

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OZON VE UV IŞINLARININ KARABİBERİN MİKROBİYAL
DEKONTAMİNASYONUNDA KULLANIM POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nagihan AYVAZ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

TEMMUZ 2014

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OZON VE UV IŞINLARININ KARABİBERİN MİKROBİYAL
DEKONTAMİNASYONUNDA KULLANIM POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Nagihan AYVAZ
(506111535)**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ

TEMMUZ 2014

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506111535 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Nagihan AYVAZ**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**OZON VE UV IŞINLARININ KARABİBERİN MİKROBİYAL DEKONTAMİNASYONUNDA KULLANIM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :

Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ
İstanbul Teknik Üniversitesi



Jüri Üyeleri :

Yrd. Doç. Dr. H. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER
İstanbul Teknik Üniversitesi



Yrd. Doç. Dr. Zeki DURAK
Yıldız Teknik Üniversitesi



Teslim Tarihi : 8 Temmuz 2014
Savunma Tarihi : 18 Temmuz 2014

Değerli aileme,

ÖNSÖZ

Karakteristik tadı ve kokusu nedeniyle “baharatın kralı” olarak adlandırılan karabiber, üretim aşamalarında toprak, toz, kir, böcek, kuş ve kemirgenlerin fekal bulaşları, işleme ve üretim sırasında kullanılan su gibi unsurlarla temas sonucu yüksek mikrobiyal yüke sahip olabilmektedir. Bu nedenle uygun mikrobiyal dekontaminasyon teknikleri kullanılarak mikrobiyal yükün düşürülmesi gerekebilmektedir. Bu çalışmada, karabiberin mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla uygulanmakta olan ticari yöntemlere alternatif olarak üzerinde çalışılan yöntemlerden olan ozon ve ultraviyole uygulamaları, tasarlanan yeni bir sistemle mevcut uygulamalardan farklı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmam boyunca bana bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren ve çalışmalarımı destekleyen danışmanım Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ’e içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımı gerçekleştirmem için sağladığı olanaklardan dolayı TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü’ne ve enstitü çalışanlarından Dr. Hülya ÖLMEZ’e, Dr. Nihat ÖZCAN’a, çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Sefer YAPICI’ya, Gökmen SERDAR’a, Şeyma BAYRAKTAR’a, Sinem MALKOÇ’a sonsuz teşekkür ederim. Her ihtiyacım olduğunda yardım ve desteğini gördüğüm Arş. Grv. Esra DOĞU BAYKUT’a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın hayata geçmesinde maddi imkan sağlayan İ.T.Ü. Araştırma Fon Saymanlığı’na ve tez çalışmam boyunca burs imkanı sağlayan TÜBİTAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca mutlu ve başarılı bir birey olabilmem için bana verdikleri destek, gösterdikleri özveri ve sabır için aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2014

Nagihan AYVAZ

Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1 Karabiberin Tanımı ve Özellikleri	5
2.2 Baharatın Mikrobiyal Dekontaminasyonu	6
2.2.1 Ticari olarak uygulanan yöntemler	6
2.2.1.1 Fumigasyon	7
2.2.1.2 Termal inaktivasyon	8
2.2.1.3 Gamma Işınlama	8
2.2.2 Alternatif olarak çalışılan yöntemler.....	11
2.2.2.1 Dielektrik ısıtma	11
2.2.2.2 Kızılötesi ısıtma.....	14
2.2.2.3 Yüksek hidrostatik basınç uygulaması	15
2.2.2.4 Yüksek basınçlı karbondioksit uygulaması.....	16
2.2.2.5 Atımlı ışık uygulaması	18
2.2.2.6 Soğuk plazma uygulaması.....	19
2.2.2.7 Ozon gazı uygulaması	21
2.2.2.8 Ultraviyole uygulaması	25
3. MATERYAL VE METOD.....	29
3.1 Materyal.....	29
3.1.1 Baharat örnekleri.....	29
3.1.2 İnokülasyonda kullanılan bakteri suşu	29
3.1.3 Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan malzemeler	29
3.2 Metod.....	29
3.2.1 Bakteri inokülasyonu Çalışması.....	30
3.2.1.1 Bakteri süspansiyonunun hazırlanması	30
3.2.1.2 Tane karabibere bakteri inokülasyonu	31
3.2.1.3 Bakterinin tane karabiberde yaşayabilirliğinin tespiti için yapılan işlemler	31
3.2.2 Baharatın uygulanacak dekontaminasyon işlemleri için hazırlanması	31
3.2.3 Baharatın su aktivitesinin belirlenmesi	32
3.2.4 Dekontaminasyon işlemlerinin uygulanması	32
3.2.4.1 Sabit yataklı sistemde yapılan uygulamalar	32
3.2.4.2 Akışkan yataklı sistemde yapılan uygulamalar	35

3.2.5 Mikrobiyolojik analizler.....	37
3.2.6 Renk analizi.....	37
3.2.7 İstatistiksel analiz.....	38
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	39
4.1 <i>E. coli</i> 'nin Tane Karabiberde Yaşayabilirliğinin Tespiti.....	39
4.2 Sabit Yataklı Ozon Uygulamasının Dekontaminasyon Etkinliği.....	41
4.3 Sabit Yataklı UV Uygulamasının Dekontaminasyon Etkinliği.....	46
4.4 Sabit ve Akışkan Yataklı Uygulamaların İnaktivasyon Etkinliği.....	49
4.5 Uygulanan Dekontaminasyon Yöntemlerinin Tane Karabiberin Renk Parametreleri Üzerine Etkisi.....	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR.....	57
EKLER.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

a_w	: Su aktivitesi
ADA	: Amerikan Diyetetik Derneđi
CAP	: Soğuk plazma
CDC	: Hastalıktan Korunma ve Önleme Merkezi
EC	: Avrupa Komisyonu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
HHP	: Yüksek Hidrostatik Basınç
HPCD	: Yüksek Basınçlı Karbondioksit
IAEA	: Uluslararası Atomik Enerji Kurumu
KH₂PO₄	: Potassium phosphate monobasic
Kob	: Koloni oluşturan birim
MW	: Mikrodalga
PBS	: Phosphate buffered saline
PCA	: Plate Count Agar
PL	: Atımlı ışık
RF	: Radyo frekansı
TBX Agar	: Tryptone Bile X-glucuronide Agar
TMAB	: Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
TSB	: Tryptic Soy Broth
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Ozonun sahip olduğu bazı fiziksel özellikler (Çatal ve İbanoğlu, 2010).	21
Çizelge 2.2 : Uyulması tavsiye edilen ozona maruz kalma limitleri/etkileri (Çatal ve İbanoğlu, 2010).	25
Çizelge 4.1 : Sabit yataklı ozon uygulamasının tane karabiberin TMAB yüküne (log kob/g)* etkisi.	41
Çizelge 4.2 : Sabit yataklı ozon uygulamasının tane karabiberin <i>E.coli</i> yüküne (log kob/g)* etkisi.	43
Çizelge 4.3 : Sabit yataklı UV uygulamasının tane karabiberin TMAB yükü üzerindeki etkisi.	46
Çizelge 4.4 : Sabit yataklı UV uygulamasının tane karabiberin <i>E.coli</i> yüküne etkisi.	47
Çizelge 4.5 : Tane karabiberin doğal florasına uygulanan sabit yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.	52
Çizelge 4.6 : Tane karabiberin doğal florasına uygulanan akışkan yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.	53
Çizelge 4.7 : <i>E.coli</i> inoküle edilmiş tane karabibere uygulanan sabit yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.	53
Çizelge 4.8 : <i>E.coli</i> inoküle edilmiş tane karabibere uygulanan akışkan yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.	53
Çizelge A.1 : Dekontaminasyon yöntemlerinde tane karabiberin TMAB yükü için tüm kontrollerinin değerleri.	68
Çizelge A.2 : Dekontaminasyon yöntemlerinde <i>E.coli</i> inoküle edilen tane karabiberin kontrol değerleri.	68
Çizelge B.1 : Tane karabibere inoküle edilen <i>E.coli</i> (ATCC 25922)'nin nisbi neme bağlı olarak yaşayabilirliği *.	69
Çizelge C.1 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin TMAB yükü (log kob/g)* üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.	70
Çizelge C.2 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin <i>E. coli</i> yükü (log kob/g)* üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.	70

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 : Sabit yataklı ozonlama sistemi.	33
Şekil 3.2 : Ozon ve UV'nin sabit yatakta eş zamanlı uygulandığı kombine sistem.....	35
Şekil 3.3 : Akışkan yataklı sistem.....	37
Şekil 4.1 : Tane karabibere inoküle edilen <i>E.coli</i> (ATCC 25922)'nin nisbi neme ve zamana bağlı olarak yaşayabilirliği.	39
Şekil 4.2 : 25 °C'de %45 ve %90 nisbi nemde depolanan inoküle karabiberlerin sahip oldukları su aktivitesinin depolama süresine bağlı olarak değişimi.	40
Şekil 4.3 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin TMAB yükü (log kob/g) üzerindeki etkisi.	50
Şekil 4.4 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin <i>E. coli</i> yükü (log kob/g) üzerindeki etkisi.	51

OZON VE UV IŞINLARININ KARABİBERİN MİKROBİYAL DEKONTAMİNASYONUNDA KULLANIM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

İnsanlık tarihinin bilinen en eski baharatından biri olan, karakteristik tadı ve kokusu nedeniyle “baharatın kralı” olarak adlandırılan karabiberin mikrobiyal yükü; üretim aşamalarından olan yetiştirilme, hasat, kurutma, ayıklama, öğütme, paketlenme ve depolama işlemleri sırasında toprak, toz, kir, böcek, kuş ve kemirgenlerin fekal bulaşları, işleme ve üretim sırasında kullanılan su gibi unsurlarla temas sonucu 6-8 log kob/g düzeyine kadar çıkabilmektedir. Baharatın genellikle gıdalara pişirme aşamasından sonra ilave edilmesi veya gıdalara ilave edildikten sonra kısa süreli ısıtma işlemine tabi tutulması, gıdanın bozulmasına ve ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Bu nedenle baharata, üretimin son basamağı olarak uygun mikrobiyal dekontaminasyon işlemi uygulamak gerekebilmektedir. Baharatın mikrobiyal dekontaminasyonunda kullanılan başlıca yöntemler; termal inaktivasyon, fumigasyon ve gamma ışınlamadır. Bu yöntemlerin sahip olduğu bazı dezavantajlar nedeniyle alternatif olarak kullanılabilecek yöntemler üzerinde çalışılmaktadır.

Bu çalışmada, baharatın mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla uygulanan ticari yöntemlere alternatif olarak üzerinde çalışılmakta olan yöntemlerden ozon ve ultraviyole (UV) uygulamalarının tane karabiberin toplam mezofilik aerobik bakteri ve *E.coli* yükü üzerindeki mikrobiyal inaktivasyon etkinliği, tasarlanan sabit ve akışkan yataklı sistemler kullanılarak araştırılmıştır. Ozon ve UV uygulamalarının etkinliği, öncelikle sabit yataklı sistemde belirlenmiş, yapılan denemeler sonucu çalışılması uygun görülen parametrelerle hem sabit hem akışkan yataklı sistemde, uygulamalar ayrı ayrı ve kombine şekilde çalışılmıştır. Kombine uygulamalar, ozon uygulamasının ardından UV uygulaması ve iki uygulamanın eş zamanlı uygulanması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Ulaşılan bulgular incelendiğinde, sabit yataklı ozon uygulamasının tane karabiberin toplam mezofilik aerobik bakteri yükünde önemli bir azalma sağlayabilmesi için örneğin su aktivitesinin artırılması ya da yüksek konsantrasyonda uzun süre (25 ppm 3 saat) uygulama yapılması gerektiği görülmüştür. Sabit yataklı UV uygulaması söz konusu olduğunda ise önemli düzeyde inaktivasyon sağlamak için 2 saat muamele gerektiği görülmüştür. Daha düşük ozon konsantrasyonu (15 ppm) ve daha kısa sürede (1 saatte) daha fazla inaktivasyon sağlayabilmek için ozon ve UV uygulamaları sabit ve akışkan yataklı sistemde kombine edilmiştir. Sabit yataklı sistemde yapılan kombine uygulamalar, toplam mezofilik aerobik bakteri açısından inaktivasyon etkinliğini artırmamıştır. Fakat, *E. coli* inaktivasyonu açısından etkili olmuştur. Sabit yataklı sistemde kombine uygulamalarla sağlanabilen en fazla inaktivasyon, toplam mezofilik aerobik bakteri için yaklaşık 0,5 log kob/g; *E. coli* için ise 1,5 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Akışkan yataklı sistem, sabit yataklı sisteme göre sağlanan inaktivasyon düzeylerini artırsa da, bu artışların istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Akışkan yataklı sistemde toplam bakteri yükünde sağlanan en fazla inaktivasyon 0,62 log kob/g olarak belirlenmiş ve yapılan kombine uygulamalar bu inaktivasyon düzeyini artırıcı etki göstermemiştir. *E. coli* yükünde ise kombine uygulamalar inaktivasyon etkinliğini artırmış, sağlanan en fazla inaktivasyon ise 1,72 log kob/g olarak belirlenmiştir. Yapılan tüm uygulamaların tane karabiberin renk parametreleri üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir.

INVESTIGATION OF POTENTIAL USE OF OZONE AND UV RADIATION IN MICROBIAL DECONTAMINATION OF BLACK PEPPER

SUMMARY

Black pepper, one of the oldest known spices of the history of mankind, is referred as “King of Spices”, due to its characteristic flavor and aroma. It is cultivated mostly in India and also other countries with tropical climates such as Indonesia, Malaysia, Brazil, Sri Lanka, Vietnam and China. Black pepper is produced from green unripe berries of the pepper plant (*Piper nigrum* L.), a member of the family Piperaceae. The color of the harvested berries becomes black when they are dried. In addition to the widespread use of black pepper in food items, it is also used as drug, preservative, insecticidal and larvicidal control agent, etc. because of its active components such as piperine. Nevertheless, microbial contamination of black pepper may be as high as 6-8 log cfu/g because of its contact of soil, dust, excrement and insects during growing, collecting, processing, storage and transport. Also the high temperature and humidity in tropical countries where peppers are usually grown may favor the development of microorganisms. Spices are non-perishable commodities due to their low moisture contents, so microorganisms may not grow and multiply. However, if they get contact with water-rich food products, microorganisms might find a suitable environment to germinate and multiply. The contaminated spices that do not undergo further cooking after added to foods can cause food spoilage and foodborne diseases. In black pepper, microorganisms such as *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and toxigenic molds and yeasts might present and they potentially create public health risk. Between April and September 1993, a nationwide outbreak of salmonellosis occurred in Germany which was traced back to contaminated paprika and paprika powdered potato chips. Besides the estimated 1000 cases of disease, the company concerned suffered from economic and image losses. In 2009, a multi-state outbreak of salmonellosis occurred in USA which was traced back to salami products that contain imported contaminated ground black pepper and red pepper. It is reported that the disease effected 272 persons in 44 states of USA. As it is seen, it is necessary to control microbial contamination of spices by applying microbial decontamination methods.

Fumigation, irradiation and steam treatment are the commercial microbial decontamination methods applied for reducing the microbial load of spices. But these methods have some disadvantages. For example, ethylene oxide is regarded as a carcinogen and banned for usage in European Union; irradiation generally has not found acceptable by the consumer and at high doses it could cause oxidation and degradation in aromatic components of spices; steam treatment has deteriorative effect on quality of spices and moisture condensed on the surface of the spice must be removed to prevent mold growth. Hence, there is a need for development of new methods that will decontaminate the spices while maintaining the quality. High hydrostatic pressure, high pressure carbon dioxide, radio frequency, microwave,

pulsed light, cold atmospheric plasma, ozone and ultraviolet radiation are alternative methods that researchers are working on for microbial decontamination of spices.

Ozone has strong microbicidal properties, can be generated cheaply, rapidly dissociates to oxygen and does not leave any residue in the treated products. Ozone was approved as generally recognized as safe (GRAS) by the Food and Drug Administration (FDA) in 1997. With the approval of ozone contact with foods by the same authority in 2001, ozone has been started to be used intensively in food treatments. Ozone treatment is a nonthermal method. Ultraviolet (UV) treatment, is also a nonthermal method and it is approved for use as a disinfectant for surface treatment of food products (FDA 2010). Application of UV does not leave any residue in the treated products, too.

The objectives of this study were to evaluate the efficiency of ozone and ultraviolet radiation to inactivate total mesophilic aerobic bacteria and *E. coli* on whole black pepper and determine the effect of these methods on the quality of black pepper by color measurements. For this purpose, a system was designed that could be used both in the fixed and fluidized bed form. At first, ozone and UV methods were applied in fixed system to determine the appropriate parameters, then with these parameters microbial decontamination methods were applied individually and in combination both in the fixed and fluidized bed system. Combined treatments applied to the whole black pepper were ozone treatment (1 hour 15 ppm) followed by UV treatment (1 hour 19.8 J/cm² in fixed bed system or 1 hour 28.8 J/cm² in fluidized bed system) and simultaneous treatment of ozone treatment and UV treatment (1 hour in total).

According to the results, to provide a significant reduction on total mesophilic aerobic bacteria load of whole black pepper by using fixed bed ozonation system, it was necessary to increase water activity or apply high concentration and long treatment time (25 ppm 3 hours). It was found that 2 hours treatment time was required for significant total mesophilic aerobic bacteria inactivation with fixed bed UV system. Hence, ozone and UV treatments were combined to provide more microbial inactivation with less ozone concentration (15 ppm) and treatment time (1 hour). Combined treatments applied with fixed bed system did not give contribution to the total mesophilic aerobic bacteria inactivation efficiency of individual treatments, statistically. But they increased *E. coli* inactivation. For ozone and UV treatments, inactivation rates of total mesophilic aerobic bacteria were 0.11 and 0.37 log cfu/g, respectively. Total mesophilic aerobic bacteria inactivation rates obtained by applying combined fixed bed systems were 0.49 and 0.41 log cfu/g for consecutive and simultaneous treatments. Inactivation rates of *E. coli* obtained by ozone and UV treatments were 0.10 and 0.64 log cfu/g, respectively. *E. coli* inactivation rates obtained by applying combined fixed bed system were 1.45 and 1.32 log cfu/g for consecutive and simultaneous treatments.

With fluidized bed system, more microbial inactivation were obtained, but it was seen that this increase was not statistically significant. Rates of microbial inactivation obtained by ozone and UV treatments for total mesophilic aerobic bacteria were 0.26 and 0.62 log cfu/g, respectively. Combined treatments did not offer additional reduction of total mesophilic aerobic bacteria, statistically. Total mesophilic aerobic bacteria inactivation rates obtained by applying combined fluidized bed systems were 0.59 and 0.51 for consecutive and simultaneous treatments. For *E. coli* inactivation, combined treatments had additional effects. Inactivation rates of *E. coli* obtained by ozone and UV treatments were 0.87 and 0.88 log cfu/g, respectively. *E.*

coli inactivation rates obtained by applying combined fluidized bed systems were 1.72 and 1.43 log cfu/g for consecutive and simultaneous treatments. It was observed that, all the treatments applied in both fixed and fluidized systems did not alter color parameters of black pepper, significantly.

As fluidization increased the exposure of whole black pepper surfaces, resulting in uniform and quick contact of the spice with ozone and UV, it was thought that better microbial decontamination might be possible by applying ozone and UV treatments to whole black pepper in a fluidized state. But the results indicated that the rates of microbial decontamination was not sufficient for commercial applications especially for total mesophilic aerobic bacteria load of whole black pepper even though the inactivation rates were found to be statistically important.

It was found that the treatments applied to whole black pepper resulted better for *E. coli* inactivation than total mesophilic aerobic bacteria inactivation. In literature, it is reported that gram negative bacteria such as *E. coli* is more susceptible to ozone and UV treatments than gram positive bacteria such as *Bacillus* and *Clostridium* species which present in natural microbial flora of black pepper. Also naturally occurring bacteria present on black pepper might be in biofilm form and show more resistance to ozone and UV treatments. This explanations might be the reasons for the results obtained in this study. By considering especially the importance of surface properties of whole black pepper in terms of UV treatment, it would be better to treat the spices which are in form of flaked or powder such as flaked red pepper, peppermint or thyme. Furthermore, in terms of microbial decontamination, pulsed UV lamps might be more efficient than continuous UV lamps.

In spice processing industry, implementation of integrated food safety programs that include Good Agricultural Practices (GAP), Good Manufacturing Practices (GMP) and Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) is important for the production of high quality spices with low microbial load. With the implementation of these systems, it is possible to reduce the rate of microbial inactivation of the spices and increase the applicability of alternative microbial decontamination methods.

GİRİŞ

Baharat, kutsal kitaplarda adından sıkça bahsedilen; dünya ticaretinde, yeni ülkelerin ve kıtaların keşfinde, ülkelerin kaderlerinin belirlenmesinde etkisi olan; efsanelerde ve tarihte binlerce yıl yer edinmiş ve ticaret ağları yoluyla dünyayı dolaşmış ilk üründür (Akgül, 1993; Aydın, 2001; Dalby, 2000). Bir zamanlar altın veya değerli taşlarla bir tutulan baharat, günümüzde bu denli lüks ürün olmaktan çıkmış olsa da hala fazlaca talep görmektedir.

Çeşitli bitkilerin tohum, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök, yaprak gibi kısımlarının bütün halde ve/veya parçalanması, kurutulması, öğütülmesi ile elde edilen; eski zamanlardan beri gıdalara renk, tat, koku ve lezzet verici olarak katılan doğal bileşikler ve bunların karışımları olan baharat; ayrıca ilaç ve kozmetik alanlarında da kullanılmaktadır (Anonim, 2013; Başoğlu, 1982; Schweiggert ve diğ., 2007; Vural ve diğ., 2004). Hatta baharat, bazen gıdalarda oluşan bozulmaları ve kötü kokuları maskeleyerek için bile kullanılmıştır (Risch, 1997). Baharatın gıdalarda kullanımı ile ilgili ilk yazılı kayıt, Mısır'da yapılan kazılarda bulunmuştur. M.Ö. 1500 yılına ait bu kaynakta, hardalın yemeğe çeşni vermek ve korumak amacıyla kullanıldığından bahsedilmektedir (Başoğlu, 1982).

Gıda sektörünün hemen hemen tüm alanlarında kullanılmakta olan baharatın birçoğu içerdiği eterik yağlar ve alkaloidlerden dolayı antimikrobiyal etkiye sahip olsa da; bazı durumlarda ilave edildiği gıdalarda mikrobiyal kirliliğe yol açar (Güven, 2009; Vural ve diğ., 2004). Baharat, *Bacillus spp.*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* ve aflatoksijenik *Aspergillus* gibi birçok mikroorganizma ile yüksek oranda kontamine olabilmektedir (Nicorescu ve diğ., 2013). Kontaminasyon kaynağı toprak, kir, böcek, kuş ve kemirgenlerin fekal bulaşları, işleme ve üretim sırasında kullanılan su vb. unsurlar olabilmektedir (Lacroix ve diğ., 2003). Bu derece fazla kontaminasyonun sebebi ise baharatın bitkisel kökenli olması, nemli ve sıcak iklimlerde özensiz ve hijyenik olmayan koşullarda üretilmesi, uygun olmayan koşullarda depolanması ve taşınması olarak sıralanabilir. Tüm bu faktörlere bağlı olarak baharattaki mikrobiyal yük 10^8 kob/g düzeyine kadar varabilmektedir

(McKnee, 1995; Vural ve diğ., 2004). İşlem görmemiş baharatla yapılan bir çalışmada, bakterilerle en fazla kontamine olan baharat çeşitlerinin karabiber, zerdeçal, paprika, yenibahar ve güvey otu (marjoram) olduğu saptanmıştır (Lacroix ve diğ., 2003).

Düşük nem içeriğinden dolayı uzun süre bozulmayan baharat, yüksek nem içerikli gıdalara katıldığında, mikrobiyal populasyonlar hızla gelişmeye başlamaktadır (Schweiggert ve diğ., 2007). Baharatın genellikle gıdalara pişirme aşamasından sonra ilave edilmesi veya gıdalara ilave edildikten sonra kısa süreli ısıtma işlemine tabi tutulması, gıdanın bozulmasına ve ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Aydın, 2001; Rico ve diğ., 2010). Nitekim, 1993'ün Nisan ve Eylül ayları arasında Almanya'da ulusal çapta görülen salmonellosis vakasının kontamine paprika ve paprika aromalı patates cipsinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. 1000 kişiyi etkilediği tahmin edilen vaka, sadece insan sağlığı açısından değil aynı zamanda firmanın imajı ve uğradığı ekonomik kayıp açısından da birçok olumsuzluğa neden olmuştur (Lehmacher ve diğ., 1995). 2009 yılında ABD'nin 44 eyaletinde 272 kişiyi etkilediği rapor edilen salmonellosis vakasının ise ithal edilen öğütülmüş karabiber ve kırmızı biberin katıldığı salamlardan kaynaklandığı tespit edilmiştir (CDC, 2010). Bu gibi olaylar, kontaminasyonun kontrolü amacıyla, İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Tarım Uygulamaları (GAP)'nın adaptasyonunun, doğru şekilde uygulanmasının zorunluluğunu gözler önüne sermiştir (Lehmacher ve diğ., 1995). Baharat üretiminin tüm aşamalarını kapsayan HACCP (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları) sistemi, mikrobiyal güvenliğin artırılmasını sağlayacaktır (EC, 2004). Tüm bu uygulamaların yanı sıra, mikrobiyal dekontaminasyon için alternatif metotların geliştirilmesinin gerekliliği de anlaşılmış durumdadır (Castro ve diğ., 2011). Baharatın mikrobiyal dekontaminasyonunda kullanılan başlıca yöntemler; termal inaktivasyon, fumigasyon ve gamma ışınlamadır (Abbas ve Halkman, 2003). Bu yöntemlerin sahip olduğu bazı dezavantajlar nedeniyle alternatif olarak kullanılmak üzere çalışılan diğer yöntemler; yüksek hidrostatik basınç (HHP), atımlı ışık (PL), ultraviyole radyasyon (UV), radyo frekansı (RF), mikrodalga (MW), yüksek basınçlı CO₂ (HPCD), ozon, soğuk plazma gibi uygulamaları kapsamaktadır (Akbaş ve Özdemir, 2008a; Butz ve diğ., 1994; Calvo ve Torres, 2010; Güzel-Seydim ve diğ., 2004a; Kim ve diğ., 2014; Nicorescu ve diğ., 2013; Marra ve diğ., 2009).

Bu çalışmanın amacı; baharatın mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla uygulanan ticari yöntemlere alternatif olarak üzerinde çalışılmakta olan ozon ve UV uygulamalarının tane karabiberde göstereceği mikrobiyal inaktivasyon etkinliğinin araştırılmasıdır. Bu amaç için, tasarlanan sabit yataklı ve akışkan yataklı sistemler kullanılarak mevcut çalışmalardan daha farklı olarak ozon ve UV uygulamaları ayrı ayrı ve kombine şekilde çalışılmıştır.

LİTERATÜR ÖZETİ

1.1 Karabiberin Tanımı ve Özellikleri

İnsanlık tarihinin bilinen en eski baharatından biri olan, karakteristik tadı ve kokusu nedeniyle “baharatın kralı” olarak adlandırılan karabiberin, ilk olarak ve en fazla yetiştirildiği ülke Hindistan’dır. Ayrıca; Endonezya, Malezya, Brezilya, Sri Lanka, Vietnam, Çin gibi tropikal iklime sahip diğer ülkelerde de yetiştirilmektedir (Murthy ve Bhattacharya, 1998; Sivaraman ve diğ., 1999). Ülkemizin iklimi karabiberin yetiştirilmesi yönünden uygun değildir. Adana ve civarında yapılan denemelerden başarılı sonuç alınamamıştır (Emer, 2005). Karabiber; Piperaceae familyasına ait çok yıllık, tırmanıcı, çiçekli bir bitki olan *Piper nigrum*’un meyvelerinin tam olgunlaşmadan toplanıp kurutulmasıyla elde edilmektedir (Dalby, 2000; Murthy ve Bhattacharya, 1998). Toplanıldığında yeşil renkli olan bu meyvelerin rengi, kurutulduğunda griden koyu kahverengi-siyaha değişen tonlarda bir görünüm kazandığından, meyveler “karabiber” olarak adlandırılmaktadır. Karabiber taneleri, 4-6 mm çapında ve tek tohumludur. Yüzeyi değişen oranlarda buruşuk, iç kısımları beyazımsı ve unsu yapıdadır. Öğütülmemiş olarak satışa sunulan meyveler, biber çeşitleri arasında en güçlü aroma ve kokuya sahip olup “tane karabiber” olarak adlandırılmaktadır (Akgül, 1993; Aydın, 2001).

Karabiberin sahip olduğu tipik kokunun kaynağının içerdiği uçucu yağlar; tadınınsa oleorezinlerden kaynaklandığı bildirilmektedir. Karabiberde bulunan başlıca uçucu yağlar α -pinen, β -pinen, sabinen, β -caryophyllen, mirsen, limonen, α -humulen; başlıca oleorezinler ise piperin ve piperidindir (Akgül, 1993; Aydın, 2001). Karabiberin içerdiği piperin, uçucu yağ, nişasta ve lif miktarı belirgin şekilde farklılık göstermekle beraber; bu bileşenler ürünün kalitesinin göstergesidir (Murthy ve Bhattacharya, 1998). Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği (Tebliğ No: 2013/12)’ne göre tane karabiberin sahip olması gereken uçucu yağ miktarının en az 2 ml/100g (kuru maddede); selüloz miktarının en fazla %18 (kuru maddede) olması gerekmektedir.

Karabiber gıdalardaki kullanımının yanısıra farklı amaçlarla da kullanılmaktadır. Karabiberin aktif bileşenlerinden olan piperinin, pankreas ve ince bağırsakta bulunan sindirim enzimlerini uyarıcı; safra asitlerinin salgılanmasını artırıcı etkisi bildirilmiştir (Ahmad ve diğ., 2012). Piperinin diyare önleyici ve azaltıcı etkisi olduğu da bildirilmektedir (Reshmi ve diğ., 2010). Deney hayvanlarıyla (farelerle) yapılan çalışmalarda piperinin tümör oluşumunu ve mutasyonu azalttığı gözlemlenmiştir (El-Hamms ve diğ., 2003; Sunila ve Kuttan, 2004). Karabiberden ekstrakte edilen piperamidlerin, insektisidal etkisi (Scott ve diğ., 2005); β -caryophyllen'in anestezik etkisi olduğu bildirilmiştir (Ahmad ve diğ., 2012). Karabiberin ikincil metabolitlerinden olan nerolidol, maytların kontrolünde kullanılmaktadır. Bir diğ er önemli bileş en olan pipen, oldukça tanınmış bir koku maddesidir (Jayalekshmy ve diğ., 2003). Karabiber aynı zamanda gastrit, diyare, hazımsızlık gibi sindirim sistemi problemlerinde ve soğuk algınlığı, yüksek ateş, astım gibi solunum sistemi problemlerinde tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Karabiberin, β -karoten ve selenyum gibi vitaminleri içeren çeş itli besin maddelerinin biyoyararlılığını artırdığı bildirilmiştir. Sahip olduğu tüm bu aktivitelerin yanısıra, karabiberin antibakteriyel, antifungal, antioksidatif, antienflamatuar, larvisidal, pestisidal, vb. aktivitelere de sahip olduğu bildirilmektedir (Ahmad ve diğ., 2012; Parganiha ve diğ., 2011; Parmar ve diğ., 1997).

Karabiberin mikrobiyal yükü; üretim aş amalarından olan yetiştirilme, hasat, kurutma, ayıklama, öğütme (toz karabiber üretiminde geçerli), paketleme ve depolama iş lemleri sırasında toprak, toz, kir, böcek, kuş ve kemirgenlerin fekal bulaş ıları, işleme ve üretim sırasında kullanılan su gibi unsurlarla temas sonucu 10^6 - 10^8 kob/g düzeyine çıkabilmektedir (Lacroix ve diğ., 2003; Erdoğ du ve Ekiz, 2013). Bu nedenle üretimin son basamağı mikrobiyal dekontaminasyon iş lemidir.

1.2 Baharatın Mikrobiyal Dekontaminasyonu

1.2.1 Ticari olarak uygulanan yöntemler

Baharatın mikrobiyal dekontaminasyonunda kullanılan ticari yöntemler; fumigasyon, termal inaktivasyon ve gamma ış ınlamadır (Abbas ve Halkman, 2003).

1.2.1.1 Fumigasyon

Fumigasyon uygulamasında, baharatlar etilenoksit, metilbromid, fosfin gibi gaz fazındaki kimyasallarla muamele edilmektedir (Castro ve diğ., 2011). Fumigasyon uygulaması, ürün üzerinde kimyasal kalıntı bıraktığı için paketlenme yapılmadan önce, ürün bir hafta kadar havalandırılmalıdır. Ayrıca; ürünün duyuusal kalitesindeki azalma bu yöntemin bir diğer dezavantajıdır (Marcotte, 2001; Abbas ve Halkman, 2003).

Etilen oksit, Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından birinci sınıf kanserojen maddeler arasında gösterilmektedir (Tateo ve diğ., 2006). Bu nedenle, etilen oksit kullanımı Avrupa Birliği'nde yasaklanmıştır. Ozon tabakası üzerinde yarattığı olumsuz etkilerden dolayı; bu alanda yaygın kullanıma sahip metil bromid kullanımı da Montreal Protokolü kapsamında 2001 yılında yasaklanmıştır (Schweiggert ve diğ., 2007). Bu yasaklamalar sonucunda fosfin, düşük maliyetli, hızlı etki gösteren ve depolanan üründe kalıntı bırakmayan (0,01 ppm ve daha düşük kalıntılar göz ardı edilebilmektedir) bir fumigant olarak yaygın kullanım özelliği kazanmıştır. Yine de insan ve hayvanlar için hayli toksik olabilmesi (kısa süreli maruziyet için eşik değeri limiti 1 ppm; anlık ölçülen ortalama konsantrasyon için 0,3 ppm) nedeniyle, Uluslararası Kimyasal Güvenlik Kartları (ICSC)'nda güvenli kullanım için verilen bilgiler uygulanmalıdır (Castro ve diğ., 2011).

Castro ve diğ. (2011), fosfin'in tane karabiberin doğal florasında bulunan TMAB'ler ve karabibere inoküle edilen *Salmonella enterica* (Enteritidis serotipi) üzerindeki inaktivasyon etkinliğini araştırmışlardır. Kuru (a_w : 0,67) ve nemlendirilmiş (a_w : 0,92 ve 0,97) tane karabiberlere, 35 °C'de 3 ve 6 g/m³ konsantrasyonda, 72 saat boyunca yapılan uygulama kuru ve nemli örneklerin TMAB yükünde azalma sağlayamazken; *Salmonella* inoküle edilen örneklerde (başlangıç yükü 6-7 log kob/g olarak belirlenmiştir), 0,92 a_w 'de 3,22; 0,97 a_w 'de 2,33 azalma sağlanabilmiştir. Ayrıca; nemli örneklerle (a_w : 0,92 ve 0,97), 72 saat boyunca 6 g/m³ konsantrasyonda fosfin uygulamasının ardından örnekler 0,67 a_w 'ye kurutulmuş (örneklerin başlangıç yükü 4-6 log kob/g) ve depolama (24, 48 ve 72 saat) sırasındaki mikrobiyal yükleri incelenmiştir. Fumigasyonun hemen ardından mikrobiyal yükte sağlanan azalma kontrolle kıyaslandığında (kontrolde de bir miktar azalma tespit edilmiştir) 0,92 a_w 'ye sahip örnekler için 3,6 log, 0,97 a_w 'ye sahip örnekler için ise 3,87 log olarak belirlenmiştir. 72 saat depolanan örneklerde kontrolün yükü 3,5 log kob/g iken; işlem

görmüş örneklerde *Salmonella* tespit edilmemiştir. Alınan sonuçlar neticesinde, karabibere fosfin uygulamasının kurutma prosesinden önce, hermetik konteynırlarda gerçekleştirilmesinin etkili bir yöntem olabileceği belirtilmiştir.

1.2.1.2 Termal inaktivasyon

Buharla muamele; baharatın termal yöntemle mikrobiyal dekontaminasyonunda yaygın olarak kullanılmakta ve ticari olarak bütün haldeki baharata, 1020 mbar basınçta, 100 °C civarı sıcaklıkta, 16 dakika buhar muamelesi şeklinde uygulanmaktadır (Orman, 2005; Rico ve diğ., 2010; Waje ve diğ., 2008). Daha sonra işlem gören baharat, kontaminasyonun önlenmesi için aseptik koşullarda ambalajlanmaktadır (Abbas ve Halkman, 2003). Toz halde satışa sunulan baharatlar söz konusu olduğunda, işlem gören bütün haldeki ürünler paketleme öncesinde öğütülmektedir (Waje ve diğ., 2008).

Uygulama sırasında herhangi bir kimyasal kullanılmaması, yöntemin tüketiciler tarafından kabul görmesini sağlamıştır. Fakat uygulamanın ürünün rengini, içerdiği uçucu yağ miktarını etkilemesi (Lillie ve diğ., 2007), nem içeriğinde artışa sebep olması sonucu hızlı bir şekilde küf gelişimine neden olarak ürünün raf ömrünü kısaltması gibi olumsuz etkileri söz konusudur (Abbas ve Halkman, 2003). Uygulama sonrasında yüzeye kondanse olan su, depolama sırasında küf gelişimini önlemek adına uzaklaştırılmalıdır (Schneider,1993).

1.2.1.3 Gamma Işınlama

Tarihi 1895’de Roentgen’in X ışınlarını keşfetmesi ve 1896’da Becquerel’in radyoaktiviteyi bulmasına kadar uzanan ışınlamanın, gıda alanında yaklaşık 50 yıllık bir geçmişi vardır (Aydemir Atasever ve Atasever, 2007; Diehl, 2002). Gıda ışınlama; gıdaların iyonize enerji olarak da adlandırılan iyonize ışınlarla muamele edilmesidir (Lacroix ve Quattara, 2000). Bu enerjinin kaynağı gama ışınları (Co₆₀ ve Se₁₃₇ kaynaklarından elde edilen ışınlar), hızlandırılmış elektronlar veya X ışınlarıdır (Karadağ ve diğ., 2008). Endüstride en yaygın olarak kullanılan, gama ışınlarıdır (Aydemir Atasever ve Atasever, 2007).

Işınlama gıdalarda radyoaktiviteye neden olmayan fiziksel bir proses, bir enerji girdisidir (ADA., 2000). 1980 yılında toplanan FAO-IAEA-WHO Ortak Uzmanlar Komitesi, 10 kGy (kiloGray)’e kadar ışınlanmış gıdalarda toksikolojik, biyolojik,

nutrisyonel ve kimyasal açıdan bir tehlike oluşmadığını bildirmiştir (Lacroix ve Ouattara, 2000). Işınlama; baharat, taze ve dondurulmuş meyve, sebze ve meyve suları, soğan, sarımsak, pirinç, baklagiller, tahıl ve ürünleri, patates, yenilebilir sert kabuklular ve tohumlar, salça, et, kanatlı ve ürünleri, taze ve kurutulmuş deniz ürünleri, çikolata, çay ve ekstraktlarında; kalitenin korunması, hijyenin sağlanması, muhafaza süresinin uzatılması için kullanılmaktadır (Güven, 2009). Her gıda grubunda farklı amaçlar için kullanılabilecek doz aralıkları standartlarda belirtilmiştir (Gezgin ve Güneş, 2003).

Işınlamanın mikroorganizmalar üzerindeki etkisi direkt ve indirekt olarak iki mekanizma ile açıklanmaktadır. Direkt etki, yüksek enerjili ışınların mikroorganizmaların DNA'sı, enzimler veya kritik bileşiklerle etkileşerek moleküllerin yapısındaki kimyasal bağların kırılmasına yol açması ve bunun sonucunda bir takım serbest radikallerin oluşması ve/veya moleküllerin parçalanması şeklinde gerçekleşmektedir. İndirekt etki ise, yüksek enerjili bu ışınların etkisi ile açığa çıkan reaktif bileşiklerin gıdada değişik bileşenlerle reaksiyona girmesi şeklinde açıklanmaktadır (Gezgin ve Güneş, 2003). Baharat ışınlama işleminde uygulanması gereken doza, mikroorganizma türü ve sayısı, spor formunda olup olmaması ve de baharatın kimyasal yapısına göre karar verilmektedir. Baharatlar kuru ürünler olduğundan ışınlamaya karşı dirençlidirler. Genellikle, 10 kGy düzeyindeki dozu tolare edebildikleri bildirilmektedir (Lacroix ve diğ., 2003). Baharatın yüksek oranda kontaminasyonunun söz konusu olduğu durumlarda uygulanması gereken doz 30 kGy'ye kadar varabilmektedir (Prabhakaran, 2011). Avusturalya, Yeni Zellanda ve Amerika gibi bazı ülkelerde baharat ışınlama için 30 kGy'lik uygulamaya izin verilirken ; ülkemizde baharatın mikrobiyal inaktivasyonu için izin verilen doz 10 kGy'dir (Waje ve diğ., 2008; Anonim,1999).

Işınlamanın üründe kimyasal kalıntı bırakmaması, ürünün sıcaklığında minimal bir artışa neden olması, ürünlerin paketli halde işlenmesine fırsat tanınması bu uygulamayı cazip kılan sebeplerdendir (Alam Khan ve Abraham, 2010; Lacroix ve Ouattara, 2000). Yüksek maliyet, 10 kGy üzerindeki dozlarda karbonhidrat yapısında degradasyon, lipitlerde ransidite görülebilmesi, bazı ambalaj materyallerinin radyoliz ürünlerinin oluşumuna neden olabilmesi, düşük tüketici kabulü gibi unsurlarsa yöntemin dezavantajlarıdır (Goulas ve diğ., 2004; Alam Khan ve Abraham, 2010; Prabhakaran Nair, 2011; Schweiggert ve diğ., 2007).

Lee ve diğ. (2004), ışınlamanın kırmızı biber tozunun mikrobiyolojik yükü ve bazı kalite özellikleri (rengi, acılığı, kokusu ve içerdiği uçucu bileşikler) üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Polietilen/polipropilen ambalajlarla vakum paketlenen yapılan kırmızı biber tozları 3, 5 ve 7 kGy dozlarında ışınlanmıştır. 7 kGy dozunda ışınlama ile yaklaşık 7 log kob/g olan toplam mezofilik bakteri yükünde, kalitede önemli bir değişikliğe sebep olmadan yaklaşık 2,5 log azalma sağlanmıştır. Ayrıca; 7 kGy dozda ışınlanan örneklerde küf-maya yükü başlangıçta yaklaşık 5 log kob/g düzeyinde iken işlem görmüş örneklerde tespit edilmemiştir. Fakat; paketli ürünün ışınlamanın, ürüne migrate olan ve ürünün tadında değişikliklere sebep olan 1,3-di-tertbutilbenzen oluşumunu indüklediğini de bildirilmiştir.

Rico ve diğ. (2010), buhar ve ışınlama uygulamalarının, kırmızı biber tozunun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine olan etkisini, işlem gören örneklerin 4 ve 20 °C’de 6 haftalık depolanmaları süresince değerlendirmiş ve karşılaştırmışlardır. Buhar uygulamasında; örnekler 1020 mbar basınç altında, 100 °C civarı sıcaklıktaki buharla 16 dakika muamele edilmiş ve öğütülmüştür. Yapılan bu uygulama 10^6 kob/g düzeyinde olan başlangıç mikroorganizma yükünde 1-2 log azalma sağlarken; oda sıcaklığında depolanan örneklerde renk ve duyuşal açıdan kayıplar gözlemlenmiştir. PE paketlerde 10 kGy dozda ışınlanan örneklerde ise başlangıç mikroorganizma yükünde 5 log azalma sağlanmıştır. Fizikokimyasal özelliklerde ise minimal düzeyde değişiklikler gözlemlenmiştir. Sonuç olarak; fizikokimyasal özelliklerde olabilecek değişimleri en aza indirgeyerek etkin bir mikrobiyal dekontaminasyon sağlayabilmek için toz kırmızı bibere ışınlama uygulanması ve sonrasında buzdolabı koşullarında saklanması önerilmiştir.

Waje ve diğ. (2008), buhar (1020 mbar basınç altında, 100 °C civarı sıcaklıktaki buharla 16 dakika muamele) ve ışınlama (10 kGy dozda) uygulamalarının toz karabiberin fizikokimyasal özellikleri (nem içeriği, pH, indirgen şeker, antioksidan aktivite, renk, vb.) ve mikrobiyal yükü üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Ayrıca, işlem görmüş örneklerin 20 °C’de ve 4 °C’de 6 hafta süreyle depolanmasının özelliklerde değişikliğe neden olup olmadığı da belirlenmiştir. İşlem görmemiş örneğin TMAB yükü ($2,8 \times 10^6$ kob/g)’nde, buhar ve ışınlama uygulamaları sonrasında sırasıyla 3 ve 4 log düşüş gözlemlenmiştir. Her iki uygulama sonrasında da 4 °C’de depolama TMAB yükünde önemli bir değişikliğe neden olmazken; 20 °C’de depolama ile 1 log kadar bir artış gözlemlenmiştir. İşlem görmemiş örneğin

küf-maya yükü ($5,2 \times 10^3$ kob/g)'nde ise buhar ve ışınlama uygulamaları sonrasında sırasıyla 2 ve 3 log düşüş gözlemlenmiştir. Depolama sonrasında ise küf-maya yükü tespit sınırının altına düşmüştür. Örneğin koliform bakteri yükü ($2,1 \times 10^5$)'nün buhar ve ışınlama uygulamaları sonrasında sırasıyla 4 ve 5 log düştüğü belirlenmiştir. Buhar uygulaması gören örneklerin renginin daha fazla koyulaştığı ve piperin içeriğinin önemli ölçüde azaldığı; ışınlamanınsa fizikokimyasal özelliklerde minimal değişimlere sebep olarak daha fazla mikrobiyal inaktivasyon sağladığı belirtilmiş olup mikrobiyal kalitenin artırılması ve fizikokimyasal özelliklerin korunması açısından depolama işleminin 4 °C'de yapılması önerilmiştir.

1.2.2 Alternatif olarak çalışılan yöntemler

Baharatın mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla üzerinde çalışılan yöntemler; yüksek hidrostatik basınç (HHP), atımlı ışık (PL), ultraviyole radyasyon (UV), dielektrik ısıtma (radyo frekansı (RF) ve mikrodalga (MW)), yüksek basınçlı CO₂ (HPCD), ozon, kızılötesi (IR) ısıtma, soğuk plazma gibi uygulamaları kapsamaktadır (Akbaş ve Özdemir, 2008a; Butz ve diğ., 1994; Calvo ve Torres, 2010; Erdoğan ve Ekiz, 2011; Güzel-Seydim ve diğ., 2004a; Kim ve diğ., 2014; Nicorescu ve diğ., 2013; Marra ve diğ., 2009). Bu kısımda alternatif yöntemler ve bu yöntemlerin uygulamalarından bahsedilmiştir. Çalışmanın kapsamı dahilinde olan ozon ve UV uygulamaları daha detaylı biçimde açıklanmıştır.

1.2.2.1 Dielektrik ısıtma

Mikrodalgalar veya yüksek frekanslı radyo dalgaları kullanılarak yapılan ısıtma işlemine dielektrik ısıtma denmektedir (Uslu ve Certel, 2006). 2. Dünya Savaşı sırasında askeri ekipmanların üretimi ve dizaynı üzerine yapılan çalışmalarda keşfedilen (Konak ve diğ., 2009) ve gıda endüstrisinde temperleme, haşlama, pastörizasyon/sterilizasyon, kurutma, pişirme gibi amaçlarla kullanılmakta olan mikrodalgalar (Fito ve diğ., 2005), elektromanyetik spektrumda kızılötesi ışınlar ile radyo dalgaları arasında bulunan, 1 mm-1 m dalga boyu ve 300 MHz-300 GHz frekans aralığına sahip elektromanyetik dalgalardır (Dababneh, 2013). Genel olarak ev tipi mikrodalga fırınlarda 2,45 GHz frekansı, endüstriyel proseslerde 2,45 GHz ya da 915 MHz frekansları kullanılmaktadır (Dibben, 2001). Mikrodalganın; gıda içindeki her noktada sıcaklığın homojen dağılımının belirlenmesinin güçlüğü (Karadağ ve diğ., 2008), gıdaların köşe kısımlarında aşırı ısınma, gıda tekstüründe

hamurumsu yapı ve esmerleşmede yarattığı eksiklikler gibi dezavantajları olmasına rağmen gıda ürünlerinin hacimsel (iç kısımdan dış kısma doğru) ısıtılmasına, gıdanın paketli halde muamele görmesine ve gıdaların pratik bir şekilde hazırlanmasına tanıdığı imkanlar yanında zamandan ve enerjiden tasarruf sağlaması nedeniyle de alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Dababneh, 2013). Mikrodalgaların mikroorganizmalar üzerinde geniş bir yelpazede etki gösterdiği bilinmektedir (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., vb.). Bu etki gıdanın içerdiği su miktarı, işlemin sürekli ya da kesikli oluşu, işlem süresi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Emam ve diğ., 1995). Baharatların mikrodalga ile işlenmesi, yöntemin uygulama kolaylığı nedeniyle son yıllarda gündemde olan alternatif bir yöntemdir.

Dababneh (2013), çalışmasında baharatların (karabiber, beyaz biber, tarçın, vb.) mikrobiyal yükleri üzerine mikrodalganın etkisini araştırmıştır. Çalışılan baharatların termofilik spor oluşturan bakteri yükü $4,8 \times 10^2$ - $1,2 \times 10^3$ kob/g, küf-maya yükü $1,04 \times 10^3$ - $2,2 \times 10^4$ kob/g olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada ev tipi mikrodalga fırını kullanılarak kuru ve likit solüsyon (%0,1'lik peptonlu su) içerisindeki baharatlar farklı sürelerde (15, 30, 45 ve 60 sn.) mikrodalga ile muamele edilmiştir. Her iki uygulamada da 30 sn.'de küf-maya sayısında 1-3 log, termofilik spor oluşturan bakteri sayısında 1-2 log azalma sağlanmıştır. Baharatları likit solüsyon içerisinde muamele etmenin, mikrodalgaların ısı etkisine ekstra bir katkı yapması beklenmişse de alınan sonuçlar likit içerisinde ve kuru halde muamele gören örnekler arasında önemli bir fark (%5 önem düzeyinde) olmadığını göstermiştir. Aydın (2001), çalışmasında mikrodalga uygulamasının karabiber üzerindeki mikrobiyal inaktivasyon etkinliğini araştırmıştır. Bu amaçla karabiber örnekleri kuru ve nemlendirilmiş olarak, farklı sürelerde ve sürekli-kesikli sistem uygulanarak işleme maruz bırakılmıştır. Örneğin nemi, işlemin süresi ve sürekli-kesikli uygulanmasına göre değişiklik göstermekle beraber, mikrobiyal yükte sağlanan inaktivasyon düzeyinin TMAB yükünde %51,7-87,6, aerob sporlu bakteri yükünde %43,8-89,1, *Enterobacteriaceae* sayısında %9,30-94,9, küf-maya yükünde ise %34,2-90,8 arasında olduğu belirlenmiştir. En fazla inaktivasyon %17,5 düzeyinde nemlendirilen örneklerde gözlemlenmiştir.

RF teknolojisinin gıda işleme alanında kullanımı ise İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra keşfedilmiştir. 1946' da Sherman, dielektrik ısıtmayı ve nasıl üretildiğini açıklamış

ve gıda işlemede kullanımını önermiştir. RF, elektromanyetik spektrumun 1-300 MHz arasındaki bölgeyi kapsamaktadır. Fakat endüstriyel uygulamalar için kullanılan frekanslar 10-50 MHz (13,56, 27,12 ve 40,68 MHz) arasındadır (Marra ve diğ., 2009).

RF uygulaması, mikrobiyal inaktivasyonu çoğunlukla enzim, protein, nükleik asit ve diğer önemli bileşenler üzerindeki termal etkisi yoluyla gerçekleştirmektedir. Ayrıca, membran bütünlüğünün bozulmasına da sebep olmaktadır. RF ısıtma kompleks bir proses olup, ısınma hızı ve oranı gıdanın kompozisyonundan, boyutundan, tuz ve su içeriğinden, yoğunluğundan, sıcaklığından vb. özelliklerinden etkilenmektedir (Kim ve diğ., 2012).

RF ile ısıtmada elektromanyetik güç, mikrodalgada görülebilen ürün yüzeyinde aşırı ısınmaya veya sıcak/soğuk nokta oluşumuna neden olmadan ürün içerisine çok daha fazla penetre olabilmektedir. MW ısıtma ile karşılaştırıldığında, RF ısıtma genellikle daha homojen ısıtma sağladığı için gıda geometrisi bakımından avantaja sahiptir (Marra ve diğ., 2009).

Kim ve diğ. (2012), RF ile ısıtmanın (27,12 MHz frekansta) karabiber (bütün ve öğütülmüş) ve kırmızı biberdeki (farklı partikül büyüklüğünde) *S. Typhimurium* ve *E. coli O157:H7* bakterilerini inaktive etmedeki etkinliğini çalışmışlardır. Konsantrasyon 10^8 kob/g olacak şekilde her iki bakterinin süspansiyonlarını içeren karışım ile inoküle edilmiş örnekler, oda sıcaklığında kontrollü koşullarda 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Karabiber örnekleri 50 sn., kırmızı biber örnekleri ise 40 sn.'ye varan sürelerde işlem görmüştür. Bütün ve öğütülmüş karabiber örneklerinde 50 sn. RF uygulaması ile *S. Typhimurium* sayısında sırasıyla 3,18 and 4,29 log kob/g azalma sağlanırken; *E. coli* sayısında 2,80 ve 3,74 log kob/g azalma sağlanmıştır. Kırmızıbiber örneklerinde ise 40 sn. RF uygulaması ile *S. Typhimurium* sayısında 3,38-5 log kob/g (tespit sınırının altı)'dan fazla bir azalma sağlanırken; *E. coli* sayısında 3,5-5 log kob/g (tespit sınırının altı)'dan fazla bir azalma sağlanmıştır. Sonuç olarak; RF ısıtmanın duyu kaliteyi önemli derecede etkilemeden baharatlardaki patojenlerin eliminasyonu için potansiyeli olan alternatif bir yöntem olabileceği bildirilmiştir.

1.2.2.2 Kızılötesi ısıtma

Son zamanlarda, gıda endüstrisinde yaygın olarak kurutma, pişirme, çözündürme, pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısı işlemlerde kullanılmakta olan kızılötesi radyasyon (IR), elektromanyetik spektrumda, görünür ışıkla mikrodalga arasındadır. Kızılötesi radyasyon, yakın-kızılötesi (0,76-2 mm), orta-kızılötesi (2-4mm) ve uzak-kızılötesi (4-1000 mm) olarak sınıflandırılmaktadır (Krishnamurthy ve diğ., 2008; Sepulveda ve Barbosa-Canovas, 2003). Kızılötesi ışınların kısa dalga boyunda olması nedeniyle gıdalara penetrasyonu zayıftır. Gıda bileşenlerinin ve mikroorganizmaların, özellikle uzak kızılötesi ışınları kolaylıkla absorbe edebildiği bildirilmektedir (Erdoğan ve Ekiz, 2011).

Kızılötesi ısıtmanın, kısa sürede düzgün ısıtma sağlaması, kalite kayıplarını ve besinsel kayıpları azaltması, ekipmanlarının basit ve esnek kullanım alanlarına sahip olmaları ve önemli oranda enerji tasarrufu sağlaması bu yöntemin, geleneksel ısıtma yöntemlerine göre avantajlı olmasını sağlamaktadır (Krishnamurthy ve diğ., 2008). Kızılötesi ışınlar bir yüzeye çarptıklarında moleküllerin vibrasyonel hareketlerinde değişikliklere sebep olabilmekte ve kızılötesi ışınlarının ısı şeklinde dağılması sonucu yüzey sıcaklığı hızlı bir şekilde artmaktadır (Erdoğan ve Ekiz, 2011).

Kızılötesi radyasyon, ısı inaktivasyonla mikroorganizmanın DNA, RNA, ribozom, hücre membranı ve proteinlerini tahrip edebilmektedir (Sawai ve diğ., 1995). Mikrobiyal inaktivasyon derecesini; kızılötesi radyasyon kaynağının gücü, dalgaboyu, gıda tipi, kalınlığı, mikroorganizma tipi, mikroorganizmanın hangi fizyolojik evrede olduğu (üssel büyüme evresi, durgun evre gibi) gibi parametreler etkilemektedir (Krishnamurthy ve diğ., 2008).

Staack ve diğ. (2008), başlangıç a_w 'si 0,50 olan paprika tozunun a_w 'sini 0,84 ve 0,88 düzeylerine yükselterek *B. cereus* sporlarıyla inoküle etmiş (spor konsantrasyonu 7,23 log spor/g) ve örneğin içerisindeki nemin tutulmasını sağlayacak kapalı bir haznede farklı şiddetteki yakın infrared ışınları ile (20, 9,5 ve 3,5 kW/m² (yakın IR camı olmadan 23,11 ve 4 kW/m²'ye denk) muamele etmiştir. Uygulama sonrasında mikrobiyal inaktivasyonu, su aktivitesindeki ve renkteki değişimleri incelemiştir. Öncelikle istenen sıcaklık derecesine hızlı bir şekilde ulaşmak için yüksek ısı akışı uygulanmış, daha sonra ulaşılan sıcaklığı belirli süre muhafaza etmek için düşük ısı akışı uygulanmıştır. Son aşamada uygulanan NIR uygulaması puls şeklinde

uygulanmış ve sıcaklığın istenen düzeyde kalması sağlanmıştır. Isıtma boyunca örnek yığınının iç kısımlarındaki su aktivitesi muhafaza edilirken, yüzeyde sahip olunan su aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Karotenoidlerin ısıya olan duyarlılıkları nedeniyle, yüzeyde ve toplamda sahip olunan renk değerleri azalmış fakat yine de kabul edilebilir değerler içerisinde kalmıştır. 0,88 a_w değerine sahip örnek 95-100 °C'lere ısıtıldığında, 6 dk. uygulama ile *B. cereus* spor yükü 4,5 log kob/g azalmıştır. pH' nın 4,5'ten 4'e düşürülmesi spor konsantrasyonunda önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır.

1.2.2.3 Yüksek hidrostatik basınç uygulaması

Gıda alanında ilk uygulaması 1899 yılında Hite tarafından gerçekleştirilen yüksek hidrostatik basınç (HHP) uygulaması, katı ve sıvı gıdaların ambalajlı veya ambalajsız olarak 1000 - 8000 atm arasındaki yüksek basınçlara maruz bırakılması ile gerçekleştirilmektedir. Ambalajsız gıda ürününe yapılan uygulamalarda, işlemden sonra gıda ürünü aseptik olarak ambalajlanmaktadır (Sağdıç ve diğ., 2008; Güven, 2009). Gıdanın paketi, boyutu, şekli ve kompozisyonu uygulama açısından kritik bir önem teşkil etmemekle beraber; uygulamadaki değişkenler basınç seviyesi, sıcaklık ve basınç uygulama süresidir (Güven, 2009; Kaletunç, 2009).

Yüksek basınç uygulamaları mikroorganizmaların hücre zarında, genetik materyallerinde, enzimlerde ve morfolojilerinde bazı değişimlere neden olmaktadır (Sağdıç ve diğ., 2008). Mikroorganizma inaktivasyonunun yanında gıdaların doğal yapısını ve tadını koruması, üründeki vitamin içeriğinde kayıp oluşturmaması, aminoasitleri etkilememesi, zararlı maddeler oluşturmaması, koruyucu madde kullanımı gerektirmemesi ve az enerji kullanması yöntemin sahip olduğu avantajlardır (Güven, 2009). Enzimatik esmerleşmeye yol açması, mikrobiyal inaktivasyon için gıda ürününün su içermesini gerektirmesi, içerisinde hava bulunan gıda maddelerinin basınç uygulanması sırasında ezilip parçalanabilmesi, yöntemin sadece asidik gıdaların muhafazasında etkili olması, uygulama sonrasında vejetatif bakterilerin basınca direnç kazanabilmesi ve yüksek yatırım maliyeti yöntemin dezavantajlarıdır (Garcia-Gonzalez ve diğ., 2007; Güven, 2009; Kaletunç, 2009, Karadağ ve diğ., 2008; Özcan ve Obuz, 2006).

Butz ve diğ. (1994), yüksek basınç uygulamasının baharat ve baharat karışımından (paprika, biber, kişniş, tuz, şeker ve nişasta) oluşan süspansiyonlar üzerindeki

mikrobiyal inaktivasyon etkisini araştırmışlardır. Mikrobiyal yükün (esas olarak aerobik ve anaerobik spor oluşturanların) azaltılmasının su aktivitesi ve sıcaklığa bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Baharat karışımları ancak, 70 °C’de, minimum 0,91 a_w’de, 3 basınç döngüsü (bir döngü, 80 MPa’da 30 dk. ve ardından 350 MPa’da 30 dk. şeklinde uygulanmıştır) uygulaması ile tamamen dekontamine edilebilmiştir. 0,29 ve 0,66 a_w’ye sahip örneklerde 40 ve 50 °C’lerde uygulanan işlem mikroorganizma yükünde azalma sağlayamamıştır. Bu düzeydeki su aktivitesinin spor germinasyonunu indüklemek ve takip eden basınç uygulamasıyla sporları inaktive etmek için yeterli olmadığı bildirilmiştir. Önemli sayılabilecek düzeydeki spor inaktivasyonu ise 0,85 su aktivitesinde tespit edilebilmiştir. İşlem görmüş örnekler duyu ve kimyasal özellikleri açısından değerlendirilmiş ve uygulamanın bu özelliklere önemli bir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak yüksek basınç uygulamasının su içeriği yüksek baharat soslari için etkili bir dekontaminasyon yöntemi olabileceği belirtilmiştir.

1.2.2.4 Yüksek basınçlı karbondioksit uygulaması

Gıdalara uygulanabilen alternatif termal olmayan uygulamalar arasında, yüksek basınçlı CO₂ uygulamasına olan ilgi, 1980’lerden beri devamlı olarak artmıştır (Spilimbergo ve diğ., 2003). Bunun nedeni CO₂’in inert olması, toksik olmaması, kolay tedarik edilebilir ve ucuz olması, üründe herhangi bir kalıntı bırakmaması, GRAS statüsünde olması, HHP uygulamasına göre çok daha düşük basınçlarda uygulanması ve yatırım maliyetinin daha düşük olmasıdır (Calvo ve Torres, 2010; Garcia-Gonzalez ve diğ., 2007).

HPCD uygulamasında gıda, kesikli veya sürekli sistemde gaz veya sıvı haldeki CO₂ veya süper kritik CO₂ (T_c=31,1 °C, P_c=7,38 MPa üzerindeki CO₂) ile işlem görmektedir. Süper kritik CO₂, tıpkı gazlar gibi katılara difüze olabilir ve tıpkı sıvılar gibi çözücü özellik gösterebilir.

HPCD’nin mikroorganizma inaktivasyonu, gaz formundaki karbondioksitin basınç etkisiyle gıdanın sıvı fazında çözünüp dissosiyeye olmadan karbonik asit olarak hücre içerisine alınması sonucu hücre metabolizmasına olan etkileri (pH’ın düşmesi, enzim inaktivasyonu, protein koagülasyonu, vb.) vasıtasıyla gerçekleşmektedir. HPCD’nin inaktivasyon mekanizmasını etkileyen faktörler; basınç, sıcaklık, CO₂’nin faz hali, karıştırma/çalkalama gibi mekanik etkiler, gıdanın su içeriği, basıncın düşürülme

hızı, mikroorganizma türü, fizyolojik evresi, kültürün yaşı, gelişme durumu, başlangıç mikroorganizma yükü, gıdanın içeriği, ortamın pH'sı, ortama ilave edilen maddeler ve basıncın düşürülme hızıdır (Garcia-Gonzalez ve diğ., 2007). Bu faktörlerden basıncın yüksek olması, sıcaklığın kritik sıcaklığı fazla aşmaması, gıdanın su içeriğinin yüksek olması, pH'ın düşük olması, başlangıç mikroorganizma yükünün düşük olması, gıdanın içerdiği bileşenlerin (yağ, protein, vb.) fazla kompleks olmaması işlemin etkinliğini artırmaktadır (Güneş ve diğ., 2005; Hong ve Pyun, 1999; Garcia-Gonzalez ve diğ., 2007; Lin ve diğ., 1993; Lin ve diğ., 1994; Spilimbergo ve diğ., 2003; Tahiri ve diğ., 2006). Karbondioksit gazı kısa sürede mikroorganizmalar üzerinde öldürücü etkiye sahip olmayıp, ancak büyümelerini ve çoğalmalarını kısaca gelişmelerini engellemektedir. Düşük sıcaklıklarla birlikte yüksek basınçlı karbondioksit uygulanırsa mikroorganizmalar üzerinde hızlı bir şekilde yok edici etki elde etmenin mümkün olabileceği bildirilmektedir. CO₂'in küfleri normal basınç altında etkilemesi mümkün değildir. Mayalar ise karbondioksit karşı dayanıklıdır. Gıda yüzeyinde büyüyen mayalar kısmen kontrol altına alınabilmektedir (Güven, 2009). Ilımlı sıcaklık koşullarında (20–40 °C) uygulanan HPCD'nin spor inaktivasyonu için yeterli olmadığı yönündeki çok sayıda çalışmanın yanında, tam aksi yönde sonuçlar alınan çalışmalarda literatürde bildirilmiştir (Garcia-Gonzalez ve diğ., 2007).

Su miktarı % 25'den fazla olan katı gıdalarda, 62 MPa'lık karbondioksit basıncının 40 °C'de 30-120 dakika süre ile uygulanmasının vejetatif hücre sayısını azaltmak için yeterli olabileceği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, bu uygulamanın baharat gibi kuru gıdalar için pek uygun bir yöntem olmadığı belirtilmektedir (Güven, 2009).

Calvo ve Torres (2010), paprikanın TMAB yükünde ($1,5 \times 10^6$) düşüş sağlamak için, HPCD'nin termal olmayan alternatif bir metot olarak uygunluğunu araştırmıştır. HPCD uygulaması sürekli sistemde, farklı nem değerlerine (<35%) sahip örneklerle, 60-300 bar basınçta, <95 °C olacak şekilde farklı sıcaklık değerlerinde, uygulama süresi 10-150 dakika olacak şekilde yapılmıştır. Ürünün sahip olduğu düşük nem içeriği (%5-8) nedeniyle gereken inaktivasyon sağlanamamış bu nedenle ürün nemlendirilmiştir. Paprikanın yapısında bulunan bileşenlerin uygulamaya karşı koruyucu etki göstermediği bildirilmiştir. Ürün ile CO₂'in temasını artırmak için uygulanan yöntemlerin (porozitenin artırılması için aktive edilmiş kömür ve aktive

edilmiş granüle bentonit kullanılması; oluşabilecek muhtemel kanalların (kuru veya ölü bölge oluşumu) etkisini belirlemek için delikli boncukların kullanılması; agregat oluşumunun (nem ve oleoresin nedeniyle topraklar oluşabileceğinden) önlenmesi içinse çöktürülmüş CaCO_3 kullanılması, yine aynı amaç için ve temas yüzeyinin artırılması için cam yünü kullanılması) ve basınç döngülerinin etki göstermediği bildirilmiştir. Sonuç olarak; paprika kalitesini korumak adına, ürün nemi %25-30; sıcaklık 85-90 °C'nin altında, basınç 60-100 bar gibi düşük düzeylerde (çünkü sporisidal etkiyi değiştirmedeği görülmüştür ayrıca; yüksek basınçta oleoresin ekstraksiyonu gerçekleşmiştir) tutularak 35-40 dk. uygulanan HPCD'nin, dezenfeksiyon ve toplam bakteri sayısında sağlanması gereken düşüş için yeterli olabileceği ve sağlanan düşüşün 1,5 log olduğu bildirilmiştir.

1.2.2.5 Atımlı ışık uygulaması

Atımlı ışık (PL) uygulamasında, genellikle xenon lambalarından yayılan infrared bölgeye yakın olan UV bölgedeki geniş spektrum ışığının (200 nm - 1 mm) çok kısa, yüksek güçlü vurguları kullanılmaktadır (Woodling ve Moraru, 2006). Atımların süresi 1 µs ile 0,1 s arasında değişmektedir (Karadağ ve diğ., 2008). Pulsed UV (PUV) lambaları, düzenli aralarla atım tarzında (pulsing), yüksek yoğunlukta çeşitli dalga boylarında UV yayan civasız flaş lambalarıdır (Özkütük, 2007).

PL'ın sağladığı mikroorganizma inaktivasyonunun, geniş spektrumlu UV kombinasyonundan (UV, bakteriyel DNA'da öldürücü timin dimerlerinin oluşumundan sorumludur) ve de UV ve IR ışınlarının neden olduğu lokal sıcaklık artışından ileri geldiği öne sürülmektedir (Takeshita ve diğ., 2003). Her bir flaşa dağıtılan enerjiye, pilotun fiziksel karakteristiklerine, lambalar arasındaki mesafeye, kontamine olan matrise ve hedef mikroorganizmaya bağlı olarak, PL ile bakteri popülasyonunda 0,5-8 log'luk azalma sağlanabildiği bildirilmektedir (Hsu ve Moraru, 2011). Küf sporlarının direncininse bakterilere göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Karadağ ve diğ., 2008). Geleneksel UV uygulamalarında belirli koşullarda hücrenin kendini onarabildiği, PL uygulamasının ise hücreyi kendini onaramayacak şekilde zarara uğratabildiği gözlemlenmiştir (Otaki ve diğ., 2003; Karadağ ve diğ., 2008). PL uygulaması boyunca foton ve bakterinin teması, mikroorganizma inaktivasyonu açısından çok önemlidir. Işık kaynağı ve mikroorganizma arasında ışığı absorbe

edecek herhangi bir şey bulunmasının, dezenfeksiyon işleminin etkinliğini azaltacağı bildirilmektedir (Gomez-Lopez ve diğ., 2007).

Nicorescu ve diğ. (2013), PL'ın *Bacillus subtilis*'i inaktive etme etkinliğini ve bakteriyel morfolojiye etkilerini hem bakteri süspansiyonu hem de baharatlar (kimyon, toz kırmızıbiber ve toz karabiber) ile çalışmıştır. Bakteri süspansiyonları quartz bir hazne içerisinde 4 lamba konfigürasyonu, 0,6 Jcm⁻²/flaş, 3000 V, 1 Hz parametreleri kullanılarak 1 ile 10 arasında değişen puls uygulaması ile muamele edilmiştir. Elde edilen bulgular, tek bir vurgunun süspansiyon içindeki *B. subtilis* sayısında 8 log'luk azalma sağladığını göstermiştir. Fakat bakteriyel morfolojide herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. İnoküle edilmiş baharat örnekleri, plastik dairesel bir hazneye alınmış ve 3 lamba konfigürasyonu, 1 Jcm⁻²/flaş, 3000 V, 1 Hz parametreleri kullanılarak 10 puls ile muamele edilmiştir. Baharat üzerine inoküle edilmiş *B. subtilis* sayısında 10 flaşlık uygulama, 1 log'dan az inaktivasyon sağlamıştır. Fakat bakteri çeperlerinde ciddi hasarlar gözlemlenmiştir. Sonuç olarak; PL uygulamasının kuru gıdalarda da uygulama potansiyeli olduğunu, toz baharatlarda daha fazla mikrobiyal inaktivasyon sağlamak için, PL uygulaması boyunca sirküler hareket yerine türbülans akışlı çalkalama işleminin hatta toz baharatın her tarafını kapsayacak akışkan yataklı yeni pilotların geliştirilmesi gerektiği bildirilmiştir.

1.2.2.6 Soğuk plazma uygulaması

Plazma; UV ışınları, elektronlar, pozitif ve negatif iyonlar, serbest radikaller, uyarılmış veya uyarılmamış molekülller ve atomlardan meydana gelen maddenin yüksek enerji verilmiş dördüncü halidir (Kayar ve Yıldız, 2011; Kim ve diğ., 2014). Genel olarak plazma, güçlü bir radyasyon, elektrik alan veya elektriksel boşaltım etkisiyle oluşur veya oluşturulur.

Plazma, gaz sıcaklığına bağlı olarak sıcak plazma ve soğuk plazma (CAP) olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir. Sıcak plazmada, ortamda esas olarak çok sayıda iyon vardır (yüksek iyonlaşma derecesi, % 100). Soğuk plazmada ise diğer elemanlardan da (düşük sıcaklıklı partiküller ve atomlar ve göreceli olarak yüksek sıcaklığa sahip elektronlar) önemli miktarda bulunur (düşük iyonlaşma derecesi, % 10⁻⁴- % 10). Sıcak plazma, çok yüksek enerji seviyelerine çıkıldığı için, sadece sıcaklığa dayanımlı inorganik materyallerin (metaller, metal oksitler, vb.)

modifikasyonlarında kullanılmaktadır. CAP'da ortamda bulunan iyon sıcaklığının oda sıcaklığına yakın olması nedeniyle substrat materyalin özellikleri etkilenmemektedir (Güleç, 2012).

Plazmanın yapısında bulunan bileşenler bir araya geldiğinde ayrı ayrı olduklarından daha etkili mikrobiyal inaktivasyon sağlanabileceği belirtilmektedir (Kim ve diğ., 2014). Hücre membranına nüfuz eden reaktif bileşenler lipid, protein, nükleik asit gibi makromoleküllere etki ederek ağır hasarlanmalara yol açabilmektedir. Elektronlar, iyonlar ve serbest radikaller hücre membranında yüzey erezyonuna ve doku bozulmalarına neden olarak hücrenin inhibe olmasına neden olabilmekte veya bu yolla reaktif bileşenlerin hücre içine girmesini kolaylaştırarak mikrobiyal inhibisyona katkıda bulunmaktadır (Gallagher ve diğ., 2007). Diğer taraftan, UV de DNA hasarına yol açarak, hücre replikasyonunu bozmaktadır. Atomik oksijen, ozon, hidroksil, nitrik oksit ve nitrojen dioksit içeren reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin de hücre membranı ve aminoasitleri okside etmesi inhibisyon mekanizmasının önemli bir parçasıdır (Kim ve diğ., 2014).

CAP uygulaması, gıda endüstrisinde özellikle az işlem görmüş ya da taze ürünlerde mikrobiyal bulaşmanın ortadan kaldırılmasındaki etkinliği ile dikkat çekmeye başlamıştır. CAP uygulamasının bazı bakliyat, hububat, meyve ve sebzeler ile et endüstrisinde bakteri (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *S. mutans*, *P. aeruginosa*, vb.), küf (*A. niger*) ve maya (*C. albicans*) inaktivasyonu ile bu gıdaların raf ömrü üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur.

Isıl yöntemlerle kıyaslandığında, soğuk plazma tekniği, daha az enerji tüketimi, aseptik üretim ve paketlemeye imkan sağlaması ve çalışır durumdayken sistemin kendini temizleyebilmesine, bununla birlikte gıdanın tat, görünüş ve kokusunda değişikliklere neden olmamasına bağlı olarak tercih sebebi olabilecek potansiyele sahiptir (Kayar ve Yıldız, 2011).

Kim ve diğ. (2014), mikrodalga ile güçlendirilmiş soğuk CAP uygulamasının kırmızı biber tozunun doğal florasında bulunan TMAB'lere ve baharata inoküle edilen *A. flavus* ve *B. cereus* sporlarına etkisini değerlendirmiştir. Ayrıca; CAP uygulamasıyla ısı uygulamasının kombine etkisi de *B. cereus* sporlarının inhibisyonu amacıyla uygulanmıştır. Nitrojen gazı ile beslenen 900 W güç, 667 Pa basınç değerlerindeki plazma ile 20 dakika muamele gören baharatın *A. flavus* yükü $2,5 \pm 0,3$

log spor/g düzeyinde azalırken; TMAB yükünde yaklaşık 1 log kob/g kadar azalma sağlanabilmiştir. *B. cereus* sporlarında, ancak helyum-oksijen gazı ile beslenen 900 W güce sahip CAP uygulamasıyla 20 dakika muamelenin ardından 90 °C’de 30 dakika ısı uygulaması ile $3,4 \pm 0,7$ log spor/g düzeyinde azalma sağlanabilmiştir. Tek başına CAP uygulamasının *B. cereus* sporlarının inaktivasyonu için etkili olmadığı bildirilmiştir.

1.2.2.7 Ozon gazı uygulaması

Ozon, gaz haldeyken mavi, sıvı ve katı haldeyken opak mavi-siyah renkte bir gaz molekülüdür (Çatal ve İbanoğlu, 2010). Ozon oldukça karakteristik güçlü bir kokuya sahiptir. Birçok araştırmacı ozonun kokusunu “gök gürültülü ve yıldırımlı sağanak yağmur sonrasındaki taze hava kokusu” olarak betimlemektedir. İnsan, koku alma duyusuyla çok düşük ozon konsantrasyonlarını (<0,01 ppm) bile algılayabilmektedir. Ozon oldukça güçlü oksitleyici özelliğe sahiptir (flüorin’den (3,06 mV) sonra ikinci sıradadır) (Alexandre ve diğ., 2012). Ozonun sahip olduğu bazı fiziksel özellikler Çizelge 2.1’de görülmektedir.

Çizelge 2.1 : Ozonun sahip olduğu bazı fiziksel özellikler (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Fiziksel Özellikler	Değerler
Kaynama noktası (°C)	-111,90
Yoğunluk (kg/m ³)	2,14
Oluşma ısısı (kJ/mol)	144,70
Erime noktası (°C)	-192,70
Molekül ağırlığı (g/mol)	47,99
Oksidasyon kuvveti (mV)	2,07

Ozon ticari olarak korona deşarjı ya da UV ışını ile elde edilmektedir (Alexandre ve diğ., 2012). UV tabanlı metotlarla düşük hacim ve konsantrasyonda gaz üretilirken, korona deşarjıyla yüksek konsantrasyon ve miktarda ozon üretmek mümkündür. Korona deşarjında ozon üretimi, deşarj boşluğundan, oksijen ya da hava varlığında yüksek voltajlı alternatif akım geçirilmesiyle gerçekleşmektedir (Kim ve diğ., 2003). Yoğun enerji nedeniyle bazı oksijen molekülleri parçalanmakta ve oluşan kararsız oksijen atomları hemen diğer oksijen molekülleriyle birleşerek üç oksijen atomlu ozon molekülünü oluşturmaktadır (Anık, 2007). Deşarj aralığına besleme gazı olarak hava verildiğinde kütlece %1-3, saf oksijen gazı verildiğinde %6

verimle ozon elde edilebilmektedir (Güzel-Seydim ve diğ., 2004a). Ozonun UV ile eldesi korona deşarjıyla eldesine benzemektedir. Oksijenin 240 nm civarındaki kısa dalga boylarına maruz kalması ile foto-ayrışması sonucu oksijen atomları oluşmakta ve bu atomlarla oksijen moleküllerinin interaksyonu sonucu ozon oluşmaktadır (Alexandre ve diğ., 2012). Ozonun kimyasal, termal, kemonükleer ve elektrolitik metotlar vasıtasıyla da üretilebileceği belirtilmektedir (Kim ve diğ., 2003). Sulu çözeltilerinde oldukça kararsız bir yapı gösteren, havada ise nispeten daha kararlı olan ozon, çok hızlı bir şekilde kendiliğinden parçalanarak oksijen molekülüne dönüşmektedir (Kuşçu ve Pazır, 2004). Bu nedenle ozon, kullanılacağı yerde ve kullanım sırasında üretilmelidir (Kaletunç, 2009).

Gıda işleme ve suların dezenfeksiyonunda Avrupa’da uzun yıllardır kullanılan ozon (Xu, 1999; Kim ve diğ., 2003), 1997 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Otoritesi FDA tarafından kullanımı güvenli ajanlar (GRAS) sınıfına alınmış, yine aynı dairenin 2001 yılında aldığı “gıdalarla doğrudan temasında sakınca olmadığı” yönündeki kararla gıda işlemede yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır (Çatal ve İbanoğlu, 2010). Günümüzde ozon, atık suların işlenmesinde, içme sularının sterilizasyonunda, meyve ve sebze endüstrisinde (raf ömrünü uzatma amacı ile), et endüstrisinde, kuru gıdalarda (tahılların depolanmasında, kuru gıdalardaki mikotoksinlerin parçalanmasında), ambalajlarda (ambalaj materyalinin, gıda ile temasta bulunan yüzeyindeki sporları inhibe etmek amacı ile) ve aletlerin hijyeninde kullanılmaktadır (Ekici ve diğ., 2006; Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Ozon bakteri, küf, virüs, protozoa ve bakteriyel ve fungal sporlara karşı kullanılabilen etkili bir antimikrobiyal ajandır (Srey ve diğ., 2013). Ozonun, düşük konsantrasyonlarda ve düşük uygulama sürelerinde bile bakterilerin saf kültürlerini, solüsyon içindeki küfleri, mayaları, parazitleri ve virüsleri inaktive edebildiği bildirilmektedir (Alexandre ve diğ., 2012). Ozonun hücre zarındaki doymamış yağlara, Gram (-) bakterilerin lipopolisakkarit tabakalarına, hücre içi enzimlere, mikrobiyal genetik materyale etki ederek hasara yol açtığı düşünülmektedir (Kim ve diğ., 2003). Ozon önemli fonksiyona sahip hücresel bileşenleri okside etmektedir. Ozonun ilk hedefi hücre yüzeyidir. Doymamış lipidlerin çift bağlarını oksitleyerek hücrede yarıklar oluşmasına ve hücre içeriğinin dışarı sızmasına neden olmaktadır (Alexandre ve diğ., 2012). Kim ve diğ. (1999), Gram-negatif bakterilerin ozon ile yıkıma uğrayan ilk bileşenlerinin lipoprotein ve lipopolisakkarit tabakaları olduğunu

ve hücre geçirgenliğinin bu durumdan fazlaca etkilenecek sonuçta lisis gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda, nükleik asitlerin de ozon tarafından önemli derecede hasar aldığını ya da yıkıma uğradığını bildirmişlerdir. Örneğin; viral RNA söz konusu olduğunda ozon viral protein tabakalarındaki polipeptid zincirlerini etkilemektedir.

Ozonun aktivitesi moleküler formuyla ya da serbest radikal ve singlet oksijen gibi oluşan ara ürünlerle ilgilidir (Kim ve diğ., 2003). Nitekim bazı araştırmacılar mikroorganizmaların inhibisyonunda moleküler ozonun, bazıları ise oluşan serbest radikallerin etkili olduğu görüşünü savunmaktadır (Ekici ve diğ., 2006). Ozona karşı en hassas olan mikroorganizmanın bakteri vejetatif hücreleri, en dayanıklı olanın ise bakteri sporları olduğu bildirilmektedir (Kim ve diğ., 2003). Sporların ozona karşı oldukça direnç göstermesinin nedeninin, protoplazmanın kalın korteks, çok katlı spor tabakası ve ekzosporangium (spor kesesi) tarafından korunması olduğu düşünülmektedir. Vejetatiflerde ise protoplazma sadece hücre duvarı tarafından korunmaktadır (Akbaş ve Özdemir, 2008a). Durgun gelişme fazındaki mikroorganizmaların, üssel fazdakinden daha dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir.

Ozonun mikroorganizmalar üzerine olan etkisi bazı faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Ozon uygulamasının etkinliği mikroorganizma suşuna, kültürün yaşına, mikroorganizma konsantrasyonuna, ortamda ozonla reaksiyona girebilecek maddelerin bulunmasına, ozonun uygulanma şekline ve ozon konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Kuşçu ve Pazır, 2004). Ozon uygulamasının, yüksek ozon talebi olan bileşenleri içeren gıdalarda (yüksek yağ veya protein içerikli gıdalar) direkt olarak kullanımı pek başarılı değildir. Bu tür gıdalarda, organik bileşenler ozon için mikroorganizmalarla yarış halindedirler. Bu nedenle mikroorganizmaların etkili eliminasyonu için yüksek dozda uygulama gerekmektedir. Bu yüksek doz da, lipid oksidasyonuna, aminoasit ve esansiyel yağ içeriğinde azalmaya ve duyuşal özelliklerde olumsuz etkiye sebep olabilmektedir (Kim ve diğ., 2003). Güzel-Seydim ve diğ. (2004b), protein, yağ ve karbonhidrat kaynaklarının varlığında ozonun spor oluşturan Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin yıkımı üzerindeki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bakteri sayısında en fazla azalma tampon çözeltisinde sağlanmış, bunu sırasıyla nişasta (ozona karşı koruma sağlamamış veya çok az sağlamıştır) ve keçiyoynuzu gamı (ozona karşı orta derecede koruma sağlamıştır) takip etmiştir. Kazeinat ve tatlı kremanın ise bakteriyel

populasyonlara ozona karşı oldukça fazla koruma sağladığı görülmüştür. Gıdanın yüzey özellikleri, ozon uygulamasının etkinliğini önemli derecede etkilemektedir. Gıdanın yüzeyine tutunan mikroorganizmaların ozona karşı direnci, suda asılı halde olan mikroorganizmalardan fazladır. Bu nedenle, ozon uygulamaları sırasında ozon ile hedef mikroorganizma arasında iyi bir temas sağlanmalıdır. Bu amaç için karıştırma, ses dalgaları ve basınçlı yıkama gibi birçok yöntem denenmiştir. İşlenmemiş ürüne ozon uygulaması daha avantajlıdır. İşlenmemiş katı gıdalar genelde düzgün yüzeylidir ve çoğu kontaminant bu yüzeyde birikmektedir. Ve bu şekilde dezenfektanlar kontaminanta kolayca ulaşabilmektedir. Mikrobiyal hücreleri yıkama işlemi, hücre yüzeyindeki ozon ihtiyacı olan bileşenleri uzaklaştırdığından ozona karşı hassasiyeti artırmaktadır. Kuru gıdaların yüzey alanı, ozon uygulaması için önemli bir faktördür. Toz ve öğütülmüş biber gibi gıdalarda, aynı derecede inaktivasyon sağlayabilmek için, bütünlerine göre daha fazla ozon konsantrasyonu ve uygulama süresi gerekmektedir (Kim ve diğ., 2003). Ortam sıcaklığındaki artışın ozonun parçalanmasını hızlandığı, bağıl nemdeki artışınsa ozonun etkinliğini artırdığı belirtilmektedir (Kuşçu ve Pazır 2004).

Ozon güçlü bir dezenfektan olduğundan dolayı, birçok organik materyalle farklı oranda reaksiyon vermekte ve ozonlama süresince birçok oksidasyon yan ürünü oluşmaktadır. Fakat oluşan bu yan ürünlerin toksik olmadığı belirtilmektedir (Alexandre ve diğ., 2012). Ayrıca ozon, belirli bir süre sonra kendiliğinden parçalanarak ortamda kalıntı bırakmamaktadır. Ozonun yüksek dozda ve uzun süreli teneffüs edilmesi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Çatal ve İbanoğlu, 2010). Ozonun sahip olduğu toksisite açısından, uygulama sırasında ozonun kontrolü oldukça önemlidir. Ozon, insanlarda öncelikle solunum yollarını etkilemektedir. Ozon toksisitesinin semptomları baş ağrısı, baş dönmesi, gözlerde ve boğazda yanma hissi, keskin koku ve tat duyusu ve de öksürük şeklinde görülmektedir. Kronik toksisite semptomları ise baş ağrısı, halsizlik, hafızada zayıflama, bronşit, kaslarda uyarılma şeklinde görülebilmektedir (Hoof, 1982). Düşük konsantrasyonlarda fazla toksik etki göstermeyen ozon, yüksek konsantrasyonlara ulaştığında ölümcül sonuçlar doğurabilmektedir (Barlett ve diğ., 1974). OSHA (Occupational Safety and Health Administration) tarafından uyulması tavsiye edilen ozona maruz kalma limitleri Çizelge 2.2’de görülmektedir (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Çizelge 2.2 : Uyulması tavsiye edilen ozona maruz kalma limitleri/etkileri (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Maruz Kalma	Ozon konsantrasyonu (ppm)
Hissedilir koku	0,01-0,05
Maksimum 8 saat	0,1
Maksimum 1,5 dakika	0,3
Birkaç dakika içinde öldürücü etki	>1700

Ozon başlı başına bir yöntem olarak kullanılabileceği gibi diğer işlemlerle beraber kombine edilerek de uygulanabilir (Kaletunç, 2009). Bu işlemler, ısı işlemler (Kim ve diğ., 2003), diğer gazlarla (karbon dioksit, argon, vb.) kombinasyon (Mitsuda ve diğ., 1990), PEF (Ünal ve diğ., 2001), UV (Graham, 2000), yüksek hidrostatik basınç gibi yöntemleri kapsamaktadır. Gıda ürünleri önce ozonla işlendikleri zaman bakterilerin diğer işlemlere olan hassasiyetinin arttığı gözlenmiştir (Kaletunç, 2009).

Literatürde mikrobiyal dekontaminasyon için ozon ile muamele edilen gıdalarla ilgili birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların bazılarında elde edilen sonuçların detaylı olarak incelemesi “Bulgular ve Tartışma” kısmında verilmiştir.

1.2.2.8 Ultraviyole uygulaması

Ultraviyole ışınları, elektromanyetik spektrumun 100-400 nm dalga boyu aralığında yer alan kısmını kapsamaktadır. Ultraviyole ışınları, insan vücudunun bronzlaşmasından sorumlu UV-A (320-400 nm), cilt yanıkları ve cilt kanserine neden olan UV-B (280-320 nm), germisidal etkili UV-C (200-280 nm) ve tüm maddeler tarafından absorbe edilebildiğinden sadece vakum altında yayılabilen Vakum UV (100-200 nm) olarak alt sınıflara ayrılmaktadır (Koutchma, 2009). Ultraviyole germisidal radyasyon denildiğinde genellikle 253,7 nm dalga boyundaki UV (UVC) kastedilmektedir.

Günümüzde germisidal amaçla UV ışık kaynağı olarak kullanılan lambalarda, cam bir tüp içindeki düşük basınçlı civa buharı içinden akan elektrik akımı sayesinde UV ışığı üretilmektedir. Orta basınçlı lambalar 180-1370 nm dalga boyu aralığında radyasyon yaymakta, dezenfeksiyon amaçlı kullanılabilmekte, fakat yaygın kullanılmamaktadır (Özkütük, 2007). UV ışınının şiddeti, birim alandaki radyant güçtür ve “W/m²” olarak ifade edilmektedir. UV dozu ise şiddetin ve UV’ye maruz

kalınan zamanın bir fonksiyonudur ve “J/m²” olarak ifade edilmektedir (Bintsis, 2000).

UVC uygulaması, hava, alet ve yüzey dezenfeksiyonunun yanında gıda yüzeylerinin dezenfeksiyonu amacıyla da kullanılması onaylanmış termal olmayan bir yöntemdir (Erdoğan ve Ekiz, 2011). Gıda muhafazası amacıyla kullanımı 1930’larda keşfedilmiştir (Gomez-Lopez ve diğ., 2007). Su, meyve suyu, süt, sıvı yumurta ve şeker çözeltisi gibi çeşitli akışkan gıda ürünlerinin dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır (Uysal-Pala ve Kırca-Toklucu, 2010). Üründe herhangi bir kalıntı bırakmamaktadır. Birçok kimyasal dezenfektana oranla, ışık kaynağından gelen elektromanyetik enerjiyi mikroorganizmaların nükleik asitlerinde gerçekleştirdiği fotokimyasal reaksiyonla transfer ederek, patojen mikroorganizmaların hızlı ve etkin şekilde inaktivasyonunu sağlamaktadır (Koutchma ve diğ., 2009). UV uygulamasının katı gıdaların dezenfeksiyonu amacıyla kullanılma potansiyeli konusunda da uzun zamandan beri ilgilenilmektedir. UV’nin laboratuvar ölçekli uygulamaları ile başarılı sonuçlar alınmasına rağmen endüstriyel ölçekli uygulamasının çok az olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, kullanıma elverişli ticari UV ekipmanlarının katı gıdalarda kullanımının kısıtlı olduğu bildirilmektedir. Bunun nedeninin, üç boyutlu bir nesneyi ışınlarken her tarafının uygun dozda UV’ye maruz kalacağının garantilenmesinin gerekliliği olduğu vurgulanmaktadır (Gardner ve Shama, 2000).

UV ışınının en fazla antimikrobik etkinliği 250-260 nm (253,7 nm) dalga boyu bölgesindedir. Bu dalga boyu, DNA tarafından en etkin şekilde absorbe edilen dalga boyudur. Hücresel DNA’larca absorbe edilen UV radyasyon enerjisi, bitişik timin bazları arasında kimyasal kovalent bağlar oluşturarak timin dimerleri meydana getirmektedir. Ortaya çıkan bu timin dimerleri hücresel UV hasarının başlıca mekanizmasını oluşturmaktadır. Oluşan timin dimerleri DNA iplikçiklerinde katlanmalara neden olmakta, DNA’nın doğal helikal yapısı bozulmaktadır. Bu durum hücre bölünmesi öncesi kromozom replikasyonunu güçleştirmekte, genlerin transkripsiyonu ve ekspresyonu yapılamamaktadır. Kromozom replikasyonu yapılabilsen bile üreyemeyen mutant hücreler meydana gelmektedir. Timin dimerleri yaşamsal fonksiyonları olan genlerde görüldüğünde, DNA replikasyonunu engellediğinde öldürücü etki yapmaktadır (Özkütük, 2007). UVC ışınının şiddeti, çapraz bağlanma derecesini etkilemektedir. Mikroorganizmanın onarım sistemine bağlı olarak DNA’da gerçekleşen mutasyon geri dönüşümlü olabilmektedir

(Alzamora ve diğ., 2012). Onarım mekanizmalarından ilki, çoğu mikroorganizmanın sahip olduğu, ışıkla harekete geçen onarım sistemidir (Özkütük, 2007). Fotoreaktivasyon denilen bu sistem, fotoliz enziminin katalizörlüğünde, görünür ışığın enerjisi kullanılarak timin dimerlerinin ayrılması şeklinde gerçekleşmektedir (Gomez-Lopez ve diğ., 2007). Fotoreaktivasyona engel olmak için işlem gören ürünün bir süre ışıktan korunmasının uygun olacağı belirtilmektedir (Özkütük, 2007). Bazı mikroorganizmalarda ışığa gereksinim duymayan karanlık reaktivasyon (dark reactivation) denilen diğer bir onarım sistemi bulunmaktadır (Setlow, 1992). Bu sistemde timin dimerleri taşıyan kısa DNA zincirleri kesilip atılmaktadır. Onarım belli bir sürede yapılabilmekte, bu süre içinde onarım olmazsa, hasar geri dönüşümsüz olmaktadır (Özkütük, 2007). Bir diğer onarım mekanizması, sporlarda görülmektedir. Sporlar eksizyon onarım sistemleri sayesinde ürettikleri foto-ürünlerle UV hasarını onarabilmektedir (Setlow, 1992).

UV radyasyonun antimikrobik etki mekanizmalarından bir diğerinin de nükleotid bazlarına hidroksil gruplarının eklenmesi olduğu belirtilmektedir. 290 nm'nin altındaki dalga boylarındaki UV ışınlarının çok azı yer yüzeyine ulaşmaktadır fakat; 325-400 nm arasındaki dalga boyuna sahip UV radyasyonun da mikroorganizmalara zarar verebileceği bildirilmektedir. Bu dalga boylarındaki etkinin triptofanın toksik foto-ürünlere dönüşmesi ile olduğu düşünülmektedir. UV radyasyonun bu direkt antimikrobik etkileri dışında, ortamda ozon (O₃) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi serbest radikaller oluşturarak indirekt etkisinin de olduğu belirtilmektedir (Özkütük, 2007).

UV uygulamasının inaktivasyon etkinliği için ürünün geçirgenliği, reaktörün ve ürünün geometrik şekli, UV kaynağının dalga boyu, gücü, uygulama şekli, lambaların hedefe uzaklığı, mikroorganizma türü ve formu kritik işlem faktörleridir (Karadağ ve diğ., 2008; Alzamora ve diğ., 2012; Koutchma ve diğ., 2009; Özkütük, 2007). Anderson ve diğ. (2000), UV-C'ye en fazla hassasiyeti Gram-negatif bakterilerin gösterdiğini bunu sırasıyla Gram-pozitif bakterilerin ve fungal sporların takip ettiğini bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise bakteri, maya, küf türlerinin uygulamaya olan hassasiyetleri bakımından bu şekilde bir durum gözlemlenmemiştir (Gomez-Lopez ve diğ., 2005). Bazı bakteriyel endosporlar sporulasyon sürecinde oluşan proteinler aracılığı ile UV'den korunabilmekte; bu spor proteinleri DNA'ya bağlanıp konfigürasyonunu değiştirerek timin dimerlerinin

oluşumunu zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, UV ile sterilizasyonda sporlu bakteriler için sporsuz bakterilerden 10 kat daha fazla dozda UV uygulaması gerektiği bildirilmektedir (Özkütük, 2007). Mikroorganizmaların UV uygulamasına karşı verecekleri cevabın bir diğer önemli etkeni de mikroorganizmaların sahip oldukları dirençtir. Ayrıca; mikroorganizmaların biyofilm fomunda olma durumu da önemlidir. Biyofilmler katı gıdaların yüzeyinde yapılanmış mikroorganizma topluluklarıdır. Bu topluluğun yapışkan görevi gören polisakkarit üretebilen üyeleri nedeniyle yüzeyde tutunma sağlanmaktadır. Biyofilmler UV ışınları da dahil olmak üzere birçok çevresel strese karşı oldukça dirençlidirler (Koutchma ve diğ., 2009).

Sharma (2007), UV ile yapılan yüzey uygulamasının, yüzeyin özelliklerinden oldukça fazla etkilenebildiğini bildirmiştir. Mikroorganizmaların boyutlarına yakın boyutlardaki çatlak veya benzeri yapıların UV'nin lethal etkisine karşı mikroorganizmalara koruma sağlayarak canlılıklarını sürdürmelerine neden olabileceğini bildirmiştir. UV ışınların tozsuz hava ve temiz su içinden kolaylıkla geçmesine rağmen; sıradan bir cam, kir ve yağ tabakaları, bulanık solüsyonlar, süt ve plastik gibi maddelere etkin olarak geçemediği bilinmektedir. Dolayısıyla UV ışınları ancak mikroorganizmalara direkt olarak geldiğinde etkili olabilmektedirler. Katı maddeler içindeki mikroorganizmalar veya herhangi bir şekilde siperlenmiş, direkt UV ışınından korunmuş mikroorganizmalar UV'den etkilenmemektedir.

UV radyasyonun, uzun süre ve yoğun temas sonucu insan derisinde eriteme neden olabileceği ve deri kanseri gelişimine yol açabileceği bildirilmektedir. Ayrıca UV lambasına direkt olarak bakan bazı kişilerin retinasında ciddi hasarlar görülebilmektedir (Özkütük, 2007).

Mikrobiyal dekontaminasyon için UV ile muamele edilen gıdalarla ilgili yapılan çalışmaların bazılarında elde edilen sonuçların detaylı olarak incelemesi “Bulgular ve Tartışma” kısmında verilmiştir.

MATERYAL VE METOD

1.3 Materyal

1.3.1 Baharat örnekleri

Çalışmada kullanılan tane karabiber örnekleri Kadioğlu Baharat (Mersin, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Tane karabiberin doğal florasına uygulanacak dekontaminasyon işlemleri için ayrılan 5 kg örnek, firmanın gönderdiği ambalaj içerisinde oda koşullarında muhafaza edilmiştir. Tane karabibere bakteri inokülasyonu çalışmalarında kullanılmak üzere ayrılan 5 kg örnek, 100'er gram olacak şekilde ambalajlanarak Gamma-Pak San. ve Tic. A.Ş. (Çerkezköy/Tekirdağ, Türkiye) tesisinde ışılatılmıştır. Daha sonra örnekler, oda koşullarında muhafaza edilmiştir.

1.3.2 İnokülasyonda kullanılan bakteri suşu

Tane karabibere bakteri inokülasyonu için *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

1.3.3 Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan malzemeler

Mikrobiyolojik çalışmalarda PCA (Plate Count agar, Merck 1.05463, Darmstadt, Almanya) ve Chromocult TBX Agar (Tryptone Bile X-glucuronide Agar, Merck 1.16122, Darmstadt, Almanya) besiyerleri, pepton (Universal peptone M66, Merck 1.07043), TSB (Tryptic Soy Broth, Merck 1.05459, Darmstadt, Almanya) ve KH₂PO₄ (Potassium phosphate monobasic, Sigma-Aldrich 04243, MO, ABD) kullanılmıştır.

1.4 Metod

Çalışmada tane karabiberin mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla yapılacak uygulamalar, sabit yataklı ve akışkan yataklı olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmiştir. Öncelikle ozon ve UV uygulamalarının etkinliği sabit yataklı sistemde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Daha sonra çalışılmasına karar verilen

parametreler kullanılarak bu uygulamalar hem sabit hem de akışkan yataklı sistemde ayrı ayrı ve kombine şekilde uygulanmıştır.

Uygulamaların tane karabiberin TMAB yükü üzerindeki dekontaminasyon etkinliğinin değerlendirileceği çalışmalarda 25 gram örnek; *E. coli* yükü üzerindeki etkinliğinin değerlendirileceği çalışmalarda ise 10 gram örnek işleme maruz bırakılmıştır.

E. coli inoküle edilen örnekler üzerine uygulanacak dekontaminasyon işlemleri öncesinde, *E. coli*'nin tane karabibere inoküle edildikten sonra baharatın ve ortam koşullarının sağladığı şartlarda yaşayabilirliğini belirlemek ve en uygun inokülasyon yöntemini uygulayabilmek adına inokülasyon çalışması yapılmıştır.

1.4.1 Bakteri inokülasyonu Çalışması

1.4.1.1 Bakteri süspansiyonunun hazırlanması

4 °C'de PCA'da depolanan *E. coli* (ATCC 25922) stok kültürü öze yardımıyla diğer bir PCA'ya ekilmiştir, 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek taze kültür hazırlanmıştır. Hazırlanan taze kültür, öze yardımıyla TSB içeren tüplere aşılanmış, 37 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir.

Elde edilen TSB kültüründen besiyerinin uzaklaştırılması amacıyla uygulanacak santrifüj işlemi ve ardından yapılacak yıkama işlemi için KH_2PO_4 kullanılarak PBS çözeltisi hazırlanmıştır (Phosphate buffered saline, 0,1 M, pH 7,2). TSB kültürü 5000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra eşit hacimde PBS eklenerek ikinci kez santrifüj edilmiş ve yine PBS ile süspanse edilmiştir. Bakteri süspansiyonunun konsantrasyonu McFarland cihazı (Densimat, bioMerieux, SA, FR) yardımıyla kontrol edilerek gerekli durumlarda PBS ile seyreltme yapılarak bulanıklığı 6,5 (yaklaşık 10^9 kob/ml) değerine ayarlanmıştır. İnoküle tane karabibere uygulanacak dekontaminasyon çalışmalarında bu konsantrasyondaki süspansiyon kullanılmıştır. Bakterinin inokülasyon sonrası tane karabiber üzerinde yaşayabilirliğinin tespiti için yapılacak çalışmada fazla miktarda bakteri süspansiyonu gerektiğinden hazırlanan süspansiyon 10 kat seyreltilerek bulanıklığı 0,6 (yaklaşık 10^8 kob/ml) düzeyine ayarlanmıştır.

1.4.1.2 Tane karabibere bakteri inokülasyonu

Işınlanmış tane karabiber örneklerinden beher içerisine 10 g tartılmış, üzerine 1:1 oranında bakteri süspansiyonu eklenerek 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Ara ara yapılan karıştırma işlemi ile inokülasyonun iyice homojen olması sağlanmıştır. Süre sonunda beher içerisindeki bakteri süspansiyonu steril bir bez yardımıyla süzölmüştür. İnoküle edilen örnekler steril bir kap içerisine tek kat olacak şekilde yerleştirilmiştir.

1.4.1.3 Bakterinin tane karabiberde yaşayabilirliğinin tespiti için yapılan işlemler

E. coli (ATCC 25922)'nin tane karabibere inoküle edildikten sonra dekontaminasyon uygulamasına kadar görmüş olduğu muamele, işlemin etkinliği ve alınan sonucun gerçeğı yansıtmaması açısından büyük önem arzettiğinden, ilk önce inoküle edilen baharat, oda koşullarında (25 °C'de, %45 nisbi nemde) depolanarak bakterinin baharata bu koşullarda adapte olup olamayacağının belirlenmesi amaçlanmıştır. Alınan sonuçlar doğrultusunda; inoküle edilen baharat 25 °C'de, %90 nisbi nemde de depolanmış ve adaptasyon durumu belirlenmiştir.

1.4.2 Baharatın uygulanacak dekontaminasyon işlemleri için hazırlanması

E.coli inoküle edilen tane karabiberler, Metod 3.2.1.3'ün sonuçlarına göre dekontaminasyon öncesinde birtakım aşamalardan geçirilmiştir. İnokülasyonun ardından steril kaba alınan örnekler, 25 °C'de %90 nisbi nemde 24 saat bekletildikten sonra, örneğın inokülasyon öncesi sahip olduğu su aktivitesinde çalışabilmek adına 30 °C'lik etüve alınarak (%30 nisbi nemde) 24 saat daha bekletilmiş ve kurumaması sağlanmıştır. Sadece sabit yataklı ozon uygulamasında denenecek olan nemli örneğın dekontaminasyonu çalışması için ise örnekler, 25 °C'de %90 nisbi nemde 48 saat bekletilmiştir.

Tane karabiberin doğal florasıyla nemli halde sabit yataklı ozon uygulamasına maruz bırakılacak örnekler (25 g), üzerine 1:1 oranında steril saf su eklenerek 5 dakika boyunca, ara ara karıştırılarak bekletilmiştir. Süre sonunda beher içerisindeki su, steril bir bez yardımıyla süzölmüştür. Nemin örneğe daha homojen yayılması amacıyla örnekler ozonlama öncesinde %90 nisbi neme sahip ortamda 1 saat bekletilmiştir.

1.4.3 Baharatın su aktivitesinin belirlenmesi

Örneklerin sahip olduğu su aktivitesi, Labmaster-aw cihazı (Novasina Ltd., Lachen, İsviçre) ile belirlenmiştir. Bu amaçla yaklaşık 10 g tane karabiber öğütülerek cihazın haznesine yerleştirilmiştir ve örneklerin 25 °C’deki su aktivitesi ölçülmüştür.

Tane karabiberin TMAB yükünü düşürmek için uygulanan dekontaminasyon çalışmalarında, herhangi bir işlem görmeyen ve sabit yataklı ozon çalışmaları için nemlendirilen örneklerin su aktivitesi değerlerine bakılmıştır.

Tane karabiberin *E. coli* yükünü düşürmek için uygulanan dekontaminasyon çalışmalarında kuru ve nemli örneklerin su aktivitesi değerlerinin belirlenmesi için ışınlanmış tane karabibere bakteri inokülasyonu yöntemi (Metod 3.2.1.2) sadece PBS çözeltisi kullanılarak uygulanmıştır.

1.4.4 Dekontaminasyon işlemlerinin uygulanması

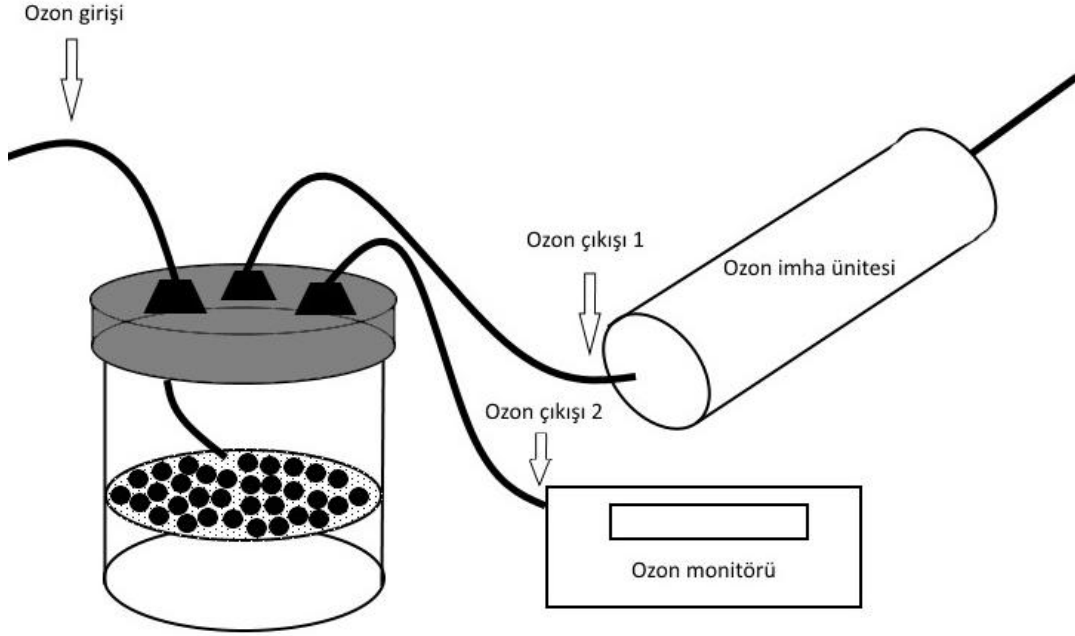
Tane karabibere uygulanacak mikrobiyal dekontaminasyon yöntemlerinden öncelikle ozon ve UV uygulamalarının, sabit yataklı sistemde etkinliği belirlenmiş, yapılan denemeler sonucu çalışılması uygun görülen parametrelerle hem sabit hem akışkan yataklı sistemde, uygulamalar ayrı ayrı ve kombine şekilde çalışılmıştır.

1.4.4.1 Sabit yataklı sistemde yapılan uygulamalar

Sabit yataklı sistemde ozonlama uygulaması

Sabit yataklı ozonlama sistemi; ozon jeneratörü (Model No. H-50, HessMachines International, PA, ABD), 1 L’lik uygulama kabı, ozon monitörü (Ozone Monitor, Model 106-M, 2B Technologies, Inc., CO, ABD) ve ozon imha ünitesi (Ozone Destruct Unit, ODS-3, Ozone Solutions, Inc., IA, ABD)’nden oluşmaktadır (Şekil 3.1). Ozon jeneratörü, oksijen ile beslenmekte, saatte 9,5 g ozon üretmektedir. Jeneratörde oluşturulan ozonun nisbi nemi, “Hobo” cihazı (Hobo U12-013 Temp/RH 2 External Data Logger, Onset Computer Corporation, Bourne, MA) kullanılarak yaklaşık %45 olarak belirlenmiştir. Örnekler, uygulama kabı içerisinde bulunan delikli tabla üzerine yerleştirilen steril bir bez üzerine tek tabaka olacak şekilde yerleştirilmiştir. Uygulama kabının kapağına 3 adet 6 mm’lik delik açılarak ozon giriş, çıkış ve kontrolü için kullanılmıştır. Ozon gazı, uygulama kabı içinde bulunan örneklerin, 2 cm yukarısına kadar uzanan bir boru ile beslenmiştir. Uygulama kabı

ozon monitörüne bağlanarak, ozon konsantrasyonu sürekli olarak ölçülmüştür. Uygulama kabını terkeden ozon gazı, uygulama kabına bağlanan ozon imha ünitesi ile parçalandıktan sonra havaya verilmiştir.



Şekil 3.1 : Sabit yataklı ozonlama sistemi.

Sabit yataklı ozon uygulamasında, örneklerin sahip olduğu su aktivitesinin, ozonun dekontaminasyon etkinliği üzerine olan etkisinin değerlendirilebilmesi amacıyla kuru ve nemli örneklerle çalışılmıştır. Örnekler, 50 L/dk akış hızına sahip, 15 ve 25 ppm konsantrasyondaki ozon ile 1 ve 3 saat muamele görmüştür. Sabit yataklı ozon uygulamasının kontrolü olarak değerlendirilecek kuru ve nemli örneklere, 1 ve 3 saat boyunca hava üflenmiştir.

Sabit yataklı sistemde UV uygulaması

Çalışma kapsamında tasarlanan, hem sabit hem akışkan yataklı uygulamaları gerçekleştirmeye elverişli UV sistemi, içerisinde quartz camdan yapılmış bir silindir (100 cm×5 cm) ve bu silindirin dış yüzeyine birbirine eşit mesafede yerleştirilen 4 adet UV-C lambası (Ster-L-Ray Germicidal Lamp, Model GH036T5L/4P, Atlantic Ultraviolet Inc., Hauppauge, NY, ABD) bulunan paslanmaz çelik bir kabin (95 cm×9,75 cm)'den oluşmaktadır. UV lambaları ve quartz cam arası mesafe 1 cm'dir.

Sabit yataklı UV uygulaması için yatay olarak konumlandırılan kabin içerisine örneklerin yerleştirilmesini sağlayacak bir tabla tasarlanmıştır. Bu tablanın üzerine

UV geçirgenliğine sahip bir film gerilmiş ve tane karabiberler bu tabla üzerine tek kat olacak şekilde yerleştirilmiştir. Böylece tane karabiberlerin çift yönlü olarak UV'ye maruz kalabilmeleri sağlanmıştır. Sabit yataklı UV uygulaması, Şekil 3.2'de görülmekte olan ozon ve UV'nin eş zamanlı kombinasyonunun uygulandığı sisteme, ozon gazı beslemesi yapılmadan gerçekleştirilmiştir. Örneklerin sisteme yerleştirilmesinin ardından UV ışınlarının dışarı yansımaları önlemek için kabinin bir ucu (akışkan yataklı sistemde akışkanın girmesi için boru bağlanacak kısım) alüminyum folyo yardımıyla, diğer ucu (akışkan yataklı sistemde akışkanın çıkacağı kısım) ise tasarlanan siyah başlıkla kapatılmıştır. UV lambalarının şiddeti radyometre (UVP Inc., Upland, CA, ABD) ile ölçülmüştür. Film üzerindeki örneklerin, üst ve alt kısımlarının maruz kaldığı UV şiddeti sırasıyla 6 mW/cm^2 ve 5 mW/cm^2 olarak belirlenmiştir. Bu fark, filmin UV'nin bir kısmını geçirmemiş olmasından kaynaklanmaktadır. Sabit yataklı UV uygulamasında örneklerin maruz kaldığı UV şiddetini daha anlamlı ifade edebilmek için bu iki değerin ortalaması alınmıştır. UV lambalarının şiddetinin sabitlemesi için gereken zaman 2 dk. olarak belirlenmiş, bu nedenle çalışmada uygulanacak süreler 2 dk. ilave edilmiştir.

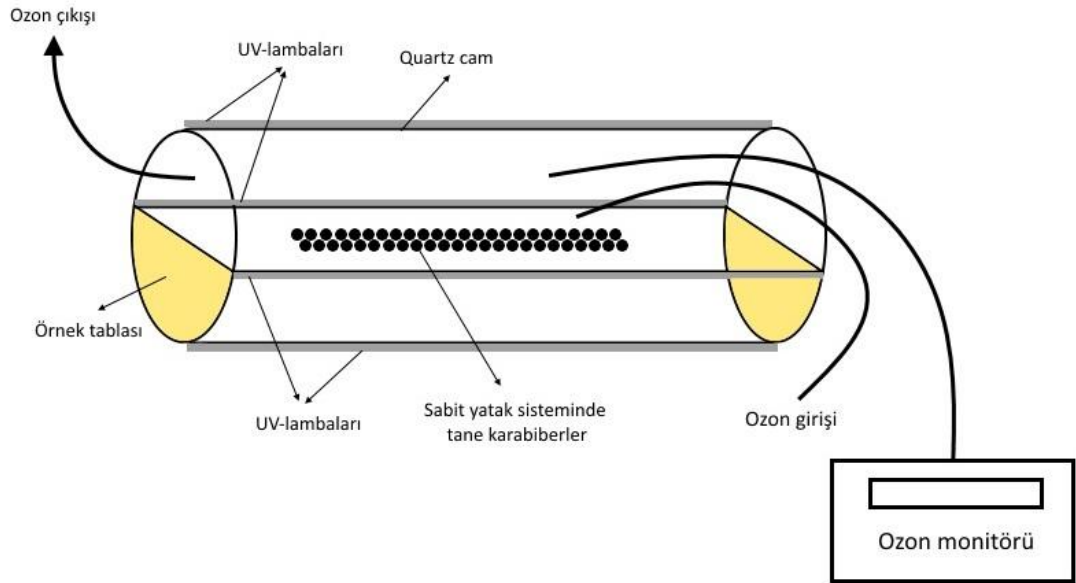
Sabit yataklı UV uygulamasında kuru örnekler 30, 60 ve 120 dk. boyunca $5,5 \text{ mW/cm}^2$ şiddetindeki UV ile muamele görmüştür. Sabit yataklı UV uygulamasının kontrolü olarak değerlendirilecek örnekler, uygulama sırasında ölçülen ortalama sıcaklık değeri olan 35°C 'de, uygulama süreleri boyunca bekletilmiştir.

Sabit yataklı sistemde kombine uygulamalar

Sabit yataklı kombine uygulamalar; ozon uygulaması (1 saat 15 ppm)'ni takiben UV uygulaması (1 saat, $5,5 \text{ mW/cm}^2$) ve toplamda 1 saat boyunca ozon (15 ppm) ve UV ($5,5 \text{ mW/cm}^2$) uygulamalarının eş zamanlı uygulanması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Eş zamanlı uygulama için UV kabinine ozon girişi entegre edilmiştir (Şekil 3.2). UV kabininin bir ucundaki bu girişten, tabla üzerindeki örneklerin üst yüzeyine gelecek şekilde, sisteme sürekli ozon beslenmiştir. Ozon, kabinin diğer ucundan, dirsek boru vasıtasıyla çeker ocağa verilmiştir. Ozon girişinin olduğu kısımdan ozon monitörüne bağlantı yapılarak ozon konsantrasyonunun kontrol edilmesi sağlanmıştır.

Ozon sonrası UV uygulamasının kontrolü için örnekler, sabit yataklı sistemde 1 saat hava üfletildikten sonra 35°C 'de 1 saat bekletilmiştir. Eş zamanlı uygulama için

örnekler aynı anda hem hava üfletilip hem de 35 °C'lik etüvde bekletilemediği için bu grubun kontrol uygulaması yapılmamıştır.



Şekil 3.2 : Ozon ve UV'nin sabit yatakta eş zamanlı uygulandığı kombine sistem.

1.4.4.2 Akışkan yataklı sistemde yapılan uygulamalar

Akışkan yataklı sistemde yapılan uygulamalar için kullanılan sistem Şekil 3.3'te gösterilmiştir.

Akışkan yataklı sistemde UV uygulaması

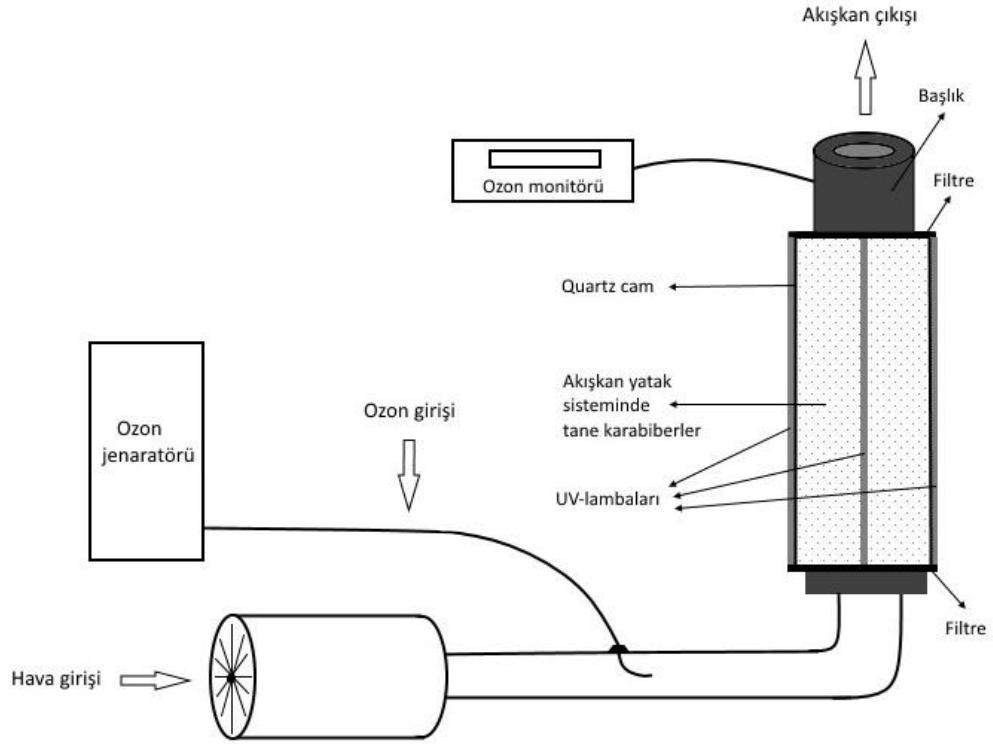
Tasarlanan UV kabini dik olarak konumlandırılıp alt kısmındaki açıklık bir dirsek ve boru (100 cm×10 cm) ile, sisteme akışkan (hava) girişini sağlayacak fana bağlanmıştır. Baharatın sistem içinde kalmasını sağlamak için akışkan girişi ve çıkışına filtreler yerleştirilmiştir. Uygulama sırasında havanın etkisiyle örneklerin bir kısmının üst taraftaki filtreye yapışmasının, örneklerin UV'ye maruz kalmasını engelleyebileceği düşünülerek, akışkan çıkışına yerleştirilen başlıktaki açıklık manuel olarak 2 saniyede bir kapatılıp açılmıştır. Böylece akışkan yatak boyunca homojen örnek dağılımı da sağlanmıştır. Fanın, tane karabiberlerin en uygun akışını sağlayacak saniyedeki devir sayısı (hertz) 40 olarak belirlenmiştir (yaklaşık 8 m/sn hızda hava üflenmiştir). Akışkan yataklı UV uygulaması boyunca örneklerin maruz kaldığı UV şiddetinin belirlenmesi için kabinin farklı noktalarında yapılan ölçümlerin ortalaması alınmış ve bu değer 8 mW/cm² olarak belirlenmiştir. Tane karabiberler, akışkan yataklı UV sisteminde 1 saat muamele edilmiştir.

Akışkan yataklı sistemde ozon ve kombine yöntemlerin uygulanması

Fanın üflediği havayı sisteme taşıyan boru (100 cm×10 cm)'nin orta kısmından açılan 6 mm'lik delikten ozon girişi yapılmıştır. Akışkan (hava veya hava+ozon) çıkışına yerleştirilen başlıkta açılan bir delikten ise ozon monitörüne bağlantı yapılarak ozon konsantrasyonu kontrol edilmiştir. Akışkan çıkışı, ozonla yapılacak çalışmalarda ozonun ortama verilmesini önlemek adına çeker ocağa bağlanmıştır. Sisteme verilen ozon, fanın üflediği hava ile seyreltiğinden ulaşılabilen en yüksek ozon konsantrasyonunun 15 ppm olduğu belirlenmiştir.

Akışkan yataklı ozon uygulaması 15 ppm konsantrasyonda 1 saat uygulanmıştır. Kombine uygulamalar ise ozon sonrası UV (1 saat 15 ppm ozon sonrası 1 saat 8 mW/cm² UV) ve ozon ve UV'nin eş zamanlı (toplamda 1 saat 15 ppm ozon ve 8 mW/cm² UV) uygulanması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Akışkan yataklı sistemde 1 saat yapılan uygulamalar (ozon, UV ve eş zamanlı ozon ve UV uygulamaları) için, akışkan yataklı sistemde 1 saat boyunca hava üfletilen örnekler kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Ozon sonrası UV uygulamasının kontrolü için ise örnekler 2 saat hava üfletilmiştir. Hem TMAB çalışmaları hem de *E. coli* çalışmalarında kontrol için uygulanan işlemler, bakteri yükü açısından önemli bir değişikliğe neden olmamıştır ($p>0,05$). Bu nedenle, her iki uygulama için de kontrollerin ortalaması alınarak işlemlerin etkinliği tek bir kontrole göre değerlendirilmiştir. TMAB ve *E. coli* çalışmaları için yapılan tüm kontrollerin değerleri Ek A'da, Çizelge A.1 ve Çizelge A.2'de verilmiştir.



Şekil 3.3 : Akışkan yataklı sistem.

1.4.5 Mikrobiyolojik analizler

Her bir uygulama sonrasında, işlem gören örnekler ve kontrollerinin mikrobiyolojik analizi gerçekleştirilmiştir. TMAB çalışmaları için kullanılan miktar olan 25 g örnek ve *E. coli* çalışmaları için kullanılan miktar olan 10 g örnek alınarak %0,1'lik peptonlu su ile 1:10'luk dilüsyonu hazırlanmış, stomacherde (Bagmixer, Interscience, Nom, France) orta hızda 2 dk. homojenize edilmiştir. Daha sonra buradan uygun dilüsyonlar hazırlanarak TMAB analizi için PCA, *E. coli* analizi için TBX besiyerine dökme plak yöntemi ile ekimler yapılmıştır. Petriler, TMAB analizi için 37 °C'de 48 saat, *E. coli* analizi için 44 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

1.4.6 Renk analizi

Ölçümler, kroma-metre (Minolta, CR-300, Osaka, Japonya) ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, üç renk skalasına (L, a, b) ait sayısal değerler vermektedir. L herhangi bir yansımanın olmadığı siyah renkler (L=0) ile yansımanın mükemmel olduğu beyaz renkler (L=100) arasındaki sayısal değerleri ifade eden parlaklıktır. Kırmızılığı ifade etmekte kullanılan "a" değerinin eksi değerleri yeşil rengi, artı değerleri ise kırmızı rengi ifade etmektedir. Sarı rengin ifade edilmesinde kullanılan "b" değeri ise negatif olduğunda mavi rengi, pozitif olduğunda ise sarı rengi ifade

etmektedir. Çalışmada kullanılan örnekler tane karabiber olduğundan tanelerin renklerindeki değişkenliği yansıtabilmek adına her örnek için 9 ölçüm yapılmış ve ortalama bir değer elde edilmiştir.

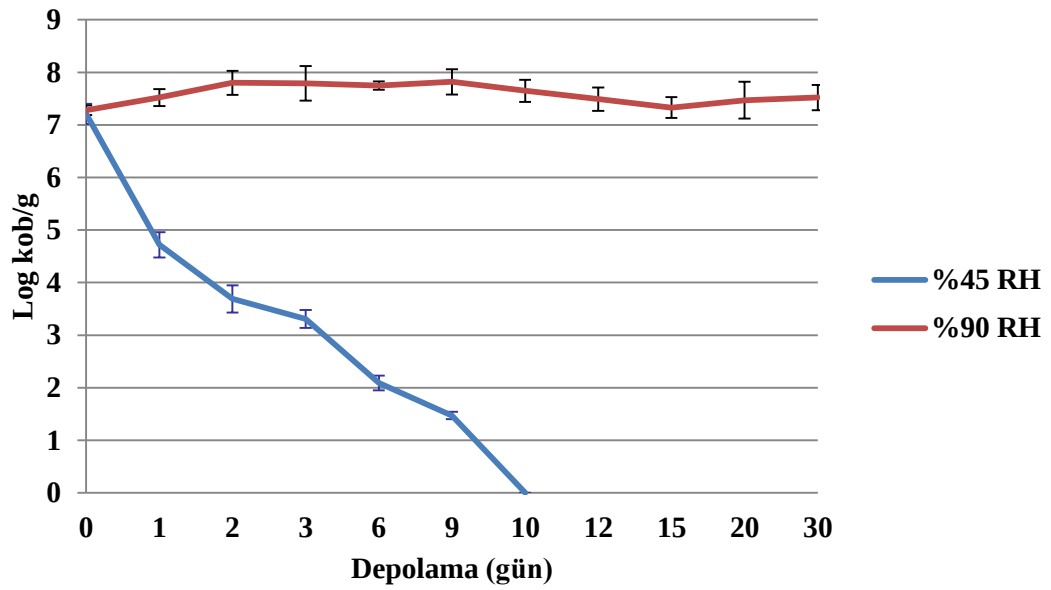
1.4.7 İstatistiksel analiz

Çalışmalar sonucu elde edilen veriler SPSS (versiyon 21, SPSS Inc., ABD) programı kullanılarak varyans analizi (One way ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Karşılaştırma yöntemi olarak Tukey testi (Post Hoc Multiple Comparisons/Tukey's method) kullanılmıştır. Karşılaştırmalar %95 önem düzeyinde yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

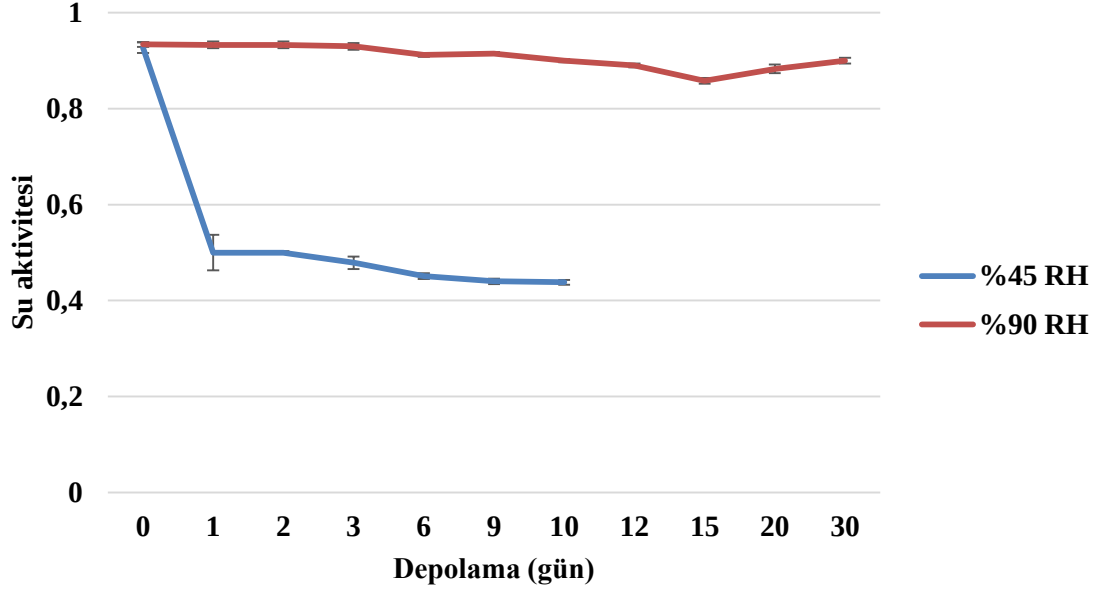
1.5 *E. coli*'nin Tane Karabiberde Yaşayabilirliğinin Tespiti

25 °C'de depolanan inoküle karabiberlerin nisbi nem (%45- %90 RH) ve depolama süresine bağlı olarak sahip oldukları *E. coli* yükleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 : Tane karabibere inoküle edilen *E.coli* (ATCC 25922)'nin nisbi neme ve zamana bağlı olarak yaşayabilirliği.

Şekil 4.2'de 25 °C'de %45 ve %90 nisbi nemde depolanan inoküle karabiberlerin sahip oldukları su aktivitesinin depolama süresine bağlı olarak değişimi gösterilmiştir. EK B'de verilen Çizelge B.1 ve Çizelge B.2'de ise 25 °C'de depolanan inoküle karabiberlerin nisbi nem (%45- %90 RH) ve depolama süresine bağlı olarak sahip oldukları *E. coli* yükleri ve su aktivitesi değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmiş hali gösterilmiştir.



Şekil 4.2 : 25 °C’de %45 ve %90 nisbi nemde depolanan inoküle karabiberlerin sahip oldukları su aktivitesinin depolama süresine bağlı olarak değişimi.

%45 nisbi nemde depolanan örneklerin inokülasyon sonrası sahip oldukları *E. coli* yükü, bir gün sonra yaklaşık 2,5 log azalmış ve takip eden günlerde de azalmaya devam ederek 10. gün tespit sınırının altına düşmüştür. Örneklerin su aktivitesi düzeylerine bakıldığında da ilk gün büyük bir azalma görülmüş, takip eden günlerde ise bu değere yakın düzeyde seyretmiştir.

%90 nisbi nemde depolanan örneklerin inokülasyon sonrası sahip oldukları *E. coli* yükününse 30 gün boyunca aynı düzeyde kaldığı belirlenmiştir. Bu durumun su aktivitesi düzeyleri ile paralellik gösterdiği görülmektedir.

Bulgular, *E. coli*’nin tane karabibere adapte olup canlılığını koruyabilmesi için yüksek nisbi neme sahip bir ortama ihtiyaç duyduğunu göstermiştir. Buradan alınan sonuçlarla, *E. coli* ile yapılacak dekontaminasyon çalışmaları için uygulanacak inokülasyon işleminin nasıl gerçekleştirileceğine karar verilmiştir. Kuru halde dekontaminasyon işlemi uygulanacak inoküle tane karabiber örneklerinin 25 °C’de %90 nisbi nemde 24 saat bekletilmesi ile *E. coli*’nin karabibere adapte olması sağlandıktan sonra, 30 °C’de 24 saat bekletilerek inokülasyondan önce sahip oldukları su aktivitesi düzeyine kadar kuruması sağlanmıştır. Bu uygulama ile dekontaminasyon işlemi uygulanacak örneklerin bakteri yükünün yüksek sevide (6,40 log kob/g) olması sağlanabilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda da, inokülasyon sonrası bakterinin örneğe adapte olması ve bakteri yükünün stabil hale gelebilmesi

için inokülasyondan sonra bir takım işlemler uygulanmıştır. Beuchat ve Scouten (2002), alfalfa tohumlarını, *E. coli* O157:H7 bakterisinin 24 saatlik TSBN (nalidiksik asit katkılı TSB) kültürü ile hazırladıkları süspansiyon (6 ml kültür steril su 1L'ye tamamlanmıştır) ile 1:1 oranında 1 dk. boyunca karıştırma işlemi uygulayarak inoküle etmiş, ardından örneklerin kuruması için 22 °C'de 72 saat bekletmişlerdir. Bakteri yükünün stabil hale gelmesi ve stres altındaki bakteri sayısının azalması için örnekler 5 °C'de 1 hafta depolanmıştır. Bu işlemlerden geçen örneğin bakteri yükü yaklaşık 3 log kob/g olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışma ile bakterinin örneğe adapte olması sağlanmıştır fakat elde edilen mikroorganizma yükünün oldukça düşük seviyede olduğu görülmektedir.

1.6 Sabit Yataklı Ozon Uygulamasının Dekontaminasyon Etkinliği

Ozonun kuru ve nemli tane karabiberin doğal florasında bulunan TMAB'ler ile tane karabibere inoküle edilen *E. coli* üzerindeki dekontaminasyon etkinliği sırasıyla Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te görülmektedir.

Çizelge 4.1 : Sabit yataklı ozon uygulamasının tane karabiberin TMAB yüküne (log kob/g)* etkisi.

a_w	Kontrol	Ozon Uygulaması			
		1 saat		3 saat	
		15 ppm	25 ppm	15 ppm	25 ppm
0,450	6,82 a	6,71 ab,x	6,60 ab,x	6,61 ab,x	6,48 b,x
0,915	6,82 a	6,65 ab,x	6,53 bc,x	6,28 c,y	5,97 d,y

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı satırlarda (a, b, c) ve aynı sütunlarda (x, y) farklı harf alan ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Kuru karabiberin TMAB yükü üzerinde önemli düzeyde ($p<0,05$) sayılabilecek inaktivasyon 25 ppm konsantrasyonda 3 saat uygulama ile sağlanabilmektedir. Nemli karabiberde ise her iki konsantrasyonda da 3 saat uygulama ile önemli düzeyde azalma sağlanmıştır. Nemli karabiberde sağlanan inaktivasyon düzeyi 15 ve 25 ppm ozon konsantrasyonları için sırasıyla 0,54 ve 0,85 log kob/g olarak bulunmuştur. 1 saat uygulama için örneğin kuru ya da nemli olması önem arz etmezken, 3 saat uygulama yapıldığında her iki konsantrasyonda da örneğin nemli olması, kuru örnekte sağlanan inaktivasyon düzeyini 15 ve 25 ppm ozon konsantrasyonları için sırasıyla 0,33 ve 0,51 log kob/g artırmıştır. Alınan bu sonuçlar yapılan çalışmalarla da paralellik göstermektedir. Zhao ve Cranston (1995), farklı nem düzeylerindeki

(%3,9, 10,4 ve 17,6) toz karabiberin ozonlamasıyla elde edilen inaktivasyonun örneklerin nemine bağlı olarak değiştiğini, en yüksek inaktivasyonun en fazla nem içeriğine sahip örneklerde sağlandığını bildirmiştir. Fakat nemin etkisinin ancak 2 saat uygulama sonrasında görüldüğü belirtilmiştir. %3,9 nem içeriğine sahip örnekte sağlanan inaktivasyonun 2 saat içerisinde gerçekleştiği uygulama süresini uzatmanın inaktivasyonu artırmadığı belirlenmiştir.

Li ve diğ. (2013), 5 g/h üretim kapasitesine sahip ozon jeneratörü kullanarak, buğday ununu 5 L/dk hava akış hızında ozon ile 15 dk. muamele etmiştir. Uygulama sonrasında TMAB yükünde (3,95 log kob/g) önemli bir azalma sağlanamadığı belirtilmiştir. Ozonlanan örneğin 4 gün depolanması sonrasında ise toplam bakteri yükünün yaklaşık 0,8 log kob/g azaldığı saptanmıştır. Bu durumun ozonun buğday ununun yapısında bulunan nişasta, protein gibi organik bileşenlerin ozon ile reaksiyona girmek için mikroorganizmalarla yarış halinde olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Depolama sonrasında görülen azalmanın ise ozon ile hasar alan mikroorganizmaların düşük nem düzeyine hassasiyet gösterebileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Zorlugenç ve diğ. (2008), ozon gazının kuru incirin doğal mikrobiyal florası üzerindeki etkinliğini değerlendirmiştir. 13,8 ppm konsantrasyonundaki ozon gazının (6 L/dk oksijen akışı) sağladığı inaktivasyonun 7,5, 15 ve 30 dakika için sırasıyla 0,81, 1,0 ve 1,42 log kob/g olduğu belirlenmiştir.

Torlak ve diğ. (2013), iki farklı konsantrasyonda (2,8 ve 5,3 ppm) uyguladıkları ozon gazı ile 120 dakikaya kadar yapılan uygulamanın kekiğin mikrobiyal yükü üzerindeki etkilerini araştırmıştır. 2,8 ppm konsantrasyondaki ozonun 120 dk. uygulanması ile toplam bakteri yükünde sırasıyla 2,7 log azalma sağlanmıştır. 5,3 ppm konsantrasyondaki ozon ise 90 dk. uygulama ile toplam bakteri yükünde 3,2 log'dan fazla bir azalma sağlamıştır.

Wu ve diğ. (2006), başlangıç nemi %13 ve başlangıç fungal yükü $4,9 \times 10^5$ olan buğday (50 g) örneklerinin nemini %19,3 (0,90 aw)'e yükselterek ozon gazının fungal yüke olan etkisini değerlendirmişlerdir. Uygulama 20 °C'de 16,5 mg ozon/dk (0,33 mg/(g buğday).dk) konsantrasyonunda 5 dk. boyunca yapılmış ve fungal sporların %96,9 oranında azaltılması sağlanabilmiştir.

McDonough ve diğ. (2011), ozonun vidalı konveyörle taşınan hububata uygulanmasının etkinliği değerlendirilmiştir. Vidalı konveyör içerisindeki ozon konsantrasyonu 47,800 ppm'dir ve sisteme sürekli olarak ozon beslenmektedir. Bir hububat tanesinin sistem içerisinde kalma süresi 1,8 dakikadır. Fungal yükün artırılması için hububata ayrıca *Aspergillus flavus* inoküle edilmiştir. Tek bir geçişte *Aspergillus flavus* sayısında %96 azalma sağlanmıştır. Üç geçişte ise küf sayısında 2 log azalma sağlanmıştır.

Toplam bakteri yükünün düşürülmesi için yapılan bazı çalışmalarda bu çalışma ile benzer sonuçlar alınması bazılarında ise sağlanan inaktivasyonun daha fazla olmasının, ozonlama sistemi ve örneklerdeki farklılardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.2 : Sabit yataklı ozon uygulamasının tane karabiberin *E.coli* yüküne (log kob/g) * etkisi.

a _w	Kontrol	Ozon Uygulaması			
		1 saat		3 saat	
		15 ppm	25 ppm	15 ppm	25 ppm
0,500	6,40 a	6,30 a,x	6,12 ab,x	5,62 bc,x	5,47 c,x
0,933	6,40 a	5,84 b,x	5,62 b,y	5,61 b,x	5,09 c,x

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı satırlarda (a, b, c) ve aynı sütunlarda (x, y) farklı harf alan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,05).

Kuru karabiberin *E. coli* yükü üzerinde önemli düzeyde (p<0,05) sayılabilecek inaktivasyon 15 ve 25 ppm konsantrasyonda 3 saat uygulama ile sağlanabilmektedir. Nemli karabiberde ise her iki konsantrasyonda da 1 ve 3 saat uygulama ile önemli düzeyde azalma sağlanmıştır. Sağlanabilen en fazla inaktivasyon düzeyi (25 ppm 3 saat uygulama ile elde edilmiştir) kuru ve nemli örnekler için sırasıyla 0,93 ve 1,31 log kob/g olarak bulunmuştur. Kuru örnekte inaktivasyon için önemli olan faktörün konsantrasyon değil süre olduğu belirlenmiştir.

Zhao ve diğ. (1995), 10⁷-10⁸ kob/g düzeyinde *E. coli* içerek şekilde inoküle ettikleri, %10,4 neme sahip toz karabiberin, 6 L/dk hava akışında, 6,7 ppm konsantrasyonda ozon ile 60 dk. muamele edilmesinin popülasyonda 3 log'dan fazla bir azalma sağladığını bildirmiştir.

Torlak ve diğ. (2013), *Salmonella* ile inoküle edilen 5,8 log düzeyinde yüke sahip kekiğe, inokülasyondan 30 dk. sonra yapılan 2,8 ve 5,3 mg/L konsantrasyondaki 120

dk. ozon muamelesinin *Salmonella* yükünü sırasıyla 2,8 ve 3,7 log azalttığını bildirmiştir.

Akbaş ve Özdemir (2008a), 100'er g kuru inciri, 10^7 mikroorganizma/g konsantrasyonlarındaki 4'er ml *E. coli*, *B. cereus* vejetatif hücrelerinin ve *B.cereus* sporlarının bakteri süspansiyonları ile inoküle etmiş ve 25'er g inoküle inciri, inokülasyondan 1 saat sonra, 20 °C'de %70 nisbi nemde ozon gazı ile muamele etmiştir. 1 ppm ozon konsantrasyonunda 360 dakika uygulama ile *E. coli* ve *B. cereus* vejetatif hücrelerinin sayısında 3,5 log azalma sağlanırken; *B.cereus* sporlarının sayısında ancak 1 ppm'in üzerindeki dozlarda (5,0, 7,0 ve 9,0 ppm) yaklaşık 2 log azalma sağlanabilmiştir.

Akbaş ve Özdemir (2006), antep fıstığını (kabuklu, kabuksuz ve öğütülmüş 100 g örneği) 10^7 kob/g düzeyindeki *E. coli* ve *B. cereus* süspansiyonları ile inoküle ettikten 1 saat sonra, 25 g örneği 20 °C'de %70 nisbi nemde, 0,1, 0,5 ve 1 ppm konsantrasyonlardaki ozonla 0-360 dk. muamele etmiştir. Kabuklu ve kabuksuz örneklerde 0,1 ve 0,5 ppm ozonla 360 dk.'da *E. coli* sayısında 2-3 log azalma sağlanırken *B. cereus* sayısında 1,5-2 log azalma sağlanmıştır. Öğütülmüş örneklerde ise aynı konsantrasyonda ve sürede her iki bakteri de 1,5 log azalma sağlanabilmiştir. 1 ppm ozonla 360 dk.'da, kabuklu ve kabuksuz örneklerde *E. coli* sayısında 3,5 log azalma sağlanırken *B. cereus* sayısında yaklaşık 3 log azalma sağlanmıştır. Öğütülmüş örneklerde ise aynı konsantrasyonda ve sürede her iki bakteride de yaklaşık 2 log azalma sağlanabilmiştir.

Akbaş ve Özdemir (2008b), *E.coli*, *B.cereus* vejetatif hücreleri ve sporları ile inoküle ettikleri (10^7 mikroorganizma/g düzeyinde) pul kırmızı biber örneklerini inokülasyondan 1 saat sonra, 20 °C'de %70 bağıl nemde, ozonla muamele etmiştir. Örnekler, 1 ppm ozonla 360 dk. muamele gördüklerinde *E.coli* ve *B.cereus* vejetatif hücrelerinin sayısında sırasıyla 2,0 ve 1,5 log azalma sağlanmıştır. *B.cereus* sporlarının sayısında 360 dk. boyunca 7,0 ve 9,0 ppm ozon muamelesiyle 1,5 log azalma sağlanmıştır.

Bialka ve Demirci (2007a), çilek ve ahududu meyvelerini *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella enterica*'nın 5 farklı suşlarıyla hazırladıkları bakteri süspansiyonlarıyla inoküle etmiş ve inokülasyondan 24 saat sonra ozon gazının bu patojenleri inaktive etmedeki etkinliğini araştırmıştır. Yaklaşık 10^5 kob/g düzeyinde yüke sahip olan

örneklere, %5 (w/w) düzeyindeki ozon 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 dk. boyunca sürekli olarak uygulanmıştır. Ahududularda 64 dk. uygulama ile *Salmonella* yükünde sırasıyla 1,6 log kob/g azalma sağlanırken; *E. coli* O157:H7 yükünde 2,6 log kob/g azalma sağlanmıştır. Çileklerde 64 dk. uygulama ile *Salmonella* yükünde 0,9 log kob/g azalma sağlanırken; *E. coli* O157:H7 yükünde 1,8 log kob/g azalma sağlanmıştır. Bialka ve Demirci (2007b), yaptıkları diğer bir çalışmada, *Escherichia coli* O157:H7 ile inoküle ettikleri yaban mersini meyvelerini (10^6 kob/g yüke sahip) inokülasyondan 24 saat sonra ozon ile muamele ederek inaktivasyon etkinliğini değerlendirmiştir. Sürekli olarak yapılan 64 dk. ozon uygulaması *Escherichia coli* O157:H7 yükünde 2,2 log azalma sağlamıştır. Çilek, ahududu ve yaban mersini meyvelerinin su aktivitesi yüksek ürünler oldukları ve bu meyvelere uygulanan inokülasyon işleminin ardından bakterilerin örneğe tutunması ve adapte olması amacıyla 24 saat beklenilmiş olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmada alınan sonuçlar, su aktivitesi yüksek tane karabiberlerde alınan sonuçlarla ve kuru karabiberlerin 3 saat ozonlanmasıyla alınan sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Zorlugenç ve diğ. (2008), ozon gazının kuru incirin doğal mikrobiyal florasında bulunan koliform bakteriler üzerindeki etkinliğini değerlendirmiştir. 13,8 ppm konsantrasyonundaki ozon gazının (6 L/dk oksijen akışı) sağladığı inaktivasyonun 7,5, 15 ve 30 dakika için sırasıyla 0,46, 0,84 ve 1,84 log olduğu belirlenirken; *E. coli*'nin tamamen inaktive edildiği bildirilmiştir.

Al-Haddad ve diğ. (2005), tavuk etinin göğüs kısmını *Salmonella infantis* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile inoküle ederek yaptıkları çalışmada, 2000 ppm'in üzerinde konsantrasyonda 30 dk. ozon muamelesinin etkinliğini belirlemişlerdir. Uygulama ile *Salmonella* ve *Pseudomonas* yükünde sırasıyla %97 ve %95 azalma sağlanabilmiştir. Örneğin doğal florasında bulunan koliform bakteriler ise uygulamadan etkilenmemiştir. Ortaya çıkan bu çelişkinin, örneğin doğal florasında bulunan koliform bakterilerin tutunma derecesinin farklı olması, yüzeydeki ve iç kısımlardaki porların içerisine penetre olması sonucu ozonun bakterilerle temasa geçmeden organik maddelerle reaksiyona girerek nötrlenmesi ve inoküle edilen bakterilerin neticede yapay kontaminantlar olmasından kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda sağlanan inaktivasyon düzeylerine bakıldığında birbirinden farklı sonuçların alındığı görülmektedir. Bunun nedeni ozonun inaktivasyon

etkinliğinin birçok faktöre bağlı olarak değişebilmesi (örneğin bileşimi, su aktivitesi, ortamın nisbi nemi, vb.) ve inokülasyon uygulanarak yapılan çalışmalarda inokülasyon yönteminin farklılık göstermesi olabileceği düşünülmektedir. Ozonun inaktivasyon etkinliğinin düşük konsantrasyonlara rağmen fazla bulunduğu çalışmaların daha çok inoküle baharata uygulanan çalışmalar olduğu ve yüksek nisbi nemde uygulandığı görülmektedir. Bu çalışmalarda bakterinin ozona karşı fazla hassas olmasının, en önemli nedeninin inokülasyonunun ardından 30 dk. ya da 1 saat beklenilip, bakteri örneğe tutunamadan ve adapte olamadan ozonlama yapılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

1.7 Sabit Yataklı UV Uygulamasının Dekontaminasyon Etkinliği

Tane karabibere sabit yataklı sistemde UV uygulamasının TMAB ve *E. coli* yükünde sağladığı inaktivasyon düzeyleri sırasıyla Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te görülmektedir.

Çizelge 4.3 : Sabit yataklı UV uygulamasının tane karabiberin TMAB yükü üzerindeki etkisi.

Zaman (dk)	UV Dozu (J/cm ²)	TMAB Yükü (log kob/g)*
0	0	6,82 a
30	9,9	6,54 b
60	19,8	6,45 bc
120	39,6	6,24 c

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda farklı harfi (a,b) alan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,05).

Sabit yataklı UV uygulamasıyla tane karabiberin TMAB yükünde sağlanan inaktivasyon düzeyi 30, 60 ve 120 dk. uygulama için sırasıyla 0,28, 0,37 ve 0,58 log olarak saptanmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda da, UV'nin katı gıdaların mikrobiyal dekontaminasyonu açısından etkinliğinin sınırlı olduğu görülmektedir.

Hidaka ve Kubota (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, hububat tanelerinin mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla UV ışınlarının kullanıldığı bir ekipman tasarlanmıştır. Taneler konveyör bant üzerinde, 254 nm dalga boyu ve 97 W/m² dozda UV ışınlarına maruz bırakılıp sistem içinde sirküle edilerek tekrar tekrar konveyör banttan geçirilmiştir. Bu sistem kullanılarak bakteri ve küflerde 1 log kob/g inaktivasyon için gerekli sürenin sırasıyla 6,3 ve 5,6 saat olduğu bulunmuştur.

Erdođdu ve Ekiz (2011), kimyon tohumlarının 10,5 mW/cm² şiddetindeki UVC ışınları ile 1 saat muamele edilmesinin TMAB yükünde 0,6 log azalma sağladığını ve sağlanan bu inaktivasyonun süreyi artırmakla değişmediğini bildirmişlerdir. Aynı çalışma tane karabiberde de denenmiş ve UV uygulamasının TMAB yükünde önemli bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (Erdođdu ve Ekiz, 2013). Bu çalışmada tane karabiberlerde inaktivasyon sağlanamazken, sabit yataklı UV sistemi ile tane karabiberde inaktivasyon sağlanabilmiş olunmasının, sistem tasarımıyla ilgili geldiğı düşünölmektedir. Bu sistemle UV uygulaması açısından büyük önem taşıyan örneklerin her yönüyle UV'ye maruz kalmasının gerekliliğinin, çift yönlü olarak uygulanan UV ile daha iyi sağlandığı düşünölmektedir.

Allende ve diğ. (2006), 150 ppm klorlu su ile ön yıkama yaptıkları kırmızı meşe yapraklarını üç farklı dozda (1,18, 2,37 ve 7,11 kJm⁻²), çift yönlü olarak UV ile muamele ettikten sonra modifiye atmosferde, 5 °C'de 10 gün depolamıştır. Uygulama sonrasında mikrobiyal yükte önemli bir azalma sağlanmasa da modifiye atmosferde depolanan örneklerdeki bakteri (doğal florada bulunan toplam aerobik ve fakültatif aerobik bakteriler, laktik asit bakterileri ve enterik bakteriler) gelişiminin yaklaşık 1 log azaldığı yani örneklerin raf ömrünün artırdığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.4 : Sabit yataklı UV uygulamasının tane karabiberin *E.coli* yüküne etkisi.

Zaman (dk)	UV Dozu (J/cm ²)	<i>E.coli</i> Yüğü (log kob/g)*
0	0	6,40 a
30	9,9	5,83 b
60	19,8	5,76 b
120	39,6	4,28 c

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda farklı harfi (a,b) alan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,05).

Sabit yataklı UV uygulamasının *E. coli* yükünde sağladığı inaktivasyon düzeyi 30, 60 ve 120 dk. uygulama için sırasıyla 0,57, 0,64 ve 2,12 log olarak bulunmuştur. İnokülasyon yoluyla UV'nin etkinliğini değerlendirmek için yapılan çalışmalar, daha çok bakterilerin sıvı ortamlarda veya yüzeylerde muamelesini kapsamaktadır. Katı gıdalarda inokülasyon yoluyla yapılan çalışmalar ise daha çok taze meyve-sebze ve et ürünlerinde (özellikle kanatlı et) yoğunlaşmıştır.

UVC uygulamasının, peptonlu su içerisindeki *E. coli*, *L. innocua* ve *S. cerevisiae* popülasyonu üzerindeki inaktivasyon etkinliğinin değerlendirildiğı bir çalışmada,

UV'ye en hassas mikroorganizmanın *S. cerevisiae* olduğu, bunu *E. coli*'nin takip ettiği belirlenmiştir. 1,2 kJ/m² (0,12 J/cm²) dozda uygulama ile *E. coli* ve *L. innocua* popülasyonunda sırasıyla 7,2 ve 4,6 log azalma sağlanırken; 0,7 kJ/m² (0,07 J/cm²) dozda uygulama *S. cerevisiae* popülasyonunda 7,1 log azalma sağlayabilmiştir. 3,3 kJ/m² (0,33 J/cm²) dozda uygulama ile *E. coli* ve *L. innocua* popülasyonunda sırasıyla 8,5 ve 7,2 log azalma sağlanmış daha yüksek dozda yapılan uygulamalarda ise bakteri gelişimi tespit edilememiştir (Schenk ve diğ., 2011). Yapılan bu çalışma, UV uygulamasının sıvılardaki uygulamalarının çok daha etkili sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Kim ve diğ. (2002), UVC'nin *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, ve *Salmonella typhimurium* inaktivasyonu açısından etkinliğini değerlendirmişlerdir. 250 ve 500 µW/cm² şiddetindeki 2 dk. uygulama ile peptonlu su içerisindeki tüm patojenler yaklaşık 2 log düzeyinde inaktive edilirken, 3 dk. uygulama ile *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157:H7 sırasıyla 8,39 ve 8,64 log düzeyinde azalma sağlanarak tamamen inaktive edilmiştir. 250 ve 500 µW/cm² şiddetindeki uygulamalar paslanmaz çelik yüzeye inoküle edilen patojenlerde de inaktivasyon sağlamış, 500 µW/cm² şiddetinde 3 dk. uygulama *E. coli* O157:H7'yi tamamen inaktive etmiştir. Derili veya derisiz tavuk etine inoküle edilen bakterilerde de 500 µW/cm² şiddetinde 3 dk. uygulama ile 0,36 ile 1,28 log arasında azalma sağlanmıştır. Bu çalışmada da UV uygulamasının etkinliğinin sıvılarda ve yüzeylerde daha başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir.

UV'nin kasaplık piliç karkaslarının mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla kullanım potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, 82,560 ile 86,400 µWs/cm² arasındaki dozlardaki UV uygulamasının, karkaslara uygulamanın 5 dk. öncesinde inoküle edilen *Salmonella typhimurium* yükü üzerinde %61 azalma sağladığı belirlenmiştir (Wallner-Pendleton ve diğ., 1994).

Wong ve diğ. (1998), UV uygulamasının agar yüzeyi (Tryptic soy agar), domuz derisi ve domuz kasına inoküle edilen *E. coli* ve *Salmonella seftenberg* üzerindeki inaktivasyon etkinliğini çalışmışlardır. 120 sn. 100 µW/cm² şiddetindeki uygulama ile agar yüzeyindeki *E. coli* yükünde 5 log'dan fazla azalma sağlanırken, aynı sürede yapılan 80 µW/cm² şiddetindeki uygulama ile *Salmonella seftenberg* yükünde 7 log'dan fazla azalma sağlandığı belirtilmiştir. Domuz derisine yapılan 100 µW/cm² şiddetindeki 1920 sn. uygulama, *E. coli* ve *Salmonella seftenberg* yükünde sırasıyla

yaklaşık 1,5 log ve 4 log azalma sağlamıştır. Domuz kasına yapılan 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ şiddetinde 1920 sn. uygulama ise *E. coli* ve *Salmonella seftenberg* yükünde sırasıyla yaklaşık 1,5 ve 2 log azalma sağlanmıştır.

Lyon ve diğ. (2007), UVC ile *L. monocytogenes*'in inaktivasyonunu tavuk göğüs fileto ile çalışmışlardır. 1,000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ şiddette 5 dakika uygulama (0,3 J/cm^2 doza karşılık gelmektedir) sonrası 4 °C'de 24 saat depolanan örneklerin bakteri yükünde yaklaşık 2 log azalma tespit edilmiştir.

Yaun ve diğ. (2004), UVC'nin kırmızı elma, marul yaprağı ve domates yüzeylerine inoküle edilen *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 üzerindeki bakterisidal etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışma yapmışlardır. 24 mW/cm^2 şiddetindeki uygulama sağlanan inaktivasyonun, *E. coli* ile inoküle edilen kırmızı elmaların bakteri yükünde 3,3 log, *Salmonella* ile inoküle edilen domateslerin bakteri yükünde 2,19 log, hem *Salmonella* hem *E. coli* ile inoküle edilen marul yapraklarında sırasıyla 2,65 ve 2,79 log düzeyinde olduğu saptanmıştır.

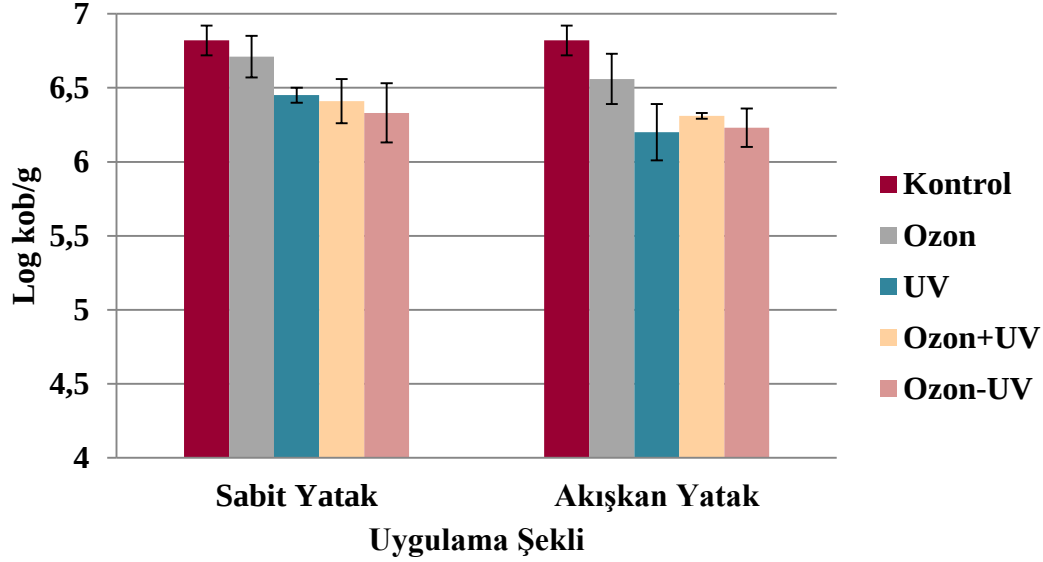
Chun ve diğ. (2010), *L. monocytogenes*, *C. jejuni* ve *S. enterica*'nın Typhimurium serotipiyle, bakteri yükü 6-7 log kob/g olacak şekilde inoküle ettikleri tavuk göğüs etininin UVC uygulaması ile mikrobiyal dekontaminasyonunu çalışmışlardır. 5 kJ/m^2 dozundaki (0,5 J/cm^2) uygulama, *C. jejuni*, *L. monocytogenes* ve *S. Typhimurium* popülasyonunda sırasıyla 1,26, 1,29 ve 1,19 log azalma sağlamıştır.

Kanatlı etlerde inokülasyon yoluyla yapılan çalışmalarda daha düşük UV dozlarında daha etkili sonuçlar alınmıştır. Bunun nedeninin kanatlı etinin (çalışmalarda genellikle göğüs eti kullanılmıştır) ve karabiberin yüzey özelliklerinin birbirinden oldukça farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

1.8 Sabit ve Akışkan Yataklı Uygulamaların İnaktivasyon Etkinliği

Sabit yataklı sistemde uygulanan ozon ve UV uygulamalarının uygulama sürelerini artırmak mikrobiyal dekontaminasyon açısından ön planda olan TMAB yükü açısından fazla bir avantaj sağlamamıştır. Ayrıca, akışkan yataklı sistem tasarımının manuel olarak müdahale gerektirmesi de göz önünde bulundurulduğunda, sabit yataklı kombine uygulamaların ve akışkan yataklı sistemde gerçekleştirilecek uygulamaların (ozon sonrası UV uygulamaları hariç) 1 saat süre ile yapılması kararlaştırılmıştır. Uygulamaların tane karabiberin TMAB ve *E. coli* yükü üzerindeki

etkinliği sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Uygulamaların tane karabiberin TMAB ve *E. coli* yükü üzerindeki etkinliğinin istatistiksel olarak değerdendirilmiş hali EK C'de sırasıyla Çizelge C.1 ve Çizelge C.2'de gösterilmiştir.

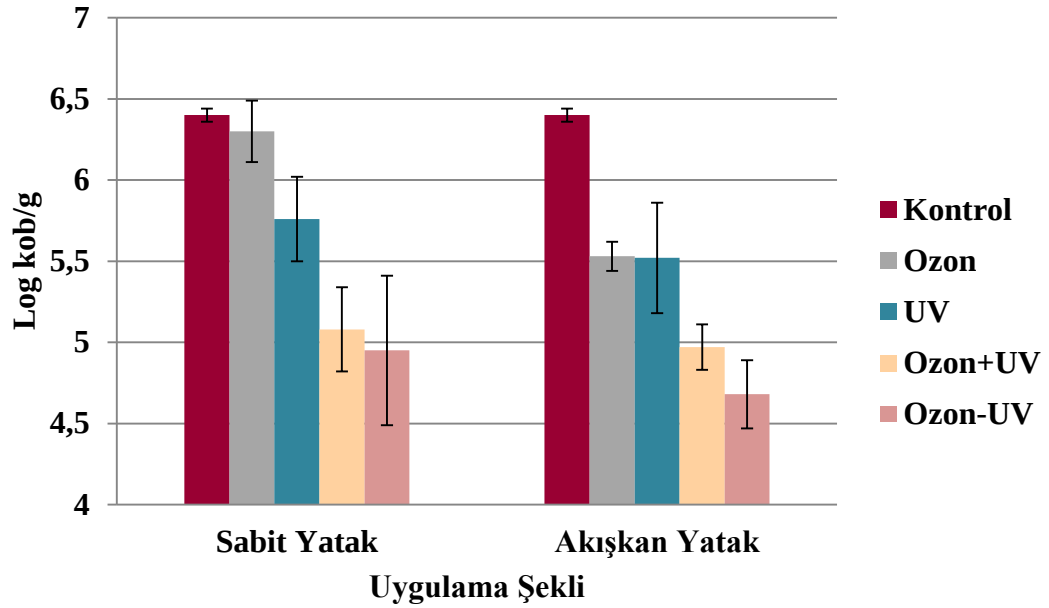


Şekil 4.3 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin TMAB yükü (log kob/g) üzerindeki etkisi.

Sabit yataklı uygulamalardan, TMAB yükünde önemli düzeyde azalma sağlayamamış olan ozon uygulaması, UV ile kombine edildiğinde önemli düzeyde bir inaktivasyon sağlanmışır. Fakat sağlanan bu inaktivasyon düzeyi tek başına UV uygulamasıyla elde edilenden farklı olmadığı için sabit yataklı sistemde yapılan kombine uygulamaların inaktivasyon düzeyini artırıcı etki göstermediği sonucuna varılmışır. Akışkan yataklı sistemde elde edilen inaktivasyon düzeylerinde, her bir uygulamada artış sağlanmış olsa da, bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamışır. Sabit yataklı sistemde olduğu gibi yöntemleri kombine etmenin de sağlanan inaktivasyon düzeyine katkıda bulunmadığı görülmüşür. Yapılan tüm uygulamalar değerdendirildiğinde TMAB yükünde sağlanabilen en fazla inaktivasyon düzeyinin akışkan yataklı sistemde sağlandığı ve 0,62 log olduğu belirlenmişır.

Yapılan bir çalışmada, akışkan yataklı sistem kullanılarak buğdayın mikrobiyal dekontaminasyonu çalışılmışır. Nemi %9,7 düzeyinde olan 400 g buğday, 6 ppm ozon ile 14 dakika muamele edildiğinde, buğdayın TMAB ve küf-maya yükünde önemli düzeyde bir azalma sağlanamadığı bildirilmiştir (Dhillon ve diğ., 2013). Bu çalışmada etkili sonuç alınamamasının, uygulanan ozon konsantrasyonunun ve sürenin yeterli olmayışından kaynaklandığı düşünöldüyse de süre ve

konsantrasyonun artırılmasının TMAB inaktivasyonunda fazla bir artış sağlamadığı görülmüştür.



Şekil 4.4 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin *E. coli* yükü (log kob/g) üzerindeki etkisi.

Sabit yataklı sistemde, *E. coli* yükünde önemli düzeyde inaktivasyon sağlayamayan ozon uygulaması, tek başına 0,64 log inaktivasyon sağlayan UV uygulamasıyla kombine edildiğinde, önemli düzeyde inaktivasyon artışı görülmüştür. 1 saat ozon uygulamasının ardından 1 saat UV uygulaması ile sağlanan inaktivasyon, 0,81 log artarak 1,45 log düzeyine yükselmiştir. Ozon ve UV uygulamalarının toplamda 1 saat eş zamanlı uygulanması ise inaktivasyonu 0,68 log artırarak 1,32 log düzeyine yükseltmiştir. Alınan bu sonuç, Karadağ ve diğ. (2008)'nin UV uygulamasının, ozon ve hidrojen peroksit gibi koruyucu ajanlarla birlikte uygulandığında daha başarılı sonuçlar verebileceği hakkında verdikleri bilgiyi destekleyici niteliktedir. Kombine uygulamaların sağladıkları inaktivasyon açısından eşit etkinlikte olduğu görülmektedir. Akışkan yataklı sistemde, TMAB çalışmalarında olduğu gibi her bir uygulama inaktivasyonda artış sağlasa da, bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Fakat TMAB çalışmalarından farklı olarak, sabit yataklı sistemde önemli düzeyde inaktivasyon sağlayamayan ozon uygulaması, akışkan yataklı sistemde uygulandığı zaman UV ile eşit düzeyde inaktivasyon sağlamıştır. Yapılan tüm uygulamalara bakıldığında tane karabiberin *E. coli* yükünde en fazla inaktivasyonun, akışkan yataklı sistemde ozon uygulamasından sonra UV

uygulaması şeklinde yapılan kombine uygulama ile sağlandığı ve 1,72 log düzeyinde olduğu belirlenmiştir.

Akışkan yataklı sistemde *E.coli* inaktivasyonu amacıyla bu çalışmada uygulanan yöntemlerin kullanıldığı benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Fakat, Fine ve Gervais (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, tasarlanan akışkan yataklı bir sistemde atımlı ışık (PL) uygulamasının *Saccharomyces cerevisiae* üzerindeki inaktivasyon etkinliği değerlendirilmiştir. Uygulamanın etkinliği, *S. cerevisiae* kültürünün inoküle edilip kurutulduğu cam boncuklar ve quartz plaklarda ve de toz karabiber ve buğday ununun doğal florasında değerlendirilmiştir. Cam boncuklara yapılan uygulama (100 atım, 60,88 J/cm², lambaya 110 mm mesafe), mikrobiyal yükü 0,5 log'dan fazla düşürememiştir. Quartz plaklarla yapılan uygulama (24 atım, 58,51 J/cm², lambadan 20 mm mesafede) ise tam inaktivasyon (7 log düşüş) sağlamıştır. Gıda ürünlerine yapılan uygulama (64 atım, 31,12 J/cm², lambaya 20 mm mesafe) ile toplam mikroorganizma yükünde sağlanabilen inaktivasyonun, toz karabiberde %44,5; buğday ununda ise %10,1 gibi düşük düzeylerde olduğu belirtilmiştir.

1.9 Uygulanan Dekontaminasyon Yöntemlerinin Tane Karabiberin Renk Parametreleri Üzerine Etkisi

Sabit yataklı ve akışkan yataklı sistemlerde tane karabiberin TMAB yükünü ve *E. coli* yükünü düşürmek için uygulanan mikrobiyal dekontaminasyon yöntemlerinin, renk parametrelerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.5 : Tane karabiberin doğal florasına uygulanan sabit yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.

Uygulama	Hunter Renk Parametreleri*		
	L	a	b
Kontrol	38,32 a	1,64 a	1,78 a
Ozon	38,56 a	1,89 a	1,92 a
UV	38,49 a	2,07 a	1,85 a
Ozon→UV	38,91 a	1,91 a	2,32 a
Ozon+UV	38,48 a	1,97 a	2,38 a

* Değerler, 9 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda aynı harfi alan ortalamalar birbirinden farklı değildir (p>0,05).

Çizelge 4.6 : Tane karabiberin doğal florasına uygulanan akışkan yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.

Uygulama	Hunter Renk Parametreleri*		
	L	a	b
Kontrol	38,32 a	1,64 a	1,78 a
Ozon	39,02 a	1,89 a	2,04 a
UV	38,33 a	1,59 a	1,44 a
Ozon→UV	37,91 a	1,90 a	1,60 a
Ozon+UV	38,07 a	2,00 a	1,46 a

* Değerler, 9 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda aynı harfi alan ortalamalar birbirinden farklı değildir (p>0,05).

Çizelge 4.7 : *E.coli* inoküle edilmiş tane karabibere uygulanan sabit yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.

Uygulama	Hunter Renk Parametreleri*		
	L	a	b
Kontrol	37,12 a	1,87 a	0,96 a
Ozon	37,06 a	1,97 a	1,00 a
UV	38,10 a	2,17 a	1,96 a
Ozon→UV	37,41 a	2,10 a	1,59 a
Ozon+UV	37,67 a	2,05 a	1,40 a

* Değerler, 9 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda aynı harfi alan ortalamalar birbirinden farklı değildir (p>0,05).

Çizelge 4.8 : *E.coli* inoküle edilmiş tane karabibere uygulanan akışkan yataklı dekontaminasyon yöntemlerinin L, a, b değerlerine etkisi.

Uygulama	Hunter Renk Parametreleri*		
	L	a	b
Kontrol	37,12 a	1,87 a	0,96 a
Ozon	37,5 a	2,03 a	1,49 a
UV	38,01 a	2,02 a	1,98 a
Ozon→UV	38,33 a	1,95 a	1,79 a
Ozon+UV	37,80 a	2,29 a	1,95 a

* Değerler, 9 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda aynı harfi alan ortalamalar birbirinden farklı değildir (p>0,05).

Yapılan çalışmalarda, ozon ve UV uygulamalarının renk parametreleri üzerine olan etkisi, uygulama yapılan ürün, uygulama dozu, vb. özelliklere göre farklılık göstermektedir. Bialka ve Demirci (2007a; 2007b), ozon uygulamasının yaban mersininde hafif koyulaşmaya neden olduğunu; ahududu ve çilek meylerinde ise önemli bir etkisinin görülmediğini bildirmiştir. Allende ve diğ. (2006), 7,11 kJm⁻²

dozda UV ile muamele gören kırmızı meşe yapraklarında 7 gün depolamanın ardından kahverengileşme görüldüğünü tespit etmiştir. Erdoğan ve Ekiz (2011; 2013), UV'nin termal olmayan bir yöntem olduğu için kimyon tohumunun ve tane karabiberin renginde önemli değişikliğe neden olmadığını bildirmiştir. Tavuk göğüs eti ve tavuk karkaslarına yapılan UV uygulamalarının, ürünlerin rengi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Wallner-Pendleton ve diğ., 1994, Chun ve diğ., 2004).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında ozon ve UV ışınlarının tane karabiberin mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla kullanım potansiyelleri, tasarlanan sabit ve akışkan yataklı sistemlerle araştırılmıştır. Öncelikle sabit yataklı sistemde ozon ve UV uygulamalarının etkinliği değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda sabit ve akışkan yataklı sistemde uygulamalar ayrı ayrı ve kombine şekilde çalışılmıştır.

Sabit yataklı ozon sisteminde, TMAB yükünde önemli bir azalma (yaklaşık 1 log) sağlayabilmek için örneğin su aktivitesinin artırılması ya da yüksek konsantrasyonda uzun süre (25 pm 3 saat) uygulama yapılması gerektiği görülmüştür. Sabit yataklı UV uygulaması ile de TMAB yükünde önemli düzeyde inaktivasyon sağlamak için 2 saat muamele gerektiği görülmüştür. Daha düşük ozon konsantrasyonunda daha kısa sürede daha fazla inaktivasyon sağlayabilmek için sabit yataklı kombine yöntemler denenmiştir, sabit yataklı sistemin etkinliğini artıracağı düşünüldüğünden bu yöntemler ayrıca akışkan yataklı sistemde de çalışılmıştır.

Sabit yataklı sistemde ozon uygulaması (15 ppm 1 saat), TMAB yükünde önemli bir azalma sağlamazken, UV uygulaması (5,5 mW/m² şiddetinde 1 saat) 0,37 log azalma sağlamıştır. İnaktivasyonu artırmak için uygulanan kombine yöntemlerin (1 saat ozon uygulamasının ardından 1 saat UV uygulaması ve iki uygulamanın toplamda 1 saat eş zamanlı uygulaması) mikrobiyal yükte ilave bir düşüş sağlayamadığı görülmüştür. *E. coli* yükünü düşürmek için yapılan uygulamada ise etkisiz kalan ozon uygulaması, tek başına 0,64 log inaktivasyon sağlayan UV uygulaması ile kombine edildiğinde yaklaşık 1,5 log inaktivasyon sağlanmıştır.

Akışkan yataklı sistemde uygulanan işlemler hem TMAB hem *E. coli* yükünde sağlanan inaktivasyonu artırmış olsa da, akışkan yataklı ozon uygulamasının *E. coli* inoküle edilen karabiberdeki uygulamasında elde edilen 0,77 log kob/g düzeyindeki artış hariç, istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Akışkan yataklı sistemde toplam bakteri yükünde sağlanan en fazla inaktivasyon 0,62 log kob/g olarak belirlenmiş ve yapılan kombine uygulamalar bu inaktivasyon düzeyini artırıcı etki

göstermemiştir. *E. coli* yükünde ise kombine uygulamalar inaktivasyon etkinliğini artırmış, sağlanan en fazla inaktivasyon ise 1,72 log kob/g olarak belirlenmiştir. Yapılan tüm uygulamaların tane karabiberin renginde önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir.

Gıda partiküllerinin/parçacıklarının oluşturduğu bir yatağın alt kısmından yukarı doğru akmakta olan bir akışkanın (hava/hava+ozon) etkisiyle, partiküllerin/parçacıkların akışkan gibi hareket etmesinin sağlanacağı akışkan yataklı sistemin, ürün ile akışkan (hava+ozon) arasındaki teması artıracağından ve UV ışınlarının ürünün her tarafına ulaşmasını sağlayacağından mikrobiyal dekontaminasyonda avantaj sağlayabileceği düşünüldüyse de yapılan çalışmalarda beklenen etki görülmemiştir. Uygulamalar sonrasında TMAB ve *E. coli* yükünde sağlanan inaktivasyon düzeyleri, istatistiksel açıdan önemli bulunsa da ticari açıdan bakıldığında uygulanabilirlik açısından önemsenecek düzeye erişememiştir.

Yapılan tüm dekontaminasyon uygulamalarında *E.coli* yükünde sağlanan artışın daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, Gram (-) bakterilerin gerek UV'ye gerekse ozona, karabiberin doğal florasında bulunan *Bacillus*, *Clostridium* cinsi gibi Gram (+) ve sporlu bakterilerden daha fazla hassasiyet göstermiş olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca karabiberin doğal florasında bulunan bakterilerin biyofilm oluşturarak yüzeye çok daha iyi tutunmalarının da söz konusu olabileceği düşünülmüştür.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde akışkan yataklı ozon ve UV sisteminin, tane karabiber için ticari olarak uygulanabilecek performansı gösteremediği görülmüştür. Tane karabiberin yüzey özelliklerinin özellikle UV uygulaması açısından önemi göz önünde bulundurularak, mevcut sistemle toz veya pul şeklindeki baharatın muamele edilmesinin daha etkin sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. Ayrıca, mevcut UV lambaları, atımlı (pulsed) UV lambaları ile değiştirilerek mikrobiyal inaktivasyon etkinliği artırılabilir. Baharat üretiminde kontaminasyonun kontrolü amacıyla göz önünde bulundurulması gereken en önemli husus, İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Tarım Uygulamaları (GAP)'nın adaptasyonuna, baharat üretiminin tüm aşamalarını kapsayan HACCP sisteminin uygulanmasına önem verilmesidir. Bu sayede sağlanması gereken mikrobiyal inaktivasyon düzeyi azalacağından alternatif yöntemlerin uygulanabilirliği de artacaktır.

KAYNAKLAR

- Abbas, S.M.N. ve Halkman, K.** (2003). Baharat Mikroflorası Üzerine Isınlamanın Etkisi. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(1): 43-65. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030304.pdf.
- A.D.A.** (2000). Position of the American Dietetic Association: Food Irradiation. ADA Reports. February 2000. 100, 246-252.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B.H., Farooq, S., Ali, M., Khan, M.A.** (2012). Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1945-1953.
- Akbaş, M.Y. ve Özdemir, M.** (2006). Effectiveness of ozone for inactivation of *E. coli* and *B. cereus* in pistachios. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 41, 513–519.
- Akbaş, M.Y. ve Özdemir, M.** (2008a). Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. *Food Microbiology*, 25, 386–391.
- Akbaş, M. Y. ve Özdemir, M.** (2008b). Effect of gaseous ozone on microbial inactivation and sensory of flaked red peppers. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1657–1662.
- Akgül, A.** (1993). Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Dergisi Yayınları, No:15, Ankara.
- Alam Khan, K. ve Abraham, M.** (2010). Effect of irradiation on quality of spices. *International Food Research Journal*, 17: 825-836.
- Alexandre, E.M.C., Brandão, T.R.S., Silva, C.L.M.** (2012). Emerging Technologies to Improve the Safety and Quality of Fruits and Vegetables. Novel Technologies in Food Science: Their Impact on Products, Consumer Trends and the Environment. McElhatton, A., Sobral, P. J. A. (eds.), Ch 12, 261-268.
- Al-Haddad, K.S.H., Al-Qassemi, R.A.S., Robinson, R.K.** (2005). The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. *Food Control*, 16, 405–410.
- Allende, A., McEvoy, J.L., Luo, Y., Artes, F., Wang, C.Y.** (2006). Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed ‘Red Oak Leaf’ lettuce. *Food Microbiology*, 23, 241–249.

- Alzamora, S.J., Welte-Chanes, J., Guerrero, S.N., Gómez, P.L.** (2012). Rational Use of Novel Technologies: A Comparative Analysis of the Performance of Several New Food Preservation Technologies for Microbial Inactivation. *Novel Technologies in Food Science: Their Impact on Products, Consumer Trends and the Environment*. McElhatton, A., Sobral, P. J. A. (eds.), Ch 11, 235-260.
- Anderson, J. G., Rowan, N. J., MacGregor, S. J., Fouracre, R. A., & Farish, O.** (2000). Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using pulsed-light. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 28, 83-88.
- Anık, A.** (2007). İklimlendirme Sistemlerinde Ozon Kullanımının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Makine Eğitimi Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi, 102 s, Ankara.
- Anonim.** (1999). Türk Gıda Kodeksi, Gıda İşinlama Yönetmeliği. 06.11.1999-23868.
- Anonim.** (2013). Türk Gıda Kodeksi, Baharat Tebliği. Tebliğ No: 2013/12.
- Aydemir Atasever, M. ve Atasever, M.** (2007). İşinlamanın Gıda Teknolojisinde Kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2 (3) 107-116.
- Aydın, A.** (2001). Toz Karabiberde Mikrodalga Yöntemi ile Mikrobiyel Dekontaminasyon Üzerine Bir Çalışma. Doktora Tezi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, 83 s, İstanbul.
- Barlett, D., Faulkner, C.S., Cook, K.** (1974). Effect of chronic ozone exposure on lung elasticity in young rats. *J. Appl. Phys.* 37, 92–96.
- Başoğlu, F.** (1982). Gıdalarda kullanılan bazı baharatların mikroorganizmalar üzerine etkileri ve kontaminasyondaki rolleri. *GIDA*, 1: 20-24.
- Beuchat, L.R. ve Scouten, A.J.** (2002). Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 382-395.
- Bialka, K. L., Demirci, A.** (2007a). Utilization of Gaseous Ozone for the Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Raspberries and Strawberries. *Journal of Food Protection*, Vol. 70, No. 5, 1093–1098.
- Bialka, K.L., Demirci, A.** (2007b). Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on Blueberries Using Ozone and Pulsed UV-Light. *Journal of Food Science*, Vol. 72, Nr. 9, 391-396.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R. K.** (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 637-645.
- Butz, P, Heinisch, O, Tauscher, B.** (1994): Hydrostatic high pressure applied to food sterilization III: Application to spices and spice mixtures, *High Pressure Research: An International Journal*, 12:4-6, 239-243.

- Calvo, L. ve Torres, E.** (2010). Microbial inactivation of paprika using high-pressure CO₂. *J. of Supercritical Fluids*, 52, 134–141.
- Castro, M.F.P.M., Rezende, A.C.B., Benato, E.A., Valentini, S.R.T., Furlani, R.P.Z., Tfouni, S.A.V.** (2011). Studies on the Effects of Phosphine on *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis in Culture Medium and in Black Pepper (*Piper nigrum*). *Journal of Food Protection*, Vol.74, No.4, 665–671.
- CDC.** (2010). Investigation update: multistate outbreak of human *Salmonella* Montevideo infections. <http://www.cdc.gov/salmonella/montevideo/index.html>.
- Chun, H.H., Kim, J.Y., Lee, B.D., Yu, D.J., Song, K.B.** (2010). Effect of UV-C irradiation on the inactivation of inoculated pathogens and quality of chicken breasts during storage. *Food Control*, 21, 3, 276-280.
- Çatal, H. ve İbanoğlu, Ş.** (2010). Gıdaların Ozonlanması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt: 5, No: 3, 47-55.
- Dababneh, B. F.** (2013). An innovative microwave process for microbial decontamination of spices and herbs. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 7(8), 636-645.
- Dalby, A.** (2000). Tehlikeli Tatlar, Tarih Boyunca Baharat. Çeviren: Nazlı PİŞKİN. Kitap Yayınevi (2004), İstanbul.
- Dhillon, B., Wiesenborn, D., Dhillon, H., Wolf-Hall, C.** (2010). Development and Evaluation of a Fluidized Bed System for Wheat Grain Disinfection. *Journal of Food Science*, Vol. 75, Nr. 6.
- Dibben, D.** (2001). Electromagnetics: Fundamental Aspects and Numerical Modeling. In: Handbook of Microwave Technology for Food Applications, A.K. Data and R.C. Anantheswaran (Editors), Marcel Dekker, pp. 1-30, New York.
- Diehl JF.** (1995). Safety of Irradiated Foods. New York, NY: Marcel Dekker.
- Ekici, L., Sağdıç, O., Kesmen, Z.** (2006). Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan: Ozon. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 47-57.
- El-Hamss, R., Idaomar, M., Alonso-Moraga, A., Munoz-Serra, A.** (2003). Antimutagenic properties of bell and black peppers. *Food Chem Toxicol* 41: 41-47.
- Emam, O. A., Farag, S. A., Aziz, N. H.** (1995). Comparative effects of gamma and microwave irradiation on the quality of black pepper. *Z. Lebensm. Unters. For.*, 201 (6): 557-561.
- Emer, Z.** (2005). Tane ve Toz karabiber Üzerine Ozonun Dekontaminasyon Yöntemi Olarak Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze İleri teknoloji Enstitüsü, Kocaeli.
- Erdoğan, S.B. ve Ekiz, H.İ.** (2011). Effect of Ultraviolet and Far Infrared Radiation on Microbial Decontamination and Quality of Cumin Seeds. *Journal of Food Science*, Vol.76, Nr.5, 284-292.

- Erdoğan, S.B. ve Ekiz, H.İ.** (2013). Far infrared and ultraviolet radiation as a combined method for surface pasteurization of black pepper seeds. *Journal of Food Engineering*, 116, 310–314.
- European Commission (EC).** (2004). Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. Off. J. Eur. Union L139, 1–54.
- Fine, F. Ve Gervais, P.** (2004). Efficiency of pulsed UV light for microbial decontamination of food powders. *J Food Prot*, 67:787–92.
- Fito, P., Chiralt, A. and Martin, M.E.** (2005). Current State of Microwave Applications to Food Processing. In: Novel Food Processing Technology, G.V. Barbosa-Canovas, M.S. Tapia and M.P. Cano (Editors), CRC Press, pp. 525-538, Boca Raton.
- Gallagher, M.K., Vaze, N., Gangoli, S., Vasilets, V.N., Gutsol, A.F., Milovanova, T.N.** (2007). Rapid inactivation of airborne bacteria using atmospheric pressure dielectric barrier grating discharge. *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 35, 1501-1510.
- Garcia-Gonzalez, L., Geeraerd, A. H., Spilimbergo, S., Elst, K., Van Ginneken, L., Debevere, J., Van Impe, J.F., Devlieghere, F.** (2007). High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 1–28.
- Gardner, D. W. M. ve Shama, G.** (2000). Modeling UV-induced inactivation of microorganisms on surfaces. *Journal of Food Protection*, 63, 63-70.
- Gezgin, Z. ve Güneş, G.** 2003. Gıdaların gama ışınları ile muhafazası, *Gıda*. Aralık: 82-87.
- Gomez-Lopez, V. M., Devlieghere, F., Bonduelle, V., Debevere, J.** (2005). Factors affecting the inactivation of microorganisms by intense light pulses. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 460-470.
- Gomez-Lopez, V. M., Ragaert, P., Debevere, J., Devlieghere, F.** (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 464-473.
- Goulash, A.E., Riganakos, K.A. and Konotminas, M.G.** (2004). Effect of ionizing radiation on physicochemical and mechanical properties of commercial monolayer and multilayer semirigid plastic packaging materials. *Radiation physics and chemistry*, 69: 411-417.
- Graham, D. M.** (2000). Direct food additive petition (Ozone as an antimicrobial agent for the treatment, storage, and processing of foods in gas and aqueous phases. Submitted to FDA on 2 August, 2000; approved June 2001.
- Güleç, H. A.** (2012). Gıda Endüstrisinde Isıl Olmayan Plazma Teknolojileri. *Gıda*, 37 (5): 295-302.
- Güneş, G., Blum, L.K., Hotchkiss, J.H.** (2005). Inactivation of yeasts in grape juice using a continuous dense phase carbon dioxide processing system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2362–2368.

- Güven, K.** (2009). Baharatlarda Muhafaza Yöntemleri, Gıda Muhafaza. TC. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 1948, Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 102, 201-202.
- Güzel-Seydim, Z.B., Grene, A.K., Seydim, A.C.** (2004a). Use of ozone in the food industry. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37, 453-460.
- Güzel-Seydim, Z., Bever Jr., P. I., Greene, A. K.** (2004b). Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, 21 (2004) 475–479.
- Hidaka, Y. ve Kubota, K.** (2006). Study on the Sterilization of Grain Surface Using UV Radiation-Development and Evaluation of UV Irradiation Equipment.
- Hong, S.I., Pyun, Y.R.** (1999). Inactivation kinetics of *Lactobacillus plantarum* by high pressure carbon dioxide. *Journal of Food Science*, 64, 728–733.
- Hoof, F.V.** (1982). Professional risks associated with ozone. In: Masschelein, W.J. (Ed.), *Ozonation Manual for Water and Waste-water Treatment*. John Wiley & Sons, New York, pp. 200–201.
- Hsu, L. ve Moraru, C. I.** (2011). Quantifying and mapping the spatial distribution of fluency inside a pulsed light treatment chamber and various liquid substrates. *Journal of Food Engineering*, 103, 84-91.
- Jayalekshmy, A., Menon, A.N., Padmakumari, K.P.** (2003). Essential oil composition of four major cultivars of black pepper (*Piper nigrum* L.). *J. Essential Oil Res*, 15: 155-157.
- Kaletunç, G.** (2009). Gıda Endüstrisinde Alışılmamış Yöntemler. *Bilim ve Teknik*, Eylül 2009.
- Karadağ, A, Yolcu Ömeroğlu, P., Saner, S.** (2008). Gıda muhafazasında yeni teknolojilerin kullanımı. <http://www.ggd.org.tr/icerik.php?id=168>.
- Kim, J.G., Yousef, A.E. and Dave, S.** (1999). Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection*, 62(9), 1071-1087.
- Kim, J. G., Yousef, A. E., Khadre, M. A.** (2003). Ozone and its current and future application in the food industry, *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol 45, 167-218.
- Kim, T., Silva, J., and Chen, T.** (2002). Effects of UV irradiation on selected pathogens in peptone water and on stainless steel and chicken meat. *J. Food Protect.*, 65 (7): 1142-1145.
- Kim, S-Y., Sagong, H-G., Choi, S.H., Ryu, S., Kang, D-H.** (2012). Radio-frequency heating to inactivate *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 on black and red pepper spice. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 171–175.
- Kim, J.E., Lee, D-U., Min, S.C.** (2014). Microbial decontamination of red pepper powder by cold plasma. *Food Microbiology*, 38, 128-136.
- Konak, Ü.İ., Certel, M., Helhel, S.** (2009). Gıda Sanayisinde Mikrodalga Uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3), 20-31.

- Koutchma, T.** (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food Bioprocess Technol.*, 2: 138-155.
- Krishnamurthy K, Khurana SJ, Irudayaraj J, Demirci A.** (2008). Infrared Heating in Food Processing: An Overview. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 7: 2-13.
- Kuşçu, A. ve Pazır, F.** (2004). Gıda endüstrisinde ozon uygulamaları. *Gıda*, 29 (2), 123-129.
- Lacroix, M, Marcotte, M, Ramaswamy, H.S.** (2003). Irradiation of Fruits, Vegetables, Nuts and Spices, Chp. 22, Handbook of Postharvest Technology Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices. Edited by Hosahalli S. Ramaswamy, G. S. Vijaya Raghavan, Amalendu Chakraverty, and Arun S. Mujumdar, Pages 623–652.
- Lacroix, M. ve Ouattara B.** (2000). Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products — a review. *Food Research International*, 33, 719-724.
- Lee, J.H., Sung, T.H., Lee, K.T., Kim, M. R.** (2004). Effect of Gamma-irradiation on Color, Pungency, and Volatiles of Korean Red Pepper Powder. *Journal of Food Science*, Vol. 69, Nr. 8, 585-592.
- Lehmacher, A., Bockemühl, J., & Aleksic, S.** (1995). Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. *Epidemiology and Infection*, 115, 501-511.
- Li, M., Peng, J., Zhu, K.X., Guo, X.N., Zhang, M., Peng, W., Zhou, H.M.** (2013). Delineating the microbial and physical–chemical changes during storage of ozone treated wheat flour. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 223–229.
- Lilie, M.; Hein, S.; Wilhelm, P.; Mueller, U.** (2007). Decontamination of spices by combining mechanical and thermal effects—An alternative approach for quality retention. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 42, 190–193.
- Lin, H.-M., Yang, Z.Y., Chen, L.-F.** (1993). Inactivation of *Leuconostoc dextranicum* with carbon dioxide under pressure. *Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal*, 52, B29–B34.
- Lin, H.-M., Cao, N.J., Chen, L.-F.** (1994). Antimicrobial effect of pressurized carbon dioxide on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Science*, 59, 657–659.
- Lyon, S.A., Fletcher, D.L., Berrang, M.E.** (2007). Germicidal ultraviolet light to lower numbers of *Listeria monocytogenes* on broiler breast fillets. *Poultry Sci.*, 86: 964–967.
- Marcotte, M.** (2001). Effect of irradiation on spices, herbs and seasoning—comparison with ethylene oxide fumigation. <http://www.food-irradiation.com/spices.html>.
- Marra, F, Zhang, L, Lyng, J. G.** (2009). Radio frequency treatment of foods: Review of recent advances. *Journal of Food Engineering*, 91, 497–508.

- McKnee, L.H. (1995).** Microbial contamination of spices and herbs: a review. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 1–11.
- Mitsuda, H., Ominami, H., and Yamamoto, A. (1990).** Synergistic effects of ozone and carbon dioxide gases for sterilizing food. *Proc. Japan. Acad.*, 66, 68-72.
- McDonough, M.X., Campabadal, C.A., Mason, L.J., Maier, D.E., Denvir, A., Woloshuk, C. (2011).** Ozone application in a modified screw conveyor to treat grain for insect pests, fungal contaminants, and mycotoxins. *Journal of Stored Products Research*, 47, 249-254.
- Murthy, C. T., Bhattacharya, S. (1998).** Moisture Dependant Physical and Uniaxial Compression Properties of Black Pepper. *Journal of Food Engineeting*, 37, 193-205.
- Nicorescu, I, Nguyen, B, Moreau-Ferret, M, Agoulon, A, Chevalier, S, Orange, N. (2013).** PL inactivation of *Bacillus subtilis* vegetative cells in spices. *Food Control*, 31,151-157.
- Orman, S. (2005).** Sterilizasyon Yöntemlerinin Baharatların AntioksidanAktiviteleri ve Renk Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gıda Bilimleri, Fen Bilimleri Enstitüsü, Celal Bayar Üniversitesi, 80 s, Manisa.
- Otaki, M., Okuda, A., Tajima, K., Iwasaki, T., Kinoshita, S., Ohgaki, S. (2003).** Inactivation differences of microorganisms by low pressure UV and pulsed xenon lamps. *Water Science and Technology*, 47, 185-190.
- Ova, G. (2001).** Gıda Katkı Maddeleri (Edit: Altug, T.). Koruyucular. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Meta Basım, İzmir, 107-142.
- Özcan, D. ve Obuz, E. (2006).** Yüksek Basınç Uygulamasının Gıda Endüstrisinde Kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Özkütük, N. (2007).** Ultraviyole Lambalarının Kullanımı. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, s 490-496.
- Parganiha, R., Verm, S., Chandrakar, S., Pal, S., Sawarkar, H.A., Kashyap, P. (2011).** In vitro anti- asthmatic activity of fruit extract of *Piper nigrum* (Piperaceae). *Inter.J Herbal Drug Res*, 1:15-18.
- Parmar, V.S., Jain, S.C., Bisht, K.S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O.D. (1997).** Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46: 597-673.
- Prabhakaran Nair, K.P. (2011).** The Agronomy and Economy of Black Pepper (*Piper nigrum* L.)—The “King of Spices”. Agronomy and Economy of Black Pepper and Cardamom-The King and Queen of Spices, Elsevier Inc., s 1–108, DOI: 10.1016/B978-0-12-391865-9.00001-3.
- Reshmi, S.K., Sathya, E., Devi, P.S. (2010).** Isolation of piperdine from *Piper nigrum* and its antiproliferative activity. *African. J. Pharma. Pharmacol*, 4: 562-573.

- Rico, C.W., Kim, G.-R., Ahn, J.-J., Kim, H.-K., Furuta, M., Kwon, J.-H.** (2010). The comparative effect of steaming and irradiation on the physicochemical and microbiological properties of dried red pepper (*Capsicum annum* L.). *Food Chemistry* 119, 1012–1016.
- Risch, S. J.** (1997). Spices. Sources, processing, and chemistry. ACS Symposium Series: Vol. 660 (pp. 2-6).
- Sağdıç, O, Ekici, L, Yetim, H.** (2008). Gıdaların Muhafazasında Yeni Mikrobiyal İnaktivasyon Metotları. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Sawai J, Sagara K, Igarashi H, Hashimoto A, Kokugan T, Shimizu M.** (1995). Injury of *Escherichia coli* in physiological phosphate buffered saline induced by far-infrared irradiation. *J Chem Eng Japan*, 28: 294-299.
- Schenk, M., Raffellini, S., Guerrero, S., Blanco, G.A., Alzamora, S.M.** (2011). Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* by UV-C light: Study of cell injury by flow cytometry. *Food Science and Technology*, 44, 191-198.
- Schneider, B.** (1993). Steam sterilization of spices. *Fleischwirtschaft*, 73, 646-648.
- Schweiggert, U, Carle, R, Schieber, A.** (2007). Conventional and alternative processes for spice production - a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 260-268.
- Scott, I.M., Gagnon, N., Lesage, L., Philogene, B.J., Arnason, J.T.** (2005). Efficacy of botanical insecticides from *Piper* species (Piperaceae) extracts for control of European chafer (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Econ. Entomol*, 98: 845-855.
- Sepulveda D.R., Barbosa-Canovas G.V.** (2003). Heat transfer in food products. In: *Transport phenomena in food processing*, Chanes JW, Velez-Ruiz JF, Barbosa-Canovas GV (eds), Food Preservation Technology Series, CRC Press, Florida, USA, 42 p.
- Setlow, P.** (1992). I will survive: protecting and repairing spore DNA. *Journal of Bacteriology*, 174, 2737-2741.
- Sevilgen, Ö.** (2009). Ozon, Klor Ve Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Pazıda Klorofil Miktarı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, 85 s, Ankara.
- Sharma, G.** (2007). UV disinfection in the food industry. *Controlled Environments Mag.* <http://www.cemag.us/articles.asp?pid=668>.
- Sivaraman, K., Kandiannan, K., Peter, K. V., Thankamani, C. K.** (1999). Agronomy of black pepper (*Piper nigrum* L.) -a review. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 8 (1): 1-18.
- Spilimbergo, S., Dehghani, F., Bertucco, A., Foster, N.R.** (2003). Inactivation of bacteria and spores by pulse electric field and high pressure CO₂ at low temperature. *Biotechnology and Bioengineering*, 82, 118–125.
- Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S.** (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 31, 572-585.

- Staack, N., Ahrne, L., Borch, E., Knorr, D.** (2008). Effects of temperature, pH, and controlled water activity on inactivation of spores of *Bacillus cereus* in paprika powder by near-IR radiation. *Journal of Food Engineering*, 89, 319–324.
- Sunila, E.S., Kuttan, G.** (2004). Immunomodulatory and Antitumor activity of *Piper longum* Linn. and Piperine. *J. Ethnopharmacol*, 90: 339-346.
- Tahiri, I., Makhoul, J., Paquin, P., Fliss, I.** (2006). Inactivation of food spoilage bacteria and *Escherichia coli* O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure. *Food Research International*, 39, 98–105.
- Takeshita, K., Shibato, J., Sameshima, T., Fukunaga, S., Isobe, S., Arihara, K., Itoh, M.** (2003). Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 151-158.
- Tateo, F. ve Bononi, M.** (2006). Determination of ethylene chlorohydrin as marker of spices fumigation with ethylene oxide. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 83–87.
- Torlak, E., Sert, D., Ulca, P.** (2013). Efficacy of gaseous ozone against *Salmonella* and microbial population on dried oregano. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 276–280.
- Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği** (Tebliğ No: 2013/12).
- Uslu, M. K., Certel, M.** (2006). Dielektrik Isıtma ve Gıda İşlemede Kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 61-69. www.teknolojikarastirmalar.org ISSN: 1306-7648.
- Uysal-Pala, Ç., Kırca-Toklucu, A.** (2010). Ultraviyole Işın (UV) Teknolojisinin Meyve Sularına Uygulanması. *Akademik Gıda*, 8 (1), 17-22.
- Ünal, R., Kim, J.G., and Yousef, A. E.** (2001). Inactivation of *Escherichia coli* O 157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Lactobacillus leichmannii* by combinations of ozone and pulsed electric field. *J. Food Protect.*, 64, 777-782.
- Vural, A, Arserim Kaya, N.B., Mete, M.** (2004). Bazı Öğütülmüş Baharatlarda Küf ve Maya Florasının İncelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, Cilt:31, Sayı:3, (15-19).
- Waje, C.K., Kim, H.K., Kim, K.S., Todoriki, S., Kwon, J.H.** (2008). Physicochemical and microbiological qualities of steamed and irradiated ground black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4592–4596.
- Wallner-Pendleton, E.A., Sumner, S.S., Froning, G., and Stetson, L.** (1994). The use of ultraviolet radiation to reduce *Salmonella* and psychrotrophic bacterial contamination on poultry carcasses. *Poul. Sci.* 73: 1327-1333.
- Wong, E., Linton, R., and Gerrard, D.** (1998). Reduction of *Escherichia coli* and *Salmonella senftenberg* on pork skin and pork muscle using ultraviolet light. *Food Microbiol.*, 15: 415-423.

- Woodling, S.E. ve Moraru, C.I.** (2006). Effect of spectral range in surface inactivation of *Listeria innocua* using broad-spectrum pulsed light. *Journal of Protection*, 70, 909-916.
- Wu, J., Doan, H., Cuenca, M. A.** (2006). Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. *J Chem Technol Biotechnol*, 81, 1288–1293.
- Xu, L.** (1999). Use of Ozone to Improve the Safety of Fresh Fruits and Vegetables. *Food Technology*, 53 (10): 58-63.
- Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D., Marcy, J.E.** (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 1-8.
- Zhao, J., Cranston, P.M.** (1995). Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *J.Sci.FoodAgric.* 68:11–18.
- Zorlugenç, B., Zorlugenç, F.K., Öztekin, S., Evliya, I.B.** (2008). The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3593–3597.

EKLER

EK A : Dekontaminasyon İşlemleri için Yapılan Kontrollerin Değerleri.

EK B : Tane Karabibere İnoküle Edilen *E.coli* (ATCC 25922)'nin Nisbi Neme Bağlı Olarak Yaşayabilirliğinin Tespiti.

EK C : Tane Karabibere Uygulanan Farklı Dekontaminasyon Yöntemlerinin TMAB ve *E. coli* Yüğü (Log kob/g) Üzerindeki Etkisi.

EK A

Çizelge A.1 : Dekontaminasyon yöntemlerinde tane karabiberin TMAB yükü için tüm kontrollerinin değerleri.

Uygulama Şekli	Kontrol	Kontrolün Yapılış Şekli	TMAB Yükü (log kob/g)*
Sabit Yatak	Ozon	Kuru Nemli 1 saat ve 3 saat hava üfleme	6,75 a
			6,91 a
	UV	30, 60, 120 dakika 35°C’de bekletme	6,80 a
	Ozon→UV	1 saat hava üfleme→ 1 saat 35°C’de bekletme	6,70 a
Akışkan Yatak	Ozon, UV, Ozon+UV	1 saat hava üfleme	6,81 a
	Ozon→UV	2 saat hava üfleme	6,97 a

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda aynı harfi (a) alan ortalamalar birbirinden farklı değildir (p>0,05).

Çizelge A.2 : Dekontaminasyon yöntemlerinde *E.coli* inoküle edilen tane karabiberin kontrol değerleri.

Uygulama Şekli	Kontrol	Kontrolün Yapılış Şekli	<i>E. coli</i> Yükü (log kob/g)*
Sabit Yatak	Ozon	Kuru Nemli 1 saat ve 3 saat hava üfleme	6,42 a
			6,42 a
	UV	1 saat 35°C’de bekletme	6,42 a
	Ozon→UV	1 saat hava üfleme→ 1 saat 35°C’de bekletme	6,42 a
Akışkan Yatak	Ozon, UV, Ozon+UV	1 saat hava üfleme	6,39 a
	Ozon→UV	2 saat hava üfleme	6,31 a

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı sütunda aynı harfi (a) alan ortalamalar birbirinden farklı değildir (p>0,05).

EK B :**Çizelge B.1 :** Tane karabibere inoküle edilen *E.coli* (ATCC 25922)'nin nisbi neme bağlı olarak yaşayabilirliği*.

Nisbi Nem (%)	Depolama Süresi (Gün)	<i>E.coli</i> Yüğü (Log Kob/g)	a_w
45	0	7,21 a	0,927 a
	1	4,72 b	0,500 b
	2	3,69 c	0,500 b
	3	3,31 c	0,479 bc
	4	2,52 d	0,454 cd
	5	2,39 de	0,444 cd
	6	2,09 def	0,451 cd
	7	1,93 efg	0,440 cd
	8	1,70 fg	0,445 cd
	9	1,47 g	0,440 cd
	10	<1 h	0,438 d
90	0	7,28 a	0,934 a
	1	7,52 a	0,933 a
	2	7,80 a	0,933 a
	3	7,79 a	0,930 b
	6	7,75 a	0,912 c
	9	7,82 a	0,915 bc
	12	7,49 a	0,890 de
	15	7,33 a	0,858 ef
	20	7,47 a	0,883 ef
	30	7,52 a	0,900 cd

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı satırlarda (a, b, c) ve aynı sütunlarda (x, y) farklı harf alan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,05).

EK C :

Çizelge C.1 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin TMAB yükü (log kob/g) * üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

Uygulama Şekli	Kontrol	Ozon (1saat 15ppm)	UV ^a	Ozon→UV ^β	Ozon+UV ^γ
Sabit	6,82 a,x	6,71 ab,x	6,45 bc,x	6,33 bc,x	6,41 c,x
Akışkan	6,82 a,x	6,56 ab,x	6,20 c,x	6,23 c,x	6,31 bc,x

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı satırlarda (a, b, c) ve aynı sütunlarda (x, y) farklı harf alan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,05).

α: 1 saat UV uygulaması (sabit yatakta 19,8 J/cm²; akışkan yatakta 28,8 J/cm²).

β: 1 saat 15ppm ozon uygulamasının ardından 1 saat UV uygulaması (sabitte 19,8 J/cm²; akışkanda 1 saat 28,8 J/cm²).

γ: 1 saat 15 ppm ozon ve UV (sabitte 19,8 J/cm²; akışkanda 1 saat 28,8 J/cm²) uygulamalarının eş zamanlı uygulaması.

Çizelge C.2 : Tane karabibere uygulanan farklı dekontaminasyon yöntemlerinin *E. coli* yükü (log kob/g) * üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.

Uygulama Şekli	Kontrol	Ozon (1 saat 15ppm)	UV ^a	Ozon→UV ^β	Ozon+UV ^γ
Sabit	6,40 a,x	6,30 ab,x	5,76 b,x	4,95 c,x	5,08 c,x
Akışkan	6,40 a,x	5,53 b,y	5,52 b,x	4,68 c,x	4,97 c,x

* Değerler, 3 tekrarın ortalaması şeklinde verilmiştir, aynı satırlarda (a, b, c) ve aynı sütunlarda (x, y) farklı harf alan ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0,05).

α: 1 saat UV uygulaması (sabit yatakta 19,8 J/cm²; akışkan yatakta 28,8 J/cm²).

β: 1 saat 15ppm ozon uygulamasının ardından 1 saat UV uygulaması (sabitte 19,8 J/cm²; akışkanda 1 saat 28,8 J/cm²).

γ: 1 saat 15 ppm ozon ve UV (sabitte 19,8 J/cm²; akışkanda 1 saat 28,8 J/cm²) uygulamalarının eş zamanlı uygulaması.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad : Nagihan AYVAZ
Doğum Yeri ve Tarihi : Trabzon, 07.01.1990
E-posta: nagi.ayvaz@gmail.com
Adres: Uğur Mumcu Mah. Akşemsettin Cad. Akzambak Sk.
Kartal Yaşam Sitesi A Blok D:28 Kartal/İSTANBUL
Eğitim :
Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- Ayvaz, N., Güneş, G. 2013. Baharat Sterilizasyonunda Kullanılan Ticari ve Alternatif Yöntemler. 8. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 7-9 Kasım.
- Doğu-Baykut, E., Ayvaz, N., Güneş, G. 2014. Karabiberin (*Piper nigrum* L.) Mikrobiyal Dekontaminasyonunda Akışkan Yataklı UV Sisteminin Kullanım Potansiyeli. Gıda Mühendisliği 5. Öğrenci Kongresi, Bolu, 24-25 Nisan.