık ve maydanoz örneklerine inoküle edilen *S. typhimurium*'a karşı koruk suyunun antimikrobiyal etkisinin incelendiği bir çalışmada koruk suyunun uygulandığı andaki etkisi test edildiğinde başlangıç sayısında 1-1,5 log kob/g azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. 15, 30 ve 60 dakikalık işlemlerde test edilen mikroorganizmalara bağlı olarak 2 ve 3,5 log kob/g değerleri arasında azalmanın olduğu görülmüştür (Şengün ve Karapınar, 2007).

Üzüm çekirdeği ekstraktının gıda kaynaklı patojenler üzerine olan antibakteriyel etkisinin ve minimal işlem görmüş sebzelerin korunmasında uygulanmasının araştırıldığı bir çalışmada, elde edilen sonuçlar üzüm çekirdeği ekstraktının önemli derecede bakteri inhibe ettiğini ve uzun süre koruduğunu göstermiştir. Aynı zamanda üzüm çekirdeği ekstraktının minimal işlem görmüş salatalık ve marulun etkili ve güvenli bir şekilde korunmasında uygulanabileceği sonucuna varılmıştır (Xu ve ark., 2007).

Minimal işlem görmüş sebzelerdeki mikroorganizmaların kontrolünde *Lactobacillus casei*, kültür ekleme ve laktik asit gibi çeşitli işlemlerin antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bir çalışmada %1'lik laktik asidin toplam ve fekal koliformlar dışındaki bakteri gurupları üzerine bakteriyostatik etkiye sahip olduğu ve yaklaşık 1-2 log düzeyinde azalmaya yol açtığı gözlenirken, %0,5'lik laktik asidin sebzenin kendi mikroflorası üzerine hiçbir etkiye sahip olmadığı saptanmıştır (Torriani ve ark., 1997).

Yapılan bir çalışmada karışık salata sebzelerindeki koliform ve fekal koliformların sayısında %1 laktik asit çözeltisinin sırasıyla yaklaşık olarak 2 log/g ve 1 log/g azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *Lactobacillus casei* kültüründen elde edilen % 3'lük steril sıvıyla karışık sebzelerin işleme tabi tutulmasının 8 °C'da 6 gün depolandıktan sonra toplam mezofilik bakteri sayısında yaklaşık olarak 5 log/g azalmaya neden olduğu ve koliform, enterokok ve *Aeromonas hydrophila*'nın gelişimini engellediği saptanmıştır (Parish ve ark., 2003).

Patojenler ve gıdanın kendi florasında bulunan mikroorganizmalar arasındaki interaksiyonlar et ve süt ürünlerinde çalışılmışken sebzelerde bu konu ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. Laktik asit bakterileri doğal olarak sebzelerin florasında bulunurlar, ancak düşük düzeydedirler. Bazı minimal işlem görmüş sebzelerde, özellikle yüksek karbondioksit konsantrasyonlarını içeren modifiye atmosferde paketlenmiş ürünlere yüksek laktik asit bakterileri sayısı yüksek düzeylere ulaşabilmektedir. Bu koşulda aerobik bozucu bakterilerden daha hızlı gelişebilmektedirler. Laktik asit bakterilerinin rekabetçi etkileri minimal işlem görmüş sebzelerde patojen gelişimini sınırlandırabilmektedir (Francis ve O'Beirne, 1998).

Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal etkileri birbirini takip eden bir veya birkaç mekanizmaya neden olmaktadır; pH değerinin düşmesi, hidrojen peroksit oluşumu, besin maddeleri için rekabet ve bakteriyosin veya antibiyotikler gibi antimikrobiyal bileşenlerin üretilmesidir (Francis ve ark., 1999).

Minimal işlem görmüş hindiba yapraklarındaki *Listeria monocytogenes* üzerine oluşan kendi mikroflorasının (*Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae*'nin 10 hücrelerinden oluşmakta) etkilerinin incelendiği bir araştırmada yüksek miktardaki bazı hücrelerin ( $10^6$ - $10^7$  kob/g) hindiba üzerindeki *L. monocytogenes*'in gelişimini azalttığı, hiçbirinin *L. monocytogenes*'in gelişimini desteklemediği saptanmıştır. Hindiba yapraklarından ekstrakte edilen kompleks bir bakteriyel popülasyonun hindiba yapraklarından sızan bitki öz suyundan elde edilen ortamda *L. monocytogenes*'in gelişimini tamamen durdurduğu tespit edilmiştir (Carlin ve ark., 1996).

Campaniello ve ark. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada kitosanın minimal işlem görmüş çileklerde gelişmesi olası tüm mikrobiyal grupların gelişiminin engellenmesini ve/veya kontrolünü sağladığı ve yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu inhibisyonun lag fazını oldukça çok uzamasına, daha düşük hücre ağırlığına ve gelişim eğrisinin sabit olduğu devrenin uzamasına neden olduğu saptanmıştır (Campaniello ve ark. 2008).

Sıvı sebze içerikli besiyerlerinde laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin in vitro ortamda ve minimal işlem görmüş marullarda *L. monocytogenes*'in azaltılmasındaki etkinliğinin araştırıldığı bir incelemede, bakterisinojenik hücreler (nisin<sup>+</sup>, koagulin<sup>+</sup> ve nisin-koagulin<sup>+</sup> koktail) *L. monocytogenes* inoküle edilmiş petriyelerdeki tryptic-soy agarlara eklendiğinde yaklaşık *Listeria* hücrelerinde 1-1,5 log ünite azalma olduğu saptanmıştır. Gıda üzerinde yıkama işlemi olarak uygulandığında uygulamadan hemen sonraki etkisi 1,2-1,6 log ünite olarak görülürken, 4°C'da depolama sırasındaki etkisinin düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Allende ve ark., 2007).

### 2.6.3. Modifiye Atmosferde Paketleme

Modifiye atmosferde paketleme, minimal işlem görmüş sebzelerde bir koruma yöntemi olarak sanayiciler tarafından kullanılmaktadır. Modifiye atmosfer yönteminde ürünün etrafını saran gazlar değiştirilerek havanın farklı kompozisyonları elde edilir. Bu şekilde bitkinin hasat sonrası devam eden ve işlem sırasında aldığı yaralarla hızlanan solunum ve etilen üretimini yavaşlatabilmenin mümkün olduğu araştırmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalar oksijenin düşük düzeyleriyle karbondioksidin yüksek düzeylerinin, ürünün solunum hızını yavaşlatarak duyu kalitede meydana gelen bozulmanın önüne geçtiğini ve böylece taze ürünün depolama ömrünü uzattığını saptamıştır (Rico ve ark., 2007; Rivera, 2005).

Modifiye atmosferde paketlenmiş ürünlerde mikroorganizmaların hayatta kalması ve gelişiminin O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarından etkilendiği, yapılan araştırmalar sonucunda tespit edilmiştir. Genel olarak gram negatif mikroorganizmaların karbondioksitde daha hassas olduğu saptanmıştır. Ayrıca gaz atmosferinin ve buzdolabı sıcaklığının bazı bozucu aerobik mikroorganizmaların gelişimini engelliyebildiği belirlenmiştir (Francis ve ark., 1999; Rivera, 2005).

Modifiye atmosferde paketlenmiş minimal işlem görmüş havuç ve salatalıklar üzerinde patojenlerin (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria innocua*, *Salmonella typhimurium* ve *Clostridium perfringens*) hayatta kalışlarının incelendiği bir çalışmada, 7°C'da depolamanın 2. gününde *S. typhimurium* saptanamamıştır. Depolamanın 0. ve 8. günlerinde diğer tüm patojenlerin sayılarında önemli bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Finn ve Upton, 1997).

Modifiye atmosferde paketlemeyle korunan minimal işlem görmüş elmaların mikrobiyolojik ve biyokimyasal stabilitesinin incelendiği bir çalışmada, 15 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> bar 24 saat O<sub>2</sub> geçirgenliğine sahip plastik paketlerde korunan elma küplerinin buzdolabında depolamanın ilk ayı boyunca mikrobiyal sayının 5 log kob/g değerinin altındaki değerleriyle en uzun stabiliteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Soliva-Fortuny ve ark., 2004).

Paketlenmiş minimal işlem görmüş mantarlardaki *Listeria monocytogenes*'in hayatta kalışının incelendiği bir çalışmada, 4°C ve 10°C depolama sıcaklıklarının ve kullanılan delikli ve deliksiz polimerik filmlerin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada *L. monocytogenes*'in ilk 48 saat boyunca her iki filmde de 1-2 log ünite değerleri arasında hayatta kalabildiği gözlemlenirken, depolamanın 10. gününden sonra *L. monocytogenes* sayısının 10°C'da depolanan ve deliksiz filmle paketlenmiş mantarlarda daha yüksek olduğu görülmüştür (Gonzalez-Fandos ve ark., 2001).

Modifiye atmosferde paketlenen sebzelerde *Listeria monocytogenes*'in hayatta kalışı üzerine patojenin aside olan adaptasyonunun etkisinin incelendiği bir incelemede, *L. monocytogenes*'in bu özelliğinin nispeten yüksek karbondioksit düzeylerine sahip sebze paketlerinde depolama boyunca *Listeria spp.*'lerinin gelişimini arttırdığı tespit edilmiştir (Francis ve O'Beirne, 2001, (a)).

Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar süper atmosferik oksijen koşullarının kullanıldığı, modifiye atmosferde paketlenen yeni bir tipini ortaya koymuştur. Yapılan bu çalışmalar yüksek oksijen konsantrasyonunun, enzimatik esmerleşme ve mayalar tarafından bozulmaya olan hassasiyetleri konusunda minimal işlem görmüş sebzelerde etkili olduğunu saptamıştır. Yapılan bir çalışmada ise yüksek oksijen konsantrasyonu ile 10-20 k Pa karbondioksidin birlikte kombine şekilde uygulamasıyla mikrobiyal gelişimin uygun şekilde bastırılabilceği ve raf ömrünün uzatılabilceği belirtilmiştir (Escalona ve ark., 2005).

Yüksek karbondioksit ile kombine edilmiş yüksek oksijen uygulamasının minimal işlem görmüş biberlerin mikrobiyal ve duyu kaliteleri üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 15 kPa CO<sub>2</sub> ile kombine edilmiş 80 veya 50 kPa O<sub>2</sub> uygulamasının minimal işlem görmüş biberlerdeki bozucu mikroorganizmaların ve *Enterobacteriaceae*'nin gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Conesa ve ark., 2007).

Minimal işlem görmüş sebzelerdeki mikrobiyal gelişim üzerine yüksek oksijen içerikli modifiye atmosferde paketlenen etkisinin incelendiği bir çalışmada bu paketlenen maya gelişimini azaltmak açısından mikrobiyal kaliteye olan etkisinin düşük oksijen içerikli denge modifiye atmosferden daha iyi olduğu saptanmıştır (Jacxsens ve ark., 2001).

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Çiğ Olarak Tüketilen Sebze Örnekleri**

###### **3.1.1.1. Marul Örnekleri**

İyi yapraklı olmasına dikkat edilerek seçilmiş marul örnekleri manavda temiz bir torba içersine alındıktan sonra laboratuvara getirilmiş ve hemen analize alınmıştır.

###### **3.1.1.2. Semizotu Örnekleri**

Demet halinde satılan semizotu örnekleri manavda temiz bir torba içersine alındıktan sonra laboratuvara getirilmiş ve hemen analize alınmıştır.

##### **3.1.2. Mikroorganizma Kültürleri**

Çalışmada kullanılan deney kültürleri, *Salmonella typhimurium* NRRL B.4420 suşu ve Enteropatojenik *Escherichia coli* 1103 suşu, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilmiştir.

##### **3.1.3. Antimikrobiyal Maddeler**

###### **3.1.3.1. Fesleğen Esansiyel Yağı**

Aromsa Besin Aroma ve Katkı Maddeleri Ltd. Şti.'den temin edilen 100 ml'lik şişedeki fesleğen esansiyel yağı aseptik teknikle farklı konsantrasyonlara su ile seyreltilerek, denemelerde kullanılmıştır.

###### **3.1.3.2. Nane Esansiyel Yağı**

Aromsa Besin Aroma ve Katkı Maddeleri Ltd. Şti.'den temin edilen 100 ml'lik şişedeki nane esansiyel yağı aseptik teknikle farklı konsantrasyonlara su ile seyreltilerek, denemelerde kullanılmıştır.

### 3.1.4. Paketleme Materyali

Apack Ltd. Şt.'nden temin edilen, 4050 cc/ m<sup>2</sup>/ gün (24°C) oksijen geçirgenliğine ve 14000 cc/ m<sup>2</sup>/ gün (24°C) karbondioksit geçirgenliğine sahip, 50 µm kalınlıkta linear alçak yoğunluklu polietilen (LLDPE; 21,5 x 355 mm) ambalaj materyali denemelerde kullanılmıştır.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Örnek Hazırlama

#### 3.2.1.1. Marul Örnekleri

Laboratuvara getirilen marul örneklerinin zarar görmüş yaprakları elenerek kök kısmı temiz bir bıçakla kesildikten sonra sağlam yapraklar birbirinden ayrılmış ve yapraklar tek tek toprak ve çamuru arındırılmak üzere çeşme suyuyla yıkanmıştır. Çürümüş ve böcek zedelenmesine uğramış kısımlar bu işlem sırasında ayrılmıştır. Yapraklar temiz bir kağıt üzerinde kurutulduktan sonra aseptik koşullar altında 2-3 cm kalınlığında doğranarak, önceden steril edilmiş kurutma kağıtları üzerine 200'er gramlık porsiyonlar halinde ayrılmış ve denemelerde kullanılmıştır.

#### 3.2.1.2. Semizotu Örnekleri

Laboratuvara getirilen semizotu örnekleri çamur ve toprağından arındırılmak üzere öncelikle çeşme suyuyla yıkanmıştır. Semizotlarının kök kısımları temiz bir bıçakla kesilmiş ve daha sonra çürümüş kısımlar ayrılmıştır. Semizotları temiz bir kağıt üzerinde kurutulduktan sonra aseptik koşullar altında yapraklar saplarından ayrılarak doğranmadan, saplar ise 2-3 cm uzunluğunda doğranarak , önceden steril edilmiş kurutma kağıtları üzerine 200'er gramlık porsiyonlar halinde ayrılmış ve denemelerde kullanılmıştır.

### 3.2.2. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Çalışmada *Salmonella typhimurium* NRRL B.4420 suşu ve Enteropatojenik *Escherichia coli* 1103 suşu deney kültürleri olarak kullanılmıştır. 5°C'da Nutrient Agar besiyerinde (NA- Oxoid CM0003, pH 7,4± 0,2, 10-25°C) saklanan stok kültürlerin aktivasyonları için Nutrient Broth besiyerine (NB- Oxoid CM0001, pH 7,4± 0,2, 10-25°C) transfer edilmiş ve 37°C'da 24 saat inkübe edildikten sonra denemelerde kullanılmışlardır.



### 3.2.3. Antimikrobiyal Maddelerin Hazırlanması

#### 3.2.3.1. Fesleğen Esansiyel Yağı Süspansiyonlarının Hazırlanması

Aseptik koşullar altında litrede 0.01ml, 0.032 ml ve 0.08 ml olacak şekilde steril beherler içerisinde önceden steril edilmiş saf suyla süspansiyonlar hazırlanmıştır.

#### 3.2.3.2. Nane Esansiyel Yağı Süspansiyonlarının Hazırlanması

Aseptik koşullar altında litrede 0.01ml, 0.032 ml ve 0.08 ml olacak şekilde steril beherler içerisinde önceden steril edilmiş saf suyla süspansiyonlar hazırlanmıştır.

### 3.2.4. Hammadde Analizleri

Denemelerde kullanılan marul ve semizotu örneklerinde yapılan hammadde analizleri Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde sebze ve meyvelere ait mikrobiyolojik değerlerden yola çıkılarak yapılmıştır.

#### 3.2.4.1. Sebze Örneklerinde Toplam Koliform ve *E.coli* Sayımı

Toplam koliform ve *E.coli* analizi AOAC'nin belirlediği yöntemle göre yapılmıştır (Andrews, 1999). 10 gr örnek aseptik şekilde tartıldıktan sonra içerisinde 90 ml % 0.1'lik steril peptonlu su bulunan erlene aktarılıp erlen çalkalanmıştır. Bu şekilde hazırlanan  $10^{-1}$ 'lik dilüsyondan gerekli diğer desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan içerisinde 10 ml Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSTB) ve durham tüpleri bulunan üçerli tüplere aseptik olarak 1'er mililitre inokulum aktarılmıştır (3'lü tüp – Kuvvetle Muhtemel Sayım Yöntemi- MPN). İnokülasyon sonrası 37°C'da 24 - 48 saat inkubasyona bırakılan tüplerde inkubasyon süresi sonunda gaz pozitif tüpler belirlenmiş ve MPN (Most Probable Number) tablosu kullanılarak ilk dilüsyonun 1 mililitresinde bulunan olası koliform bakteri sayısı saptanmıştır. Bu değer ilk dilüsyonun dilüsyon faktörü ile çarpılarak sebzenin 1 g'da bulunan olası koliform bakteri sayısı hesaplanmıştır. Olasılık testi sonuçlarını kanıtlamak için tüm gaz pozitif tüplerden durham tüpü ve 10 ml Brilliant Green Bile (%2) Broth içeren tüplere lup öze ile aseptik şekilde inokülasyon yapılmış ve tüpler 37°C'da 24 – 48 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnokülasyon süresi sonunda gaz pozitif tüpler belirlenerek MPN tablosunu kullanmak suretiyle ilk dilüsyonun 1 ml'sinde bulunan kanıtlanmış koliform bakteri sayısı saptanmıştır. Bu değer ilk seyreltmenin dilüsyon faktörü ile çarpılarak sebzenin 1 g'da bulunan kanıtlanmış koliform bakteri sayısı hesaplanmıştır. Fekal koliform bakteri sayısını saptamak için ise toplam koliform analizinde pozitif sonuç veren LSTB

tüplerinden içerisinde 10 ml EC Broth'a aseptik şekilde lup öze ile inokülasyon yapılarak  $45.5 \pm 0,5$  °C'da 48 - 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gaz pozitif tüpler belirlenerek MPN tablosunu kullanmak suretiyle ilk dilüsyonun 1 ml'sinde bulunan olası fekal koliform bakteri sayısı saptanmıştır. Bu değer ilk seyreltmenin dilüsyon faktörü ile çarpılarak sebzenin 1 g'ında bulunan olası fekal koliform bakteri sayısı hesaplanmıştır. Olası *E. coli* sayısını bulabilmek için uygulanan indol testinde öncelikle gaz pozitif sonuç veren EC Broth tüplerinden 45 °C'daki 10 ml Tryptone Water içeren tüplere aseptik şekilde lup öze ile inokülasyon yapılarak tüpler su banyosunda 45°C'da 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda her bir tüpe 0.2- 0.3 ml Kovac (İndol) çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırılmıştır. 10 dk. içinde yüzeyinde koyu kırmızı bir halka oluşan tüpler pozitif, kavuniçi veya sarı renkli bir halka oluşturan tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir. İndol pozitif sonuç veren tüpler sayılarak MPN tablosunun kullanımıyla sebzenin gramındaki olası *E.coli* sayısı saptanmıştır. Ayrıca gaz pozitif sonuç veren EC Broth tüplerinden Eosin Methylene Blue Agar'a (EMBA) çizim yapılarak 35°C'da 18- 24 saat petriyerler inkübasyona bırakılmıştır. EMBA'da inkübasyon sonunda oluşan ortası koyu merkezli metalik parlaklık veren veya vermeyen tipik koloniler daha sonra Methyl Red – Voges Proskauer testini (MR-VP) yapmak üzere Nutrient Agar plakalarına aktarılarak, 37°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

#### 3.2.4.2. Sebze Örneklerinde *Salmonella* Analizi

*Salmonella* analizi AOAC'nin belirlediği yönteme göre yapılmıştır (Andrews, 1997 ve 2000). Ön zenginleştirme amacı ile 25 g sebze örneği aseptik şekilde 500 ml erlen içerisindeki 225 ml Lactose Broth (Oxoid CM0137) besiyerine aktarılmış ve 1 dk stomacher'da homojenize edilmiştir. 37°C'da  $24 \pm 2$  saat süren inkübasyon sonunda zenginleştirme amaçlı olarak, Lactose Broth besiyerinden alınan 1 ml'lik inokulumlar 10 ml'lik Tetrathionate Broth besiyeri (TT- Oxoid CM0029) ve Selenite Cystine Broth besiyeri (SC- Oxoid CM0699) tüplerine aktarıldıktan sonra tüpler 43°C ve 37°C'da  $24 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır. İzolasyon aşamasında çizme plaka yöntemine göre zenginleştirme kültür tüplerinin her birinden Xylose Lysine Desoxycholate Agar besiyerine (XLD- Oxoid CM469) ve Bismuth Sulphite Agar (BSA- Oxoid CM 201) besiyerine ekim yapılmıştır. Petriyerler 37°C'da BSA besiyeri için 24-48 saat, XLD besiyeri için 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan tipik koloniler olmadığı için biyokimyasal testler uygulanmamıştır.

### 3.2.5. Sebze Örneklerinin *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 ile İnokülasyonu

Deney örnekleri 200'er gramlık porsiyonlara ayrıldıktan sonra inokülasyon sıvısına daldırılmıştır. İnokülasyon sıvısı 24 saatlik NA kültüründen 9ml'lik % 0,1'lik steril peptonlu sularda uygun dilüsyonlar hazırlandıktan sonra önceden steril edilmiş saf suya mililitresinde yaklaşık  $10^4$  kob olacak şekilde aktarılarak hazırlanmıştır. İnokülasyon işleminde, 200 gramlık örnek porsiyonları inokülasyon sıvısına daldırılmış, yaklaşık 10 dk sıvı içerisinde tutulduktan sonra metal bir süzgeç yardımıyla süzülerek, 10'ar gramlık porsiyonlar halinde steril cam kavanozlara aktarılmıştır. Bu işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

*Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 patojen mikroorganizmaların sebzeler üzerinde tutulmasını sağlamak için örneklerin konulduğu cam kavanozlar kapakları yarı açık olacak şekilde 20°C sıcaklığına ayarlanmış inkübatörde 24 saat bekletilmiştir. 24 saat sonunda tamamen kurumuş olan sebze örnekleri dezenfeksiyona hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.6. Nane ve Fesleğen Baharat Esansiyel Yağlarının *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması

İçinde *Salmonella typhimurium* ya da *Escherichia coli* O157:H7 ile inokule edilmiş 10'ar gramlık sebze örneklerinin bulunduğu kavanozlar 20°C'da 24 saat bekletildikten sonra nane ve fesleğen baharat esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlarını içeren sulu süspansiyonlarla yıkama işlemine tabi tutulmuşlardır.

Yıkama işlemi şu şekilde gerçekleştirilmiştir; Önceden steril edilmiş 1000 ml'lik beherlerde dezenfeksiyon için kullanılacak süspansiyon sıvıları hazırlanmış ve patojen inokule edilmiş sebzeler aseptik olarak beherdeki süspansiyon sıvısına aktarılmıştır. Sebzeler dezenfeksiyon için hazırlanmış bu süspansiyon sıvıları içerisinde farklı sürelerde (10 dk. ve 15 dk.) bekletilmiş ve bu bekletme süreleri sırasında beherler süspansiyondaki yağın sebzelerin her tarafına aynı derecede etki edebilmesi için hafif bir şekilde çalkalanarak karıştırılmıştır. Her bir örnek için hazırlanmış olan 10'ar gramlık porsiyonlardan beş tanesi kontrol amacıyla kullanılmıştır. Kontrol için kullanılan örnekler baharat esansiyel yağ süspansiyon sıvılarıyla yıkama işlemine tabi tutulmamışlardır. Sebze örneklerinin ikisine de aynı yıkama işlemleri uygulanmıştır. Yapılan bu dezenfeksiyon işlemleri Çizelge 3.1.'de kullanılan kodlamalar ile birlikte kısaca özetlenmiştir.

**Çizelge 3.1.** *Salmonella typhimurium* veya *Escherichia coli* O157:H7 ile inokule edilmiş sebze örneklerine uygulanan farklı dezenfeksiyon işlemleri

<u>Örnek</u>	<u>İşlem</u>
1. Kontrol	Hiçbir işlem uygulanmadan analize alınmıştır.
2. f1+s1	Fesleğen esansiyel yağının 0.01ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 10 dk bekletilmiştir.
3. f1+s2	Fesleğen esansiyel yağının 0.01ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 15 dk bekletilmiştir.
4. f2+s1	Fesleğen esansiyel yağının 0.032ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 10 dk bekletilmiştir.
5. f2+s2	Fesleğen esansiyel yağının 0.032ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 15 dk bekletilmiştir.
6. f3+s1	Fesleğen esansiyel yağının 0.08ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 10 dk bekletilmiştir.
7. f3+s2	Fesleğen esansiyel yağının 0.08ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 15 dk bekletilmiştir.
8. n1+s1	Nane esansiyel yağının 0.01ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 10 dk bekletilmiştir.
9. n1+s2	Nane esansiyel yağının 0.01ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 15 dk bekletilmiştir.
10. n2+s1	Nane esansiyel yağının 0.032ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 10 dk bekletilmiştir.
11. n2+s2	Nane esansiyel yağının 0.032ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 15 dk bekletilmiştir.
12. n3+s1	Nane esansiyel yağının 0.08ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 10 dk bekletilmiştir.
13. n3+s2	Nane esansiyel yağının 0.08ml/L konsantrasyonundaki sulu süspansiyonunda 15 dk bekletilmiştir.

Yıkama işlemine tabi tutulmuş inokule sebzeler ve kontrol örnekleri Linear Alçak Yoğunluklu Polietilen (LLDPE, 21,5 x 355 mm) paketlere 10'ar gramlık porsiyonlar halinde aseptik şekilde konularak Henkalman Vacuum System marka paketlenme cihazında paket içerisine gaz verilmeden, pasif atmosferde sıcak kapamayla paketlenmiştir ve 7 gün süresince buzdolabında, + 4°C 'da depolanmışlardır. Genel analiz şeması Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

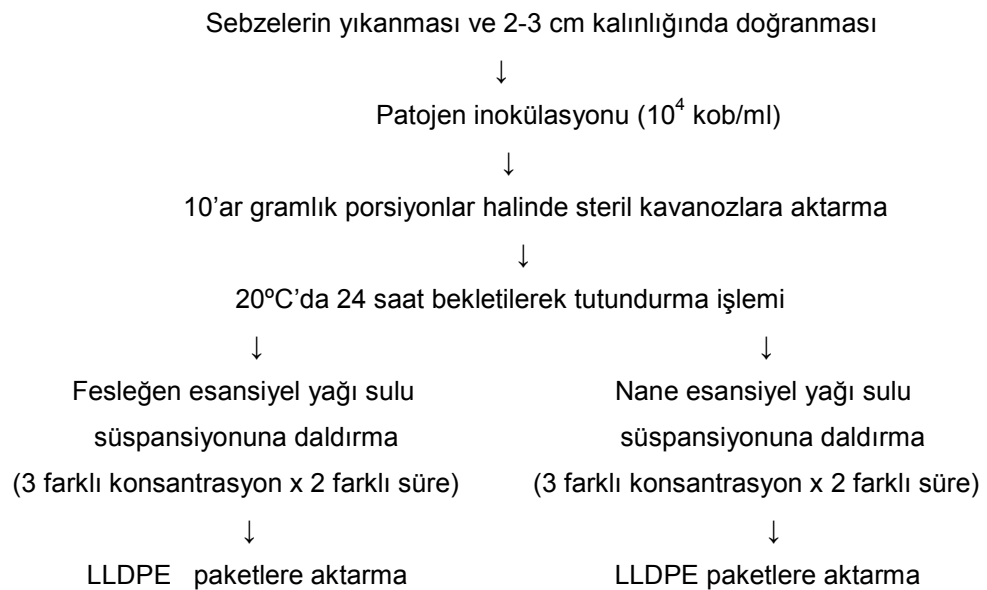
Yıkama işlemine tabi tutulmuş inokule sebze örnekleri ve aynı şekilde kontrol örneklerinde *Salmonella typhimurium* analizi şu şekilde yapılmıştır;

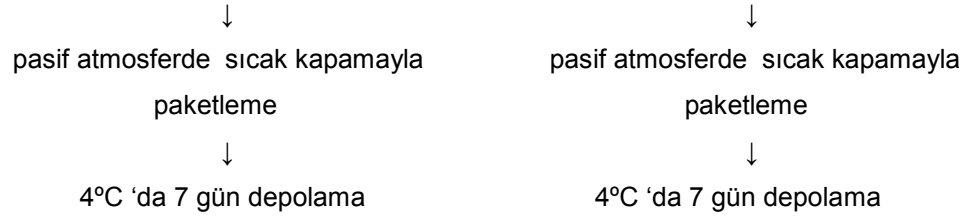
10 gr örnek aseptik olarak 90 ml'lik peptonlu suya aktarılmış ve yüzeydeki mikroorganizmaların hepsinin peptonlu suya geçmesini sağlamak için erlen 1 dk çalkalandıktan sonra yayma plaka yöntemine göre uygun dilüsyonlardan 0,1 ml Brilliant Green Agar ( BGA, Oxoid CM0263) besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'da 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan tipik koloniler sayılmış ve elde edilen sayı dilüsyon faktörüyle çarpılarak gramdaki mikroorganizma sayısı kob/g cinsinden bulunmuştur.

Yıkama işlemine tabi tutulmuş inokule sebze örnekleri ve aynı şekilde kontrol örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 analizi şu şekilde yapılmıştır;

10 gr örnek aseptik olarak 90 ml'lik peptonlu suya aktarılmış ve yüzeydeki mikroorganizmaların hepsinin peptonlu suya geçmesini sağlamak için erlen 1 dk çalkalandıktan sonra yayma plaka yöntemine göre uygun dilüsyonlardan 0,1 ml Sorbitol MacConkey Agar (SMCA, CM0981) besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'da 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan tipik koloniler sayılmış ve paralel petrilere elde edilen sayıların aritmetik ortalaması alınarak bulunan sayılar dilüsyon faktörüyle çarpılarak gramdaki mikroorganizma sayısı kob/g cinsinden bulunmuştur.

Denemelerde gerçekleştirilen analiz basamakları Şekil 3.1'deki akım şemasında gösterilmektedir.





**Şekil 3.1.** Genel akım şeması

### 3.2.7. Kimyasal Testler

#### 3.2.7.1. pH Ölçümü

Kullanılan yıkama sıvıları ve besiyerlerinin pH değerleri pH 330i / SET WTW Wissenschaftlich Technische Werkstätten marka pH metre kullanılarak belirlenmiştir.

#### 3.2.8. İstatistiksel Analiz

Deneme sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi SAS Windows programıyla yapılmıştır. Çözümlemelerde faktöriyel desen varyans analizi kullanılmıştır. Denemeler 3 replikasyonlu olarak gerçekleştirilmiştir. Analizdeki faktörler patojen cinsi, esansiyel yağ cinsi, esansiyel yağ konsantrasyonu, bitki türü, daldırma süresi ve depolama gün sayısı olarak belirlenmiştir. Veriler kullanılan genel lineer model (GLM) ile analiz edilmiştir. Depolama günlerinde ölçümü yapılan paket içerisindeki karbondioksit ve oksijen miktarlarıyla analizler sonucunda elde edilen patojen sayısındaki ilişki ise CORR prosedürüne göre yapılmıştır.

## 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

### 4.1. Hammadde Analizi Sonuçları

Denemelerde kullanılan semizotu ve marulların hammadde analizleri, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinin sebze ve meyveler için belirttiği mikrobiyolojik kriterler doğrultusunda toplam koliform, fekal koliform, *E.coli* ve *Salmonella* analizleri olarak yapılmıştır. Yapılan hammadde analizleri sonucunda marul örneklerinde toplam koliform miktarı 20-100 MPN/g, fekal koliform < 3-95 MPN/g, semizotu örneklerinde ise ortalama olarak toplam koliform miktarı 15-95 MPN/g, fekal koliform < 3 MPN/g aralıklarında bulunmuştur. Kullanılan marul ve semizotu örneklerinin hiçbirinde *Escherichia coli* ve *Salmonella* bulunmamıştır.

**Çizelge 4.1.** Hammadde analiz sonuçları

Sebze çeşidi	Toplam koliform (MPN/g)	Fekal koliform (MPN/g)	<i>E.coli</i> analizi (MPN/g)	<i>Salmonella</i> analizi (/ 25g)
Marul	20	< 3	< 3	negatif
	450	11	< 3	negatif
	95	15	< 3	negatif
	250	95	< 3	negatif
	1100	< 3	< 3	negatif
	95	15	< 3	negatif
Semizotu	15	< 3	< 3	negatif
	95	< 3	< 3	negatif
	15	< 3	< 3	negatif
	45	< 3	< 3	negatif
	15	< 3	< 3	negatif
	15	< 3	< 3	negatif

Kodekste belirtilen değerler ile hammadde analizi sonucunda bulunan değerlere bakıldığında, denemelerde kullanılan marul örneklerinin düşük düzeyde de olsa toplam koliform kriterini geçtiği ve semizotu örneklerinin mikrobiyolojik kriterlere uygun olduğu görülmektedir.

## 4.2. Fesleğen Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Sebze Örneklerindeki *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

### 4.2.1. Fesleğen Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Marullardaki *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Analizlerde kullanılan marul örneklerinin inokulasyonu 2-3 cm kalınlığında doğranan marul yaprakları kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 4.1 ve 4.2'de, marul örneklerinin *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 ile orta düzeydeki inokulum dozu ile inokulasyonu sonrasında fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonunun farklı konsantrasyonlarında ve farklı işlem süresinde yapılan dezenfeksiyon işleminin ve depolama sürecinin *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* sayısında meydana getirdiği azalma verilmiştir.

*Salmonella typhimurium* inokule edilen marul örneklerinde tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak  $4,6 \cdot 10^3$  kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. Yıkama işlemi uygulanmayan bu kontrol örneklerindeki *S. typhimurium* sayısı ile karşılaştırma yaparak, uygulanan yıkama işlemlerinin etkinliği yorumlanmaktadır.

*S. typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 inokule edilen marul örnekleri, pH değerleri pH 6,7, pH 6,6 ve pH 6,2 olan 0,01 ml/L, 0,032ml/L ve 0,08 ml/L konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarıyla 10 ve 15 dakikalık sürelerde dezenfeksiyona tabi tutulmuş ve pasif atmosferde paketlenerek 7 gün depolanmışlardır.

3 ayrı zamanda yapılan denemelerin ortalaması olarak, *S. typhimurium* inokule edilen marul örneklerinde dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlardan, *S. typhimurium* sayısında, 10 ve 15 dakika 0,01 ml/L, 0,032 ml/L ve 0,08 ml/L konsantrasyonda uygulanan işlemlerinin sırasıyla 1,2 log, 1,6 log ve 1,8 log'luk bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi 0,01 ml/L ve 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonunun *Salmonella* sayısını  $10^4$  düzeyinden  $10^3$  kob/g'lik seviyeye düşmesine neden olurken, 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan dezenfeksiyon işlemleri sonucunda genel olarak gramda  $10^4$  seviyesindeki patojen miktarı  $10^2$  düzeyine düşmüştür. Bu değerlendirmeden de görüldüğü gibi, istatistiksel sonuçlar da esansiyel yağ konsantrasyonunun patojen sayısının azalmasında önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0,0001$ ). Dezenfeksiyonun uygulandığı işlem



**Çizelge 4.2.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Marul				
İnokulum dozu kob/ml		3,66				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
Kontrol		4,82	4,74	4,69	4,77	4,59
10 dk	0,01ml/L	3,62	4,56	4,51	4,74	4,54
	0,032 ml/L	3,17	3,04	3,62	3,64	3,59
	0,08 ml/L	2,98	3,25	3,55	3,25	3,55
15 dk	0,01ml/L	3,60	4,71	4,56	4,49	4,62
	0,032 ml/L	3,39	4,39	3,65	3,56	3,60
	0,08 ml/L	2,98	3,67	3,62	3,64	3,30
P değerleri		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 5)

sürelerinin patojen sayısının azalması üzerinde önemli olduğu istatistiksel analizler sonucunda tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Ancak süre ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin patojen sayılarındaki değişim üzerinde istatistiksel analizler sonucunda önemli olmadığı saptanmıştır ( $P>0,05$ ). İstatistiksel analizler depolama günleri faktörünün de patojen sayısındaki değişimler üzerinde önemli olduğunu göstermiştir ( $P<0,0001$ ). Bunun yanında depolama günleri ile konsantrasyon faktörleri etkileşiminde patojen sayısındaki değişimler üzerinde etkili olduğunu saptamıştır ( $P<0,0001$ ) (Ek 2).

*Escherichia coli* O157:H7 inokule edilen marullarda ise tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak  $2,3 \cdot 10^3$  kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. 3 ayrı zamanda yapılan denemelerin ortalaması olarak, dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlardan, *Escherichia coli* O157:H7 sayısında, 10 ve 15 dakika 0,01 ml/L, 0,032 ml/L ve 0,08 ml/L konsantrasyonda uygulanan işlemlerinin sırasıyla 0,4 log, 1,2 log ve 1,7 log'luk bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,0001$ ). 0,01 ml/L konsantrasyonda 10 dakika ve 0,032 ml/L konsantrasyonlarda 10 ve 15 dakika uygulanan

**Çizelge 4.3.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Marul				
İnokulum dozu kob/ml		3,36				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,25	4,17	4,07	3,67	3,32
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	2,85	4,53	4,77	3,73	3,36
	<b>0,032 ml/L</b>	3	3,27	3,56	3,60	3,34
	<b>0,08 ml/L</b>	2,57	2,41	2,07	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	2,96	3,62	4,59	3,60	3,55
	<b>0,032 ml/L</b>	3,17	3,57	3,47	3	3,14
	<b>0,08 ml/L</b>	2,62	0	0	2,14	2,14
<b>P değerleri</b>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 6)

işlemlerden elde edilen örneklerdeki patojen miktarından kontrol grubunun 10 kat, 0,01 ml/L konsantrasyonda 15 dakika ve 0,08 ml/L konsantrasyonlarda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerden elde edilen örneklerdeki patojen miktarından da  $10^2$  kat daha fazla olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.). Depolama günleri faktörü ve depolama günleri ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin istatistiksel analizler sonucunda patojen sayısındaki değişim üzerinde önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,0001$ ). Dezenfeksiyon süreleri faktörü de patojen sayısındaki değişim üzerinde önemli olduğu istatistiksel analizler sonucunda saptanmıştır ( $P<0,05$ ) (Ek 2).

İstatistiksel analiz sonuçlarında örneklerdeki patojen sayısının azalması üzerine patojen cinsinin ve patojen cinsi ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0,05$ ) (Ek 2). Çizelge 4.1. ve 4.2.'den de görüldüğü gibi marul örneklerine inokule edilen *Salmonella typhimurium*'un *Escherichia coli* O157:H7'den 0,6 log daha fazla miktarda tutunduğunu görmekteyiz. Bu durum patojen mikroorganizmaların hayatta kalabilmeleri için gerekli olan optimum koşullarla (bulunduğu ortamın besin değeri, pH değeri gibi) ilişkilidir. Sonuçlardan da görüldüğü gibi uygulanan tüm konsantrasyonların gösterdiği etki farklıdır. Bu etkiler patojenlerin esansiyel yağa karşı gösterdiği hassasiyetle de ilişkilidir. Bu doğrultuda

patojen cinsi ile esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu sonuçlara bakıldığında da görülmektedir. Fyfe ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada %0,2'lik fesleğen yağının 1 saatlik uygulanması sonucunda *Listeria monocytogenes*'de 3,4 log kob/ml azalma meydana geldiği tespit edilirken, *Salmonella enteritidis*'de 1,4 log kob/ml azalma olduğu saptanmıştır. Elde ettikleri bu sonuç patojen cinsinin uygulanan işlemin patojen sayısı üzerine olan antimikrobiyal etkisini etkilediğini göstermektedir. Ayrıca yapılan bu çalışmadaki 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler sonucunda elde edilen örneklerde, *S. typhimurium* tutundurularak yapılan denemelerin ikisinde gramdaki  $10^2$  düzeyindeki değer depolamanın ilk gününde  $10^3$  düzeyine artmakta ve depolamanın sonuna kadar bu düzeyde kalmaktadır. Ancak *E. coli* O157:H7 tutundurulan denemelerin ortalaması olarak aynı konsantrasyonun 10 dakika uygulanan işlemi sonucunda elde edilen örneklerde depolamanın 5. gününde patojen sayısı sayılamayacak düzeye düşmüş ve depolamanın sonuna kadar bu düzeyde sabit kalmıştır. Aynı konsantrasyonun 15 dakika uygulanan işleminden elde edilen örneklerde depolamanın birinci gününden patojen sayısı sayılamayacak düzeye düşmesine rağmen 5. günde tekrardan  $10^2$  düzeyine yükseldiği görülmüştür. Bu doğrultuda 2 patojenin aynı sebze çeşidinde, aynı esansiyel yağın aynı konsantrasyon ve işlem sürelerine karşı farklı tepkiler göstermesiyle birlikte uygulanan esansiyel yağların farklı konsantrasyonlarında patojen sayısının azalmasını farklı derecelerde etkilemesi, patojen türünün konsantrasyonla birlikte etkileşiminin önemli olduğunu açıkça göstermektedir ( $P<0,05$ ). Yang ve arkadaşları (2003) tarafından cetylpridinium klorin üzerine yapılan bir çalışmada da 5 dakika %0,1'den %0,5'e kadar değişen konsantrasyonlardaki cetylpridinium klorine daldırılması sonucunda *S. typhimurium* sayısında 2,4-3,2 log kob/g azalma olduğu, *E.coli*'de ise 1,0-1,6 log kob/g azalma olduğu tespit edilmiştir. Literatür örneğinde de uygulanan dezenfeksiyon maddesinin farklı konsantrasyonlarının patojenler üzerine olan antimikrobiyal etkisinin farklı derecelerde olduğu ve 2 patojenin aynı işlem süresi ve konsantrasyonlara karşı gösterdikleri tepkinin farklı olduğu görülmektedir.

#### **4.2.2. Fesleğen Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Semizotlarındaki *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi**

Tutundurma işlemindeki patojenle inokulasyon aşaması saplarından ayrılmış yapraklardan ve 2-3 cm uzunluğunda doğranan saplardan oluşan semizotu örneğine yapılmıştır.

Marul örneklerinde de olduğu gibi uygulanan fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının farklı konsantrasyonlarında ve farklı sürelerdeki dezenfeksiyonunun ve depolama sürecinin inokule edilen *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 patojenleri sayısında meydana getirdiği azalma incelenmiştir (Çizelge 4.3. ve 4.4.).

**Çizelge 4.4.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Semizotu				
İnokulum dozu kob/ml		3,56				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,62	4,61	4,57	4,51	4,51
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	4,47	4,53	4,52	3,47	4,38
	<b>0,032 ml/L</b>	3,56	2,81	2,66	2,59	2,55
	<b>0,08 ml/L</b>	3,17	2,49	0	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	4,36	4,27	4,25	4,25	4,07
	<b>0,032 ml/L</b>	3,57	2,76	2,56	2,55	2,51
	<b>0,08 ml/L</b>	3,17	2,46	0	0	0
<b>P değeri</b>		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.)(EK7)

*Salmonella typhimurium* inokule edilen semizotu örneklerinde tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak 3,7. 10<sup>3</sup> kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. 3 ayrı zamanda yapılan denemelerin ortalaması olarak, *S. typhimurium* inokule edilen semizotu örneklerinde dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlardan, 0,01 ml/L, 0,032 ml/L ve 0,08 ml/L konsantrasyonlarda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerin *S. typhimurium* sayısında sırasıyla 3 replikasyonun ortalaması olarak 0,1 log, 1,1 log ve 1,4 log'luk bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. Görüldüğü üzere farklı esansiyel yağ konsantrasyon değeri patojen sayısının farklı derecelerde azalmasına neden olmuştur. İstatistiksel analizler de esansiyel yağ konsantrasyonunun patojen sayısının azalmasında önemli olduğunu göstermiştir (P<0,0001) (Ek 2).

*E. coli* O157:H7 inokule edilen semizotu örneklerinde tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak 3,7. 10<sup>3</sup> kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. 3 ayrı zamanda yapılan denemelerin ortalaması olarak, dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlardan, 0,01 ml/L, 0,032 ml/L ve 0,08 ml/L konsantrasyonlarda 10

**Çizelge 4.5.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Semizotu				
İnokulum dozu kob/ml		3,56				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,72	4,76	4,67	4,59	4,66
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	4,60	3,73	3,66	3,63	3,67
	<b>0,032 ml/L</b>	3,65	3,43	3,505	3,46	3,39
	<b>0,08 ml/L</b>	2,59	2,04	2,04	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,66	3,66	3,61	3,59	3,34
	<b>0,032 ml/L</b>	3,23	3,39	3,41	3,43	3,39
	<b>0,08 ml/L</b>	2,518	2,04	2	0	0
<b>P değeri</b>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 8)

ve 15 dakika uygulanan işlemlerin *Escherichia coli* O157:H7 sayısında sırasıyla 0,1-1,1, 1,1-1,5 ve 2,1-2,2 log'luk bir azalmaya neden oldukları tespit edilmiştir. Bu doğrultuda, fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarının *Escherichia coli* O157:H7 sayısında meydana gelen azalmaya etki eden bir faktör olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P < 0,0001$ ). 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika dezenfeksiyon işlemlerinin patojen miktarını gramda  $10^4$  düzeyinden  $10^2$  seviyesine azalttığı saptanmıştır. 0,01 ml/L konsantrasyondaki 10 dakikalık işlem patojen miktarının  $10^4$  düzeyinde sabit kalmasına neden olurken, 15 dakikalık işlemlerin patojen miktarını  $10^4$  düzeyinden  $10^3$  seviyesine inmesine neden oldukları görülmektedir. 0,032 ml/L konsantrasyondaki 10 ve 15 dakikalık işlemler ise patojen miktarının gramda  $10^4$  düzeyinden  $10^3$  seviyesine inmesine neden olmuştur. Dezenfeksiyonun uygulandığı işlem sürelerinin patojen sayısının azalması üzerinde önemli olduğu istatistiksel analizler sonucunda tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Ancak süre ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin patojen sayılarındaki değişim üzerinde istatistiksel analizler sonucunda önemli olmadığı saptanmıştır ( $P > 0,05$ ). İstatistiksel analizler depolama günleri faktörünün de patojen sayısındaki değişimler üzerinde önemli olduğunu göstermiştir ( $P < 0,0001$ ). Bunun yanında depolama günleri ile konsantrasyon faktörleri etkileşiminde patojen sayısındaki değişimler üzerinde etkili olduğunu saptamıştır ( $P < 0,0001$ ) (Ek 2).

Rivera (2005) tarafından yapılan bir çalışmada da fesleğen esansiyel yağının %0,1 ve %1,0'lik süspansiyonlarıyla yıkama işlemi sonucunda minimal işlem görmüş marullardaki canlı bakteri sayısının sırasıyla 2,0 log ve 2,3 log azaldığı tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi süspansiyonun fesleğen yağı konsantrasyonu arttıkça etkinliği artmış ve patojen sayısında neden olduğu azalma miktarında artmıştır. İki konsantrasyonun patojen sayısını azaltma oranları birbirine yakın olduğu görülmektedir. Yapılan bu çalışmada 0,01 ml/L (% 0,001), 0,032 ml/L (% 0,0032) ve 0,08 ml/L (% 0,008) konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağ süspansiyonlarının 10 dakika uygulanan işlemlerinin, marul örneklerinde *S. typhimurium*'u sırasıyla 1,2 log, 1,6 log ve 1,8 log , *E. coli* O157:H7'i sırasıyla 0,4 log, 1,2 log ve 1,7 log azalttığı görülmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında, yukarıda verilen araştırmanın sonuçlarına paralel olarak fesleğen yağı süspansiyonun konsantrasyonundaki artış ile patojen sayısında meydana gelen azalma oranlarının arttığı, ancak konsantrasyonların patojen sayısını azaltma oranlarının birbirine yakın olduğu gözlemlenmektedir.

İstatistiksel analizlerde patojen cinsinin ve patojen cinsi ile esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu tespit edilmesinin yanında, bitki çeşidi ile patojen cinsi faktörlerinin etkileşiminin, bitki çeşidi ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin, depolama günleri ile bitki çeşidi faktörlerinin etkileşiminin ve depolama günleri, bitki çeşidi ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin de önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0,05$ ) (Ek 2). Sonuçlara bakıldığında marul ve semiz otu örneklerine inokule edilen *S. typhimurium*'un marul örneklerinde semizotu örneklerinde olduğundan 3 replikasyonun ortalaması olarak 0.2 log daha fazla tutunduğu görülmektedir. Ayrıca *E. coli* O157:H7 'nin de semizotu örneklerinde marul örneklerinde olduğundan 0,5 log daha fazla tutunduğu tespit edilmiştir. Bu doğrultuda iki patojenin kendine ait olan optimum hayatta kalma özellikleri ile tutundurulma işleminin yapıldığı bitkinin sunduğu ortamın birbiriyle olan uyumunun, patojenlerin bitkilerdeki tutunma durumunu etkilediği açıkça görülmektedir. *E. coli* O157:H7 tutundurulan semizotu örneklerinde uygulanan dezenfeksiyon işlemlerinden en etkili olan 0,08 ml/L konsantrasyondaki 10 ve 15 dakikalık işlemler 3 replikasyonun ortalaması olarak 2,1- 2,2 log kontrol grubuna göre patojen sayısını azaltmaktadır. *S. typhimurium*'da ise ortalama olarak 1,4 log'luk bir azalma meydana gelmiştir. Bagamboula ve ark. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada da, fesleğen esansiyel yağına karşı *Shigella sonnei*'nin *S. flexneri*'e göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi tutundurulan patojenin cinsi dezenfeksiyon işlemine karşı gösterdikleri direncin farklı olmasından dolayı uygulanan dezenfeksiyon işlemlerinin etkinliğini farklılaştırmıştır.

0,08 ml/L konsantrasyondaki 10 ve 15 dakikalık işlemlerin ani etkisi çok yüksek düzeyde olmasa da *E. coli* O157:H7 tutundurulan örneklerde genel olarak depolamanın 5. gününde, *S. typhimurium* tutundurulan örneklerde ise genel olarak 3. günde patojen sayısını sayılamaz

düzeğe düşürerek diğerk gruplara göre en yüksek düzeydeki etkiyi gösterdiğini açıklıtır. Aynı zamanda bu verilerden iki patojeninde uygulanan dezenfeksiyon işlemeine karşı gösterdiğini tepkinin farklı olduğu ve bu doğrultuda patojen cinsi ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu açıkça görülmektedir ( $P < 0,05$ ).

Fesleğen esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesi linalool ve metil kavicol bileşenlerinin baskın olarak bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bagamboula ve ark. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada linalool (%16) ve estragol (%20,5) ana bileşenler olarak bulunmuştur. Metil öjenol % 8 oranında saptanırken, metil chavicol saptanamamıştır. Fesleğen ile kekik esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada kekik yağının ana bileşeni olan karvakrolün *Shigella sonnei* ve *S. flexneri*'e karşı en kuvvetli antibakteriyel aktiviteyi gösterdiğini ve bunu timolün takip ettiğini tespit edilmiştir. Ancak fesleğen esansiyel yağının ana bileşenleri olan estragol ve linaloolün bu mikroorganizmalara karşı gösterdiğini antibakteriyel aktivitenin sınırlı olduğu saptanmıştır (Bagamboula ve ark., 2004). Bizim çalışmamızda da fesleğen esansiyel yağının tutundurulan patojenler üzerine sınırlı bir etkide bulunduğu sonuçlardan görülmektedir. Brezilya'da kullanılan aromatik bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin ve bileşimlerinin incelendiğini bir araştırmada da, fesleğen esansiyel yağlarının *Staphylococcus aureus*'a karşı orta derecede inhibe edici özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Sartoratto ve ark., 2004).

#### **4.3. Nane Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Sebze Örneklerindeki *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi**

Fesleğen esansiyel yağının sulu süspansiyonu için uygulanan tüm işlemler nane esansiyel yağının için de uygulanmıştır. Burada da amaç uygulanan nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarının, işlem sürelerinin ve depolama sürecinin başlangıçta tutundurulan değerlerle karşılaştırma yaparak patojen sayısının örneklerde azaltılması üzerine ne derece etkili olduğunu saptamaktır.

Bu denemelerde *S. typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 inokule edilen marul ve semizotu örnekleri, pH değerleri pH 6,5, pH 6,3 ve pH 6,2 olan 0,01 ml/L, 0,032ml/L ve 0,08 ml/L konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağının sulu süspansiyonlarıyla 10 ve 15 dakikalık sürelerde dezenfeksiyona tabi tutulmuş ve pasif atmosferde paketlenerek 7 gün depolanmışlardır.

#### 4.3.1. Nane Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Marullardaki *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

*Salmonella typhimurium* inokule edilen marul örneklerinde tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak 4,3. 10<sup>3</sup> kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. Çizelge 4.5'e bakıldığında dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlara göre, 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerin patojen sayısını sayılamayacak düzeye indirdiği ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek azalma düzeyinin bu işlem gruplarında meydana geldiği görülmektedir. Bu grubu takiben, 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler patojen sayısını gramda 10<sup>4</sup> düzeyinden 10<sup>2</sup> seviyesine azaltmıştır. 0,01 ml/L konsantrasyonda gerçekleştirilen 15 dakikalık işlemler tutundurulan patojen sayısını gramda 10<sup>4</sup> düzeyinden 10<sup>3</sup> seviyesine azalttığı gözlemlenirken, 10 dakikalık işlemlerden elde edilen örneklerde 10<sup>4</sup> seviyesinde sabit kaldığı görülmektedir.

**Çizelge 4.6.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Marul				
İnokulum dozu kob/ml		3,63				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,79	4,69	4,748	4,716	4,59
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	4,04	4,79	4,447	4,32	4,826
	<b>0,032 ml/L</b>	2,707	3,49	2,39	0	0
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,79	4,04	4,66	4,77	4,518
	<b>0,032 ml/L</b>	2,43	3,34	2,65	0	0
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>P değeri</b>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 9)

Sonuçlardan farklı esansiyel yağ konsantrasyonlarının patojen sayısının azaltılmasında farklı derecelerde etkili oldukları fark edilmektedir. İstatistiksel sonuçlar da esansiyel yağ konsantrasyonunun gramdaki patojen düzeyinin azaltılmasında önemli olduğunu ortaya



koymuştur ( $P<0,0001$ ). 0,08 ml/L konsantrasyondaki 10 ve 15 dakikalık işlemlerle hazırlanan örneklerdeki patojenler bazı denemelerde 5. günlerden itibaren saptanamamıştır. Benzer şekilde 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerle hazırlanan örneklerde ilk gün 10 kat patojen sayısının artmasından sonra 3. gün tekrardan azalarak eski seviyesine düştüğü ve depolamanın 5. gününde sayılamayacak düzeye düşerek, depolamanın son gününde de bu düzeyde kaldığı tespit edilmiştir. Kontrol gruplarında ve 0,01 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerden elde edilen örneklerde ise depolama boyunca patojen sayısında bazı değişimlerin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5.). İstatistiksel analizler sonucunda depolama günleri faktörü ve depolama günleri ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin patojen sayısındaki değişim üzerinde önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,0001$ ). Dezenfeksiyon süreleri faktörü de patojen sayısındaki değişim üzerinde önemli olduğu istatistiksel analizler sonucunda saptanmıştır ( $P<0,05$ ).

*Escherichia coli* O157:H7 inokule edilen marul örneklerinde ise, tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizlerde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak  $2,3 \cdot 10^3$  kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. *Escherichia coli* O157:H7 inokule edilen marullarda da, dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlara göre, 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler patojen sayısını sayılamayacak düzeye indirmekte ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek azalma düzeyinin bu işlem gruplarında meydana geldiği görülmektedir (Çizelge 4.6.). 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 dakika uygulanan işlemlerde 3 replikasyonun ortalaması olarak 1,5 log düzeyinde bir azalma gerçekleşirken, 15 dakika uygulanan işlemlerde saptanamayacak düzeye düşmesine neden olmuştur. 0,01 ml/L konsantrasyonda 15 dakikalık işlemler patojen miktarının gramda  $10^4$  seviyesinden  $10^3$  düzeyine düşmesine neden olurken, 10 dakikalık işlemlerin patojen sayısında bir değişime neden olmadığı gözlemlenmiştir. Depolama boyunca 0,08 ml/L konsantrasyondaki 10 ve 15 dakikalık işlemlerle hazırlanan örneklerdeki patojen sayısı 7. günün sonuna kadar sayılamayacak düzeyde kalmıştır ve hatta bazı denemelerde 3. günlerden itibaren örneklerde patojen saptanamamıştır. 0,032 ml/L konsantrasyonda 15 dakika uygulanan işlemlerle hazırlanan örneklerde ise patojen sayısı ilk günden sayılamayacak düzeye inerken, 10 dakikalık işlemlerden elde edilen örneklerde depolamanın 5. gününde sayılamayacak düzeye düştüğü ve depolamanın son gününde de bu düzeyde kaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar istatistiksel sonuçlarda olduğu gibi esansiyel yağ konsantrasyonunun patojen düzeyinin düşürülmesinde önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0,05$ ). Aynı zamanda istatistiksel analizler dezenfeksiyon işlem sürelerinin patojen sayısındaki değişimler üzerinde önemli olduğunu da ortaya koymaktadır ( $P<0,05$ ). Bunun yanında istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlardan

**Çizelge 4.7.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Marul				
İnokulum dozu kob/ml		3,36				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,25	4,17	4,07	3,67	3,34
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,32	3,518	4,07	3,447	3,77
	<b>0,032 ml/L</b>	2,67	2,34	2,04	0	0
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,447	3,25	3,146	3,43	3,07
	<b>0,032 ml/L</b>	0	0	0	0	0
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>P değerleri</b>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 10)

depolama günleri faktörünün ve depolama günleri ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu görülmektedir ( $P < 0,0001$ ) (Ek 2).

İstatistiksel analizler sonucunda patojen cinsinin, patojen cinsi ile esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin, bitki türü ile patojen cinsi faktörlerinin etkileşiminin, bitki türü ile depolama günleri faktörlerinin etkileşiminin, bitki türü ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin, depolama günleri ve bitki türü ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0,05$ ) (Ek 2). Sonuçlara bakıldığında (Çizelge 4.5. ve 4.6.) *Salmonella typhimurium* hücrelerinin *E. coli* O157:H7 hücrelerinden 0,5 log daha fazla marul örneklerine tutunduğu görülmektedir. Bu durum patojen mikroorganizmaların hayatta kalmaları için gerekli olan optimum özelliklerin farklı olmasıyla ve bitkinin sunduğu ortam koşullarıyla bu özelliklerin uyumuyla ilişkilidir. Tassaou ve ark. (1995), yapılan bir çalışmada nane esansiyel yağlarının antibakteriyel etkilerinin esansiyel yağın konsantrasyonuna, gıdanın pH değerine, esansiyel yağın kompozisyonuna, depolama sıcaklığı ve mikroorganizmanın doğasına bağlı olduğunu saptamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise, nanenin baskın olarak mentol (% 40,55), izometan (%18,42) ve 1,8-sineol (%5,26) bileşenlerinden oluştuğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada nane esansiyel yağının *E. coli* O157:H7, *Listeria innocua* ve *Pseudomonas fluorescens* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri inaktivasyon etkinliği %90'ını geçerken,

*Sarcina flava*, *Y. enterocolitica* ve *Micrococcus* sp. mikroorganizmalarının nane esansiyel yağına karşı gösterdikleri hassasiyetin en düşük derecede olduğu belirlenmiştir (Marino ve ark., 2001). Görüldüğü gibi farklı patojen türlerine karşı nane esansiyel yağının etkinliği farklılaşmaktadır. Yani farklı patojen türlerine karşı gösterdiği etkinin farklı olduğu görülmektedir. Yapılan bu çalışmada da, her iki patojenin tutundurulduğu örneklerde de 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler sonucunda elde edilen örneklerde patojen miktarının sayılamayacak düzeyde az olduğu saptanmıştır. Hem *E.coli* O157:H7 tutundurulan örneklerde hem de *S. typhimurium* tutundurulan örneklerde uygulanan 0,01 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakikalık işlemler birbirlerine yakın derecede patojen sayısında azalmaya neden olmuşlardır. Ancak asıl fark 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakikalık işlemlerin uygulandığı örneklerde görülmüştür. *Salmonella typhimurium* tutundurulmuş örneklerde 10 ve 15 dakikalık işlemler sonucunda sırasıyla 2,1 log ve 2,3 log'luk azalmalar meydana gelirken, *E.coli* O157:H7 tutundurulan örneklerde 10 dakikalık işlem sonucunda 1,5 log azalma ve 15 dakikalık işlem sonucunda ise patojen sayısı sayılamayacak düzeye düşmüştür. Görüldüğü gibi her iki patojeninde aynı işlemlere karşı gösterdiği tepki farklıdır. Bu durum aynı zamanda istatistiki sonuçlara paralel olarak, patojen cinsi ile esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğunu da göstermektedir ( $P<0,05$ ). İstatistiksel analizler sonucunda dezenfeksiyonun uygulandığı işlem sürelerinin patojen sayısının azalması üzerinde önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Ancak süre ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin patojen sayılarındaki değişim üzerinde istatistiksel analizler sonucunda önemli olmadığı saptanmıştır ( $P>0,05$ ). İstatistiksel analizler depolama günleri faktörünün de patojen sayısındaki değişimler üzerinde önemli olduğunu göstermiştir ( $P<0,0001$ ). Bunun yanında depolama günleri ile konsantrasyon faktörleri etkileşiminde patojen sayısındaki değişimler üzerinde etkili olduğunu saptamıştır ( $P<0,0001$ ).

#### **4.3.2. Nane Esansiyel Yağı Sulu Süspansiyonunun Semizotlarında *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkisi**

*Salmonella typhimurium* inokule edilen semizotu örneklerinde tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekletme aşamasından sonra yapılan analizlerde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak  $4,2 \cdot 10^3$  kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür.

Marul örneklerinde de olduğu gibi semizotunda da en yüksek azalma 0. gün yapılan analizlerden elde edilen sonuçlara göre, patojen sayısını sayılamayacak düzeye düşüren 0.08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler sonucunda elde edilmiştir (Çizelge 4.7.). 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler patojen sayısını gramda

**Çizelge 4.8.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Semizotu				
İnokulum dozu kob/ml		3,56				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,62	4,61	4,57	4,505	4,505
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	4,27	4,39	4,36	4,34	4
	<b>0,032 ml/L</b>	2,87	2,301	2,59	2,54	2,53
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,59	4,11	3,25	4,17	4,146
	<b>0,032 ml/L</b>	2,64	2,59	2,43	2,41	2,38
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>P değeri</b>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 11)

$10^4$  seviyesinden  $10^2$  düzeyine indirirken, 0,01 ml/L konsantrasyonda 15 dakikalık işlemler  $10^3$  seviyesine indirmiş ve 10 dakikalık işlemlerde patojen sayısı  $10^4$  seviyesinde sabit kalmıştır. Elde edilen istatistiksel sonuçlarda da esansiyel yağ süspansiyonlarının farklı konsantrasyonlarının patojen sayısının azaltılmasında önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Aynı zamanda istatistiksel analizler dezenfeksiyon işlem sürelerinin patojen sayısındaki değişimler üzerinde önemli olduğunu da ortaya koymaktadır ( $P<0,05$ ). Ayrıca istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlardan depolama günleri faktörünün ve depolama günleri ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu görülmektedir ( $P<0,0001$ ) (Ek 2).

*E. coli* O157:H7 inokule edilen semizotu örneklerinde tutundurma işleminin 20°C'da 24 saatlik bekleme aşamasından sonra yapılan analizde kontrol örneklerinde 3 replikasyonun ortalaması olarak  $5,3 \cdot 10^3$  kob/g düzeyinde tutundurma işleminin gerçekleştiği görülmüştür. Marul örneklerinde de olduğu gibi, dezenfeksiyon işleminden hemen sonra yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda (Çizelge 4.8.), tüm grupların içerisinde en yüksek düzeydeki azalmaya 0,08 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler neden olmuştur. 0,032 ml/L ve 0,01 ml/L konsantrasyonlarda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemler genel olarak

**Çizelge 4.9.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisi (log) (kob/g)

Örnek adı		Semizotu				
İnokulum dozu kob/ml		3,56				
		0. gün	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün
<b>Kontrol</b>		4,72	4,76	4,67	4,59	4,66
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,79	3,68	3,69	3,66	3,61
	<b>0,032 ml/L</b>	3,49	2,83	2,72	2,56	2,55
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	3,68	3,65	3,67	3,61	3,39
	<b>0,032 ml/L</b>	3,41	2,74	2,61	2,49	2,47
	<b>0,08 ml/L</b>	0	0	0	0	0
<b>P değeri</b>		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

(Çizelge için gün faktörü sabit tutularak istatistiksel analiz yapılmıştır.) (Ek 12)

tüm denemelerde gramdaki patojen miktarını  $10^4$  seviyesinden  $10^3$  düzeyine düşürmüştür. Sonuçlar, istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlar gibi esansiyel yağ konsantrasyonunun patojen sayısının azalmasında bir faktör olarak önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0,05$ ).

İstatistiksel analizler sonucunda patojen cinsinin, patojen cinsi ile esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin, bitki türü ile patojen cinsi faktörlerinin etkileşiminin, bitki türü ile depolama günleri faktörlerinin etkileşiminin, bitki türü ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin, depolama günleri ve bitki türü ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0,05$ ) (Ek 2). *E.coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes*'in hayatta kalışı ve gelişimleri üzerine sebze çeşidinin, paket atmosferinin ve depolama sıcaklığının etkilerinin incelendiği bir çalışmada *E.coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* populasyonunun parçalanmış marullarda 12 günlük depolama periyodu boyunca arttığı görülmüştür. *Listeria monocytogenes*'in paketlenmiş sarı şalgamlarda yaklaşık 1 log arttığı, paketlenmiş soya filizlerinde önemli bir değişimin olmadığı ve lahana salatalarında yaklaşık 1,5 log azaldığı tespit edilmiştir. *E.coli* O157:H7'nin ise 5. günden sonra paketlenmiş lahana salatası ve soya filizlerinde yaklaşık 1,5- 2,5 log arttığı, paketlenmiş sarı şalgamlarda ise, ATCC 43888 suşunun depolama boyunca yaklaşık 1 log arttığı ve 12900 suşunun depolamanın 2. ve 5. günleri arasında arttığı gözlenmiştir (Francis ve O'Beirne, 2001, (a) ). Görüldüğü gibi patojen türlerinin

farklı sebze çeşitlerinde hayatta kalışları farklılık gösterdiği gibi, farklı patojen türlerinin aynı sebze çeşitlerindeki hayatta kalışları da farklılık göstermektedir. Yapılan bu çalışmanın sonuçları incelendiğinde ise, *S. typhimurium*'un marul örneklerinde semizotu örneklerinde olduğundan 0,2 log daha fazla tutunduğu, *E. coli* O157:H7'nin ise semizotu örneklerinde marul örneklerinde olduğundan 0,5 log daha fazla tutunduğu görülmüştür. Ayrıca semizotu örneklerinde *E. coli* O157:H7 hücreleri *S. typhimurium*'a göre 0,1 log daha fazla tutunmuştur. Bu durum patojenin hayatta kalmak için ihtiyaç duyduğu koşullarla bitkinin sunduğu koşullar arasındaki uyumla ilişkilidir. Yani sonuç olarak bitki türü ile patojen cinsi arasındaki etkileşimin, istatistiki sonuçlarda tespit edildiği gibi patojen sayısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Yapılan araştırmalar sebzenin kendine ait özelliklerinin (pH,  $a_w$ , rekabetçi doğal flora gibi) ve patojenin optimum gelişim koşullarının sebze üzerinde o patojenin hayatta kalmasını ve gelişebilirliğini etkilediğini göstermiştir. Ayrıca minimal işlem sırasında sebze dokularında meydana gelen zedelenmeler sonucunda bitki özsuynunun açığa çıkması patojenin gelişebilmesi için gerekli su aktivitesini, besin değerlerini ortaya çıkarmaktadır. (Francis ve ark., 1999). Yapılan bu çalışmada, *E. coli* O157:H7 tutundurulan marul ve semizotu örneklerine uygulanan 0,032 ml/L konsantrasyondaki 10 ve 15 dakikalık dezenfeksiyon işlemlerinden hemen sonra yapılan analizlerden, *E. coli* O157:H'nin semizotunda marul örneklerinde olduğundan daha yüksek bir direnç gösterdiği görülmektedir. Bu konsantrasyondaki 10 dakikalık işlem başlangıç patojen sayısında marul örneklerinde 1,5 log'luk bir azalmaya neden olurken, semizotu örneklerinde 1,2 log'luk bir azalmaya neden olmaktadır. Bitkinin sunduğu ortamın patojen için sağladığı yaşam koşulları patojenin uygulanan esansiyel yağın etkinliğini etkilemiştir. *E. coli*O157:H7 'nin semizotunda gösterdiği bu dirence benzer şekilde *S. typhimurium*'un sayısında marul örneklerinde 2,1 log azalmaya neden olurken, semizotu örneklerinde ise 1,7 log azalma olduğu görülmüştür. Görüldüğü gibi *S. typhimurium* da semizotu örneklerinde marul örneklerinde olduğundan daha yüksek bir direnç göstermektedir. Ancak işlemin iki patojen türünde gösterdiği etkinlik dereceleri *S. typhimurium*'da daha yüksektir. Bu durumda patojen türünün de önemli olduğu açıkça görülmektedir. Sonuçlar semizotu örneklerine uygulanan dezenfeksiyon işlemlerinden 0,01 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerin her iki patojen üzerine gösterdikleri etki birbirine yakinken, 0,032 ml/L konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan işlemlerin *S. typhimurium* sayısında 10 dakikalık işlem 1,7 log, 15 dakikalık işlemlerin ise 1,9 log'luk azalmaya neden olurken, *E. coli* O157:H7 sayısında 10 dakikalık işlem 1,2 log, 15 dakikalık işlem ise 1,3 log'luk azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu durum patojen türü ile esansiyel yağ konsantrasyonunun etkileşiminin istatistiksel sonuçlara paralel olarak, önemli olduğunu göstermiştir ( $P<0,05$ ). İstatistiksel analiz sonuçları dezenfeksiyon işlem sürelerinin patojen sayısındaki azalmalar üzerinde önemli olduğunu ortaya koymuştur ( $P<0,05$ ). (Ek 2.). Marul ve minyatür havuçlardaki *Escherichia coli* O157:H7'nin eliminasyonunda klor dioksit, ozon ve esansiyel kekik yağlarından

her biriyle yapılan bireysel yıkama işlemlerinin veya bunların kullanıldığı ardışık yıkama yönteminin incelendiği bir çalışmada, kekik yağı konsantrasyonunun 0,1 ml/L'den 1 ml/L'ye artırılmasının patojen sayısını daha yüksek düzeyde azalttığını saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada kullanılan fesleğen ve nane esansiyel yağlarının konsantrasyonları arttırıldıkça, bu literatür örneğinde de olduğu gibi, örneklere tutundurulan miktarda da daha yüksek derecede azalmaya neden olduğu görülmüştür (Singh ve ark., 2002, (a)).

İstatistiksel sonuçlar depolama günleri faktörünün ve depolama günleri ile konsantrasyon faktörlerinin etkileşiminin patojen sayısındaki değişimler açısından önemli olduğunu göstermiştir ( $P<0,001$ ). Aynı zamanda dezenfeksiyon işlem sürelerinin de patojen sayısındaki değişimler açısından önemli olduğunu ortaya koymuştur ( $P<0,05$ ).

İstatistiksel sonuçlar aynı zamanda esansiyel yağ çeşidi faktörünün, esansiyel yağ çeşidi x bitki çeşidi faktörleri etkileşiminin, esansiyel esansiyel yağ çeşidi x esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin, depolama günleri x bitki çeşidi x esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin, bitki çeşidi x esansiyel yağ çeşidi x patojen türü faktörlerinin etkileşiminin, bitki çeşidi x esansiyel yağ çeşidi x esansiyel yağ konsantrasyonu faktörlerinin etkileşiminin ve bitki çeşidi x esansiyel yağ çeşidi x esansiyel yağ konsantrasyonu x patojen türü faktörlerinin etkileşiminin patojen sayısı üzerinde önemli olduğunu saptamıştır ( $P<0,05$ ) (Ek 2.). Ponce ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada organik pazıların doğal mikroflorası üzerine 12 farklı esansiyel yağın etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada okalüptüs, çay ağacı, biberiye, limon ve naneye karşı doğal mikrofloranın farkedilir bir hassasiyete sahip olmasına karşın, melisa, anason, fesleğen, oregano ve lavantaya karşı hassasiyetlerinin en düşük derecede olduğu saptanmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına bakıldığında ise, nane esansiyel yağı sulu süspansiyonun en etkili konsantrasyon olan 0,08 ml/L'de 10 ve 15 dakika uygulandığı zaman patojen sayısını sayılamayacak düzeye indirirken, aynı konsantrasyonda 10 ve 15 dakika uygulanan fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonu aynı yüksek düzeyde etkiyi gösteremediği, bazı denemelerde patojen miktarını gramda  $10^4$  seviyesinden  $10^2$  düzeyine ve hatta bazı denemelerde de  $10^3$  düzeyine indirdiği görülmektedir. Fesleğen ve nanenin sebzelere tutundurduğumuz her iki patojene karşı gösterdiği etkileri karşılaştırdığımızda, nanenin kullanılan tüm sebzelerde fesleğene göre her iki patojene karşı daha etkili olduğu görülmektedir. Fesleğen esansiyel yağı ise nane esansiyel yağı kadar patojenler üzerine etki edememiştir. Denemelerde kullanılan semizotu ve marul örneklerine tutundurulan *E.coli* O157:H7 fesleğen esansiyel yağına karşı marul örneklerinde semizotunda olduğundan daha yüksek bir direnç göstermiştir. Ancak nane esansiyel yağına karşı semizotu örneklerin marulda olduğundan daha yüksek direnç göstermektedir. Bu durum esansiyel yağ çeşidinin etkisinin yanında bitki çeşidi, patojen türü ve esansiyel yağ konsantrasyonunun da etkisinin patojen sayısı üzerinde önemli

olduğunu göstermektedir. Seçilmiş esansiyel bitki yağlarının, *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*'in gelişimi üzerine inhibitör etkilerinin incelendiği bir çalışmada *Corydothymus capitatus*, *Cinnamomum cassia*, *Origanum heracleoticum*, *Satureja montana* ve *Cinnamomum verum*'un bu dört patojenik bakteriye karşı en etkili esansiyel yağlar oldukları ve tüm test edilen bakteriler için minimum inhibe edici konsantrasyonlarının  $\leq 0,05$  olduğu saptanmıştır. *Cinnamomum verum* ve *Cinnamomum cassia*'nin *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* tarafından maksimum tolere edilebilir konsantrasyonları % 0,025 iken, diğer patojenlerin bu esansiyel yağlar için gösterdikleri maksimum tolere edilebilir konsantrasyonları  $\leq 0,013$ 'tür. *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris carvacroliferum*, *Origanum compactum* esansiyel yağlarının test edilen tüm patojenlere karşı gösterdikleri minimum inhibe edici konsantrasyonları  $\leq 0,1$  olduğu tespit edilmiştir (Oussalah ve ark., 2007). Buradan da görüldüğü gibi esansiyel yağ çeşidi ile patojen türü arasında bir etkileşim vardır ve farklı esansiyel yağların aynı patojenler üzerine gösterdikleri etki farklı olurken, farklı tür patojen bakterilerin aynı esansiyel yağlara karşı gösterdikleri tepki farklı olmaktadır.

#### 4.4. Paketlerde Yapılan Gaz Ölçümü Sonuçları

+4°C'da depolanan paketlerin patojen analizleri yapılmadan hemen önce paketler içerisindeki karbondioksit ve oksijen gazları oranlarının gaz analiz cihazıyla ölçümü yapılmıştır. *Salmonella typhimurium*'un ve *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları Çizelge 4.10. ve Çizelge 4. 11.'de, *Salmonella typhimurium*'un ve *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları Çizelge 4.12. ve Çizelge 4. 13.'de, *Salmonella typhimurium*'un *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları Çizelge 4.14. ve Çizelge 4. 15.'de ve *Salmonella typhimurium*'un ve *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları Çizelge 4.16. ve Çizelge 4. 17.'de gösterilmektedir.



**Çizelge 4.10.** *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Marul							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		17,8	1,7	17	1,3	18,5	0,8	16,8	1,4
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	17,7	1,7	16,2	1,2	18,4	0,8	17	1,7
	<b>0,032 ml/L</b>	18	1	18,1	1	20,1	0,5	17,9	0,8
	<b>0,08 ml/L</b>	19,3	0,6	19,4	0,6	19,6	0,5	18,4	0,9
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	16,5	1,9	16,1	1,2	18,1	0,8	17,5	0,9
	<b>0,032 ml/L</b>	18,7	1,2	18,3	0,8	18,8	0,6	18	0,7
	<b>0,08 ml/L</b>	19	1,1	19,9	0,5	19,4	0,5	19	0,8

**Çizelge 4.11.** *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Marul							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		17,5	1,4	17,4	1,6	16,9	1,2	14,1	2,3
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	17,1	1,3	15,5	3,2	15,8	1,6	12,6	1,9
	<b>0,032 ml/L</b>	18,2	1	12,9	3	17,5	0,8	13,9	2,8
	<b>0,08 ml/L</b>	18,8	0,6	15,9	1,9	19,1	0,4	16,7	1,7
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	14,9	2,4	13,2	3,4	14,3	1,5	14,2	2
	<b>0,032 ml/L</b>	17,8	1,6	17,3	1,3	17,2	1	16,1	2,2
	<b>0,08 ml/L</b>	18,1	0,7	17,6	1,1	18,3	0,4	14,8	2,1

**Çizelge 4.12.** *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Semizotu							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		19,2	1,6	19,4	1,1	19,7	1,1	20,3	0,9
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,2	1,6	19,3	1,1	19,7	1,2	19,9	1,2
	<b>0,032 ml/L</b>	20,4	1,1	20	1	20	1,1	20,6	1,2
	<b>0,08 ml/L</b>	20,3	1,2	20,7	0,8	20	1,3	19,4	1,5
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,4	1,6	19,4	0,8	19,4	1,2	19,8	1,5
	<b>0,032 ml/L</b>	20	1,3	20,3	0,9	20,2	1,3	20,3	1,1
	<b>0,08 ml/L</b>	20,3	1,3	20,7	0,8	20,3	1,3	20,1	1,3

**Çizelge 4.13.** *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra fesleğen esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Semizotu							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		18,9	2,3	17,7	2,5	18,1	2,4	19,8	1,7
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,5	2	17,9	2,5	19,4	2,1	19,8	1,8
	<b>0,032 ml/L</b>	19,8	1,6	19,2	1,9	18,8	2,2	20,2	1,7
	<b>0,08 ml/L</b>	19,8	2	19	2,5	19,6	2,1	19,5	1,9
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,9	1,9	19,1	2,2	18,6	2,4	20,1	1,7
	<b>0,032 ml/L</b>	20,3	1,9	19,1	2,3	19,1	2,2	20,3	1,6
	<b>0,08 ml/L</b>	20,2	2	19,4	2,2	19,5	2,2	20,4	1,7

**Çizelge 4.14.** *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Marul							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		17,8	1,7	17	1,3	18,5	0,8	16,8	1,4
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	16,8	1,9	16,3	1,3	18	0,7	17,6	1
	<b>0,032 ml/L</b>	19,8	0,7	18,8	0,8	19,9	0,4	19,1	0,8
	<b>0,08 ml/L</b>	20,4	0,4	20,1	0,6	20,4	0,5	20	0,5
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	16,8	2,2	14,2	1,8	17,8	0,7	17,2	1
	<b>0,032 ml/L</b>	19,5	0,7	18,9	0,7	19,1	0,5	19,3	0,7
	<b>0,08 ml/L</b>	20,5	0,3	20,4	0,4	20,4	0,4	19,8	0,7

**Çizelge 4.15.** *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş marul örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Marul							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		17,5	1,4	17,4	1,6	16,9	1,2	14,1	2,3
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	16,6	2,3	12,8	2,4	13,4	2	14,2	2,4
	<b>0,032 ml/L</b>	19,4	0,8	17,6	0,9	15,2	1,1	17,3	1,1
	<b>0,08 ml/L</b>	20,2	0,3	19,8	0,6	19,9	0,5	18,6	0,8
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	15,7	1,7	13,6	2,2	13,6	1,7	13,3	2,5
	<b>0,032 ml/L</b>	18,9	1	17,1	1,5	17	1,2	17,1	1,7
	<b>0,08 ml/L</b>	20,2	0,4	20	0,6	19,4	0,5	18	1,3

**Çizelge 4.16.** *Salmonella typhimurium*'un tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Semizotu							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		19,2	1,6	19,4	1,1	19,7	1,1	20,3	0,9
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,2	1,6	19,3	1,1	19,7	1,2	19,9	1,2
	<b>0,032 ml/L</b>	20,3	1,1	20	1	20	1,1	20,6	1,2
	<b>0,08 ml/L</b>	20,3	1,2	20,7	0,8	20	1,3	19,4	1,5
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,4	1,6	19,4	0,8	19,4	1,2	19,8	1,5
	<b>0,032 ml/L</b>	20	1,3	20,3	0,9	20,2	1,3	20,3	1,1
	<b>0,08 ml/L</b>	20,3	1,3	20,7	0,8	20,3	1,3	20,1	1,3

**Çizelge 4.17.** *Escherichia coli* O157:H7'nin tutundurulduğu ve daha sonra nane esansiyel yağının farklı konsantrasyonlarındaki sulu süspansiyonlarıyla dezenfekte edilerek paketlenmiş semizotu örnekleri paketlerindeki depolama sırasında değişen gaz oranları

Örnek adı		Semizotu							
		1. gün		3. gün		5. gün		7. gün	
		O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)	O <sub>2</sub> (%)	CO <sub>2</sub> (%)
<b>Kontrol</b>		18,9	2,3	17,7	2,5	18,1	2,4	19,8	1,7
<b>10 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,3	2,3	18,2	2,4	18,7	2,4	20	1,7
	<b>0,032 ml/L</b>	20,1	1,9	19,2	2,1	19,7	2,2	20,1	1,8
	<b>0,08 ml/L</b>	20,2	1,8	20	2	19,7	2,2	20,4	1,7
<b>15 dk</b>	<b>0,01ml/L</b>	19,5	2,1	18,2	2,3	18,7	2,4	19,5	1,8
	<b>0,032 ml/L</b>	20,6	1,8	19,6	2,1	19,2	2,3	19,7	1,9
	<b>0,08 ml/L</b>	20,7	1,8	19,9	2	19,9	2,1	20,3	1,7

Depolama boyunca paketlerde ölçümü yapılan yüzde oksijen ve karbondioksit değerlerinin patojen sayısı ile aralarındaki korelasyon istatistiki olarak incelenmiştir. Sonuçlara göre, patojen sayısı arttıkça oluşan oksijen miktarı azalma eğilimi göstermiştir. Lineer korelasyon katsayısı -0,15'dir, yani patojen sayısı ile oksijen arasında zayıf bir negatif lineer ilişki söz konusudur. Karbondioksit ise, patojen sayısı arttıkça oluşan karbondioksit miktarı artma eğilimi göstermiştir. Lineer korelasyon katsayısı 0,15'dir, yani patojen sayısı ile karbondioksit arasında zayıf bir pozitif lineer ilişki söz konusudur ( $P > 0,05$ ) (Ek 3. ve 4.). Matan ve ark. (2006), tarafından yapılan bir çalışmada tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının düşük oksijen ve yüksek karbondioksit içerikli modifiye atmosferle kombinasyonundaki uçucu gaz fazının bozucu küf, maya ve bakteri gelişimini engellemede iyi bir potansiyel teşkil ettikleri bulunmuştur. Çok dirençli bir mikroorganizma olan *Aspergillus flavus*'un gelişiminin engellenmesinde tarçının karanfil esansiyel yağına oranının yüksek olduğu 4000 $\mu$ l yağ karışımının aktif modifiye atmosfer ile kombinasyonunun daha etkili olduğunu saptanmıştır. Bunun yanında Beltran ve ark. (2005), tarafından yapılan bir çalışmada patates dilimlerinin mezofilik bakteri sayısı üzerine pasif modifiye atmosferin hiçbir etkisinin olmadığı ve sanitizerlerin etkisinin pasif modifiye atmosferden bağımsız olarak etkili olduklarını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda paketler pasif modifiye atmosferle paketlenmiş ve tüm denemelerde depolama periyodu boyunca istatistiki sonuçlara bakıldığında başlangıç patojen sayıları *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 için az da olsa bazı azalma veya artışlar göstermelerine karşılık, patojen sayılarının değişiminde çok kuvvetli bir etki gösteremedikleri tespit edilmiştir. Oms-Oliu ve ark. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada ise, pasif modifiye atmosferde depolanan armutlarda düşük ve yüksek oksijen içerikli aktif atmosferde depolananlara göre aerobik psikrofilik mikroorganizmaların gelişim hızlarının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu doğrultuda düşük ve yüksek oksijen içerikli aktif atmosferlerde paketleme işlemlerinin minimal işlem görmüş armutların raf ömürlerini uzattığı tespit edilmiştir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada pasif atmosferde paketlenmiş marul ve semizotu örneklerine inokule edilen *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* patojen bakterileri üzerine fesleğen ve nane esansiyel yağlarının sulu süspansiyonları ile yapılan dezenfeksiyon işlemlerinin etkinlikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir;

- Analiz sonuçları, iki esansiyel yağında *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir.
- Esansiyel yağların etkinliklerinin sulu süspansiyonlarındaki konsantrasyonlarına, etki ettikleri patojen türüne, uygulandıkları bitki çeşidi ile etki ettikleri patojen türü faktörlerinin etkileşimine bağlı olarak değiştiği istatistiksel analizler sonucunda tespit edilmiştir. Ayrıca her iki esansiyel yağın da aynı patojen üzerine gösterdikleri etkinin farklı olduğu saptanmıştır.
- İşlem sürelerinin ve depolama günlerinin patojenlerin sayısında meydana gelen değişimlerde önemli olduğu istatistiksel analizler sonucunda saptanmıştır. Bunun yanında depolama boyunca paketler içerisinde meydana gelen gaz bileşimindeki değişim ile patojenlerin sayısında meydana gelen değişimler arasında kuvvetli bir etkileşimin olmadığı istatistiksel analizler sonucunda tespit edilmiştir.
- Elde edilen sonuçlara göre, nane esansiyel yağının fesleğen esansiyel yağına göre marul ve semizotu örneklerindeki her iki patojen için daha yüksek derecede antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmektedir.
- Nane ve fesleğen esansiyel yağları için 0,08 ml/L konsantrasyon değerinin, *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* patojen bakterilerine karşı her iki esansiyel yağın semizotu ve marulda, en yüksek etkinlik gösterdikleri konsantrasyon değeri olduğu belirlenmiştir.
- *S. typhimurium* fesleğen esansiyel yağına karşı marul örneklerinde semizotu örneklerinde olduğundan daha fazla direnç göstermektedir. *E. coli* O157:H7'nin nane esansiyel yağına karşı gösterdiği direnç, semizotu örneklerinde marul örneklerinde olduğundan daha yüksektir.

Tüm bu sonuçlar doğrultusunda, bu araştırma, yapraklı sebzelerin dezenfeksiyonunda kullanılan klorlu su ile yıkama işlemine bir alternatif olabilecek nane ve fesleğen esansiyel yağlarının, yine yapraklı sebzelerden kaynaklanabilecek *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* risklerinin ortadan kaldırılması için ev koşullarında, sebze tüketilmeden hemen önce uygulanabilecek dezenfektanlar olarak düşünülebileceklerini ortaya koymuştur.

## KAYNAKLAR

- Achen, M., Yousef, A.E., 2001, Efficacy of Ozone Against *Escherichia coli* O157:H7 on Apples, Journal Of Food Science, 66: 9, 1380-1384.
- Akgül, A., 1993, Baharat Bilim ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 15, 128-133.
- Allende, A., Martinez, B., Selma, V., Gil, M. I., Suarez, J. E., Rodriguez, A., 2007, Growth and bacteriocin production by lactic acid bacteria in vegetable broth and their effectiveness at reducing *Listeri monocytogenes* in vitro and in fresh-cut lettuce, Food Microbiology, 24, 759-766.
- Allende, A., McEvoy, J. L., Luo, Y., Artes, F., Wang, C. Y., 2006, Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed "Red Oak Leaf" lettuce, Food Microbiology, 23, 241-249, (a).
- Allende, A., Tomas-Barberan, F. A., Gil, M. I. 2006, Minimal processing for healthy traditional foods, Trends in Food Science & Technology, 17, 513-519, (b).
- Andrews, W. H., 2000, Food Microbiology - Nondairy, Journal of AOAC International, 83, 495-529.
- Andrews, W. H., 1997, Microbiological Methods, AOAC Official Methods of Analysis, 17, 1-116.
- Andrews, W. H., 1999, Microbiological Methods, AOAC Official Methods of Analysis, 17, 1-116.
- Artes, F., Allende, A., 2005, Minimal fresh processing of vegetables, fruits and juices, Emerging Technologies for Food Processing, 26, 677-716.
- Ayala-Zavala, J. F., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A., Álvarez-Parrilla, E., Martín-Belloso, O., 2008, Bio-preservation of fresh-cut tomatoes using natural antimicrobials, Eur Food Res Technol, 226, 1047–1055.
- Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., Debevere, J., 2004, Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*, Food Microbiology, 21, 33–42.

Barriga M. I., G. T. C. Willemot, R. E. Simard., 1991. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmosphere, *Journal of Food Science.*, 56:6, 1586-1588.

Barry-Ryan, C., O'Beirne, D., 1999, Ascorbic acid retention in shredded iceberg lettuce as affected by minimal processing, *Journal of Food Science*, 64:3, 498-500.

Bassett, J., McClure, P., 2008, A risk assessment approach for fresh fruits, *Journal of Applied Microbiology*, ISSN 1364-5072, 1-19.

Beltran, D., Selma, M. V., Tudela, J. A., Gil, M. I., 2005, Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging, *Postharvest Biology and Technology*, 37, 37–46.

Bharathi, S., Ramesh, M. N., Varadaraj, M. C., 2001, Predicting the behavioural pattern of *Escherichia coli* in minimally processed vegetables, *Food Control*, 12, 275-284.

Brackett, R. E., 1999, Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce, *Postharvest Biology and Technology*, 15, 305-311.

Burt, S., 2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.

Campaniello, D., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., Corbo, M. R., 2008, Chitosan: Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries, *Food Microbiology*, doi:10.1016/j.fm.2008.06.009.

Carlin, F., Nguyen-The, C., Morris, C. E., 1996, Influence of background microflora on *Listeria monocytogenes* on minimally processed fresh broad-leaved endive (*Cichorium endivia var. latifolia*), *Journal of Food Protection*, 59:7, 698-703.

Ceylan, E., Fung, D. Y. C., 2004, Antimicrobial activity of spices, *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 12, 1-55.

Cha, D. S., Chinnan, M. S., 2004, Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 223–237.



Chang, J. M., Fang, T. J., 2007, Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars *Typhimurium* in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7, *Food Microbiology* 24, 745–751.

Conesa, A., Artes-Hernandez, F., Geysen, S., Nicolai, B., Artes, F., 2007, High oxygen combined with high carbon dioxide improves microbial and sensory quality of fresh-cut peppers, *Postharvest Biology and Technology*, 43, 230–237.

Corbo, M. R., Campaniello, D., D'amato, D., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., 2005, Behavior of *Listeria monocytogenes* And *Escherichia coli* O157:H7 In Fresh-Sliced Cactus-Pear Fruit, *Journal of Food Safety*, 25, 157–172.

Çetinkaya, F., Cibik, R., Soyutemiz, G. E., Ozakin, C., Kayali, R., Levent, B., 2007, Shigella and Salmonella contamination in various foodstuffs in Turkey, *Food Control*, doi:10.1016/j.foodcont.2007.11.004.

Daş, E., Gürakan, G. C., Bayındırlı, A., 2006, Effect of controlled storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella enteritidis* on cherry tomatoes, *Food Microbiology*, 23, 430-438.

Escalona, V. H., Geysen, S., Verlinden, B. E., Nicolai, B. M., 2005, Effect of High Oxygen and Carbon Dioxide Conditions on the Microbial Quality of Fresh-cut Butter Lettuce, *Post Harvest Technology, Information and Technology for Sustainable Fruit and Vegetable Production*, 111-118.

Eswaranandam, S., Hettiarachchy, N.S., Johnson, M.G., 2004, Antimicrobial Activity of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids and Nisin-incorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara*, *Journal Of Food Science*, 69:3, 79-84.

Finn, M., Upton, M., E., 1997, Survival of pathogens on modified atmosphere packaged shredded carrot and cabbage, *Journal of Food Protection*, 60:11, 1347-1350.

Francis, G. A., O'Beirne, D., 1998, Effect of the indigenous microflora of minimally processed lettuce on the survival and growth of *Listeria innocua*, *International Journal of Food Science and Technology*, 33, 477-488.

Francis, G. A., Thomas, C., O'Beirne, D., 1999, The microbiological safety of minimally processed vegetables, *International Journal of Food Science and Technology*, 34, 1-22.

Francis, G. A., O'Beirne, D., 2001, Effects of vegetable type, package atmosphere and storage temperature on growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 27, 111–116, (a).

Francis, G. A., O'Beirne, D., 2001, Effects of acid adaptation on survival of *Listeria monocytogenes* on modified atmosphere packaged vegetables, *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 477-487, (b).

Fyfe, L., Armstrong, F., Stewart, J., 1998, Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* by combinations of plant oils and derivatives of benzoic acid: the development of synergistic antimicrobial combinations, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 9, 195–199.

Gleeson, E., O'Beirne, D., 2005, Effects of process severity on survival and growth of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on minimally processed vegetables, *Food Control*, 16, 677-685.

Gonzalez-Fandos, E., Olarte, C., Gimenez, M., Sanz, S., Simon, A., 2001, Behaviour of *Listeria monocytogenes* in packaged fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*), *Journal of Applied Microbiology*, 91, 795-805.

Huang, C. C., Yang, Y. R., Liau, S. M., Chang, P. P., Cheng, C. Y., 2005, Development of a modified enrichment method for the rapid immunoassay of *Escherichia coli* O157:H7 strains in fresh cut vegetables, *Journal of Food and Drug Analysis*, 13:1, 64-70.

IFT/FDA Report on Task Order 4, 2003, Factors that influence microbial growth, *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 2, 21-32.

International Fresh-Cut Produce Association (IFPA), 2003, Fresh- cut products: Maintaining quality & safety, Technical publications on food safety, packaging; technical seminars, annual conference & expo, <http://www.freshcut.com/>

Jacxsens, L., Devlieghere, F., Debevere, J., 2002, Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce, *Postharvest Biology and Technology*, 26, 59-73.

Jacxsens, L., Devlieghere, F., Steen, C. V., Debevere, J., 2001, Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce, *International Journal of Food Microbiology*, 71,197–210.

Johannessen , G. S., Loncarevic, S., Kruse, H., 2002, Bacteriological analysis of fresh produce in Norway, *International Journal of Food Microbiology* 77, 199– 204.

Johnston, L. M., Jaykus, L. A., Moll, D., Martinez, M. C., Anciso, J., Mora, B., Moe, C. L., 2005, A field study of the microbiological quality of fresh produce, *Journal Of Food Protection*, 68:9, 1840-1847.

Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K., Nychas, G. J. E., 1999, A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial, *International Journal of Food Microbiology*, 49, 63–74.

Lapidot, A., Romling, U., Yaron, S., 2006, Biofilm formation and the survival of *Salmonella typhimurium* on parsley, *International Journal of Food Microbiology*, 109, 229-233.

Laurila, E., Ahvenainen, R., 2002, Minimal processing in practice, *Minimal Processing Technologies In The Food Industry*, 9, 1-26.

Luksiene, Z., Gudelis, V., Buchovec, I., Raudeliuniene, J., 2007, Advanced high-power pulsed light device to decontaminate food from pathogens: effects on *Salmonella typhimurium* viability in vitro, *Journal of Applied Microbiology* 103, 1545–1552.

Marino, M., Bersani, C., Comi, G., 2001, Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*, *International Journal of Food Microbiology*, 67,187–195.

Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaithanasan, V., Parker, M., 2006, Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions, *International Journal of Food Microbiology*, 107,180 – 185.

Mchugh, T. H., Senesi, E., 2000, Apple Wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples, *Journal of Food Science*, 65:3, 480-485.

Molinos, A. C., Abriouel, H., Omar, N. B., Valdivia, E., Lopez, R. L., Maqueda, M., Canamero, M. M., Galvez, A., 2005, Effect of Immersion Solutions Containing Enterocin AS-48 on *Listeriamonocytogenes* in Vegetable Foods, *Applied And Environmental Microbiology*, 71:12, 7781–7787.

Moreira, M. R., Ponceb, A. G., Vallea, C. E., Roura, S. I., 2005, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, *LWT*, 38, 565–570.

Odumeru, J. A., Mitchell, S. J., Alves, D. M., Lynch, J. A., Yee, A. J., Wang, S. L., Styliadis, S., Farber, J. M., 1997, Assessment of the microbiological quality of ready-to-use vegetables for health-care food services, *Journal of Food Protection*, 60, 954-960.

Olivas, G. I., Barbosa-Canovas, G. V., 2005, Edible coating for fresh-cut fruits, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 657-670.

Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008, Physiological and microbiological changes in fresh-cut pears stored in high oxygen active packages compared with low oxygen active and passive modified atmosphere packaging, *Postharvest Biology and Technology*, 48, 295–301.

Osornio, M. M. L., Chaves, A. R., 1997. Enhancement of Shelf life of grated beetroots, *Journal of Food Protection*, 60, 1230-1234.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M., 2007, Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, *Food Control* 18 (2007) 414–420.

Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N., Butsa, F.F., 2003, Methods to Reduce/ Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce, *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 2, 161-173.

Piagentini, A., Pirovani, M. E., Güemes, D. R., Pentima, J. H. D., Tessi, M. A., 1997, *Journal of Food Science*, 62:3, 616-618.

Pingulkar, K., Kamat, A., Bongirwar, D., 2001, Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52, 15– 23.

Ponce, A.G., Fritz, R., Valle, C., Roura, S.I., 2003, Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 36, 679–684.

Portela, S. I., Cantwell, M. I., 2001, Cutting blade sharpness affects appearance and other quality attributes of fresh-cut cantaloupe melon, *Journal of Food Science*, 66:9, 1265-1270.

Prakash, A., Guner, A. R., Caporaso, F., Foley, D. M., 2000, Effects of low-dose gamma irradiation on the shelf life and quality characteristics of cut romaine lettuce packaged under modified atmosphere, *Journal of Food Science*, 65:3, 549-553.

Reddy, M. V. B., Angers, P., Gosselin, A., Arul, J., 1998, Characterization And Use Of Essential Oil From *Thymus Vulgaris* Against *Botrytis Cinerea* And *Rhizopus Stolonifer* In Strawberry Fruits, *Phytochemistry*, 47:8,1515-1520.

Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007, Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review, *Trends in Food Science & Technology*, 18, 373-386.

Rivera, E. V., 2005, A review of chemical disinfection methods for minimally processed leafy vegetables, submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree master of science, Food Science Graduate Program College of Agriculture, Kansas State University.

Rosa, C., Sapata, M., Guerra, M. M., 2007, Chemical and sensory characteristics and microbiological safety of fresh finely chopped parsley packed in modified atmosphere, *Food Control*, 18, 1008-1012.

Sagun, E., Durmaz, H., Tarakci, Z., Sağdıç, O., 2006, Antibacterial Activities Of The Extracts Of Some Herbs Used In Turkish Herby Cheese Against *Listeria Monocytogenes* Serovars, *International Journal of Food Properties*, 9, 255–260.

Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., Özçelik, S., 2002, Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7, *Food Microbiology*, 19, 473-480.

Salleh , N. A., Rusul, G., Hassan, Z.,Reezal, A., Isa, S. H., Nishibuchi, M., Radu, S., 2003, Incidence of *Salmonella* spp. in raw vegetables in Selangor, Malaysia, *Food Control* 14, 475–479.

Sapers, G. M., Simmons, G. F., 1998, Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables, *52:2*, 48-52.

Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T., Rehder, V. L. G., 2004, Composition And Antimicrobial Activity Of Essential Oils From Aromatic Plants Used in Brazil, *Brazilian Journal of Microbiology*, 35, 275-280.

Selma, M. V., Beltran, D., Allende, A., Chacon-Vera, E., Gila, M. I., 2007, Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water, *Food Microbiology*, 24, 492–499.

Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K., Stroshine, R. L., 2002, Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 35, 720–729, (a).

Singh, N., Singh; R. K., Bhunia, A . K., Stroshine, R. L., 2002, Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce, *Food Microbiology*, 19, 183-193, (b).

Soliva-Fortuny, R. C., Elez-Martinez, P., Martin-Belloso, O., 2004, Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 215-224.

Soliva-Fortuny, R.C., Martin-Belloso, O., 2003, New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits, *Trends in Food Science & Technology*, 14, 341-353.

Şengün, I. Y., Karapinar, M., 2004, Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.), *International Journal of Food Microbiology*, 96, 301-305.

Şengün, I. Y., Karapinar, M., 2005, Effectiveness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella typhimurium* on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.), *International Journal of Food Microbiology*, 98, 319-323.

Şengün, I. Y., Karapinar, M., 2007, Antimicrobial effect of koruk (unripe grape—*Vitis vinifera*) juice against *Salmonella typhimurium* on salad vegetables, *Food Control*, 18, 702–706.

T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 2001, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Türk Gıda Kodeksi, 2001/19, 1-13.

Tassaou, C.C., Drosinos, E. H., Nychas, G. J. E., 1995, Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4°C and 10°C, *Journal of Applied Bacteriology*, 78, 593-600.

Torriani, S., Orsi, C., Vescovo, M., 1997, Potential of *Lactobacillus casei*, culture permeate, and lactic acid to control microorganisms in ready-to-use vegetables, *Journal of Food Protection*, 60:12, 1564-1567.

Ukuku, D. O., Sapers, G. M., 2007, Effect of time before storage and storage temperature on survival of *Salmonella* inoculated on fresh-cut melons, *Food Microbiology*, 24, 288-295.

Uyttendaele, M., Neyts, K., Vanderswalmen, H., Notebaert, E., J., Debevere, J., 2004, Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution, *International Journal of Food Microbiology*, 90, 263– 271.

Ünlütürk, A., Turantaş, F., 1999, Meyve- sebze ve ürünlerinde mikrobiyolojik bozulmalar ve muhafaza yöntemleri, *Gıda Mikrobiyolojisi*, 13, 317-359.

Vescovo, M., Scolari, G., Orsi, C., Sinigaglia, M., Torriani, S., 1997, Combined effects of *Lactobacillus casei* inoculum, modified atmosphere packaging and storage temperature in controlling *Aeromonas hydrophila* in ready-to-use vegetable, *International Journal of Food Science and Technology*, 32, 411-419.

Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M. J., 1998, The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*, *Journal of Applied Microbiology*, 84, 152-158.

Xu, W., Qu, W., Huang, K., Guo, F., Yang, J., Zhao, H., Luo, Y., 2007, Antibacterial effect of Grapefruit Seed Extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of

minimally processed vegetables, *Postharvest Biology and Technology*, doi:[10.1016/j.postharvbio.2006.11.019](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.019).

Yang, H., Cheng, Y., Swem, B. L., Li, Y., 2003, Efficacy of Cetylpyridinium Chlorine on *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* O157:H7 in Immersion Spray Treatment of Fresh Cut Lettuce, *Journal of Food Science*, 68:3, 1008-1012.

Zagory, D., 1999, Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations, *Postharvest Biology and Technology*, 15, 313-321.

Zhou, T., Harrison, A. D., McKellar, R., Young, J. C., Odumeru, J., Piyasena, P., Lu, X., Mercer, D. G., Karr, S., 2004. Determination of acceptability and shelf life of ready-to-use lettuce by digital image analysis, *Food Research International*, 37, 875-881.



## EKLER

**Ek.1.** Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin işlemede ve paketlemedeki tehlikeler, kritik kontrol noktaları, önleyici prosedürler ve kontrol prosedürleri (Laurila ve Ahvenainen, 2002)

Kritik operasyonel basamak	Tehlikeler	Kritik kontrol noktası veya noktaları	Önleyici ölçümler ve kontrol ölçümleri
Yetiştirme	Fekal patojenler ile kontaminasyon	Yetiştirme teknikleri	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kullanılan sentetik gübre*</li> <li>Sulama suyunun kaynağının denetimi*</li> <li>Kullanılan pestisitler</li> </ul>
	Böcekler ve fungal saldırılar		
Hasat	Mikrobiyal bozulma ve böcek saldırısı	Ürün olgunluğunun değerlendirilmesi	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hasat öncesi ulaştığı olgunluk</li> <li>Mekanik zararın minimuma indirilmesi</li> <li>Hasatın sabah veya akşam yapılması</li> <li>Çalışan toplayıcıların temel hijyen kuralları konusunda eğitilmesi</li> </ul>
	Çapraz bulaşma	İşleme uygulamaları	
		Sıcaklık kontrolü	
Nakliye	Mikrobiyal gelişim	Zaman/sıcaklık	<ul style="list-style-type: none"> <li>Düşük sıcaklıkta tutma</li> <li>Uzun uzak taşımacılıktan kaçınma</li> </ul>
	Çapraz bulaşma	Yükleme uygulamaları	<ul style="list-style-type: none"> <li>Taşıma konteynirlerinde tekdüze soğutmanın sağlanması</li> </ul>
		Ürün	
		Konteynir	<ul style="list-style-type: none"> <li>Konteynirlerin aşırı yüklenmesinden ve zarardan kaçınma</li> <li>Sağlam ve zarar görmüş ürünlerin ayrılması</li> <li>İyi bir şekilde yıkanmış / dezenfekte edilmiş konteynirlerin kullanılması</li> </ul>

Yıkama	Sudan kontaminasyon	Su	<ul style="list-style-type: none"> <li>İçilebilir su kullanımı, koliform bakterilerin varlığı düzenli olarak test edilmelidir</li> </ul>
		Yıkama uygulamaları	
		Fazla suyun uzaklaştırılması	<ul style="list-style-type: none"> <li>Klorlama ve antimikrobiyal özellikli sıvılara daldırma işlemleriyle mikrobiyal kontrol</li> <li>Suyun periyodik olarak değiştirilmesi/ yıkama tanklarının aşırı yüklenmemesi</li> <li>Fazla suyun uzaklaştırılması</li> </ul>
Sınıflandırma	Çapraz bulaşma	Sınıflandırıcı Aydınlatıcı	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ürünlerin denetiminde deneyimli çalışan ayırıcılar</li> <li>Uygun aydınlatılmanın sağlanması</li> <li>Temizleme ve dezenfeksiyonun periyodik olarak yapılması</li> </ul>
Paketleme	Mikrobiyal gelişim	Paketleme filmi	<ul style="list-style-type: none"> <li>Filmin geçirgenliğinin doğru bir şekilde seçilmesi</li> </ul>
		Bağıl nem ve sıcaklık kontrolü	<ul style="list-style-type: none"> <li>Basit tekniklerin kontrolü ile düzenli bir şekilde gaz kompozisyonunun analizi</li> <li>Fungisid içeren filmlerin kullanılması</li> <li>Islak ürünlerin fazla suyunun dikkatli bir şekilde yüzeylerinden uzaklaştırılması</li> <li>Buğulanmayan özelliğe sahip filmlerin kullanılması</li> <li>Düzenli aralıklarda ürün/depo sıcaklığı kontrolü</li> </ul>

---

Depolama / Dağıtım	Mikroorganizmaların gelişimi ve yayılması	Sıcaklık kontrolü  Işık  Tüketici uygulaması	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ürünlerin 0-5°C aralığında buzdolabında muhafazası</li><li>• Uygun sıcaklık kontrolü ile nemin yoğunlaşmasının önlenmesi</li><li>• Yoğunlaşma üzerinde ışığın etkisinin göz önüne alınması**</li><li>• Depolama koşulları için talimatlı etiket sağlanması</li></ul>
-----------------------	--	--	--

---

Not: \* Toprağa yakın yetiştirilen ve çiğ tüketilen ürünler için. \*\* Işık fotosentez yapan yeşil sebzelerin paketlenmesinde gaz kompozisyonunu etkileyebilir.

## Ek.2.

## The GLM Procedure

## Class Level Information

Class	Levels	Values
gun	5	0 1 3 5 7
bitki	2	marul semiz
yag	3	feslegen nane yok
sure	3	0 10 15
kon	4	0 0.01 0.032 0.08
pat	2	ecoli salmon

Number of observations  
The SAS System

780  
15:27 Saturday, July 8, 2000

102

## The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	259	1933.359576	7.464709	12.48	<.0001
Error	520	311.150371	0.598366		
Corrected Total	779	2244.509947			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.861373	30.60046	0.773541	2.527875

## The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
gun	4	28.804967	7.201242	12.03	<.0001
bitki	1	0.090184	0.090184	0.15	0.6980
gun*bitki	4	7.903341	1.975835	3.30	0.0109
yag	2	407.747738	203.873869	340.72	<.0001

## The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi (devamı)

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
gun*yag	8	2.514679	0.314335	0.53	0.8377
bitki*yag	2	31.231175	15.615587	26.10	<.0001
gun*bitki*yag	8	6.357492	0.794687	1.33	0.2268
sure	1	4.566401	4.566401	7.63	0.0059
gun*sure	4	0.394333	0.098583	0.16	0.9562
bitki*sure	1	0.518922	0.518922	0.87	0.3522
gun*bitki*sure	4	0.501934	0.125484	0.21	0.9330
yag*sure	1	0.036162	0.036162	0.06	0.8059
gun*yag*sure	4	0.732361	0.183090	0.31	0.8740
bitki*yag*sure	1	0.462231	0.462231	0.77	0.3799
gun*bitki*yag*sure	4	0.449200	0.112300	0.19	0.9448
kon	2	1147.522557	573.761278	958.88	<.0001
gun*kon	8	30.960278	3.870035	6.47	<.0001
bitki*kon	2	14.999871	7.499936	12.53	<.0001
gun*bitki*kon	8	9.827652	1.228456	2.05	0.0388
yag*kon	2	86.210490	43.105245	72.04	<.0001
gun*yag*kon	8	34.618172	4.327271	7.23	<.0001
bitki*yag*kon	2	20.226980	10.113490	16.90	<.0001
gun*bitki*yag*kon	8	6.427731	0.803466	1.34	0.2197
sure*kon	2	0.009148	0.004574	0.01	0.9924
gun*sure*kon	8	0.623591	0.077949	0.13	0.9979
bitki*sure*kon	2	1.004517	0.502259	0.84	0.4326
gun*bitki*sure*kon	8	0.967924	0.120990	0.20	0.9904
yag*sure*kon	2	0.115745	0.057872	0.10	0.9078
gun*yag*sure*kon	8	0.984141	0.123018	0.21	0.9899
bitki*yag*sure*kon	2	0.664436	0.332218	0.56	0.5743
gun*bit*yag*sure*kon	8	1.273719	0.159215	0.27	0.9765
pat	1	11.111100	11.111100	18.57	<.0001
gun*pat	4	2.057804	0.514451	0.86	0.4879
bitki*pat	1	21.203084	21.203084	35.43	<.0001
gun*bitki*pat	4	0.279160	0.069790	0.12	0.9766
yag*pat	2	2.344886	1.172443	1.96	0.1420

## The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi (devamı)

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
gun*yag*pat	8	0.776861	0.097108	0.16	0.9955
bitki*yag*pat	2	3.740385	1.870192	3.13	0.0447
gun*bitki*yag*pat	8	4.983030	0.622879	1.04	0.4039
sure*pat	1	0.087475	0.087475	0.15	0.7024
gun*sure*pat	4	0.053778	0.013445	0.02	0.9990
bitki*sure*pat	1	0.445289	0.445289	0.74	0.3887
gun*bitki*sure*pat	4	0.089084	0.022271	0.04	0.9974
yag*sure*pat	1	0.063385	0.063385	0.11	0.7450
gun*yag*sure*pat	4	0.698326	0.174581	0.29	0.8833
bitki*yag*sure*pat	1	0.111384	0.111384	0.19	0.6663
gun*bit*yag*sure*pat	4	0.815039	0.203760	0.34	0.8506
kon*pat	2	8.875347	4.437674	7.42	0.0007
gun*kon*pat	8	4.251575	0.531447	0.89	0.5261
bitki*kon*pat	2	1.388068	0.694034	1.16	0.3143
gun*bitki*kon*pat	8	4.625109	0.578139	0.97	0.4616
yag*kon*pat	2	2.049255	1.024627	1.71	0.1815
gun*yag*kon*pat	8	2.015536	0.251942	0.42	0.9085
bitki*yag*kon*pat	2	5.418630	2.709315	4.53	0.0112
gun*bitk*yag*kon*pat	8	2.295081	0.286885	0.48	0.8710
sure*kon*pat	2	0.396164	0.198082	0.33	0.7183
gun*sure*kon*pat	8	0.858081	0.107260	0.18	0.9937
bitki*sure*kon*pat	2	0.057392	0.028696	0.05	0.9532
gun*bit*sure*kon*pat	8	1.212505	0.151563	0.25	0.9799
yag*sure*kon*pat	2	0.252351	0.126175	0.21	0.8100
gun*yag*sure*kon*pat	8	1.075718	0.134465	0.22	0.9864
bit*yag*sure*kon*pat	2	0.150469	0.075235	0.13	0.8819
gu*bi*ya*sur*kon*pat	8	0.830152	0.103769	0.17	0.9943

The SAS System 06:29 Saturday, October 6, 2001 8

The GLM Procedure

t Tests (LSD) for patsayi

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	520
Error Mean Square	0.598366
Critical Value of t	1.96454
Least Significant Difference	0.1721

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	gun
A	2.77657	156	0
A			
B A	2.65227	156	1
B			
B	2.60413	156	3
C	2.31984	156	5
C			
C	2.28656	156	7

The SAS System 06:29 Saturday, October 6, 2001 9

The GLM Procedure

t Tests (LSD) for patsayi

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	520
Error Mean Square	0.598366
Critical Value of t	1.96454
Least Significant Difference	0.1088

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	bitki
A	2.53863	390	semiz
A	2.51712	390	marul

The SAS System 06:29 Saturday, October 6, 2001 21

The GLM Procedure

t Tests (LSD) for patsayi

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	520
Error Mean Square	0.598366
Critical Value of t	1.96454
Least Significant Difference	0.1088

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	pat
A	2.64723	390	salmon
B	2.40852	390	ecoli

**Ek 3.**

The CORR Procedure

2 Variables: karbon patsayi

Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Sum	Minimum	Maximum
karbon	780	1.12397	0.86486	876.70000	0	4.30000
patsayi	780	2.49026	1.71125	1942	-0.15490	4.99123

Pearson Correlation Coefficients, N = 780

Prob > |r| under H0: Rho=0

	karbon	patsayi
karbon	1.00000	0.14874



<.0001

patsayi	0.14874	1.00000
		<.0001

**Ek 4.**

## The CORR Procedure

2 Variables: oksijen patsayi

## Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Sum	Minimum	Maximum
oksijen	780	14.92167	7.69919	11639	0	21.00000
patsayi	771	2.51638	1.70382	1940	0	4.99123

## Pearson Correlation Coefficients

Prob > |r| under H0: Rho=0  
Number of Observations

	oksijen	patsayi
oksijen	1.00000	-0.14953
		<.0001
	780	771
patsayi	-0.14953	1.00000
	<.0001	
	771	771

**Ek 5.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

**0. gün için;**

The SAS System 18:44 Saturday, September 29, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	18.34262344	3.05710391	2.77	0.0543
Error	14	15.43225032	1.10230359		
Corrected Total	20	33.77487375			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.543085	30.16276	1.049906	3.480804

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	18.22219136	6.07406379	5.51	0.0104
sure	1	0.03806280	0.03806280	0.03	0.8552
con*sure	2	0.08236928	0.04118464	0.04	0.9634

**1. gün için;**

The SAS System 18:51 Saturday, September 29, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	18.85035270	3.14172545	2.24	0.1005
Error	14	19.64854048	1.40346718		
Corrected Total	20	38.49889318			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.489634	30.51427	1.184680	3.882381

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	18.58405873	6.19468624	4.41	0.0220
sure	1	0.00087393	0.00087393	0.00	0.9804
con*sure	2	0.26542005	0.13271002	0.09	0.9104

### 3.gün için;

The SAS System 18:56 Saturday, September 29, 2001 2

#### The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	15.74435804	2.62405967	1.90	0.1504
Error	14	19.29185090	1.37798935		
Corrected Total	20	35.03620894			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.449374	31.99069	1.173878	3.669436

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	15.71018632	5.23672877	3.80	0.0349
sure	1	0.00000697	0.00000697	0.00	0.9982
con*sure	2	0.03416475	0.01708238	0.01	0.9877

**5. gün için;**

The SAS System 18:59 Saturday, September 29, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	18.31406332	3.05234389	2.16	0.1108
Error	14	19.81819948	1.41558568		
Corrected Total	20	38.13226280			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.480277	32.70049	1.189784	3.638428

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	18.04411689	6.01470563	4.25	0.0249
sure	1	0.01835643	0.01835643	0.01	0.9110
con*sure	2	0.25159000	0.12579500	0.09	0.9155

**7.gün için;**

The SAS System 19:01 Saturday, September 29, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	13.39999200	2.23333200	1.42	0.2761
Error	14	22.07938982	1.57709927		
Corrected Total	20	35.47938183			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.377684	35.83846	1.255826	3.504130

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	13.19517863	4.39839288	2.79	0.0793
sure	1	0.03255910	0.03255910	0.02	0.8878
con*sure	2	0.17225428	0.08612714	0.05	0.9471

**Ek 6.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 18:00 Sunday, September 30, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	4.36788417	0.72798070	3.42	0.0272
Error	14	2.98001711	0.21285837		
Corrected Total	20	7.34790128			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.594440	15.29449	0.461366	3.016549

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	4.15954391	1.38651464	6.51	0.0055
sure	1	0.02075825	0.02075825	0.10	0.7594
con*sure	2	0.18758200	0.09379100	0.44	0.6523

**1. gün için;**

The SAS System

18:06 Sunday, September 30, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	24.51997980	4.08666330	4.35	0.0110
Error	14	13.14865309	0.93918951		
Corrected Total	20	37.66863289			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.650939	32.62507	0.969118	2.970470

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	23.51015081	7.83671694	8.34	0.0020
sure	1	0.30517682	0.30517682	0.32	0.5777
con*sure	2	0.70465217	0.35232609	0.38	0.6939

**3.gün için;**

The SAS System

18:08 Sunday, September 30, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	39.93093346	6.65515558	9.71	0.0003
Error	14	9.59790075	0.68556434		
Corrected Total	20	49.52883421			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.806216	28.08309	0.827988	2.948351

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	39.01035718	13.00345239	18.97	<.0001
sure	1	0.16139513	0.16139513	0.24	0.6350
con*sure	2	0.75918115	0.37959058	0.55	0.5869

### 5. gün için;

The SAS System 19:51 Sunday, September 30, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	28.98310945	4.83051824	6.38	0.0021
Error	14	10.59926898	0.75709064		
Corrected Total	20	39.58237843			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.732223	32.45920	0.870110	2.680625

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	28.21630230	9.40543410	12.42	0.0003
sure	1	0.37788732	0.37788732	0.50	0.4915
con*sure	2	0.38891984	0.19445992	0.26	0.7770

### 7. gün için;

The SAS System 19:59 Sunday, September 30, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	26.15850795	4.35975132	4.99	0.0063
Error	14	12.24108894	0.87436350		
Corrected Total	20	38.39959689			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.681218	36.08633	0.935074	2.591214

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	25.42412844	8.47470948	9.69	0.0010
sure	1	0.04801425	0.04801425	0.05	0.8181
con*sure	2	0.68636525	0.34318263	0.39	0.6826

**Ek 7.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 20:33 Sunday, September 30, 2001 2

#### The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	18.34262344	3.05710391	2.77	0.0543
Error	14	15.43225032	1.10230359		
Corrected Total	20	33.77487375			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.543085	30.16276	1.049906	3.480804

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	18.22219136	6.07406379	5.51	0.0104
sure	1	0.03806280	0.03806280	0.03	0.8552
con*sure	2	0.08236928	0.04118464	0.04	0.9634



**1.gün için;**

The SAS System 20:39 Sunday, September 30, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	23.11109524	3.85184921	5.01	0.0062
Error	14	10.77094469	0.76935319		
Corrected Total	20	33.88203993			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.682105	27.93726	0.877128	3.139634

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	22.97787653	7.65929218	9.96	0.0009
sure	1	0.09273230	0.09273230	0.12	0.7336
con*sure	2	0.04048641	0.02024321	0.03	0.9741

**3.gün için;**

The SAS System 17:03 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	47.05292267	7.84215378	35.79	<.0001
Error	14	3.06754096	0.21911007		
Corrected Total	20	50.12046363			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.938797	17.05425	0.468092	2.744723

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	46.25803647	15.41934549	70.37	<.0001
sure	1	0.52557220	0.52557220	2.40	0.1437
con*sure	2	0.26931400	0.13465700	0.61	0.5548

### 5. gün için;

The SAS System 17:15 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	47.82103795	7.97017299	28.37	<.0001
Error	14	3.93312227	0.28093731		
Corrected Total	20	51.75416022			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.924004	20.18642	0.530035	2.625702

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	47.22753360	15.74251120	56.04	<.0001
sure	1	0.41248477	0.41248477	1.47	0.2457
con*sure	2	0.18101958	0.09050979	0.32	0.7298

### 7. gün için;

The SAS System 17:18 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	56.44888746	9.40814791	40.91	<.0001
Error	14	3.21942970	0.22995926		
Corrected Total	20	59.66831716			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.946045	19.23966	0.479541	2.492459

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	55.87587593	18.62529198	80.99	<.0001
sure	1	0.37214894	0.37214894	1.62	0.2241
con*sure	2	0.20086259	0.10043129	0.44	0.6547

**Ek 8.** Farklı konsantrasyonlardaki fesleğen esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisini depolama günleri sabit tutulara yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 17:36 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	13.47194062	2.24532344	30.57	<.0001
Error	14	1.02817549	0.07344111		
Corrected Total	20	14.50011611			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.929092	7.697514	0.271000	3.520620

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	11.86347113	3.95449038	53.85	<.0001
sure	1	1.15168501	1.15168501	15.68	0.0014
con*sure	2	0.45678448	0.22839224	3.11	0.0763

**1. gün için;**

The SAS System 17:41 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	30.93882316	5.15647053	11.10	0.0001
Error	14	6.50262114	0.46447294		
Corrected Total	20	37.44144431			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.826326	22.55525	0.681523	3.021570

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	30.78381506	10.26127169	22.09	<.0001
sure	1	0.09001879	0.09001879	0.19	0.6665
con*sure	2	0.06498932	0.03249466	0.07	0.9328

**3. gün için;**

The SAS System 17:44 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	35.27465726	5.87910954	10.00	0.0002
Error	14	8.23245563	0.58803254		
Corrected Total	20	43.50711289			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.810779	25.53742	0.766833	3.002781

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	34.90513375	11.63504458	19.79	<.0001
sure	1	0.28733269	0.28733269	0.49	0.4960
con*sure	2	0.08219082	0.04109541	0.07	0.9328

### 5. gün için;

The SAS System 17:50 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	42.85252054	7.14208676	51.53	<.0001
Error	14	1.94050544	0.13860753		
Corrected Total	20	44.79302598			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.956678	13.25526	0.372300	2.808699

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	42.62884605	14.20961535	102.52	<.0001
sure	1	0.10569558	0.10569558	0.76	0.3973
con*sure	2	0.11797891	0.05898945	0.43	0.6616

### 7. gün için;

The SAS System 17:53 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	52.72728518	8.78788086	106.05	<.0001
Error	14	1.16007894	0.08286278		

Corrected Total 20 53.88736412

R-Square Coeff Var Root MSE patsayi Mean  
0.978472 10.59432 0.287859 2.717105

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	52.06625686	17.35541895	209.45	<.0001
sure	1	0.33737835	0.33737835	4.07	0.0632
con*sure	2	0.32364997	0.16182498	1.95	0.1786

**Ek 9.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 18:14 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	64.57886480	10.76314413	96.59	<.0001
Error	14	1.56005141	0.11143224		
Corrected Total	20	66.13891622			

R-Square Coeff Var Root MSE patsayi Mean  
0.976413 13.32443 0.333815 2.505284

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	64.51226670	21.50408890	192.98	<.0001
sure	1	0.03426569	0.03426569	0.31	0.5880
con*sure	2	0.03233241	0.01616621	0.15	0.8662

**1. gün için;**

The SAS System 18:18 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	71.46043077	11.91007180	11.17	0.0001
Error	14	14.92340325	1.06595737		
Corrected Total	20	86.38383402			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.827243	41.55646	1.032452	2.484457

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	70.71776894	23.57258965	22.11	<.0001
sure	1	0.47922474	0.47922474	0.45	0.5134
con*sure	2	0.26343709	0.13171854	0.12	0.8847

**3. gün için;**

The SAS System 18:25 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	74.20322820	12.36720470	17.26	<.0001
Error	14	10.03137801	0.71652700		
Corrected Total	20	84.23460621			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.880911	35.60483	0.846479	2.377428

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	74.17408293	24.72469431	34.51	<.0001
sure	1	0.01317974	0.01317974	0.02	0.8940
con*sure	2	0.01596553	0.00798276	0.01	0.9889

**5. gün için;**

The SAS System 18:28 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	98.2357860	16.3726310	128.04	<.0001
Error	14	1.7902275	0.1278734		
Corrected Total	20	100.0260135			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.982102	19.17083	0.357594	1.865302

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	98.22827576	32.74275859	256.06	<.0001
sure	1	0.00250342	0.00250342	0.02	0.8907
con*sure	2	0.00500684	0.00250342	0.02	0.9806

**7. gün için;**

The SAS System 18:34 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	103.9621602	17.3270267	107.54	<.0001
Error	14	2.2557340	0.1611239		
Corrected Total	20	106.2178943			



		R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
		0.978763	20.89224	0.401402	1.921299
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	103.7450789	34.5816930	214.63	<.0001
sure	1	0.0723604	0.0723604	0.45	0.5137
con*sure	2	0.1447209	0.0723604	0.45	0.6471

**Ek 10.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan marul örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 18:54 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	49.24584840	8.20764140	11.15	<0.0001
Error	14	10.30202795	0.73585914		
Corrected Total	20	59.54787635			

		R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
		0.826996	46.29059	0.857822	1.853125
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	47.97779067	15.99259689	21.73	<.0001
sure	1	0.44459495	0.44459495	0.60	0.4499
con*sure	2	0.82346278	0.41173139	0.56	0.5837

**1. gün için;**

The SAS System 18:58 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	54.07378382	9.01229730	10.41	0.0002
Error	14	12.12601676	0.86614405		
Corrected Total	20	66.19980058			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.816827	51.79576	0.930669	1.796805

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	53.40584115	17.80194705	20.55	<.0001
sure	1	0.26928773	0.26928773	0.31	0.5859
con*sure	2	0.39865495	0.19932747	0.23	0.7974

**3. gün için;**

The SAS System 19:07 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	53.80294797	8.96715799	23.88	<.0001
Error	14	5.25759569	0.37554255		
Corrected Total	20	59.06054366			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.910980	27.00528	0.612815	2.269243

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	49.94368514	16.64789505	44.33	<.0001
sure	1	1.45709179	1.45709179	3.88	0.0690
con*sure	2	2.40217103	1.20108552	3.20	0.0718

**5. gün için;**

The SAS System 19:12 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	64.71567275	10.78594546	70.14	<.0001
Error	14	2.15276555	0.15376897		
Corrected Total	20	66.86843830			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.967806	25.82424	0.392134	1.518472

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	64.70342653	21.56780884	140.26	<.0001
sure	1	0.00408207	0.00408207	0.03	0.8729
con*sure	2	0.00816415	0.00408207	0.03	0.9739

**7. gün için;**

The SAS System 19:18 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	81.87005481	13.64500913	87.94	<.0001
Error	14	2.17230157	0.15516440		
Corrected Total	20	84.04235638			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.974152	23.41518	0.393909	1.682281

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	81.77587106	27.25862369	175.68	<.0001
sure	1	0.03139458	0.03139458	0.20	0.6597
con*sure	2	0.06278917	0.03139458	0.20	0.8192

**Ek 11.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 19:37 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	51.39046897	8.56507816	22.02	<.0001
Error	14	5.44573570	0.38898112		
Corrected Total	20	56.83620467			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.904185	24.40792	0.623684	2.555250

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	49.44871472	16.48290491	42.37	<.0001
sure	1	1.83814930	1.83814930	4.73	0.0474
con*sure	2	0.10360494	0.05180247	0.13	0.8764

**1. gün için;**

The SAS System 19:43 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	57.61132325	9.60188721	11.77	<.0001
Error	14	11.42495339	0.81606810		
Corrected Total	20	69.03627665			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.834508	37.37664	0.903365	2.416924

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	57.03447999	19.01149333	23.30	<.0001
sure	1	0.23566332	0.23566332	0.29	0.5994
con*sure	2	0.34117995	0.17058998	0.21	0.8139

**3. gün için;**

The SAS System 22:22 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	59.67668130	9.94611355	11.86	<.0001
Error	14	11.73624027	0.83830288		
Corrected Total	20	71.41292157			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.835657	38.63665	0.915589	2.369742

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	59.30752593	19.76917531	23.58	<.0001
sure	1	0.20597470	0.20597470	0.25	0.6278
con*sure	2	0.16318067	0.08159033	0.10	0.9079

**5. gün için;**

The SAS System 22:42 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	59.43270409	9.90545068	13.90	<.0001
Error	14	9.97633204	0.71259515		
Corrected Total	20	69.40903613			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.856268	36.02210	0.844154	2.343432

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	59.23126862	19.74375621	27.71	<.0001
sure	1	0.08539125	0.08539125	0.12	0.7344
con*sure	2	0.11604421	0.05802211	0.08	0.9222

**7. gün için;**

The SAS System 23:14 Monday, October 1, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	61.55353192	10.25892199	13.64	<.0001
Error	14	10.52863873	0.75204562		

Corrected Total 20 72.08217065

R-Square Coeff Var Root MSE patsayi Mean  
0.853936 38.88277 0.867206 2.230308

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	61.53982033	20.51327344	27.28	<.0001
sure	1	0.00168395	0.00168395	0.00	0.9629
con*sure	2	0.01202764	0.00601382	0.01	0.9920

**Ek 12.** Farklı konsantrasyonlardaki nane esansiyel yağı sulu süspansiyonlarının depolanan semizotu örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antimikrobiyal etkisinin depolama günleri sabit tutularak yapılan istatistiksel analizleri

### 0. gün için;

The SAS System 00:04 Tuesday, October 2, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	53.36352308	8.89392051	167.96	<.0001
Error	14	0.74134713	0.05295337		
Corrected Total	20	54.10487021			

R-Square Coeff Var Root MSE patsayi Mean  
0.986298 8.177333 0.230116 2.814071

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	52.80126397	17.60042132	332.38	<.0001
sure	1	0.32771178	0.32771178	6.19	0.0261
con*sure	2	0.23454733	0.11727366	2.21	0.1460

**1. gün için;**

The SAS System 00:19 Tuesday, October 2, 2001 2

## The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	57.54027647	9.59004608	424.11	<.0001
Error	14	0.31656811	0.02261201		
Corrected Total	20	57.85684458			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.994528	5.894791	0.150373	2.550946

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	57.42058336	19.14019445	846.46	<.0001
sure	1	0.07830283	0.07830283	3.46	0.0839
con*sure	2	0.04139027	0.02069514	0.92	0.4231

**3. gün için;**

The SAS System 00:19 Tuesday, October 2, 2001 4

## The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	58.75587824	9.79264637	806.16	<.0001
Error	14	0.17006269	0.01214733		
Corrected Total	20	58.92594092			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.997114	4.422738	0.110215	2.492007



Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	58.72524730	19.57508243	1611.47	<.0001
sure	1	0.02462513	0.02462513	2.03	0.1764
con*sure	2	0.00600580	0.00300290	0.25	0.7843

**5. gün için;**

The SAS System 00:19 Tuesday, October 2, 2001 6

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	59.55484864	9.92580811	14.27	<.0001
Error	14	9.73816333	0.69558309		
Corrected Total	20	69.29301196			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.859464	37.75582	0.834016	2.208974

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	59.54628973	19.84876324	28.54	<.0001
sure	1	0.00562397	0.00562397	0.01	0.9296
con*sure	2	0.00293494	0.00146747	0.00	0.9979

**7. gün için;**

The SAS System 00:45 Saturday, October 6, 2001 2

The GLM Procedure

Dependent Variable: patsayi

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	59.81797566	9.96966261	14.31	<.0001
Error	14	9.75213435	0.69658103		
Corrected Total	20	69.57011001			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	patsayi Mean
0.859823	37.89054	0.834614	2.202698

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
con	3	59.81131367	19.93710456	28.62	<.0001
sure	1	0.00095537	0.00095537	0.00	0.9710
con*sure	2	0.00570662	0.00285331	0.00	0.9959