



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAHİNDE *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp.
GELİŞİMİNİN BAZI ANTAGONİSTİK
MİKROORGANİZMALARLA ÖNLENMESİ**

ELİF ESEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2021

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAHİNDE *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp.
GELİŞİMİNİN BAZI ANTAGONİSTİK
MİKROORGANİZMALARLA ÖNLENMESİ**

ELİF ESEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

ELİF ESEN



Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Birimi (BAP Proje No: 2020/3-13 YLS) tarafından desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bilgilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**TAHİNDE *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. GELİŞİMİNİN BAZI
ANTAGONİSTİK MİKROORGANİZMALARLA ÖNLENMESİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

ELİF ESEN

ÖZET

Bu çalışmada, tahinde görülen *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. kontaminasyonunun biyokontrolünün sağlanması hedeflenmiştir. Bu amaçla, Kahramanmaraş piyasasından 10 farklı tahin örneği temin edilmiş ve *Salmonella* spp., *Listeria* spp., TMAB, maya-küf, *Staphylococcus* spp. ve koliform bakteri sayımları yapılmıştır. *Lactiplantibacillus plantarum* ve *Companilactobacillus alimentarius* suşlarının *Salmonella typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* suşlarına karşı antagonistik etkileri belirlenmiştir. Tahin örneklerinden patojen mikroorganizma içermeyenlerden biri seçilerek içine farklı kombinasyonlarda antagonistik laktik asit bakterileri (LAB), *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes* 6 log kob/g olacak şekilde ilave edilmiş ve 28 gün oda sıcaklığında depolanmıştır. Depolanan örneklerden ilk gün dahil olmak üzere 7., 14., 21. ve 28. günlerde inoküle edilen tüm mikroorganizmaların sayıları tespit edilmiştir.

Piyasadan temin edilen tahin örneklerinden 3 tanesinde koagülaz pozitif ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, 1 tanesinde koliform grubu bakteri tespit edilmiştir. Bir örnekte de *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* bulunmuştur. Örneklerin TMAB ve maya-küf sayısı ortalamaları sırasıyla 3,50 ve 3,39 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Patojenlere karşı besiyeri ortamında *L. plantarum* suşları, *C. alimentarius* suşlarına göre daha güçlü antagonist etki göstermiştir. Depolama sonunda tahin içerisinde, her iki patojene karşı en yüksek antagonist etkiyi *L. plantarum* göstermiştir. *S. typhimurium* ile kontamine olduğu tespit edilen piyasa örneğindeki depolama sonucunda *L. plantarum* inoküle edilmiş olan grupta 3. hafta sonunda *Salmonella* spp. tespit edilememiştir.

Ayrıca tahin örneklerinin ağır metal içeriği açısından Türk Gıda Kodeksi Tahin Tebliği'ne uygun olup olmadığının belirlenebilmesi için de arsenik, bakır, demir ve kurşun varlığı araştırılmıştır. Ortalama As, Cu, Fe ve Pb içeriği sırasıyla 0,229, 14,956, 62,395 ve 2,306 ppm olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tahin, *Salmonella*, *Listeria*, antagonist bakteri, *L. plantarum*.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Mayıs / 2021

Danışman: Prof. Dr. Özlem TURGAY

Sayfa sayısı: 53

PREVENTION OF *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. GROWTH IN TAHINI

WITH SOME ANTAGONISTIC MICROORGANISMS

(M.Sc. THESIS)

ELİF ESEN

ABSTRACT

In this study, it was aimed to provide biocontrol of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. contamination in tahini. For this purpose, 10 different tahini samples were obtained from Kahramanmaraş market and enumeration of *Salmonella* spp., *Listeria* spp., TMAB, yeast-mold, *Staphylococcus* spp. and coliform bacteria were made. Antagonistic effects of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Companilactobacillus alimentarius* strains against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* strains were determined. One of the tahini samples, which does not contain pathogenic microorganisms, was selected and different combinations of antagonistic lactic acid bacteria (LAB), *S. typhimurium* and *L. monocytogenes* were added at 6 log cfu/g and stored at room temperature for 28 days. The numbers of all microorganisms inoculated on the 7th, 14th, 21st and 28th days, including the first day, were determined from the stored samples.

Coagulase positive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* were detected in 3 of the tahini samples obtained from the market, and coliform group bacteria were detected in 1 of them. *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* was also found in one specimen. The mean TMAB and yeast-mold counts of the samples were determined as 3.50 and 3.39 log cfu/g, respectively. *L. plantarum* strains showed stronger antagonistic effects than *C. alimentarius* strains against pathogens in the medium. At the end of storage, *L. plantarum* showed the highest antagonist effect against both pathogens in tahini. As a result of storage in the market sample, which was found to be contaminated with *S. typhimurium*, *Salmonella* spp. could not be detected.

In addition, the presence of arsenic, copper, iron and lead was investigated in order to determine whether the tahini samples comply with the Turkish Food Codex Tahini Communique in terms of heavy metal content. The average As, Cu, Fe and Pb contents were found to be 0.229, 14,956, 62.395 and 2.306 ppm, respectively.

Keywords: Tahini, *Salmonella*, *Listeria*, antagonist bacteria, *L. plantarum*.

Kahramanmaraş Sütçü İmam University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering, May / 2021

Supervisor: Prof. Dr. Özlem TURGAY

Page number: 53

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana inanıp güvenen, fikirleriyle ufkumu açan ve en zor zamanlarımda anneliğini yürekten hissettiren kıymetli danışmanım Prof. Dr. Özlem TURGAY'a,

Eğitimime başlamamda beni cesaretlendiren, her aşamada üzerimden elini çekmeyen ve çalışmalarım sırasında çocuklara yokluğumu hissettirmeyen canım eşim Öğr. Gör. Dr. Yusuf ESEN'e,

Tez konumu araştırırken mesleki deneyimlerini benimle paylaşarak katkı sağlayan canım dostum Sevtap ERTEKİN'e,

Ders dönemimde sabırla yolumu gözleyen ve çalışmama izin veren oğullarım Ahmet Çağan ve Ali Çınar'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana uygun ortam sağlayan ve yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Elif ÇELİK'e ve

Çalışmamızı maddi olarak destekleyen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne yürekten teşekkür ederim.

Elif ESEN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM	9
3.1. Materyal	9
3.2. Yöntem.....	9
3.2.1. Fizikokimyasal analizler.....	9
3.2.2. Mikrobiyolojik analizler	10
3.2.3. İzolasyon ve tanımlama analizleri	11
3.2.4. Antagonist aktivite testleri.....	13
3.2.5. Tahin örneklerine antagonist ve patojen suşların inokülasyonu ve depolama	14
3.2.6. İstatistiksel hesaplamalar	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
4.1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları.....	17
4.1.1. ICP-MS ile ağır metal tayini sonuçları	17
4.2. Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları.....	19
4.3. Tahin Örneklerinde İzolasyon ve Tanımlama Sonuçları	24
4.4. Antagonist Aktivite Testi Sonuçları.....	25
4.5. Antagonist İlavesi Yapılmış Tahinlerde Depolama Süresince Gözlenen Değişimler.....	27
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tahin üretim akış şeması.....	3
Şekil 4.1. Metisilin direnci olan ve olmayan kolonilerin karşılaştırılması.....	22
Şekil 4.2. TSI agar testi sonucunda Salmonella negatif ve pozitif olan tüpler.....	24
Şekil 4.3. 16S PCR metoduyla amplifiye edilen DNA'ların UV ışık altındaki görüntüleri.	25
Şekil 4.4. LAB suşlarının referans patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisini gösteren inhibisyon zonları.	26
Şekil 4.5. Depolama boyunca TR kodlu örnekte gözlemlenen Salmonella spp. değişimleri.	30



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Antagonist LAB suşlarının ürettikleri antimikrobiyal metabolitler	14
Çizelge 4.1. Tahin örneklerindeki As, Cu, Fe ve Pb düzeyleri.	17
Çizelge 4.2. Tahin örneklerinin As, Cu, Fe ve Pb içeriği ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlar	18
Çizelge 4.3. Tahin örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçları	20
Çizelge 4.4. Tahin örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.	20
Çizelge 4.5. Susam örnekleri ve bunlardan üretilen tahinlerin mikrobiyolojik sayım sonuçlarının karşılaştırması.	22
Çizelge 4.6. Susamların ve bunlardan üretilen tahinlerin mikrobiyal yüklerinin karşılaştırılması için yapılan Independent-t testi sonuçları	23
Çizelge 4.7. Tahin örneklerinin tüm parametreleri arasındaki korelasyon tablosu	23
Çizelge 4.8. LAB suşlarının referans patojen suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	25
Çizelge 4.9. Tahin örneklerine inoküle edilen LAB sayılarının depolama boyunca değişimleri.	27
Çizelge 4.10. Tahin örneklerinin depolama boyunca pH değişimleri.	29
Çizelge 4.11. Tahin örneklerinde depolama boyunca <i>Salmonella</i> spp. sayısı değişimleri.	29
Çizelge 4.12. Tahin örneklerinde depolama boyunca <i>Listeria</i> spp. sayısı değişimleri.	31

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AL	: <i>C. alimentarius</i> bulunan grup
As	: Arsenik
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
a_w	: Su aktivitesi
CO	: Tarçın yağı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
g (santrifüj)	: Santrifüjde, örneği bileşenlerine ayıran fiziksel etki
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HNO₃	: Nitrik asit
ICP-MS	: İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
kob	: Koloni oluşturan birim
LAB	: Laktik asit bakterileri
Lİ	: <i>L. monocytogenes</i> bulunan grup
log	: Logaritma
M	: Molar
MRS	: De Man, Rogosa ve Sharpe Agar
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
NCTC	: Ulusal tip kültürleri koleksiyonu
p	: İstatistiksel önem (Probabilty-Olasılık)
Pb	: Kurşun
PCA	: Plate Count Agar
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Potato Dekstroz Agar
PL	: <i>L. plantarum</i> bulunan grup
ppm	: Milyonda bir birim
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SL	: <i>S. typhimurium</i> bulunan grup
spp.	: Tür

SSA	: Salmonella Shigella Agar
TMAB	: Toplam mezofilik aerobik bakteri
TO	: Kekik yağı
TSB	: Tryptone Soya Broth
TSI	: Tripple Sugar Iron Agar
UV	: Ultraviyole
VRBA	: Violet Red Bile Agar



1. GİRİŞ

Susam, dünyada kültüre alınan ilk yağlı tohum bitkisi olarak bilinmekte ve 5000 yıldan uzun süredir tüketilmektedir. Bu nedenle çok çeşitli kullanım alanlarına sahiptir (Batu ve Elyıldırım, 2009). Ülkemizde susam üretimi çok yüksek düzeylerde olmamasına rağmen birçok farklı sektörde sıklıkla ham madde ya da yarı mamul olarak kullanılmaktadır. Bu sebeple Türkiye, dünyada en çok susam ithal eden ülkeler arasında bulunmaktadır (Anonim, 2021). Değerli bir yağ kaynağı olmasının yanı sıra insan sağlığı açısından sahip olduğu özellikleri ve lezzeti sebebiyle unlu mamullerde, şekerlemelerde, tatlılarda ve soslarda da kullanılmaktadır (Çiftçi ve ark., 2008). Susamdan elde edilen yağ gıda sektörünün yanı sıra kozmetik, farmasötik, insektisit ve boya sektörlerinde de ham madde olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisindeki en önemli kullanım alanlarından bir tanesi ise tahin üretimidir (Güven ve ark., 2007).

Susam tohumlarının (*Sesamum indicum* L.) tekniğine uygun olarak kabukları ayrıldıktan ve fırında kurutulup kavrulduktan sonra değirmende ezilmesi ile elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2015a). Özellikle Orta Doğu ülkeleri başta olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde ve Türkiye’de beğenilerek tüketilen geleneksel gıdalarımızdan biri olan tahin, yüksek besin değeri ve ucuz olması nedeniyle ideal bir gıda olarak bilinmektedir (Ceyhun, 2003; Var ve ark., 2007). Tahinin bileşiminde en az %50 susam yağı, en çok %1,5 nem, en az %20 protein, en çok %3,2 kül bulunmaktadır ve ayrıca oleik asit cinsinden asitlik oranı da en çok %2,4 olmalıdır (Anonim, 2015a). Tahinde yağ, yüksek değerli protein (metionin) ve B vitaminlerinin bulunması, bu ürünü insan beslenmesi açısından ayrıca değerli kılmaktadır (Karakahya, 2006). Ülkemizde şeker, bal veya pekmeze karıştırılarak fazlaca tüketilmekte; yöresel mutfaklarda da humus, tahinli çörek v.b. yemeklerin, tatlıların yapımında kullanılmaktadır (Özcan, 1993). Fakat en çok kullanıldığı alan tahin helvası üretimidir (Batu ve Elyıldırım, 2009).

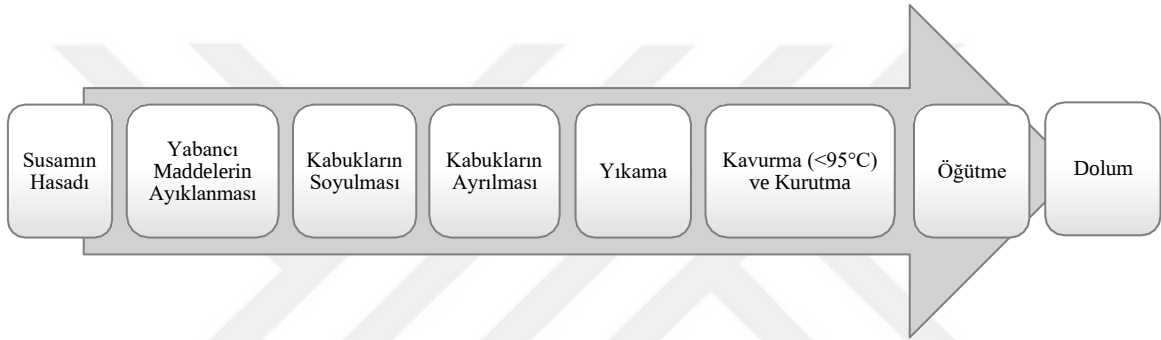
Tahin, düşük su aktivitesi (a_w : 0,16-0,25) nedeniyle dayanıklı bir ürün olarak kabul edilmekte ve yüksek yağ içeriği *Salmonella* spp. başta olmak üzere mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlamaktadır. Tahinlerin patojen mikroorganizmalarla kontaminasyonu özellikle önemli bir konudur, çünkü genellikle herhangi bir ek ısıtma işlemi yapılmadan tüketilmektedir (Torlak ve ark., 2013). 2001-2014 yılları arasında Avustralya, Yeni Zelanda, Norveç, Amerika, İsveç ve Kanada’ da toplam 175 adet tahinden kaynaklı salmonelloz vakası meydana geldiği bildirilmiştir (Al-Nabulsi ve ark., 2014).

Susam tohumları, büyüme, depolama veya işleme sırasında *Salmonella* spp. ve diğer mikroorganizmalar ile kontamine olabilmektedir. Çeşitli ülkelerde endüstriyel olarak üretilen tahinlerde *Listeria* spp. kontaminasyonunun gerçekleştiği de bildirilmiştir (Anonim, 2008; Ly ve ark., 2019). Mikrobiyal kontaminasyon, hasat öncesi kaynaklardan veya hasat ekipmanı, taşıma kapları, böcekler, toz, durulama suyu, buz, taşıma araçları, işleme ekipmanı ve çalışan personel dahil hasat sonrası kaynaklardan dolayı gerçekleşebilmektedir (Olaimat ve Holley, 2012). Her ne kadar üretim aşamaları içerisinde kavurma (<95°C) şeklinde bir ısıtma işlemi olsa da *Salmonella* spp. kontaminasyonunun kavurma işleminden sonra meydana gelmesinin ve öğütme, dilimleme, paketlenme veya nakliye sırasında olumsuz hijyen şartları nedeniyle gerçekleşmesinin daha muhtemel olduğu bildirilmektedir. Ayrıca bakteriyel yükün çok fazla olduğu kontaminasyonlarda kavurma işlemi yetersiz kalabilmektedir (Al-Nabulsi ve ark., 2020; Brockmann ve ark., 2004).

Bu çalışmada, tahinde görülen *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. kontaminasyonunun biyokontrolünün sağlanması hedeflenmiştir. Bu amaçla, Kahramanmaraş piyasasından 10 farklı tahin örneği temin edilmiş ve öncelikle bu örneklerde ilgili patojenlerin varlığı araştırılmıştır. Bunların yanı sıra tahin örneklerinde TMAB, maya-küf, *Staphylococcus* spp. ve koliform bakteri sayımları yapılmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere antagonist olarak tercih edilen *Lactiplantibacillus plantarum* ve *Companilactobacillus alimentarius* suşlarının *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkileri agar spot testi ile belirlenmiştir. Devamında patojen mikroorganizma içermediği belirlenen tahin örneklerinden bir tanesi seçilerek içerisine farklı kombinasyonlarda antagonistik LAB, *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes* suşlarından her biri 6 log kob/g olacak şekilde ilave edilmiş ve 28 gün oda sıcaklığında depolanmıştır. Aynı depolama ve bakteri sayımları, *S. enterica* serovar *typhimurium* tespit edilen bir tahin örneğine de antagonistik LAB ilavesi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Depolanan örneklerden ilk gün dahil olmak üzere 7., 14., 21. ve 28. günlerde örnekler alınarak inoküle edilen tüm mikroorganizmaların sayıları tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin Türk Gıda Kodeksi Tahin Tebliği'ne (Anonim, 2015a) uygun olup olmadığının belirlenmesi için arsenik, bakır, demir ve kurşun taraması gerçekleştirilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Çeşitli yollarla gıdalara kontamine olan patojen mikroorganizmaların veya bunların ürettikleri metabolitlerin insanlara bulaşmasıyla ortaya çıkan hastalıklar, gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklar olarak adlandırılmaktadır. Bu hastalıkların önlenmesi, insan sağlığı ve beslenmenin devamı açısından oldukça önem arz etmektedir. Modern mikrobiyolojideki ilerlemelere rağmen, mikroorganizma çeşitliliği ve insanların bu konu hakkındaki bilinç düzeyinin sınırlı kalmasından dolayı mikrobiyal gıda güvenliği her dönemde ciddiyetini korumaktadır. Tahin ve tahinden üretilen ürünler de dünyanın birçok ülkesinde gıda zehirlenmelerinin sebeplerinden bir tanesi olarak karşımıza çıkmaktadır (Al-Nabulsi ve ark., 2020). Tahin üretim akış şeması Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Tahin üretim akış şeması

Patojen mikroorganizmaların biyokontrolünde antagonistik etkiye sahip LAB'nin kullanımı, oldukça yaygın bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır. Laktik asit bakterilerinin antagonistik etkileri üretmiş oldukları bazı metabolitler aracılığı ile gerçekleşmektedir (Dalié ve ark., 2010). Bakteriyosinler, bakterilerin ürettiği, protein yapıda olan bakterisidal veya bakteristatik etkiye sahip bileşiklerdir. Birincil olarak genetik açıdan yakın akraba suşlar üzerinde etkili oldukları bilinen bakteriyosinlerin, yapılan bazı çalışmalarda gıda kaynaklı Gram negatif patojenler üzerinde de gelişimi durdurucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Line ve ark., 2008). Bakteriyosin ve benzeri metabolitler, yüksek sıcaklığa dayanıklı olmaları, asidik ve nötral pH'larda etkilerini koruyabilmeleri ve gastrointestinal sistemde bulunan proteolitik enzimlere duyarlı olmalarından dolayı potansiyel gıda koruyucuları olarak değerlendirilmektedir (Klaenhammer, 1993). Bu zamana kadar tanımlanmış olan 185 LAB bakteriyosinin 18 tanesinin *L. plantarum* suşları tarafından üretildiği tespit edilmiştir (Woraprayote ve ark., 2016). *C. alimentarius* suşlarının ürettiği laktosin isimli bakteriyosinlerle ilgili yapılan çalışmalarda, birçok patojen üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (Hu ve ark., 2017).

Tahin ve tahinden üretilen gıdalar ile ilgili daha önce yapılmış dekontaminasyon çalışmaları genelde ısıtma işlemlerinin türevlendirilmesi, ısıtma ve bazı organik asitler ile uçucu yağların ilave edilmesi üzerine yoğunlaşmaktadır.

Menteş ve ark. (2007)'nin yaptıkları bir çalışmada, antimikrobiyal aktiviteye sahip *L. plantarum* LMO25 ve *C. alimentarius* LMO7 ile üretilen iki farklı ekşi hamurun buğday ekmeğinde “rope” oluşturan *Bacillus* suşlarının inhibisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan analizlerde, ekme hamurlarına iki ayrı suş kullanılarak üretilen düşük pH'lı (pH 3,5-4,0) ekşi hamurlardan %15 veya %20 oranında ilave edilmesi, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus licheniformis* suşlarının neden olduğu “rope” oluşumunu engellemiştir. Ancak %10 ekşi maya eklenmesi “rope” oluşumunu engellemeye yetmemiştir. Daha yüksek pH'lı (pH>4) ekşi hamurlarla aynı işlem tekrarlandığında, %10 veya %15'lik ilaveler “rope” oluşumunu engellemezken, %20'lik ilave hem *B. subtilis* hem de *B. licheniformis* suşlarının neden olduğu “rope” oluşumunu engellemiştir. Böylece *L. plantarum* LMO25 ve *C. alimentarius* LMO7 suşlarının ilgili bakterilerin hem gelişimini hem de “rope” oluşturma yeteneklerini inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen bir çalışmada, susam tohumlarından *Salmonella* spp.'nin uzaklaştırılmasında kavurma işleminin etkinliğini ve depolama sırasında *Salmonella* spp.'nin tahinde hayatta kalma potansiyeli incelenmiştir. Bu amaçla susam tohumu ve tahin örnekleri, üç *Salmonella* serotipinin karışımı (*S. typhimurium*, *S. newport* ve *S. montevideo*) ile aşılanmıştır. 5,9 log kob/g ile aşılanmış susam tohumlarında *Salmonella* suşlarının tamamen inhibisyonu, 60 dakika boyunca 110°C'de, 50 dakika boyunca 130°C'de veya 30 dakika boyunca 150°C'de kavurma yoluyla elde edilebilmiştir. 5,6 log kob/g ile aşılanan ve 16 hafta boyunca 22 veya 4°C'de depolanan tahindeki ($a_w = 0,17$) *Salmonella* spp. sayıları sırasıyla 4,5 ve 3,3 log azalmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, kavurma işleminde sıcaklık arttırmanın, susam tohumlarında *Salmonella* spp.'yi inhibe etmek için yeterli olduğunu ve tahinin düşük su aktivitesinin mikrobiyal büyümeyi önlediğini, ancak bileşiminin *Salmonella* spp.'nin en az 16 hafta boyunca hayatta kalmasını sağladığını göstermiştir. Bu nedenle, kavurma işleminden sonra çapraz kontaminasyonun önlenmesinin gıda güvenliği için çok önemli olduğu bildirilmiştir (Torlak ve ark., 2013).

Al-Nabulsi ve ark. (2014)'nin gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada geleneksel ticari tahinde ve %10 oranında sulandırılmış tahinde *Salmonella typhimurium* gelişimini

inhibe etmek amacıyla %0,1-%0,5 arasındaki oranlarda asetik asit ve sitrik asit ilave ederek örnekleri 28 gün boyunca 10, 22 ve 37°C’de depolamışlardır. Sulandırılmış örneklerde, test edilen sıcaklıklarda önemli ölçüde *S. typhimurium* gelişmesi meydana gelmiştir. %0,5’lik asetik asit ve sitrik asit, 28 günde ticari tahin içinde *S. typhimurium*’u sırasıyla 2,7-4,8 log kob/ml ve 2,5-3,8 log kob/ml azaltmıştır. Sulandırılmış tahinde organik asitler daha etkili olmuştur. Test edilen sıcaklıklarda 7 gün sonra %0,5 asetik asit varlığında ve 21 gün sonra %0,5 sitrik asit varlığında *S. typhimurium* hücreleri saptanmamıştır. *S. typhimurium*’un ticari tahinlerde ve sulandırılmış tahin içeren ürünlerde gelişmesinin veya hayatta kalma kabiliyetinin salmonelloz salgınlarına neden olabileceğini; ancak tahinden hazırlanan hazır gıdalarda asetik ve sitrik asitlerin kullanılmasının, bu patojenle ilişkili riski önemli ölçüde azaltabileceğini bildirmişlerdir.

Mashak, (2016)’ın gerçekleştirdiği bir çalışmada İran’ın bazı fermente gıdalarından izole edilen LAB’nin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Bu amaçla İran’ın farklı bölgelerinden toplam 23 Kashk-e Zard ve 27 Tarkhineh örneği toplanmıştır. Örneklerden *Lactobacillus* spp. izole edilmiş ve standart yöntemlerle tanımlanmıştır. Daha sonra izolatların antibakteriyel aktiviteleri kuyu difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. *Lactobacillus* spp. süpernatantlarının varlığında in vitro bir bakteriyostatik aktivite ile kinetik çalışma yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, Kashk-e Zard ve Tarkhineh’den izole edilen *Lactobacillus* suşlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella typhimurium*’a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca yapılan kinetik çalışma *Lactobacillus* süpernatantlarının önemli bir bakteriyostatik aktivitesi olduğunu göstermiştir.

Hu ve ark., (2017)’nin yaptığı bir çalışmada, geleneksel bir Çin fermente et ürünü olan Nanx Wudl’dan izole edilen *C. alimentarius* FM-MM4 tarafından üretilen yeni bir bakteriyosin (laktosin MM4) saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda Laktosin MM4, hem Gram pozitif hem de Gram negatif gıda kaynaklı patojenlere ve ayrıca birkaç mayaya karşı antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. 15 dakika boyunca 121°C’ye maruz kaldıktan sonra bile %84,7 oranında antimikrobiyal aktivite gösterdiğinden oldukça termostabil olduğu bildirilmiştir. Ayrıca asidik pH değerlerinde (2-5) de antimikrobiyal etkisi devam ettiği belirlenmiştir. Bunların yanı sıra tripsin, proteaz K, papain ve pepsin gibi proteazlar bu bakteriyosini çoğunlukla tamamen etkisiz hale getirebilirken, lipaz ve amilaz gibi diğer enzimler antimikrobiyal aktiviteyi etkilememiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre, *C. alimentarius* FM-MM4 tarafından üretilen laktosin MM4’ün gıdaların korumasında uygulanma potansiyeli olduğu bildirilmiştir.

Salmonella enfeksiyonunun önlenmesi için suşa özgü *L. plantarum* özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, fareler *S. typhimurium* SL1344 ile enfekte edilmeden önce 10 gün boyunca karışık suşlarla veya tek bir *L. plantarum* suşu ile ön muamele edilmiş ve hayatta kalma oranları, laktobasilin, *Salmonella* enfeksiyonunu önlemek için suşa özgü özellikler sergilediğini göstermiştir. Daha sonra, suşa özgü özelliklerin ilgili mekanizmasını araştırmak için in vitro ve in vivo çalışmalar yapılmıştır. Sonuçlar, farklı *L. plantarum* suşlarının *Salmonella* gelişimini inhibe etme üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu, böylece epitelyal hücrelerin patojenler tarafından yapışmasını ve istilasını önlediğini ve bağışıklık yanıtlarını arttırdığını göstermiştir (Liu ve ark., 2018).

Oliamat ve ark. (2018) üretiminde tahin kullanılan humus isimli meze içerisinde *Salmonella enterica* ve *L. monocytogenes* gelişiminin inhibisyonu amacıyla alil izotiyosiyanat ilavesinin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Aynı çalışmada ayrıca, humusta hem patojenlere hem de aerobik bakterilere karşı %0,1-1,5 alil izotiyosiyanatın antimikrobiyal aktivitesi de araştırılmıştır. Çalışma sonucunda alil izotiyosiyanatın *Salmonella* ve *Listeria* cinsine ait türler üzerinde oldukça yüksek antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra aerobik bakteriler üzerinde de antimikrobiyal etkisi olduğu belirtilen alil izotiyosiyanatın humusta salmonelloz veya listeriosis riskini azaltmak ve raf ömrünü uzatmak için kullanılabileceği bildirilmiştir.

Osaili ve ark., (2018)'nın gerçekleştirdiği bir başka çalışmada, tahin helvasında *Salmonella* spp., *E. coli* O157H7 ve *L. monocytogenes* gelişimini inhibe etmek için gama ışınlarının etkinliği, tahin helvasının ön ışınlama ile depolanmasının (21°C'de 0., 7. ve 30. gün) bu mikroorganizmaların gama ışın duyarlılığı üzerindeki etkisi ve tahin helvasının ışınlama sonrası depolanmasının patojenlerin 6 aya kadar hayatta kalma özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda ön ışınlama işleminin patojen sayısında düşüslere neden olduğu, sonradan ışınlama ile depolamanın ise birinci ayda mikroorganizma düzeylerini 2 log kob/g'ın altına ve ikinci aydan sonra tespit edilemeyen seviyeye düşürmede etkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın, tahin helvasında gıda kaynaklı patojenlerin inhibe edilmesi için gama ışınlarının uygulanabileceğini gösterdiği bildirilmiştir.

Kamiloğlu ve ark., (2019)'nın gerçekleştirdiği bir çalışmada sucuktan izole edilen ve fenotipik olarak tanımlanan beş *L. plantarum* suşu genetik identifikasyona tabi tutulmuş ve teknolojik özellikler yönünden incelenmiştir. Ayrıca *L. plantarum* suşlarının fermente sucuk üretiminde *L. monocytogenes*'in gelişimine etkileri araştırılmıştır. Beş *L. plantarum* suşu da kuyu difüzyon testinde *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *Bacillus cereus*'a karşı

farklı düzeylerde antagonistik aktivite göstermiştir. Ayrıca *L. plantarum* suşlarının genomik DNA'larında bakteriyosin üretiminden sorumlu *plnB*, *plnC*, *plnD*, *plnI*, *plnJ*, *plnK*, *plnN* genlerinin varlığı da tespit edilmiştir. Fermente sucuk üretimi ile ilgili denemelerde ise fermentasyonun birinci gününde *L. plantarum* suşu inoküle edilmeyen kontrol grubunda *L. monocytogenes*'in geliştiği, *L. plantarum* suşlarının varlığında ise sayıda redüksiyon olduğu tespit edilmiştir.

L. plantarum'un *Salmonella* üzerindeki antagonistik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada bir fare üzerinde *Salmonella* enfeksiyonuna karşı önleyici etkiler araştırılmıştır.

L. plantarum'un ön uygulamasının *Salmonella*'nın ölümcül etkisini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca *L. plantarum*'un *Salmonella* üzerinde antagonist aktivitesinin olduğu ve bu nedenle *L. plantarum*' un, fonksiyonel gıda ürünlerinde takviye olarak gıda kaynaklı patojenlerin prevalansını kontrol etmek için büyük bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2019).

Çift vidalı ekstrüzyon kullanımı ile düşük nem oranlı gıdalarda *Salmonella* spp. gelişiminin engellenmesi üzerine yapılan bir araştırmada tahin, kahvaltılık pirinç patlağı, fıstık ezmesi ve kara biber içerisinde daha önce gerçekleşmiş olan kontaminasyon vakaları baz alınarak, tespit edilen *Salmonella* suşlarının aynı şartlarda çift vidalı ekstrüder etkisi ile 65°C'nin üzerinde inhibe edilme potansiyeli incelenmiştir. Çalışmada gerçekleştirilen denemeler sonunda işlemden sonra *Salmonella* spp.'nin belirlenebilir düzeylerin altında kaldığı, 55°C'de ise *Salmonella* redüksiyonunun yağ, vida hızı ve nem içeriğine göre değiştiği, çift vidalı ekstrüzyonun tek vidalı ekstrüzyondan daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Geliştirilen modelin, bir ekstrüzyon validasyon çalışmasının planlanması için bir temel teşkil edebileceği bildirilmiştir (Verma ve Subbiah, 2019).

Tahinde *Salmonella* gelişiminin inhibe edilmesi amacıyla yapılan bir başka çalışmada tahine farklı bitkisel yağ ekstraktları ilave edilerek patojenin gelişiminin engellenmesi araştırılmıştır. Yapılan çalışma 10 bitki uçucu yağ ekstraktının *Salmonella* spp.'nin canlılığı üzerindeki etkinliğinin disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmesini, 28 günlük depolamada 37, 25 ve 10°C'de saklanan ticari veya %10 sulandırılmış tahin (tahin bazlı ürün modeli) içinde *Salmonella* spp.'ye karşı en etkili yağların antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesini ve uçucu yağ ekstraktlarının eklenmesinin tahin ve sulandırılmış tahinin duyuşal açıdan kabul edilebilirliği üzerindeki etkisinin incelenmesini kapsamaktadır. Test edilen uçucu yağlar arasında kekik (TO) ve tarçın yağı (CO) 37 ve 10°C'de *Salmonella* spp.'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Bu

nedenle, TO ve CO ilavesi, tahinde üretim sonrası gıda kaynaklı patojenlerle kontaminasyonunu engellemek için kullanılabileceği, ancak tahine TO ve CO ilavesinin, ilave yapılmamış tahinlere kıyasla duyuşal açıdan kabul edilebilirliğini azalttığı bildirilmiştir (Al-Nabulsi ve ark., 2020).

Osaili ve ark., (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, kontamine edilmiş tahin örnekleri bir yıldan uzun bir süre depolanarak a_w ve depolama sıcaklığının *Salmonella* serovarlarının gelişim yetenekleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. a_w değerleri 0,17, 0,35 ve 0,50 olarak ayarlanmış ve örnekler, 6-7 log kob/g düzeyinde 4 farklı termal dirençli *Salmonella* suşu içeren karışık bir kültür ile aşılınmış, 10 ve 25°C'de 12 aya kadar muhafaza edilmiştir. Genel olarak, *Salmonella* spp.'nin yaşayabilirliği, depolama sıcaklığı ve süresi arttıkça veya tahinin a_w değeri düştükçe azalmıştır. Tüm numunelerde *Salmonella* suşları sayılarının sırasıyla 6,0 ve 3,3 log kob/g düzeylerinde düştüğü gözlenmiştir. Yapılan bu çalışma ile *Salmonella* spp.'nin ısı stresine maruz kalmasının tahinde hayatta kalma yeteneği üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı, ancak özellikle 25°C'de düşük su aktivitesinin *Salmonella* gelişimini önemli düzeyde inhibe ettiği sonucuna varılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan tahin örnekleri Kahramanmaraş piyasasından temin edilmiştir. Bu amaçla 6'sı ulusal markaların 4'ü yerel üreticilerin olmak üzere 10 farklı tahin örneği ambalajları açılmadan laboratuvara getirilmiş ve bu örneklerde *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. olup olmadığı doğrulandıktan sonra analizler gerçekleştirilene kadar buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir. Ayrıca aynı 4 yerel üreticiden susam örnekleri de temin edilmiştir. Susam örneklerinde sadece genel mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.



Şekil 3.1. Piyasadan temin edilen tahin örnekleri

Antagonist olarak kullanılan ve yerel peynir çeşitlerinden izole edilmiş olan *L. plantarum* ve *C. alimentarius* suşları, Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Antagonist aktivite testlerinde kullanılan *S. typhimurium* ATCC 14028, *L. monocytogenes* ATCC 7644 ve *E. coli* NCTC 12241 suşları ise Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fizikokimyasal analizler

3.2.1.1. pH tayini

Tahin örneklerinde pH ölçümü için 10 g tahin 15 mL saf su içerisinde iyice homojenize edilmiş ve birleşik elektrotlu pH metre (Thermo Scientific) kullanılarak pH değerleri belirlenmiştir (Hooi ve ark., 2004). pH ölçümleri, LAB ilavesi yapılan örneklerde depolama boyunca asitliğin değişip değişmediğini belirlemek amacıyla gerçekleştirildiğinden, bulgular depolama sonuçları içerisinde değerlendirilmiştir.

3.2.1.2. ICP-MS ile ağır metal tayini

Örneklerde ağır metal tayininin gerçekleştirilmesi amacıyla Poojary ve Passamonti, (2020) tarafından önerilen metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Tahin örneklerinin çözünür hale getirilme işlemleri için kapalı sistem mikrodalga yakma metodu kullanılmıştır. Mikrodalga kapalı sistemde HP-100 teflon kaplar kullanılmıştır. Önce her bir örnekten hassas terazide 0,5 g tartılarak teflon kaplara alınmış ve üzerine 6 mL HNO₃ eklenmiştir. 15 dakika ön muameleden sonra 3 mL HNO₃ ve 1 mL H₂O₂ ilavesi yapılmıştır. Çözünür hale getirme için, örnekler yaş yakma cihazında 130°C'de 10 d, 150°C'de 5 d, 180°C'de 15 d şeklinde sıcaklık dereceleri ayarlanarak yakılmıştır.

Çözünür hale getirme işlemi sonrasında oda sıcaklığına soğutulan kapların kapakları açılıp teflondan çözünmüş çözeltiler 50 mL'lik balon jojelere alınmıştır. Çözeltilere 50 mL ultra saf su eklenerek seyreltme işlemi gerçekleştirilmiş ve örnekler plastik tüplere alınmıştır. Daha sonra örnekler 25/0,45 µm'lik filtreler ile süzölmüş ve okuma işlemine kadar buzdolabında +4°C'de bekletilmiştir. Metal kontaminasyonunu önlemek amacıyla örneklerin çözöndürölmesi esnasında kullanılan tüm malzemeler, HNO₃ (1:1) ve ultra saf sudan geçirilmiştir. Ağır metal analizlerinin gerçekleştirilmesi için Agilent 7700 seri ICP-MS cihazı kullanılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Tahin Tebliği'ne göre örneklerde arsenik, bakır, demir ve kurşun elementleri aranmıştır (Anonim, 2015a).

3.2.2. Mikrobiyolojik analizler

Her bir mikrobiyolojik analiz için 10 g tahin örneği aseptik koşullar altında 90 ml steril %0,85'lik NaCl çözeltisi ile homojen hale getirilmiş ve 10⁻²-10⁻⁶'lık dilüsyonlar standart şekilde hazırlanmıştır. Tüm ekimler iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2014).

3.2.2.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı

Standart yayma plak yöntemi ile PCA (Plate Count Agar) (Merck) besiyerine 10⁻¹-10⁻⁶ aralığındaki tüm dilüsyonlardan ekim yapılmış, 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrasında petri kutularında oluşan kolonilerden 30-300 arasında olanlar sayılmıştır ve standart formöl ile örneklerin gramında koloni oluşturan birim hesaplanmıştır (Anonim, 2014).

3.2.2.2. Toplam maya ve küf sayımı

Standart yayma plak yöntemi ile PDA (Potato Dextrose Agar) (Merck) besiyerine 10⁻¹-10⁻⁶ aralığındaki tüm dilüsyonlardan ekim yapılmış, 25°C'de 72 saat inkübasyon

sonrasında petri kutularında oluşan kolonilerden 30-300 arasında olanlar sayılmış ve standart formül ile örneklerin gramında koloni oluşturan birim hesaplanmıştır (Anonim, 2012).

3.2.2.3. Laktobasillerin sayımı

Laktobasillerin sayımı amacıyla MRS Agar (Merck) kullanılmıştır. Yayma kültür yöntemi uygulanmış olup, uygun dilüsyonlardan 0,1'er mL çift petri plağına ilave edilmiş ve steril drigalski spatülü ile yayılmıştır. Daha sonra petriler anaerobik kavanozda (Merck) 30°C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından katalaz negatif tipik koloniler sayılmıştır (Anonim, 2015b).

3.2.2.4. Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayımı

Uygun dilüsyonlardan 0,1 mL, önceden hazırlanmış olan, Baird-Parker Agar'a (Merck) ilave edilerek steril drigalski spatülü yardımı ile yüzeye yayılmıştır. Ekimi tamamlanan petriler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tipik *S. aureus* kolonileri (1-1,5 mm çaplı, siyah, parlak, konveks, çevresinde 2-5 mm çapa kadar genişleyebilen opak zonlu) şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Ardından bu kolonilerde gram boyama, koagülaz, katalaz, metisilin direnci, DNaz ve termonükleaz testleri yapılmıştır (Tallent ve ark., 2001).

3.2.2.5. Koliform grubu bakteri sayımı

Koliform grubu bakterilerin sayımında çift katlı dökme plak tekniği kullanılmıştır. İzolasyon için, 10⁻¹'lik dilüsyondan, boş steril petrilere 1'er mL aktarılmış ve üzerlerine steril edilip 45°C'ye kadar soğutulmuş Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck) dökülüp katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaşma gerçekleştikten sonra bir kat daha yaklaşık 8 mL VRBA dökülerek katılaştıktan sonra 35°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda çapı 0,5 mm veya daha büyük olan ve çökelmiş safra asitleri zonu ile çevrili mor-kırmızı koloniler aranmıştır (Feng ve ark., 2020).

3.2.3. İzolasyon ve tanımlama analizleri

3.2.3.1. Örneklerde *Salmonella* spp. aranması

Piyasadan temin edilen tahin örneklerinde ve sonradan inokülasyon yapılan tahin örneklerinde *Salmonella* spp. aranması amacıyla Wallace ve ark., (2020)'nin önerdiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla, muhafaza edilen örnekler aseptik koşullarda 25 g tartılarak ön zenginleştirme amacıyla 225 mL steril %0,1'lik peptonlu su

içerisine aktarılmış ve manyetik karıştırıcı ile homojen bir şekilde karıştırılmıştır. 37°C’de 18 saat inkübasyonun sonunda selektif zenginleştirme aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada ön zenginleştirme kültüründen 10 mL steril Selenite Cystine Enrichment Broth besiyerine 100 µL inoküle edilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda koloni izolasyonunu gerçekleştirmek için selektif zenginleştirme uygulanmış her bir tüpten bir öze dolusu alınarak Salmonella Shigella Agar (SSA) besiyerine çizme yöntemiyle ekim yapılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyonun ardından tipik Salmonella kolonileri belirlenerek TSI Agar testine geçilmiştir.

Şüpheli kolonilerin aktif kültürleri, yatık olarak hazırlanan Triple Sugar Iron Agar besiyerinin dip kısmına iğne öze ile saplanıp daha sonra yüzey kısmına sürülmüştür. 37°C’de 24 saat inkübasyon sonunda sonuçlar *Salmonella* pozitif veya *Salmonella* negatif olarak değerlendirilmiştir. Dip kısmında sarı, orta kısmında siyah, yüzey kısmında kırmızı ve gaz yarıkları bulunan şüpheli koloniler muhtemel *Salmonella* olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra muhtemel *Salmonella* şüphelisi olan kolonilerin sulu süspansiyonları hazırlanarak PCR işlemine hazır hale getirilmiştir.

3.2.3.2. Örneklerde *Listeria* spp. aranması

Piyasadan temin edilen ve sonradan inokülasyon yapılan tahin örneklerinde *Listeria* spp. aranması amacıyla Hitchins ve ark., (2017)’nin önerdiği yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Tahin örneklerinden 10’ar g tartım alınarak 90 ml steril Listeria Enrichment Broth besiyerine aktarılmış, iyice karıştırılmış ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu selektif zenginleştirme işlemi yapılmış besiyerinden 0,1 mL alınarak Listeria Selective Agar plaklarına yüzeye yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve ekimi yapılan petri plakları 37°C’de 2 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda siyah zonlu yeşil-siyah renkli koloniler dikkate alınarak sayım yapılmıştır. Sayım işleminden sonra agar plaklarından 5-10 koloni seçilmiş ve Nutrient Agar besiyerine çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyonun ardından Gram boyama (+), 22°C’de hareketlilik (+) ve katalaz (+) testleri uygulanmış ve elde edilen sonuçlara göre *Listeria* şüphelisi olan koloniler belirlenmiştir. Daha sonra bu izolatların sulu süspansiyonları hazırlanarak PCR işlemine hazır hale getirilmiştir.

3.2.3.3. Örneklerin genetik tanımlaması

Elde edilen bakteri izolatlarından DNA izolasyonu yapılması amacıyla, steril saf su içerisinde -20°C’de muhafaza edilen bakteri süspansiyonlarından 100 µL alınarak 1,5

mL'lik eppendorf tüplerinde 500 µL steril distile su ile karıştırılmıştır. Süspansiyon 3 dakika 5000 x g'de santrifüjlenmiş ve fosfat tamponu ile 3 defa yıkanmıştır. Yıkanarak elde edilen bakteriyel süspansiyona 0,5 mL 6 M üre ve 0,1 mL %10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) ilave edilmiş ve 37°C'de 20 d inkübe edilmiştir. Bu karışım 5 d 95°C'de tutulduktan sonra 8000 x g'de 10 d 25°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra elde edilen süpernatant atılmış, kalan kısım (pellet) üzerine 0,1 mL 0,2 N NaOH eklenerek 37°C'de 10 d inkübe edilmiştir. Daha sonra, nükleik asit harici hücre parçalarının ayrılması için 3000 x g'de 3 d süreyle 25°C'de santrifüjlendikten sonra tekrar süpernatant atılmıştır. Ardından, DNA'yı saflaştırmak amacıyla 2,5 kat hacimde saf etil alkol eklenmiş ve 2 saat -20°C'de bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda karışım, 13200 x g'de 15 d 4°C'de santrifüj edilmiş ve %70 etanol ile yıkanmıştır. Elde edilen DNA pelleti oda sıcaklığında kuruduktan sonra 20 µL Tris-EDTA (TE) tamponunda yeniden süspanse edilmiş ve PCR için hazır hale getirilmiştir (Singh ve Ramesh, 2009).

DNA izolasyonları gerçekleştirildikten sonra 16S rRNA ve 23S rRNA PCR tanımlamaları için 16R (5'-GGAAGTTACCCGACAAGG-3') ve 16F (5'-AATACGTTCCCGGGCCTTG-3') universal primerleri kullanılmıştır. Bu amaçla, 25 µL PCR master mix (Qiagen), 18 µL mükleaz içermeyen su, 4 µL template DNA, 1,5 µL 16R universal primeri ve 1,5 µL 16F universal primeri kullanılarak toplam 50 µL PCR karışımı hazırlanmıştır. İlk denatürasyon, 95°C'de 5 dakika süreyle yapılmıştır. PCR protokolü, 94°C'de 30 saniye (denatürasyon), 36°C'de 45 saniye (bağlanma) ve 72°C'de 45 saniye (uzama) olarak gerçekleştirilmiştir. Protokolün 35. döngüsünden sonra, son uzama 72°C'de 10 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. PCR işlemine tabi tutulan karışımdan 12 µL alınarak %2'lik agaroz jele yüklenmiş ve 35 V'luk gerilimde 6 saat boyunca yürütülmüştür. Yürütme sonunda jel UV ışık altında incelenmiş ve uygun baz çifti uzunluğunda olan izolatlar sekans işlemine tabi tutulmuştur. PCR ürünlerinin DNA sekanslaması, ABI 3130 XL genetik analizör (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen DNA dizileri, Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veri tabanı ve BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) algoritması kullanılarak değerlendirilmiştir (Sallen ve ark., 1996; Tennant ve ark., 2010).

3.2.4. Antagonist aktivite testleri

Antagonistik LAB olarak tercih edilen *L. plantarum* ve *C. alimentarius* suşlarının antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesi amacıyla agar spot testi yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla önce mikroorganizmaların uygun suşları, 10 mL steril MRS Broth besiyerine

inoküle edilmiş ve 32°C’de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra bu 24 saatlik kültürlerden birer öze alınarak MRS Agar besiyerine 2 nokta ekimi yapıp anaerobik ortamda 32°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Agar spot testi için patojen olarak tercih edilen *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes* suşlarının 24 saatlik kültürlerinden önce 7 mL hacminde yarı-katı agar içeren TSB (Tryptone Soya Broth) besiyerine 0,1 mL ekim yapılarak daha önce 2 nokta ekimi yapılan MRS Agar besiyeri üzerine yavaşça dökülmüştür. Katılaşması beklendikten sonra 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda LAB kolonileri etrafında oluşan inhibisyon zonu çapları ölçülmüştür (Belicová ve ark., 2013). Antagonist bakteri olarak seçilen suşların ürettiği antimikrobiyal metabolitler Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Antagonist LAB suşlarının ürettikleri antimikrobiyal metabolitler (Valerio ve ark., 2004; Hu ve ark., 2017; da Costa ve ark., 2019; Siedler ve ark., 2019).

Suş	Antimikrobiyal Metabolit
<i>L. plantarum</i>	Plantarisin
	Laktik asit
	BacST202Ch
	M1- UVs300
	L.p.-GS16
	Fenillaktik asit
	4-fenillaktik asit
	Benzoik asit
	p-kumarik asit
	Methylhydantoin
	Metilhidantoin
	Mevalonolakton
	δ-Dodekalakton
<i>C. alimentarius</i>	Lactosin MM4
	Fenillaktik asit
	4-fenillaktik asit
	Laktik asit

3.2.5. Tahin örneklerine antagonist ve patojen suşların inokülasyonu ve depolama

Hem antagonist mikroorganizmaların hem de *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp.’nin uygun suşları canlandırılıp 24 saatlik inkübasyondan sonra, 300 mL’lik erlenmayer içerisindeki 100 mL Nutrient Broth besiyerine 1’er mL olacak şekilde aktarıldıktan sonra 180 rpm’e ayarlı çalkalamalı etüvde 37°C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından 2500 x g ve 4°C’de 10 d santrifüjleme ile elde edilen konsantre hücreler %0,85’lik NaCl ile 2-3 kez yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Konsantre hücre

pelletleri steril 1 mL %0,85'lik NaCl ile süspansiyon hale getirilerek mililitredeki canlı sayısı Nutrient Agar besiyerine ekim yapılarak tespit edilmiştir (Bosse née Danz ve ark., 2016).

Tespit edilen sayıya göre stok solüsyonlar seyreltilerek her bir suş, tahin örneklerine 6 log kob/g olacak şekilde inoküle edilmiştir. İnokülasyon yapılması amacıyla, piyasadan alınan ve içerisinde hiçbir patojen tespit edilmeyen tahin örneği tercih edilmiştir. İnokülasyon grupları;

1. Grup: PL + SL
2. Grup: AL + SL
3. Grup: PL+ AL+ SL
4. Grup: PL
5. Grup: AL
6. Grup: SL
7. Grup: PL + Lİ
8. Grup: AL + Lİ
9. Grup: PL + AL + Lİ
10. Grup: Lİ
11. Grup: PL + AL + SL + Lİ

şeklinde oluşturulmuştur. Burada kullanılan kısaltmalardan, PL; *L. plantarum*, AL; *C. alimentarius*, SL; *S. typhimurium* ve Lİ; *L. monocytogenes* suşlarının eklendiğini ifade etmektedir. Ayrıca *Salmonella* spp. tespit edilen bir tahin örneğine de 3. gruba kadar olan kombinasyonlarda antagonistik LAB inoküle edilmiştir. Her bir gruptan ilk gün dahil olmak üzere 7., 14., 21. ve 28. günlerde örnekler alınarak inoküle edilen tüm bakterilerin sayıları tespit edilmiştir.

3.2.6. İstatistiksel hesaplamalar

Çalışma boyunca elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS for Windows Release ver. 20.00 paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Önemli bulunan varyasyon kaynaklarının ortalamaları Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan farklı varyasyon ve parametrelerin birbirleri ile kolerasyonları incelenmiştir. Ayrıca susam örnekleri ile bunlardan üretilen tahin örnekleri arasındaki

ilişkinin incelenmesi için Independent – t testi ve depolama boyunca görülen değişimlerin incelenmesi için tesadüf parsellerinde bölünen parseller deneme desenine göre kıyaslama yapılmıştır (Efe ve ark., 2000).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

4.1.1. ICP-MS ile ağır metal tayini sonuçları

Tahin örneklerinin ağır metal içeriği açısından Türk Gıda Kodeksi Tahin Tebliği'ne uygun olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerin sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Tahin örneklerindeki As, Cu, Fe ve Pb düzeyleri.

Örnek	As ppm*	Cu ppm	Fe ppm	Pb ppm
KO	—	13,620±0,001	74,421±0,004	2,222±0,004
LT	—	15,259±0,006	56,349±0,003	-
MT	—	17,349±0,005	59,552±0,005	1,946±0,004
OK	—	13,673±0,017	60,347±0,007	3,309±0,002
OT	—	14,747±0,005	49,615±0,005	3,438±0,004
SE	—	14,664±0,003	58,032±1,409	3,262±0,002
TR	—	14,725±0,002	62,408±0,003	1,091±0,003
TT	0,312±0,001	15,284±0,004	50,578±0,004	1,735±0,005
TU	—	15,588±0,005	101,552±0,006	1,992±0,003
YT	0,147±0,001	14,646±0,005	51,093±0,006	1,759±0,003
Ortalama	0,229±0,082	14,956±0,190	62,395±2,740	2,306±0,190
Minimum	0,147±0,001	13,620±0,001	49,615±0,005	1,091±0,003
Maksimum	0,312±0,001	17,349±0,005	101,552±0,006	3,438±0,004
Tebliğ Üst Limit	0,200	18,000	75,000	0,300

* ppm: milyonda bir birim

Buna göre örneklerin 8 tanesinde Arsenik (As) miktarı belirlenebilir düzeylerde bulunamamıştır. Tespit edilen örnekler arasında ise sadece TT kodlu örnekteki As miktarı 0,312 ppm ile Tahin Tebliği'nde belirtilen üst limit değerlerinin üzerinde bulunmuştur. Örnekler arasında en düşük Bakır (Cu) miktarı 13,620 ppm ile KO kodlu örnekte, en yüksek Cu miktarı ise 17,349 ppm ile MT kodlu örnekte tespit edilmiştir. Tüm örneklerdeki Cu içeriklerinin ortalaması ise 14,956 ppm olarak bulunmuştur. Cu içeriği açısından ise hiçbir örnekteki miktar tebliğde belirtilen üst limitleri aşmamıştır. Ancak sadece MT kodlu örnekteki miktar 17,349 ppm ile üst limite çok yakın olarak bulunmuştur. Örnekler Demir (Fe) içeriği açısından incelendiğinde en düşük değer 49,615 ppm ile OT kodlu örnekte, en yüksek değer ise 101,552 ppm ile TU kodlu örnekte tespit edilmiştir. Örneklerin Fe içeriği ortalaması ise 62,408 ppm olarak hesaplanmıştır. Tahin örnekleri arasında Fe içeriği açısından tebliğde belirtilen üst limitlere uymayan tek örnek TU kodlu

örnek olmuştur. Ancak KO kodlu örnekten elde edilen sonuç da 74,421 ppm ile sınıra çok yakın olarak bulunmuştur. Örnekler Kurşun (Pb) içeriği açısından değerlendirildiğinde 1 adet örnekte belirlenebilir düzeylerde Pb tespit edilememiştir. Örnekler arasında en az Pb içeren 1,091 ppm ile TR, en çok Pb içeren örnek ise 3,438 ile OT kodlu örnek olarak bulunmuştur. Örneklerin Pb düzeyi ortalaması ise 2,306 ppm olarak hesaplanmıştır. Örneklerin tamamının Tahin Tebliği'nde belirtilen üst limitlerin üzerinde Pb içerdiği tespit edilmiştir.

Tahin örneklerinin ağır metal içeriği ortalamaları arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılan tek yönlü varyans analizine ait sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Örnekler Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.2. Tahin örneklerinin As, Cu, Fe ve Pb içeriği ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.

Örnekler	As	Cu	Fe	Pb
KO	—	13,6 _d	74,4 _b	2,22 _d
LT	—	15,3 _b	56,3 _f	-
MT	—	17,3 _a	59,6 _d	1,95 _f
OK	—	13,7 _d	60,3 _d	3,31 _b
OT	—	14,7 _c	49,6 _h	3,44 _a
SE	—	14,7 _c	58,0 _e	3,26 _c
TR	—	14,7 _c	62,4 _c	1,09 _i
TT	0,31 _a	15,3 _b	50,6 _g	1,73 _h
TU	—	15,6 _b	101,6 _a	1,99 _e
YT	0,15 _b	14,6 _c	51,1 _g	1,76 _g
Önem Düzeyi	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**

** %1 önem düzeyinde önemli, Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, örneklerin As, Cu, Fe ve Pb içeriği ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Örnekler, Cu içeriği ortalamaları açısından 4, Fe içeriği ortalamaları bakımından 8 ve Pb içeriği ortalamaları bakımından 9 farklı gruba ayrılmıştır. Böylece tahin örneklerinin ağır metal içerikleri açısından birbirlerinden en çok farklılaştığı parametre Pb, en çok benzediği parametre ise Cu olarak belirlenmiştir.

Yapılan bu ağır metal analizlerinin sonuçları ancak susam ile ilgili yapılmış çalışmalar ile kıyaslanabilmektedir. Buna göre tüm parametrelere ait sonuçlar Abu-Almaaly, (2019) ve Eghbaljoo-Gharehgheshlaghi ve ark. (2020)'nın susam tohumlarında bulmuş oldukları sonuçlardan daha yüksek çıkmıştır. Cu içeriği bakımından ise Gebrekidan ve

Desta, (2019)'nın tespit ettiği sonuçların bu çalışmada elde edilen sonuçlardan yüksek olduğu belirlenmiştir. Fe içeriği bakımından, bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tokalıoğlu ve ark., (2018)'nin sonuçlarıyla uyum içerisindedir. Ancak Gebrekidan ve Desta, (2019)'nın Fe içeriği sonuçları bu çalışmada bulunan sonuçlardan yüksektir. Sonuçlar Pb içeriği bakımından değerlendirildiğinde ise, Kheirati Rounizi ve ark., (2021)'nin elde ettiği sonuçların çalışmamızda bulunanlardan yüksek olduğu, Gebrekidan ve Desta (2019) ve Tokalıoğlu ve ark. (2018)'nin sonuçlarının ise çalışmamızdaki sonuçlardan düşük olduğu belirlenmiştir. Tahin örneklerinde belirlenen As düzeyleri ise önceki çalışmalarda elde edilenlerin tamamından düşük bulunmuştur. Bitkisel kaynaklı besinlerde görülen en yaygın ağır metaller arasında arsenik (As), kurşun (Pb) ve bakır (Cu) bulunmaktadır. Bu ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarda alınması sonucunda hem bitkilerde hem hayvanlarda hem de insanlarda birçok ciddi sağlık probleminin ortaya çıktığı belirlenmiştir. İnsanlarda arsenik ve kurşun gibi ağır metaller, böbrek ve sinir sistemi üzerinde toksik etkiler göstermekte ve bu da zayıflık, baş ağrısı, karın krampları, ishal ve anemiye ek olarak zihinsel bozuklukları beraberinde getirmektedir (Pratish ve ark., 2018). Normalde bitkiler, topraktan besin iyonu alımı konusunda selektif davranıyor olsa da ekim ortamında kullanılabilir formda olan element oranı arttıkça, bazı ağır metallerin bitkilere pasif yollarla alınabildiği bilinmektedir (Okcu ve ark., 2009). Dolayısıyla tahin örneklerine bu ağır metallerin susamdan geldiği, susam tohumlarına da özellikle sulama suları ve çevreden bulaştığı düşünülmektedir.

4.2. Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları

Piyasadan temin edilen tahin örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçları çizelge 4.3.'de verilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde tahin alt başlıklı bir kısım olmamakla birlikte, birçok gıdada TMAB sayısı limitleri 5-6 log kob/g, maya-küf sayısı limitleri ise 2-4 log kob/g arasında değişmektedir (Anonim, 2011). Buna göre, tahin örneklerinde yapılan mikrobiyolojik sayımlar sonucunda, örneklerin genel olarak düşük bir mikrobiyal yüke sahip oldukları görülmektedir. Bunun nedeni hem tahinin düşük su aktivitesine hem de yüksek yağ oranına sahip olmasıdır. Örneklerde gerçekleştirilen TMAB sayım sonuçlarına göre en düşük değer 2,03 log kob/g ile TT kodlu örnekten, en yüksek değer ise 5,02 log kob/g ile SE kodlu örnekten elde edilmiştir. Tüm tahin örneklerinin TMAB sayısı ortalaması ise 3,50 log kob/g olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Tahin örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçları

ÖRNEK		TMAB log kob/g	Maya-Küf log kob/g	Küf log kob/g	<i>Stahpylococcus</i> spp. log kob/g	Koliformlar log kob/g
Ulusal Piyasa Tahinleri	KO	3,62±0,02	<2	<2	3,68±0,03	2,01±0,08
	OK	2,31±0,01	2,91±0,04	<2	<2	<1
	SE	5,02±0,01	4,79±0,03	<2	<2	<1
	TR	3,23±0,03	3,32±0,04	<2	<2	<1
	TT	2,03±0,03	<2	<2	<2	<1
	TU	4,36±0,01	3,26±0,03	3,26±0,03	3,46±0,04	<1
Yerel Üretim Tahinler	LT	2,61±0,02	2,89±0,03	<2	<2	<1
	MT	2,70±0,01	2,34±0,02	2,34±0,02	<2	<1
	OT	4,53±0,02	3,18±0,03	<2	<2	<1
	YT	4,61±0,02	4,47±0,04	<2	2,03±0,02	<1
Minimum		2,03±0,03	2,34±0,02			
Maksimum		5,02±0,01	4,79±0,03			
Ortalama		3,50±0,15	3,39±0,27			

Tahin örneklerinin maya-küf sayımı sonuçları arasında ise en düşük değer 2,34 log kob/g ile MT kodlu örnekte, en yüksek değer ise 4,79 ile SE kodlu örnekte gözlenmiştir. Örneklerin maya-küf sayısı ortalamaları ise 3,39 log kob/g olarak belirlenmiştir. Yapılan küf sayımı analizlerinde ise örneklerin sadece 2 tanesinde sayılabilir aralıklarda küf kolonileri görülmüştür. Tahin örneklerin yalnızca bir tanesinde koliform grubu bakteriye rastlanmıştır.

Çizelge 4.4. Tahin örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.

Örnekler	TMAB	Maya-Küf
KO	3,62 e	-
LT	2,61 h	2,89 f
MT	2,70 g	2,34 g
OK	2,31 i	2,91 f
OT	4,53 c	3,18 e
SE	5,02 a	4,79 a
TR	3,23 f	3,32 c
TT	2,03 j	-
TU	4,36 d	3,26 d
YT	4,61 b	4,47 b
Önem Düzeyi	0,000**	0,000**

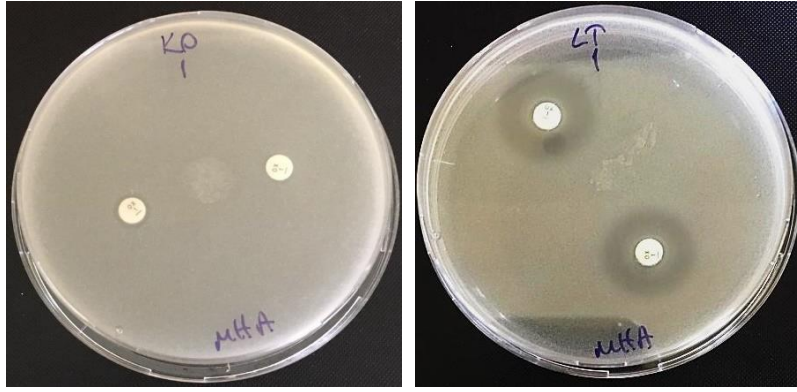
** %1 önem düzeyinde önemli. Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Tahin örneklerinin mikrobiyolojik sayım sonuçlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.4.'te sunulmuştur. Örneklerin TMAB sayısı ortalamaları arasındaki fark ve maya-küf sayısı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). TMAB sayım sonuçlarının Duncan çoklu

karşılaştırma testi sonuçlarına göre 10 farklı grup oluşmuş, maya-küf sayısı bakımından ise 7 farklı grup oluşmuştur. Bu durumda piyasadaki tahinlerin mikrobiyal yük açısından hiçbir benzerlik göstermediği anlaşılmaktadır.

Khachfe ve ark., (2018)'nın tahin örneklerinin mikrobiyolojik kalitesini araştırdıkları bir çalışmada benzer şekilde örneklerin mikrobiyal yükleri arasında önemli farklar bulunmuştur. Yapılan çalışmada TMAB sayım sonuçları 2-5,6 log kob/g aralığında, maya-küf sayım sonuçları ise 2-6 log kob/g aralığında bulunmuştur. Sonuçların ortalamaları, çalışmamızda elde edilenlerle kıyaslandığında hem TMAB hem de maya-küf sayılarının çalışmamızda bulunanlardan daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca yine aynı çalışmada örneklerin yaklaşık %90'ında koliform grubu bakterilere rastlanmıştır. Ayaz ve Al-Sogair (1986), tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise tahin örneklerinin TMAB sayılarının 1-4,5 log kob/g aralığında, maya-küf sayılarının ise 1-2 log kob/g aralığında olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada örneklerin %20'sinde koliform grubu bakterilere rastlanmıştır. Çalışmamızda elde edilen TMAB sonuçları bu sonuçlarla benzerlik göstermiş, maya-küf sayılarının ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tahin örneklerinde koagülaz pozitif *S. aureus* varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan analizler sonucunda 3 örnekte şüpheli kolonilere rastlanmıştır. Buna göre, koagülaz, katalaz, DNaz ve termonükleaz pozitif olan koloniler arasında KO1, TU1 ve TU2 kodlu kolonilerin metisilin direnci olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu suşların üretebileceği toksinlerin gıda güvenliği açısından riskli olabileceği düşünülmektedir. Yapılan benzer çalışmalarda da tahin örneklerinde *S. aureus* kolonilerine rastlandığı bildirilmiştir (Ayaz ve Al-Sogair, 1986; Khachfe ve ark., 2018; Olaimat ve ark., 2017). *S. aureus* genellikle çevreden izole edilebilmekle beraber, doğal kaynağı insan ve hayvanlardır. İnsanlarda daha çok burun ve boğaz boşluğunun mukoza tabakasından izole edilmektedir. Bunun yanı sıra deri üzerinde, yüz, eller, dışkı, iltihaplı yaralar, çıban ve sivilcelerde yoğun olarak bulunmaktadır. Bu nedenlerle tahin örneklerinde bulunan *S. aureus* suşlarının, üretimden sorumlu personellerden bulaşmış olması kuvvetle muhtemeldir (Castro ve ark., 2016). Stafilocoklar, çeşitli iltihaplı enfeksiyöz hastalıklara neden olmakla birlikte insanlarda septisemi, artrit, menenjit, endokardit, dermatit ve eklem romatizmalarına neden olmaktadır (Kloos ve Bannerman., 1994).



Şekil 4.1. Metisilin direnci olan ve olmayan kolonilerin karşılaştırılması.

Kahramanmaraş piyasasında tahin üretimi yapan üreticilerden temin edilen susam örneklerine ait mikrobiyolojik sayım sonuçları Çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. Susam örneklerinde yapılan TMAB sayım analizleri sonucunda en düşük değer 2,03 log kob/g ile YS kodlu örnekte, en yüksek değer ise 3,18 log kob/g ile LS kodlu örnekte bulunmuştur. Örneklerin ortalama TMAB sayısı ise 2,66 log kob/g olarak hesaplanmıştır. Maya-küf sayımı analizleri sonucunda en düşük değer 2,60 log kob/g ile YS kodlu örnekten, en yüksek değer ise 5,11 log kob/g ile LS kodlu örnekten elde edilmiştir. Örneklerin ortalama maya-küf sayıları ise 4,22 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bir örnekte maya gelişimi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.5. Susam örnekleri ve bunlardan üretilen tahinlerin mikrobiyolojik sayım sonuçlarının karşılaştırması.

ÖRNEK		TMAB log kob/g	Maya-Küf log kob/g	Küf log kob/g	<i>Staphylococcus</i> spp. log kob/g	Koliformlar log kob/g
Yerel Üretim Tahinlerin Yapıldığı Susamlar	LS	3,18±0,05	5,11±0,03	<2	<2	<1
	MS	2,49±0,02	<2	<2	<2	<1
	OS	2,94±0,03	4,95±0,02	<2	<2	<1
	YS	2,03±0,03	2,60±0,04	<2	<2	<1
Minimum		2,03±0,03	2,60±0,04			
Maksimum		3,18±0,05	5,11±0,03			
Ortalama		2,66±0,44	4,22±1,14			
Yerel Üretim Tahinler	LT	2,61±0,02	2,89±0,03	<2	<2	<1
	MT	2,70±0,01	2,34±0,02	2,34±0,02	<2	<1
	OT	4,53±0,02	3,18±0,03	<2	<2	<1
	YT	4,61±0,02	4,47±0,04	<2	2,03±0,02	<1
Minimum		2,61±0,02	2,34±0,02			
Maksimum		4,61±0,02	4,47±0,04			
Ortalama		3,61±0,96	3,22±0,78			

Yerel üretim noktalarından temin edilen tahinler ve bunların üretildiği susamların mikrobiyolojik sayım sonuçlarının kıyaslanması amacıyla Independent-t testi yapılmıştır (Çizelge 4.6.). Yapılan analizler sonucunda susam örneklerinin ve onlardan yapılan tahin örneklerinin TMAB sayılarının ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Maya-küf sayıları ortalamaları arasındaki farklılıklar ise

istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Bu durumda, yerel üretim noktalarından temin edilen tahinlerde bakteriyel yükün üretim ve paketleme sırasında değiştiği düşünülmektedir. Maya-küf yükü ise değişmemektedir. Ayrıca MS kodlu susamda küf bulunmayıp ondan üretilen tahinde küf bulunması ve YS kodlu örnekte *Staphylococcus* spp. bulunmayıp YT kodlu tahinde bulunması dikkat çekmektedir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, Kahramanmaraş'ta bulunan yerel tahin üretim noktalarının hijyen ve sanitasyon koşullarında sıkıntı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.6. Susamların ve bunlardan üretilen tahinlerin mikrobiyal yüklerinin karşılaştırılması için yapılan Independent-t testi sonuçları

	Tahin		Susam		Önem Düzeyi ($p<0,05$)
	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	
TMBA	3,61	1,00	2,66	0,46	0,007**
Maya-küf	3,22	0,82	3,16	2,17	0,934 ns

** %1 önem düzeyinde önemli, ns: istatistiksel olarak önemsiz.

Tahin örneklerinde gerçekleştirilen tüm analizlerin sonuçları arasında bir korelasyon olup olmadığının belirlenmesi için hazırlanan pearson korelasyonu tablosu Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Mikrobiyolojik parametrelerin kendi içerisindeki korelasyonlar incelendiğinde, örneklerin TMAB sayıları ile maya-küf sayıları arasında pozitif korelasyon olduğu anlaşılmaktadır. Bunun yanı sıra maya-küf sayıları ile koliform bakteri sayıları arasındaki negatif korelasyon da dikkat çekmektedir. Ayrıca *S. aureus* sayıları ile koliform bakteri sayıları arasında da pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir ($p<0,01$). Bu durumda her iki patojen grubunun kontaminasyon kaynağının benzer olduğu sonucuna varılabilir.

Çizelge 4.7. Tahin örneklerinin tüm parametreleri arasındaki korelasyon tablosu.

	Maya-Küf	Küf	<i>S.aureus</i>	Koliformlar	As	Cu	Fe	Pb
TMAB	0,607**	0,079	0,379*	0,039	-0,292	0,368*	0,380*	0,163
Maya-Küf	1	0,051	-0,205	-0,594**	-0,389*	0,516**	-0,026	-0,260
Küf		1	0,371*	-0,164	-0,228	-0,016	-0,249	0,266
<i>S. aureus</i>			1	0,632**	-0,084	-0,449*	0,029	0,270
Koliformlar				1	-0,155	-0,444*	0,272	0,048
As					1	-0,112	-0,387*	0,376*
Cu						1	0,042	-0,313
Fe							1	-0,041
Pb								1

* %5 önem düzeyinde önemli, ** %1 önem düzeyinde önemli.

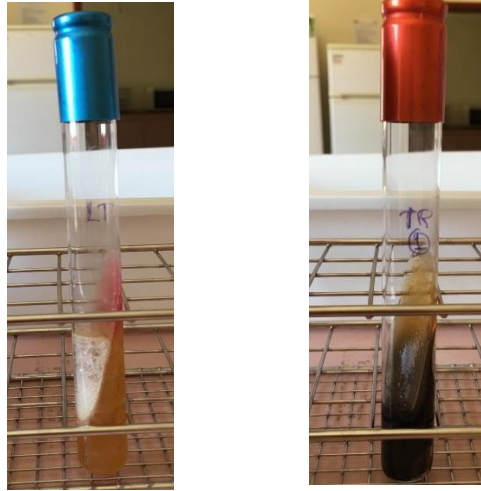
Ağır metal içeriklerinin birbiri içerisindeki korelasyonlar incelendiğinde, As içeriklerinin Fe içerikleri ile negatif, Pb içerikleri ile pozitif bir korelasyona sahip olduğu gözlenmektedir ($p<0,05$). Bunların dışındaki ağır metal içeriklerinin birbirleri ile bir korelasyonu bulunmamaktadır.

Mikrobiyolojik sayım sonuçları ile ağır metal içeriklerinin korelasyonları incelendiğinde ise maya-küf sayıları ile Cu içeriklerinin pozitif korelasyonu dikkat çekmektedir ($p<0,01$). Bunun yanı sıra TMAB sayıları ile Cu ve Fe içerikleri arasında pozitif korelasyon olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Ayrıca Cu içerikleri ile *S. aureus* ve koliform bakteri sayıları arasında da negatif korelasyon olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

4.3. Tahin Örneklerinde İzolasyon ve Tanımlama Sonuçları

Örneklerde kültürel yöntemlerle yapılan *Salmonella* spp. ve *Listeria* spp. taramaları sonucunda sadece TR kodlu örnekte *Salmonella* şüphelisi kolonilere rastlanmıştır (Şekil 4.2.). Hiçbir örnekte *Listeria* spp. şüphelisi koloni bulunmamıştır.

Salmonella spp. şüphelisi kolonilerin 16S PCR metoduyla tanımlanabilmesi amacıyla gerekli izolasyonlar yapılmıştır. Daha sonra DNA izolasyonu yapılarak template DNA'lar PCR işlemine hazır hale getirilmiştir. Gerçekleştirilen PCR analizlerinden sonra amplifiye edilmiş olan DNA'lar elektroforez jelde yürütülmüş ve ardından UV ışık altında incelenmiştir (Şekil 4.3.).

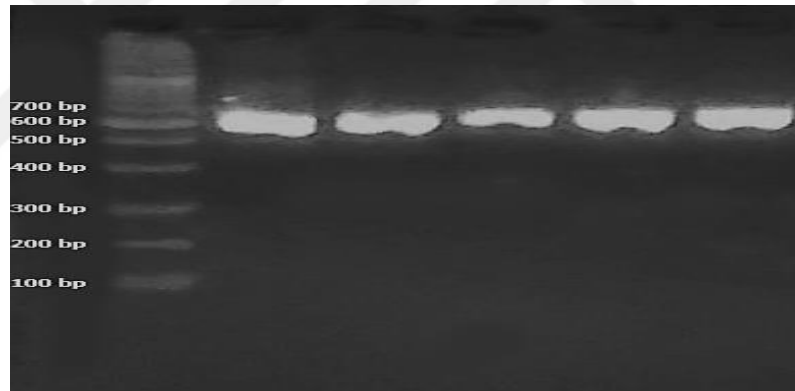


Şekil 4.2. TSI agar testi sonucunda *Salmonella* negatif ve pozitif olan tüpler.

Yapılan sekans analizleri sonucunda elde edilen gen dizilerinin hangi mikroorganizmaya ait olduğu BLAST algoritması kullanılarak belirlenmiştir (BLAST, 2020). Buna göre şüpheli olan izolatın *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* olduğu

tespit edilmiştir. Tahinlerde daha önce yapılan birçok çalışmada *Salmonella* spp.'ye rastlanmıştır. Khachfe ve ark., (2018)'nın gerçekleştirdiği bir çalışmada Lübnan piyasasından temin edilen tahin örneklerinin yaklaşık %30'unda farklı *Salmonella* suşları tespit edilmiştir. de Jong ve ark., (2001)'nin yapmış olduğu bir çalışmada, İsveç'te *Salmonella typhimurium* DT104 ile kontamine tahin helvasının 2001 yılında 27 kişide hastalığa neden olduğunu bildirmiştir. Yine 2001 yılında, sırasıyla Norveç ve Avustralya'da 18 ve 14 vakanın bildirildiği iki salgın rapor edilmiştir (Aavitsland ve ark., 2001; O'Grady ve ark., 2002).

Bunun yanı sıra, 2013 yılında ABD'de *S. mbandaka* ve *S. montevideo* ile kontamine tahinle hazırlanan humus tüketimiyle ilgili çok aşamalı bir salgın (bir hastanede yatış ve bir ölümle birlikte 16 vaka) rapor edilmiştir (Olaimat ve ark., 2018). 2015 yılında Kanada'da, *Salmonella* bulaşmış tahinler, piyasadan 9 defa geri çağırılmıştır. Mayıs 2018'de ABD piyasasında *Salmonella* spp. ile kontamine olmuş tahinler tespit edilerek geri toplatılmıştır (Al-Nabulsi ve ark., 2020).



Şekil 4.3. 16S PCR metoduyla amplifiye edilen DNA'ların UV ışık altındaki görüntüleri.

4.4. Antagonist Aktivite Testi Sonuçları

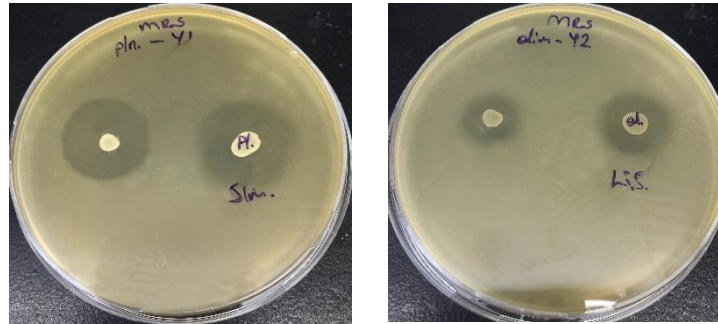
Gerçekleştirilen antagonist aktivite testlerinde *L. plantarum* ve *C. alimetarius* suşlarının *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* ve *E. coli* referans suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri ölçülmüştür. Bu amaçla agar spot metodu kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara ait inhibisyon zonu ölçüm sonuçları Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. LAB suşlarının referans patojen suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

Mikroorganizma	<i>S. typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>
<i>L. plantarum</i>	24 mm	27 mm
<i>C. alimentarius</i>	11 mm	17 mm

Buna göre *L. plantarum* suşları, en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *L. monocytogenes*'e karşı göstermiştir. Bunu *S. typhimurium* izlemiştir. Mashak, (2016) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada *L. plantarum* suşlarının aynı patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde Kamiloğlu ve ark., (2019) da yaptıkları çalışmada sucuktan izole ettikleri *L. plantarum* suşlarının *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus* gibi patojenlere karşı farklı düzeylerde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Liu ve ark., (2019) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada da *L. plantarum* suşlarının, biyokontrol ajanı olarak kullanılmasının *Salmonella* serovarları üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada *L. plantarum* ZJ316 suşundan bakteriyosin izole edilmiş ve bu bakteriyosinin farklı *Salmonella* suşları üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Gerçekleştirilen analizler sonucunda izole edilen L-phenyl laktik asidin *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 1402 suşu üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2020).

C. alimentarius suşları ise en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *L. monocytogenes* suşlarına karşı göstermiş, bunu *S. typhimurium* takip etmiştir. Hu ve ark., (2017) gerçekleştirdikleri bir çalışmada *C. alimentarius* suşları tarafından üretilen laktosin isimli bakteriyosinin patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.



Şekil 4.4. LAB suşlarının referans patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkisini gösteren inhibisyon zonları.

Mourad ve Bettache, (2018) farklı LAB'ni karakterize ettikleri bir çalışmada *C. alimentarius* suşlarının *E. coli* ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Klingberg ve ark. (2005)'nın gerçekleştirdiği bir başka çalışmada İskandinav tipi fermente sosislerden izole edilen *C. alimentarius* suşlarının *S. typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Agar spot testi sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, *L. plantarum* suşlarının, *C. alimentarius* suşlarına göre hedef patojenler üzerindeki inhibisyon etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak *Lactobacillus* suşlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, kullanılan *L. plantarum* ve *C. alimentarius* suşlarının *B. cereus* ve *E. coli* üzerinde inhibisyon etkisi olmasına karşın, *S. typhimurium* ve *Listeria* suşları üzerinde etkili olmadıkları belirlenmiştir (Gandevia ve ark., 2017). Dolayısıyla, bu çalışmada kullanılması tercih edilen *L. plantarum* ve *C. alimentarius* türlerine ait tüm suşların hedef patojen grupları üzerinde antagonistik etkisi olmamasına rağmen, çalışmamızda kullanılan suşların etkili olduğu anlaşılmaktadır.

4.5. Antagonist İlavesi Yapılmış Tahinlerde Depolama Süresince Gözlenen Değişimler

Depolama öncesinde, örnek gruplarına her bir mikroorganizma 6 log kob/g düzeyinde ilave edilmiştir. Daha sonra gruplara ilave edilen tüm mikroorganizmaların sayıları haftalık olarak belirlenmiş ve değişimleri gözlenmiştir. Depolama süresi boyunca örneklerdeki mikroorganizma sayısı ortalamalarının zamana bağlı değişimlerinin ortaya koyulabilmesi için tesadüf parsellerinde bölünen parseller deneme deseni kullanılmıştır. Örneklerdeki LAB sayısı değişimleri Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Tahin örneklerine inoküle edilen LAB sayılarının depolama boyunca değişimleri.

Gruplar	Depolama Süresi (Gün)					Ortalama
	İlk Gün	7	14	21	28	
AL	5,85	4,32	5,18	5,44	5,36	5,23 D
PL	5,74	5,38	5,78	5,86	5,80	5,71 A
AL+SL	5,80	3,51	3,30	3,80	3,76	4,03 F
AL+Lİ	5,82	4,03	3,30	3,56	3,59	4,06 F
PL+Lİ	5,78	4,52	5,07	4,82	4,96	5,03 E
PL+SL	5,85	5,46	5,65	5,61	5,59	5,63 B
PL+AL+Lİ	5,87	5,48	4,91	5,06	4,98	5,26 D
PL+AL+SL	5,87	5,56	5,41	5,76	5,65	5,65 B
PL+AL+SL+Lİ	5,90	5,92	5,60	4,92	4,89	5,45 C
Ortalama	4,77 A	4,02 C	4,02 C	4,08 B	4,05 B	4,19
Önem Düzeyi (p<0,05)	Grup = 0,000**			Süre= 0,000**		

** %1 önem düzeyinde önemli. Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Gruplarda ilk gün LAB sayılarının 6 log kob/g'a oldukça yakın olması inokülasyonun istenen düzeyde yapıldığını göstermektedir. Tahin gruplarının her birinin depolama süresi sonundaki LAB sayısı ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Depolama süresi sonundaki LAB sayısı ortalamaları bakımından 5 farklı grup oluşmuştur.

Özellikle aynı suşların ilave edildiği grupların süre sonundaki sayılarının aynı olduğu gözlemlenmiştir. *L. plantarum* suşunun tek başına ilave edildiği grubun süre sonundaki sayısı ile, patojenlerle birlikte olduğu grupları karşılaştırıldığında *L. plantarum* sayısının diğer mikroorganizmaların varlığından etkilenmediği sonucuna varılmaktadır. Ancak *C. alimentarius* sayısının patojen mikroorganizmaların varlığından olumsuz etkilendiği görülmektedir. Dört haftalık depolama sonunda antagonist LAB suşlarının her ikisinin de tahin örneklerinde 4 log kob/g'dan daha fazla sayıda bulunarak canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir. Bu sayede antimikrobiyal etkili metabolitlerini üretmeye devam ederek hedef patojenlerin gelişimini farklı düzeylerde inhibe ettikleri düşünülmektedir.

Tüm inokülasyon gruplarının haftalık LAB sayısı ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). İlk gün dahil olmak üzere 4 haftalık LAB sayısı ortalamaları bakımından 3 farklı grup oluşmuştur. LAB sayıları 1. haftada düşmüş ancak daha sonra depolama süresince belirgin bir değişikliğe uğramamıştır.

Örneklere ilave edilen LAB suşlarının laktik asit üreterek örneklerin tadında ekşimelere neden olup olmadığının belirlenebilmesi amacıyla depolama süresince grupların pH değişimleri de takip edilmiştir. Tahin gruplarında depolama boyunca gözlenen pH değişimleri Çizelge 4.10.'da gösterilmiştir.

Örneklerin depolama süresi sonundaki pH değerleri ortalaması bakımından yalnızca 2 grup oluşmuştur. Haftalık pH değerleri bakımından ise 3 farklı grup oluşmuştur ($p<0,01$). İnokülasyon gruplarının pH düzeylerinde depolama süresince neredeyse hiçbir değişim gözlenmemiştir.

Sadece tüm bakterilerin bulunduğu grupta belirgin bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla bu LAB suşlarının tahin ve benzeri gıdalarda biyokontrol ajanı olarak kullanımının tatta bir ekşimeye sebep olmayacağı sonucuna varılabilir.

Çizelge 4.10. Tahin örneklerinin depolama boyunca pH değişimleri.

Depolama Süresi (Gün)						
Gruplar	İlk Gün	7	14	21	28	Ortalama
Lİ	6,39	6,40	6,40	6,39	6,33	6,38 A
SL	6,38	6,40	6,39	6,43	6,38	6,39 A
AL	6,37	6,39	6,40	6,41	6,39	6,39 A
PL	6,39	6,38	6,41	6,38	6,39	6,39 A
AL+SL	6,40	6,44	6,40	6,42	6,36	6,40 A
AL+Lİ	6,37	6,39	6,41	6,38	6,34	6,38 A
PL+Lİ	6,37	6,40	6,43	6,37	6,35	6,38 A
PL+SL	6,37	6,43	6,40	6,39	6,36	6,39 A
PL+AL+Lİ	6,38	6,43	6,44	6,40	6,37	6,40 A
PL+AL+SL	6,39	6,40	6,42	6,38	6,35	6,39 A
PL+AL+SL+Lİ	6,39	6,40	6,40	4,40	6,41	6,00 B
Ortalama	6,38 AB	6,40 A	6,41 A	6,21 C	6,37 B	6,36
Önem Düzeyi (p<0,05)	Grup = 0,000**			Süre= 0,000**		

** %1 önem düzeyinde önemli. Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Tahin gruplarında depolama boyunca gözlenen *Salmonella* spp. sayısı değişimleri Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Gruplarda ilk gün *Salmonella* spp. sayılarının 6 log kob/g'a yakın olması inokülasyonun istenen düzeyde yapıldığını göstermektedir. Depolama süresi sonundaki ve haftalık *Salmonella* spp. sayısı ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Depolama sonundaki mikroorganizma sayıları bakımından 5 farklı grup oluşmuştur. Haftalık *Salmonella* spp. sayısı ortalamaları bakımından ise 3 farklı grup oluşmuştur. Depolamada tahin örneklerinin *Salmonella* spp. içerikleri 2. haftaya kadar azalmış ancak daha sonra belirgin bir değişiklik olmamıştır.

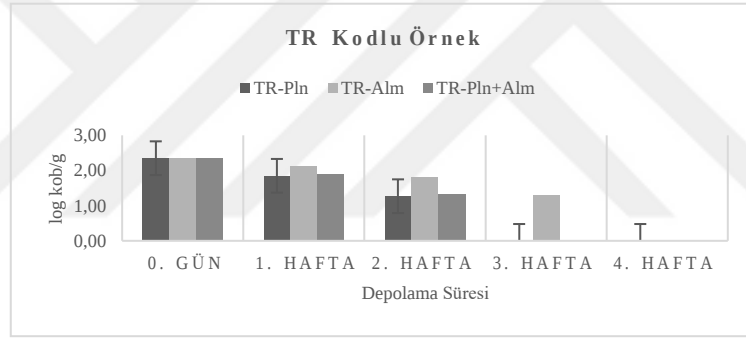
Çizelge 4.11. Tahin örneklerinde depolama boyunca *Salmonella* spp. sayısı değişimleri.

Depolama Süresi (Gün)						
Gruplar	İlk Gün	7	14	21	28	Ortalama
SL	6,34	4,98	5,02	5,01	5,06	5,28 A
AL+SL	6,29	4,94	4,44	4,38	4,40	4,89 B
PL+SL	6,32	4,92	4,19	4,17	4,15	4,75 D
PL+AL+SL	6,26	4,78	4,45	4,46	4,41	4,87 C
PL+AL+SL+Lİ	6,28	4,78	4,15	4,13	4,11	4,69 E
Ortalama	6,30 A	4,88 B	4,45 C	4,43 C	4,43 C	4,90
Önem Düzeyi (p<0,05)	Grup = 0,000**			Süre= 0,000**		

** %1 önem düzeyinde önemli. Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Süre sonunda, antagonist LAB suşu ilave edilmeyen gruptaki *Salmonella* spp. düzeyinin diğer gruplardakinden yüksek olması LAB suşlarının etkili olduğunun göstergesi olmuştur. *Salmonella* spp. düzeyini %34,2 azaltan *L. plantarum* suşu, en etkili antagonist LAB suşu olmuştur.

İçerisinde *S. enterica* serovar *typhimurium* tespit edilen TR kodlu örneğe de antagonist LAB suşları, ayrı ayrı ve karışık olarak ilave edilerek depolama gerçekleştirilmiştir. Depolama boyunca TR kodlu örnekteki *Salmonella* spp. sayısında meydana gelen değişimler Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Buna göre *L. plantarum* suşunun bulunduğu her iki grupta da 3. haftada *Salmonella* spp. tamamen yok olmuştur. Sadece *C. alimentarius* suşunun olduğu grupta ise ancak 4. hafta sonunda *Salmonella* spp.'nin tamamen yok olduğu görülmüştür. Dolayısıyla içerisinde *S. enterica* serovar *typhimurium* tespit edilen grup açısından da en başarılı antagonist mikroorganizma *L. plantarum* olmuştur.



Şekil 4.5. Depolama boyunca TR kodlu örnekte gözlemlenen *Salmonella* spp. değişimleri.

Tahin gruplarında gözlenen haftalık *Listeria* spp. sayısı değişimleri Çizelge 4.12.'de verilmiştir. Gruplarda ilk gün *Listeria* spp. sayılarının 6 log kob/g'a yakın olması inokülasyonun istenen düzeyde yapıldığını göstermektedir. Hem depolama süresi sonundaki mikroorganizma sayıları hem de haftalık mikroorganizma sayıları bakımından 5'er farklı grup oluşmuştur ($p<0,01$). *Listeria* spp. sayıları depolama boyunca düzenli olarak azalma göstermiştir. Sadece *L. plantarum* suşunun ilave edildiği grupta 4. hafta sonunda, her iki antagonistin ve her iki patojenin de ilave edildiği grupta ise 3. hafta sonunda *Listeria* spp. üremesi gözlenmemiştir. Her iki antagonistin ve patojen mikroorganizmanın bulunduğu grupta 4. haftanın sonunda hala *Listeria* spp. bulunması, *L. plantarum* suşunun tek başına daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunun bir göstergesidir. Sadece *C. alimentarius* suşunun olduğu grupta ise *Listeria* spp. düzeyi

depolama süresi sonunda %33,7 oranında azalmıştır. *Listeria* spp. açısından da en etkili antagonist LAB, *L. plantarum* olmuştur.

Çizelge 4.12. Tahin örneklerinde depolama boyunca *Listeria* spp. sayısı değişimleri.

Gruplar	Depolama Süresi (Gün)					Ortalama
	İlk Gün	7	14	21	28	
Lİ	5,88	5,41	5,05	5,03	4,89	5,25 A
AL+Lİ	5,90	5,16	4,49	4,00	3,91	4,69 B
PL+Lİ	5,93	4,59	3,18	2,74	0,00	3,29 D
PL+AL+Lİ	5,99	5,05	4,23	3,53	2,17	4,19 C
PL+AL+SL+Lİ	5,92	5,49	2,86	0,00	0,00	2,86 E
Ortalama	5,92 A	5,14 B	3,96 C	3,06 D	2,19 E	1,84
Önem Düzeyi (p<0,05)	Grup = 0,000**		Süre= 0,000**			

** %1 önem düzeyinde önemli. Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen çalışma sonucunda, tahin örneklerinde As, Cu, Fe ve Pb içeriği ortalamaları sırasıyla 0,229, 14,956, 62,395 ve 2,306 ppm olarak bulunmuştur. Buna göre As içeriği açısından 1 adet, Fe içeriği açısından 1 adet ve Pb içeriği açısından da örneklerin tamamı Türk Gıda Kodeksi Tahin Tebliği'nde belirlenen üst limitleri aşmıştır.

Örneklerin TMAB ve maya-küf sayısı ortalamaları sırasıyla 3,50 ve 3,39 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Piyasadan temin edilen tahin örneklerinden 3 tanesinde koagülaz pozitif ve metisiline dirençli *S. aureus*, 1 tanesinde koliform grubu bakteri tespit edilmiştir. Bir örnekte de *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* bulunmuştur. Bu nedenle tahin ve tahinden yapılan humus, helva vb. besinlerin üretiminde hijyen ve sanitasyon koşulları açısından sıkıntılar olduğu anlaşılmaktadır.

Besiyeri ortamında *L. plantarum* suşları, *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes* suşlarına karşı, *C. alimentarius* suşlarına göre daha güçlü antagonist etki göstermiştir.

İnokülasyon gruplarında yapılan depolama sonunda, her iki patojene karşı en yüksek antagonist etkiyi *L. plantarum* göstermiştir. *S. typhimurium*'un %34 azalmasını, *L. monocytogenes*' in ise tamamen inhibe olmasını sağlamıştır.

S. typhimurium ile kontamine olduğu tespit edilen piyasa örneğindeki depolama sonucunda *L. plantarum* inoküle edilmiş olan grupta 3. hafta sonunda *Salmonella* spp. üremesi gözlenmemiştir.

Tahin hem ülkemizde hem de Ortadoğu coğrafyasında oldukça fazla tüketilen bir ürün olması ve genellikle çiğ tüketiliyor olmasından dolayı herhangi bir gıda kaynaklı hastalığın sebebi olma ihtimali de çok yüksektir. Bu nedenle öncelikle tahine herhangi bir aşamada patojen kontaminasyonu olmasını önlemek, üretim açısından bir öncelik olmalıdır. Yine de herhangi bir sebeple ürüne patojen mikroorganizmalar bulaşırsa da mutlaka inhibe edilmeleri ve varsa toksinlerinin de etkisiz hale getirilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, ileride tahin veya tahin benzeri ürünlerde yapılabilecek biyokontrol çalışmalarına ışık tutacaktır. Ayrıca kullanılan antagonist bakterilerden antimikrobiyal metabolitlerin izole edilmesi ve patojen biyokontrolünde sadece bu metabolitlerin gıdalarda antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilme potansiyeli de yapılabilecek çalışmalar arasındadır. Böylece antagonist mikroorganizmanın ürünün tat ve aromasını değiştirme riski ortadan kaldırılmış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aavitsland, P., Alvseike, O., Guérin, P. J., Stavnes, T. L. (2001). International outbreak of *Salmonella typhimurium* DT104-update from Norway. *Weekly releases* (1997–2007), 5(33).
- Abu-Almaaly, R. A. (2019). Estimate The Contamination by Some Heavy Metals In Sesame Seeds and Rashi Product That Available in Local Markets. *Plant Archives*, 19(2), 3217-3222.
- Al-Nabulsi, A. A., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Shaker, R. R., Zein Elabedeen, N., Jaradat, Z. W., Holley, R. A. (2014). Use of acetic and citric acids to control *Salmonella typhimurium* in tahini (sesame paste). *Food Microbiology*, 42, 102-108.
- Al-Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Olaimat, A. N., Almasri, W. E., Ayyash, M., Al-Holy, M. A., Holley, R. A. (2020). Inactivation of *Salmonella* spp. in tahini using plant essential oil extracts. *Food Microbiology*, (86), 103338.
- Anonim. (2008). eFoodAlert-Tahini recalled in New Zealand. <http://efoodalert.blogspot.com/2008/11/tahini-recalled-in-new-zealand.html> (Erişim tarihi:23.04.2021)
- Anonim. (2011). Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Resmi Gazete 29 Aralık 2011, Sayı:28157-3. mükerrer, Ankara.
- Anonim. (2012). TS ISO 21527-1 Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Maya ve küflerin sayımı için yatay yöntem - Bölüm 1: Su aktivitesi 0,95'ten yüksek olan ürünlerde koloni sayım tekniği. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim. (2014). TS EN ISO 4833-2 Gıda zinciri mikrobiyolojisi - Mikroorganizmaların sayımı için yatay yöntem - Bölüm 2: Yayma plak tekniğiyle 30  C'ta koloni sayımı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim. (2015a). Tarım ve Orman Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi Tahin Tebliği, (Tebliğ No:2015/27), Resm   Gazete 13 Haziran 2015, Sayı: 29385, Ankara.
- Anonim. (2015b), TS ISO 15214 Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Mezofilik

laktik asit bakterilerinin sayımı için yatay yöntem - 30°C'ta koloni sayımı tekniği.
Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim. (2021). Production quantities of Sesame seed by country.
<https://www.nationmaster.com/nmx/ranking/sesame-seed-import-quantity> (Erişim
tarihi:18.04.2021)

Ayaz, M., Al-Sogair, A. (1986.) Microbiological Quality of Tehineh Manufactured in
Saudi Arabia. *Journal of Food Protection*, 49(7), 504-506.

Batu, A., Elyıldırım, F. (2009). Geleneksel helva üretim teknolojisi. *Gıda Teknolojileri
Elektronik Dergisi*, 4(3), 32-43.

Belicová, A., Mikulášová, M., Dušinský, R. (2013). Probiotic Potential and Safety
Properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak Bryndza Cheese. *BioMed
Research International*, 2013, 1–8.

BLAST. 2020. BLAST Program.
[https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=Blast
Search&LINK_LOC=blasthome](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome) (Erişim tarihi: 13.12.2020)

Bosse (née Danz), R., Gibis, M., Schmidt, H., Weiss, J. (2016). Nitrate reductase activity
of *Staphylococcus carnosus* affecting the color formation in cured raw ham. *Food
Research International*, 85, 113-120.

Brockmann, S. O., Piechotowski, I., Kimming, P. 2004. *Salmonella* in Sesame Seed
Products. *Journal of Food Protection*, 67(1), 178-180.

Castro, A., Santos, C., Meireles, H., Silva, J., Teixeira, P. 2016. Food handlers as potential
sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the
community. *Journal of Infection and Public Health*, 9(2), 153-160.

Ceyhun, E. A. (2003). *Türk Tahin Helvalarında Saponin Miktarının HPLC ile
Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
Ankara, 52s.

Çiftçi, D., Kahyaoglu, T., Kapucu, S., Kaya, S. (2008). Colloidal stability and rheological
properties of sesame paste. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 428-435.

- da Costa, R. J., Voloski, F. L. S., Mondadori, R. G., Duval, E. H., Fiorentini, Â. M. (2019). Preservation of Meat Products with Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat. *Journal of Food Quality*, 2019 1-12.
- Dalié, D. K. D., Deschamps, A. M., Richard-Forget, F. (2010). Lactic acid bacteria- Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21(4), 370-380.
- de Jong, B., Andersson, Y., Giesecke, J., Hellström, L., Stamer, U., Wollin, R. (2001). *Salmonella typhimurium* outbreak in Sweden from contaminated jars of helva (or halva). *Euro Surveillance*, 5(29), 1715.
- Efe, E., Bek, Y., Şahin, M. (2000). *SPSS'te Çözümleri ile İstatistik Yöntemler II*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları No:10, Kahramanmaraş, 214s.
- Eghbaljoo-Gharehgheshlaghi, H., Shariatifar, N., Arab, A., Alizadeh-Sani, M., Sani, I. K., Asdagh, A., Arabameri, M. (2020). The concentration and probabilistic health risk assessment of trace metals in three type of sesame seeds using ICP- OES in Iran. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-15.
- Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., Burkhardt, W. (2020). Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. İçinde *Bacteriological Analytical Manual*. FDA. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria> (Erişim tarihi: 15.12.2020)
- Gandevia, H. A., Rana, N. D., Desai, B. A., 2017. Screening, Production and Antibacterial Activity of Bacteriocin from *Lactobacillus* spp. *BMR Microbiology*, 3 (1) 1–8.
- Gebrekidan, A., Desta, A. A. (2019). Assessment on the levels of selected essential and nonessential metals in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) collected from Sheraro town, Northwest Tigray, Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 33(2), 191-202.
- Güven, S., Demirel, N. N., Kırca, A., Güneşer, O., Kaptan, M. 2007. *Tahin helvalarının kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesine üretim aşamalarının etkisi (Proje No: 104 O 290)*. Tübitak Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Grubu, Çanakkale.

- Hitchins, A. D., Jinneman, K., Chen, Y. (2017). Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. *Bacteriological Analytical Manual*.
<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-10-detection-listeria-monocytogenes-foods-and-environmental-samples-and-enumeration>
(Erişim tarihi: 15.12.2020)
- Hooi, R., Barbano, D. M., Bradley, R. L., Budde, D., Bulthaus, M., Chettiar, M., Reddy, R. (2004). Chapter 15 Chemical and Physical Methods. İçinde E. A. Arnold (Ed.), *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/9780875530024ch15> (Erişim tarihi: 14.12.2020)
- Hu, Y., Liu, X., Shan, C., Xia, X., Wang, Y., Dong, M., Zhou, J. (2017). Novel bacteriocin produced by *Lactobacillus alimentarius* FM-MM 4 from a traditional Chinese fermented meat Nanx Wudl: Purification, identification and antimicrobial characteristics. *Food Control*, 77, 290-297.
- Kamiloğlu, A., Kaban, G., Kaya, M. (2019). Effects of autochthonous *Lactobacillus plantarum* strains on *Listeria monocytogenes* in sucuk during ripening. *Journal of Food Safety*, 39(3), e12618.
- Karakahya, E. (2006). *Tahin helvası üretiminde farklı bitkisel yağ ve soya proteini kullanımının kalite özellikleri üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 53s.
- Khachfe, H. M., Alkhatib, A., Alaouie, Z. (2018). A Quantitative Assessment of the Microbiological Quality of Lebanese Tahini (Sesame Paste). *International Journal on Advances in Life Sciences*, 10(3), 127-137.
- Kheirati Rounizi, S., Akrami Mohajeri, F., Moshtaghi Broujeni, H., Pourramezani, F., Jambarsang, S., Kiani, H., Khalili Sadrabad, E. (2021). The chemical composition and heavy metal content of sesame oil produced by different methods: A risk assessment study. *Food Science & Nutrition*, 9, 2886-2893.
- Klaenhammer, T. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 39-85.

- Klingberg, T. D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D., Budde, B. B. (2005). Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 419-431.
- Kloos, W. E., Bannerman, T. L. (1994). Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(1), 117-140.
- Line, J. E., Svetoch, E. A., Eruslanov, B. V., Pereygin, V. V., Mitsevich, E. V., Mitsevich, I. P., Stern, N. J. (2008). Isolation and Purification of Enterocin E-760 with Broad Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(3), 1094–1100.
- Liu, J., Gu, Z., Zhang, H., Zhao, J., Chen, W. (2019). Preventive effects of *Lactobacillus plantarum* ST-III against *Salmonella* infection". *LWT*, 105, 200–205.
- Liu, J., Hu, D., Chen, Y., Huang, H., Zhang, H., Zhao, J., Chen, W. (2018). Strain-specific properties of *Lactobacillus plantarum* for prevention of *Salmonella* infection. *Food and Function*, 9(7), 3673-3682.
- Ly, V., Parreira, V. R., Farber, J. M. (2019). Current understanding and perspectives on *Listeria monocytogenes* in low-moisture foods. *Current Opinion in Food Science*, 26, 18–24.
- Mashak, Z. (2016). Antimicrobial Activity of *Lactobacillus* Isolated From Kashk-e Zard and Tarkhineh, Two Iranian Traditional Fermented Foods. *International Journal of Enteric Pathogens*, 4(2), 34692.
- Menteş, Ö., Ercan, R., Akçelik, M. 2007. Inhibitor activities of two *Lactobacillus* strains, isolated from sourdough, against rope-forming *Bacillus* strains. *Food Control*, 18(4), 359-363.
- Mourad, G., Bettache, G. (2018). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Butter Produced in Djelfa Province of Algeria. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 15(3), 737-746.
- O'Grady, N. P., Alexander, M., Dellinger, E. P., Gerberding, J. L., Heard, S. O., Maki, D.

- G., Weinstein, R. A. (2002). Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention.". MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports, 51(RR-10),1–29.
- Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A., M., Pehlivan, M. (2009). Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri. *Alinteri*, 17 (B) 14-26.
- Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Abu Ghoush, M., Al-Nabulsi, A. A., Holley, R. A. (2018). Control of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in hummus using allyl isothiocyanate". *International Journal of Food Microbiology*, 278, 73-80.
- Olaimat, A. N., Al-Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Al-Holy, M., Ayyash, M. M., Mehyar, G. F., Ghoush, M. A. (2017). Survival and inhibition of *Staphylococcus aureus* in commercial and hydrated tahini using acetic and citric acids. *Food Control*, 77, 179-186.
- Olaimat, A. N., Holley, R. A. (2012). Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiology*, 32(1), 1-19.
- Osaili, T., Al-Nabulsi, A., Nazzal, D., Al-Holy, M., Olaimat, A., Obaid, R., Holley, R. (2021). Effect of water activity and storage of tahini on the viability of stressed *Salmonella* serovars. *Food Science and Technology*, 41(1), 144-150.
- Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Aljaafreh, T. F. (2018). Use of gamma radiation for inactivating *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in tahini halva. *International Journal of Food Microbiology*, 278, 20-25.
- Özcan, M. (1993). *Susam, susam yağı ve tahinde fiziksel-kimyasal analizler ve yağ asitleri bileşiminin belirlenmesi*". Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 51s.
- Poojary, M. M., Passamonti, P. (2020). Interesterification of mafura butter and camellia oil for cosmeceutical formulations: Chemical composition and physicochemical properties of products. *Industrial Crops and Products*, 147, 112178.
- Pratish, A., Kumar, A., Hu, Z. 2018. Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr)

- on health and their bioremediation strategies: a review. *International Microbiology*, 21(3), 97-106.
- Sallen, B., Rajoharison, A., Desvarenne, S., Quinn, F., Mabilat, C. (1996). Comparative Analysis of 16S and 23S rRNA Sequences of *Listeria* Species". *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(3), 669–674.
- Siedler, S., Balti, R., Neves, A. R. (2019). Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current Opinion in Biotechnology*, 56 138-146.
- Singh, A. K., Ramesh, A. (2009). Evaluation of a facile method of template DNA preparation for PCR-based detection and typing of lactic acid bacteria". *Food Microbiology*, 26(5), 504–513.
- Tallent, S., Haint, S., Bennet, R. W., Lancette, G. A. (2001). *Staphylococcus aureus. Bacteriological Analytical Manual*. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-12-staphylococcus-aureus>. (Erişim tarihi: 10.12.2020)
- Tennant, S. M., Diallo, S., Levy, H., Livio, S., Sow, S. O., Tapia, M., Levine, M. M. (2010). Identification by PCR of Non-typhoidal *Salmonella enterica* Serovars Associated with Invasive Infections among Febrile Patients in Mali. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(3), e621.
- Tokalioğlu, Ş., Çiçek, B., İnanç, N., Zararsız, G., Öztürk, A. (2018). Multivariate Statistical Analysis of Data and ICP-MS Determination of Heavy Metals in Different Brands of Spices Consumed in Kayseri, Turkey. *Food Analytical Methods*, 11(9), 2407-2418.
- Torlak, E., Sert, D., Serin, P. (2013). Fate of *Salmonella* during sesame seeds roasting and storage of tahini. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2–3), 214–217.
- Valerio, F., Lavermicocca, P., Pascale, M., Visconti, A. (2004). Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: An approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS Microbiology Letters*, 233(2), 289-295.
- Var, I., Kabak, B., Gök, F. (2007). Survey of aflatoxin B1 in helva, a traditional Turkish

food, by TLC". *Food Control*, 18(1), 59-62.

Verma, T., Subbiah, J. (2019). Conical twin-screw extrusion is an effective inactivation process for *Salmonella* in low-moisture foods at temperatures above 65°C. *LWT*, 114, 108369.

Wallace, H. A., Wang, H., Jacobson, A., Ge, B., Zhang, G., Hammack, T. (2020). *Salmonella. Bacteriological Analytical Manual*.
<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-5-salmonella>.
(Erişim tarihi:10.12.2020)

Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwiwathana, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, 120, 118-132.

Zhou, Q., Gu, R., Li, P., Lu, Y., Chen, L., Gu, Q., 2020. Anti-Salmonella mode of action of natural l-phenyl lactic acid purified from *Lactobacillus plantarum* ZJ316. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104 (12) 5283–5292.