

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**KIYMADA İŞINLAMA VE BAHARAT İLAVESİNİN  
*Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*  
ÜZERİNDEKİ HASAR ETKİSİ**

**Pelin YÜCEL**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA**

**2010**

**Her hakkı saklıdır**

## ÖZET

Doktora Tezi

### KIYMADA IŞINLAMA VE BAHARAT İLAVESİNİN *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* ÜZERİNDEKİ HASAR ETKİSİ

Pelin YÜCEL

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Araştırma iki farklı aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, kıyma ve köfte ortamında *E. coli* için D değerleri sırasıyla 0,296 ve 0,233 kGy ve buna karşılık gelen bağıl radyasyon duyarlılığı (RRS) katsayıları sırasıyla 1,00 ve 1,27 olarak belirlenmiştir. *S. aureus* için D değerleri kıyma ve köfte ortamında sırasıyla 0,409 ve 0,430 kGy ve buna karşılık gelen RRS katsayıları sırasıyla 1,00 ve 0,95 olarak bulunmuştur. Köfte harcı ilavesi *E. coli*'nin radyasyon duyarlılığında 1,27 kat artışa neden olurken, *S. aureus* için radyasyon direncinde 0,95 kat artışa neden olmuştur. İkinci aşamada, ilk aşamada hesaplanan D değerlerinden yola çıkılarak belli bir dozda ışınlanan kıyma ve köfte numunesinde *E. coli* ve *S. aureus* sayımları genel (Tryptic Soy Agar) ve selektif besiyerinde (Violet Red Bile Lactose Agar, Baird Parker Agar) gerçekleştirilmiştir. Seçici ve genel ortamdaki sayım sonuçlarının karşılaştırılması sonucu *E. coli* ve *S. aureus* için subletal hasar belirlenmiştir. Işınlama sonucu canlılığını sürdüren hücrelerin aynı uygulama ortamında tutulması subletal hasarlı hücre popülasyonunda inaktivasyona neden olmuştur. Depolama süresince inaktivasyon düzeyinin artması, hasarın onarılamadığını ve seçici ortamdaki maddelere karşı hassasiyeti göstermiştir. Çalışmada hasar görmüş mikroorganizmalar Replika Plate (RP) yöntemi ile saptanmıştır. Genel besiyerini içeren orjinal Petri kutusu ile seçici besiyerini içeren ikinci Petri kutusundaki aynı konumdaki koloniler karşılaştırılmıştır. Subletal hasarlı hücreler seçici besiyerindeki maddelere karşı hassas hale gelmektedir. RP yöntemi ışınlama ile hasar gören hücrelerin geri kazanımında seçici besiyerine göre daha etkili ve genel besiyeri kadar etkili bulunmuştur. RP Petri kutularında inkübasyonu takiben hasarlı *E. coli* ve *S. aureus* hücrelerinin onarıldığı ve besiyerinde koloni oluşturduğu gözlenmiştir. Subletal hasarın onarılması için optimum çevresel koşullara gerek duyulmaktadır. Işınlama ile kombine uygulanacak yöntemlerde, hücre hasarının onarılması engellenmeli ya da çevresel faktörlere gösterdiği hassasiyet göz önünde bulundurularak hasarlı hücrelerin inaktivasyonunu sağlayacak koşullar oluşturulmalıdır.

**Haziran 2010, 91 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Işınlama, baharat, hasar, Replika Plate yöntemi

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### SUBLETHAL EFFECT OF IRRADIATION AND ADDITION OF SPICES ON *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* IN MINCED MEAT

Pelin YÜCEL

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

This study consists of two parts. In the first part of the study, D values of *E. coli* in minced meat and meatball were found to be 0.296 and 0.233 kGy, respectively and corresponding relative radiation sensitivity (RRS) coefficients were 1.00 and 1.27. D values of *S. aureus* in minced meat and meatball were found to be 0.409 and 0.430 kGy, respectively and corresponding RRS coefficients were 1.00 and 0.95. The spice mix increased the radiation sensitivity by 1.27 times for *E. coli* and increased the radiation resistance of *S. aureus* by 0.95 times. In the second part of the study, considering the D values found in the first part, minced meat and meatball were irradiated and *E. coli* and *S. aureus* counts were estimated by plating in non-selective (Tryptic Soy Agar) and selective media (Violet Red Bile Lactose Agar, Baird Parker Agar). Sublethally injured cells were estimated by the difference in the number of survivors obtained after plating treated cells in both media. Keeping survivors in the same treatment medium caused the inactivation of sublethally injured cell population. Increase in activation level during storage showed inability of cell to repair damage and sensitivity to the substances in the selective medium. Sublethally injured cells were detected by Replica Plate (RP) technique. The master Plate containing the non-selective medium was compared with the secondary Plate containing the selective medium, with respect to the colonies at the same location. Sublethally injured cells become sensitive to the substances on that secondary Plate. RP technique had better recovery capacity than the selective medium and was as effective as the non-selective medium in recovery of sublethally damaged cells. Following incubation of RP Plates, sublethally damaged *E. coli* and *S. aureus* cells were repaired and formed colonies on the selective medium. Optimum environmental conditions are necessary for the repair of sublethal damage. In combined processes involving irradiation, repair of cells has to be prevented or considering the environmental sensitivity of sublethally injured cells, conditions for cellular inactivation have to be provided.

**June 2010, 91 pages**

**Key Words:** Irradiation, spices, injury, Replica Plate technique

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında ve tezimin hazırlanmasında bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam, Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN'a,

Tez İzleme Komitesinde değerli düşünce ve önerilerinden dolayı Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. M. Lütfü ÇAKMAKÇI'ya ve Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim ÇAKIR'a;

Laboratuvar çalışmalarında beni desteklediği ve bana yol gösterdiği için Doç Dr. Hilal HALKMAN'a ;

İstatistiksel analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Dr. Vasfiye Başbayraktar'a;

Beni her konuda destekleyen ve her zaman yanımda olan eşime, anneme ve kardeşime;

Oyun zamanından çaldığım canım kızım Tuana'ya;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Pelin YÜCEL

Ankara, Haziran 2010

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
1. GİRİŞ .....	1
2. KURAMSAL TEMELLER .....	4
2.1 Işınlama .....	4
2.1.1 Işınlamada kullanılan radyasyon kaynakları .....	4
2.1.2 Gıda teknolojisinde ışınlama uygulaması .....	7
2.1.3 Mikroorganizmaların radyasyon ile inaktivasyonu .....	11
2.1.4 Mikroorganizmaların radyasyon duyarlılığı .....	13
2.2 Gıda Teknolojisinde Baharat Kullanımı .....	16
2.3 Hasarlı Hücreler .....	21
2.3.1 Subletal hasar .....	21
2.3.2 Canlı fakat kültüre edilemeyen durum .....	25
2.3.3 Hasarlı hücrelerin geri kazanımı/onarımı .....	27
2.3.4 Hasarlı hücrelerin belirlenmesi .....	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	36
3.1 Materyal .....	36
3.2 Yöntem .....	37
3.2.1 Işınlama işlemi .....	37
3.2.2 <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> radyasyon duyarlılığının belirlenmesi .....	37
3.2.3 <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> sayım sonuçlarına uygulamaların etkisinin belirlenmesi .....	38
3.2.4 Replika Plate yönteminin uygulanması .....	40
3.2.5 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi .....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	44
4.1 <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> Radyasyon Duyarlılığına Işınlama ve Baharat İlavesinin Etkisi .....	44
4.2 Işınlama ve Baharat İlavesinin <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> Gelişimi Üzerine Etkisi .....	47
4.2.1 Işınlama ve baharat ilavesinin <i>E. coli</i> sayım sonuçlarına etkisi .....	47
4.2.2 Işınlama ve baharat ilavesinin <i>S. aureus</i> sayım sonuçlarına etkisi .....	58
4.3 Replika Plate (RP) Yöntemi ile Hasarlı <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> Saptanması .....	71
4.3.1 <i>E. coli</i> için alınan RP sonuçları .....	71
4.3.2 <i>S. aureus</i> için alınan RP sonuçları .....	75
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	79
KAYNAKLAR .....	81
ÖZGEÇMİŞ .....	91

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Işınlama işleminin uygulandığını gösteren ‘radura’ sembolü (yeşil renkte) .....	6
Şekil 2.2 Radyasyona dirençli mikroorganizmaların inaktivasyon grafiği .....	14
Şekil 2.3 Mikroorganizmalar üzerinde subletal uygulamaların etkileri .....	23
Şekil 2.4 Hasarlı ve normal hücrelerin çeşitli yöntemlerle geri kazanımı .....	32
Şekil 3.1 Replika Plate yöntemi ile Amp- kolonilerin belirlenmesi .....	41
Şekil 3.2 Replika Plate yönteminde kullanılan damga .....	42
Şekil 4.1 Köfte harcı ilavesinin <i>E. coli</i> 'nin radyasyon duyarlılığına etkisi .....	44
Şekil 4.2 Köfte harcı ilavesinin <i>S. aureus</i> 'un radyasyon duyarlılığına etkisi .....	45
Şekil 4.3 Işınlama ve 4±2 °C depolamanın <i>E. coli</i> sayım sonucuna etkisi .....	49
Şekil 4.4 Köfte harcı ilavesi ve 4±2 °C depolamanın <i>E. coli</i> sayım sonucuna etkisi .....	50
Şekil 4.5 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve 4±2 °C depolamanın <i>E. coli</i> sayım sonucuna etkisi .....	51
Şekil 4.6 Işınlama ve -12±2 °C depolamanın <i>E. coli</i> sayım sonucuna etkisi .....	55
Şekil 4.7 Köfte harcı ilavesi ve -12±2 °C depolamanın <i>E. coli</i> sayım sonucuna etkisi .....	56
Şekil 4.8 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve -12±2 °C depolamanın <i>E. coli</i> sayım sonucuna etkisi .....	57
Şekil 4.9 Işınlama ve 4±2 °C depolamanın <i>S. aureus</i> sayım sonucuna etkisi .....	60
Şekil 4.10 Köfte harcı ilavesi ve 4±2 °C depolamanın <i>S. aureus</i> sayım sonucuna etkisi .....	62
Şekil 4.11 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve 4±2 °C depolamanın <i>S. aureus</i> sayım sonucuna etkisi .....	63
Şekil 4.12 Işınlama ve -12±2 °C depolamanın <i>S. aureus</i> sayım sonucuna etkisi .....	67
Şekil 4.13 Köfte harcı ilavesi ve -12±2 °C depolamanın <i>S. aureus</i> sayım sonucuna etkisi .....	68
Şekil 4.14 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve -12±2 °C depolamanın <i>S. aureus</i> sayım sonucuna etkisi .....	69
Şekil 4.15 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve 4±2 °C depolama koşullarında <i>E. coli</i> için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler ...	72
Şekil 4.16 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve -12±2 °C depolama koşullarında <i>E. coli</i> için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler ...	74
Şekil 4.17 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve 4±2 °C depolama koşullarında <i>S. aureus</i> için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler .....	76
Şekil 4.18 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve -12±2 °C depolama koşullarında <i>S. aureus</i> için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler .....	77

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Gıda ışınlamada kullanılan radyasyon kaynaklarının penetrasyon etkinlikleri .....	5
Çizelge 2.2 Gıda ışınlamada çeşitli uygulamalar için gerekli dozlar .....	7
Çizelge 2.3 Gıda ışınlamada değişik uygulamalar için doz gereksinimleri .....	9
Çizelge 2.4 Et ürünlerinde ışınlamanın etkinliği .....	9
Çizelge 2.5 Işınlama ile mikrobiyel inaktivasyona etki eden faktörler .....	11
Çizelge 2.6 Donmamış hayvansal gıdalarda bazı bakterilerin radyasyon dirençleri .....	15
Çizelge 2.7 Baharat ve şifalı otların antimikrobiyel etkinliği .....	20
Çizelge 2.8 Subletal hasar belirlenen bazı önemli mikroorganizmalar .....	22
Çizelge 2.9 Değişik uygulamalar sonucu gözlenen hasar ve onarımı .....	30
Çizelge 4.1 <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> için RRS katsayıları .....	46
Çizelge 4.2 <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> sayım sonuçları (log kob/ml) ve standart sapmaları .....	47
Çizelge 4.3 $4\pm 2$ °C'de 10 günlük depolamada <i>E. coli</i> sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları .....	48
Çizelge 4.4 $4\pm 2$ °C'de 10 gün depolanan örneklerde <i>E. coli</i> için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları .....	53
Çizelge 4.5 $-12\pm 2$ °C'de 50 günlük depolamada <i>E. coli</i> sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları .....	54
Çizelge 4.6 $-12\pm 2$ °C'de 50 gün depolanan örneklerde <i>E. coli</i> için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları .....	58
Çizelge 4.7 $4\pm 2$ °C'de 10 günlük depolamada <i>S. aureus</i> sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları .....	59
Çizelge 4.8 $4\pm 2$ °C'de 10 gün depolanan örneklerde <i>S. aureus</i> için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları .....	65
Çizelge 4.9 $-12\pm 2$ °C'de 50 günlük depolamada <i>S. aureus</i> sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları .....	66
Çizelge 4.10 $-12\pm 2$ °C'de 50 gün depolanan örneklerde <i>S. aureus</i> için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları .....	70

## 1. GİRİŞ

Mikrobiyel kontaminasyon gıda endüstrisi, kontrol kuruluşları ve tüketiciler açısından önemli bir konudur. Kontamine gıda, sağlık harcamaları, verim düşüklüğü, üretim kaybı ve hukuksal işlemleri içeren çok büyük ekonomik kayıpların kaynağıdır. ABD’de her yıl 76 milyon kişinin gıda kaynaklı infeksiyon geçirdiği tahmin edilmektedir (Anonymous 2008). Gıda kaynaklı patojenlerin yaygınlığı, kayıtlara geçen vakaların ve salgınların sayısı oldukça yüksektir.

Avrupa Gıda Sağlığı Otoritesi (EFSA)’nin 2007 verilerine göre Avrupa Birliği üye ülkelerinde 39.727 kişi gıda kaynaklı salgınlardan etkilenmiş; bunlardan 3.291 kişinin hastanede tedavi olduğu ve 19 kişinin öldüğü kayıtlara geçmiştir. *Salmonella*, *Campylobacter* ve *E. coli* vakaları en sık rastlanılanlar arasındadır. *Yersinia*, *Listeria*, *Shigella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* kaynaklı rapor edilen vaka sayısı daha azdır (Anonymous 2009).

Gıdalarla insanlara geçen hastalıkların önlenmesi ve gıdalarda mikrobiyolojik bozulmaların geciktirilmesi veya tamamen engellenmesi için çeşitli muhafaza yöntemleri kullanılmaktadır. Gıdaların muhafazasında ilkeler, mikroorganizmaların kontrol altına alınması için bulaşmanın önlenmesi, mikroorganizmaların uzaklaştırılması, mikrobiyel gelişmenin engellenmesi ve/veya mikroorganizmaların elimine edilmesidir. Gıda üretiminde kayıpları azaltacak, raf ömrünü artıracak ve güvenilirliği sağlayacak ışınlama, yüksek basınç ve vurgulu elektrik alan uygulaması gibi yeni yöntemlerin kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Ünlütürk 1999).

Gıdada hasar görmüş mikroorganizmaların varlığı ve kültüre edilme sırasında geri kazanımı önemlidir. Mikrobiyel hasar, canlandırmayı takiben mikroorganizmanın normal duruma geçmesidir. Sıcaklık, dondurma ve soğutma, kurutma, dondurarak kurutma, ışınlama, asitlik, koruyucular ve kimyasallar, mikroorganizmalarda hasara yol açabilir. Sadece işlem değil, depolama koşulları da mikroorganizmalarda strese yol açmaktadır. Hasarlı mikroorganizmaların gelişme gereksinimleri hasar almayanlara göre daha fazladır ve izolasyonlarında kullanılan seçici besiyerlerinde gelişme

göstermezler. Uygun gelişme koşulları altında hasarlı hücreler, hücrel hasarı onarır ve patojenite dahil olmak üzere normal özelliklerini geri kazanırlar. Subletal hasar ve onarım, gıda kaynaklı mikroorganizmaların belirlenmesi ve değerlendirilmesi ile uygun gıda muhafaza yöntemlerinin seçilmesinde önemlidir (Temiz 1999).

Hasar görmüş mikroorganizmalar gıda güvenliğinde potansiyel tehlikedir. Hasarlı mikroorganizmaların belirlenmesi, tüketicinin korunması ve güvenli gıdanın sunulması için gereklidir. Hasarlı hücreler, selektif gelişme ortamlarında gelişemedikleri için canlandırma veya seçici olmayan ortamlarda hasarlı hücrelerin onarılması basamağı seçici değerlendirmede yer almalıdır. Hasar görmüş hücrelerin varlığının belirlenmesi, son ürün kalitesi ve güvenliği için çok önemlidir. Hızlı analiz yöntemlerinin geliştirilmesinde hasarlı ve normal mikroorganizmaların belirlenmesi ve sahte pozitif veya sahte negatif sonuçların engellenmesi için canlı ve ölü hücrelerin ayırt edilmesi önemlidir (Ray 1996).

Gıda muhafazasında ışınlama, gıdanın belirli dozdaki iyonlaştırıcı radyasyona maruz bırakıldığı fiziksel bir uygulamadır ve günümüzde 40 ülkede 60 farklı gıda ürünü için kullanılmaktadır. Kaliteli hammadde kullanımı ve doğru üretim uygulamaları (GMP) ile birlikte uygulandığında, gıdanın kalitesi, besleyici değeri ve raf ömrü gibi nitelikleri açısından olumlu sonuçlar elde edilmektedir. Gıda ışınlamada; böcek infestasyonunun kontrol edilmesi, patojen ve/veya bozulma etmeni mikroorganizmaların sayısının azaltılması ve taze üründe olgunlaşma, çimlenme veya filizlenme gibi doğal biyolojik olayların ertelenmesi veya elimine edilmesi hedeflenmektedir. *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *Vibrio* spp. gibi bilinen mikrobiyel patojenlerin elimine edilmesinde ışınlama oldukça etkilidir. Işınlama, gıdalarda mikrobiyel inaktivasyona bağlı bir koruma sağlarken önemli bir sıcaklık artışı meydana gelmemekte; bu nedenle ışınlama, soğuk pastörizasyon veya soğuk sterilizasyon olarak da tanımlanmaktadır (Farkas 2006).

Radyasyon, su moleküllerini iyonlaştırdığında oluşan serbest geçici radikaller ile genetik materyalin tepkimeye girmesi sonucunda, iyonlaştırıcı radyasyon ile inaktivasyon oluşmaktadır. Bu işlemle DNA'nın tek iplikçiginde veya çift iplikçiginde

kırılmalar gözlenir. DNA hasarına ek olarak, iyonlaştırıcı radyasyonun membran ve diğer yapıları etkileyerek subletal hasara neden olduğu gösterilmiştir. Mikroorganizmaların radyasyon dirençliliğini birçok çevresel faktör etkilemektedir. Uygulanan ışınlama dozunun etkinliğinde mikroorganizmaların bulunduğu ortamın bileşimi önemli rol oynamaktadır. Genel olarak ortamın kompleksliği arttıkça, ortamdaki sudan oluşan serbest radikaller için ortamdaki diğer bileşenlerin rekabeti artmakta, ışınlama ile oluşan moleküller aktive olmakta ve bu durum mikroorganizmalar için koruyucu etki oluşturmaktadır (Dickson 2001).

Baharat, gıdada aroma ve gevreklik ajanı olarak geleneksel kullanımının yanında uçucu yağları ve oleozinleri gibi temel bileşenlerinden kaynaklanan antimikrobiyel ve antioksidan özelliklerinden dolayı popülerdir. Işınlama ile diğer uygulamalar kombine uygulandığında, ışınlama sonucu canlı kalan mikroorganizmalar işlem görmemiş hücrelere göre sıcaklık, pH, besin maddesi gibi ortam koşullarına daha duyarlı hale gelir. Işınlama ve esansiyel yağ veya saf aktif bileşenlerin kombine uygulaması ile daha fazla antimikrobiyel etki gözlenmektedir (Lacroix ve Chiasson 2004).

Bu çalışmada, sığır kıymasında ışınlama uygulaması ve baharat karışımı ilavesinin *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki hasar etkisinin araştırılması amacıyla depolama deneyleri yapılmıştır. Subletal hasarın düzeyi, seçici olmayan besiyerinden elde edilen sayım sonucu ile seçici besiyerinden elde edilen sayım sonucu arasındaki fark olarak ifade edilmiştir. Çalışmada hasar görmüş mikroorganizmalar Replika Plate yöntemi ile saptanmıştır. Seçici olmayan besiyerini içeren orijinal Petri kutusu ile seçici besiyerini içeren ikinci Petri kutusundaki aynı konumdaki koloniler karşılaştırılmıştır. Subletal hasarlı hücreler seçici besiyerindeki maddelere karşı hassas hale gelmektedir. Gıda muhafazasında ışınlama ile kombine uygulanacak yöntemlerde, hücre hasarının onarılması engellenmeli ya da mikroorganizmanın çevresel faktörlere gösterdiği hassasiyet göz önünde bulundurularak hasarlı hücrelerin inaktivasyonunu sağlayacak koşullar oluşturulmalıdır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1 Işınlama

Işınlama teknolojisi, Wilhelm Conrad Röntgen tarafından X ışınlarının keşfinden bir yıl sonra 1897 yılında önerilmiş ve 1905 yılında İngiltere'de patent almıştır. 1940-1960 yıllarında araştırmalar ABD Askeri Laboratuvarı'nda orduya steril konserve temin edilmesi amacıyla sürdürülmüştür. 1962 yılında ordu için ilk gıda ışınlama işletmesi kurulmuş ve 1963 yılında ABD Tarım Dairesi (USDA) buğday ve buğday unu dekontaminasyonu için ilk gıda ışınlama kurallarını yayınlamıştır (Aymerich vd. 2008). Domuz karkasında *Trichinella spiralis* inaktivasyonu için 1985 yılında USDA tarafından et ışınlaması konusunda ilk kurallar açıklanmış ve 1997 yılında kırmızı etin ışınlanmasına izin verilmiştir. Başta *E. coli* O157:H7 olmak üzere pek çok patojenin eliminasyonu için ışınlama kullanılmakta ve ışınlamanın gıdalar için kayda değer bir hijyen güvencesi sağlayacağı çeşitli araştırmalar ile gösterilmiştir (Halkman vd. 2001). 2003 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından Kodeks Alimentarius'da ışınlama teşvik edilmiş ve ABD, Latin Amerika, Mısır ve Çin'in dâhil olduğu 50 ülkede kabul edilmiştir.

Işınlama, gıdanın kontrollü iyonlaştırıcı radyasyon kaynağına maruz bırakıldığı bir uygulamadır. Radyasyon dozu Gray (Gy, 1 Gy=100 rad) olarak ifade edilmektedir. İşlemin hedefine uygun olarak gıda, genelde 50 Gy ile 10 kGy doz aralığında ışınlanmaktadır. Düşük doz uygulaması ( $\leq 1$  kGy) esasen ürünün olgunlaşmasının geciktirilmesi, böceklerin öldürülmesi ve diğer yüksek yapıli organizmaların öldürülmesi veya zayıflatılması amacına yöneliktir. Orta doz ışınlama (1-10 kGy) gıdanın pastörizasyonunu hedefler ve raf ömrünü uzatır. Yüksek doz ışınlamada ise ( $>10$  kGy), gıdanın sterilizasyonu amaçlanmaktadır (Shea 2000).

#### 2.1.1 Işınlamada kullanılan radyasyon kaynakları

İyonlaştırıcı radyasyon, bir atomdan bir veya daha fazla elektron uzaklaştırılması sonucunda oluşmakta ve gama ışınları, yüksek enerji elektronu olarak adlandırılan

elektron demeti ve X-ışınları olmak üzere üç ayrı teknik ile üretilmektedir (Çizelge 2.1).

Gama ışınları 5,27 yıl yarılanma süresine sahip Kobalt 60 (Co-60) ve 30,19 yıl yarılanma süresine sahip Sezyum 137 (Cs-137) radyonüklitleri tarafından üretilir. Daha güçlü gama ışınlarına sahip olması ve suda çözünmemesi nedeniyle ışınlama tesislerinde genellikle Co-60 kullanılmaktadır (O'Bryan vd. 2008).

Çizelge 2.1 Gıda ışınlamada kullanılan radyasyon kaynaklarının penetrasyon etkinlikleri (Aymerich vd. 2008)

	Gama ışınları	X-ışınları	Elektron demeti
Güç kaynağı (kW)	~50	25	35
Kaynak enerjisi (MeV)	1,33	5	5-10
İşlem hızı (ton/saat) <sup>a</sup>	12	10	5-10
Penetrasyon derinliği (cm)	80-100	80-100	8-10
Doz dağılım oranı	~ 1.7	~ 1.5	Orta
Doz hızı (kGy/saat)	Düşük	Yüksek	Yüksek

<sup>a</sup> 4 kGy doz hızına ulaşılması için işlem hızı

Elektron demetleri, ticari elektron hızlandırıcıları tarafından oluşur. Elektrikli cihazlar gibi kullanılmakta ve çalıştırılmasına gerek olmayınca kapatıldığından ekonomiktir. Sınırlı penetrasyon kapasitesine sahip oldukları için, tohum gibi küçük materyal veya yüzey dekontaminasyonunda kullanılmaktadır.

X ışınları, hızla hareket eden elektronlar metal bir nesneye çarptıklarında üretilir. Eğer hedef tantalum veya platinyum ise, 1 MeV enerjiye sahip güçlü X ışınları üretilir. Gıda ışınlamada ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa Birliği maksimum 5 MeV enerjiye sahip X-ışınlarının kullanımını önermiş ve daha sonra FDA 2004 yılında değişiklik yaparak maksimum 7,5 MeV enerjiye izin vermiştir. X ışınları ile gıda ışınlamada paketlenmiş et ürünleri yüksek kapasitede işlenirken, ekonomik açıdan yüksek yatırım ve işletme maliyeti gerektirmektedir (Borsa 2006).

Türkiye’de ikisi ticari ve bir tanesi daha çok araştırma amaçlı olarak çalışan üç adet ışınlama tesisi bulunmaktadır. Gamma-Pak Işınlama Tesisi Çerkezköy’de kurulmuştur ve ışınlama cihazında kaynak olarak metal şeklinde 101 PBq (3.000.000 Ci) kapasiteli çift kapsüllü Co-60 radyoaktif kaynak kalemleri kullanılmaktadır. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK)’na ait sterilizasyon tesisi Macar Bilimler Akademisi İzotop Enstitüsü tarafından 1993 yılında kurulmuştur. SVST Co-60-1 model ve IV. Sınıf tote-box (ışınlama kutusu) tipi sürekli ve kesikli işletim moduna göre çalışabilen bir gama ışınlama tesisidir. Radyoaktif madde sızdırmaz şekilde kaplanmış Co-60 kaynak kalemlerinden oluşmakta ve kaynak aktivitesi ise 172 kCi’dir (Siyakuş 2004).

1980 yılında ışınlanmış gıdanın Şekil 2.1’deki radura sembolü ile belirtilmesi FAO-IAEA-WHO Ortak Uzmanlar Komitesinin kararıyla kabul edilmiş ve bu sembol ilk kez Hollanda’da daha sonra da Güney Afrika, ABD ve Kanada’da kullanılmıştır. Daha sonra tüketicinin ışınlanmış gıdayı daha iyi belirleyebilmesi için FDA tarafından gıda ambalajlarında radura sembolü ile birlikte ‘Treated with Radiation’ veya ‘Treated by Radiation’ gibi ibarelerin kullanılmasına karar verilmiştir (Smith ve Pillai 2004).



Şekil 2.1 Işınlama işleminin uygulandığını gösteren ‘radura’ sembolü (yeşil renkte)

Türkiye’de Gıda Işınlama Yönetmeliği, 6 Kasım 1999 tarihinde 23868 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanmış ve 15 Ekim 2002 ve 19 Aralık 2003 tarihlerinde iki değişiklik geçirmiştir. Yönetmeliğin amacı, gıda ışınlama tesislerinin kurulması ile bu tesislere lisans verilmesini, gıda maddelerinin üretiminde kullanılan her türlü ham ve yardımcı madde ile mamul ve yarı mamul gıda maddelerinin tekniğine uygun olarak ışınlanmasını, ışınlanmış gıdaların tüketimine arzı, denetlenme esas ve usullerini belirlemektir. Bu yönetmelik; gıda maddelerini ışınlama esas ve usulleri ile gıda ışınlama tesislerinin kuruluşları ve ışınlanmış gıdaların pazarlanmasına ilişkin; lisans,

izin, tescil, istihdam, kontrol, denetim, ithalat ve ihracata dair esas ve usulleri kapsar. Ancak, tıbbi gözetim altında steril diyet ihtiyacı duyan hastalar için hazırlanmış ışınlanmış gıda maddelerini kapsamaz (Anonim 1999).

Türkiye’de, başta baharat olmak üzere, kurutulmuş sebzeler ve bazı kuru yemişler (badem, hurma, çam fıstığı, kuş üzümü, vb.) ışınlama yöntemi ile muhafaza edilmektedir. Balık, karides ve kurbağa bacağı gibi önemli ihracat potansiyeline sahip ürünlerin ihracatında karşılaşılan sorunlar ışınlama teknolojisi kullanılarak çözülmektedir (Alkan 2003).

### 2.1.2 Gıda teknolojisinde ışınlama uygulaması

Gıda muhafazasında, ışınlama radurizasyon, radisidasyon ve radappertizasyon olmak üzere üç uygulama ile tanımlanır (Diehl 1990, Farkas 2001, Abbas 2002). Çizelge 2.2’de gıda gruplarına göre radurizasyon, radisidasyon ve radappertizasyon örnekleri verilmiştir.

Çizelge 2.2 Gıda ışınlamada çeşitli uygulamalar için gerekli dozlar (Farkas 2001)

Uygulama	Gerekli doz (kGy)
Radurizasyon ( meyve, sebze, et, tavuk, balık)	0,5-10
Radisidasyon (dondurulmuş et, tavuk, yumurta, diğer gıda ve yemler)	3,0-10
Radappertizasyon (et, tavuk, balık ürünleri)	25-60

Radurizasyon, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların sayısının azaltılmasını ve gıdaların buzdolabındaki raf ömrünün uzatılmasını hedefler. Bozulmaya neden olan mikroorganizmalar elimine edilirken, ışınlamaya dirençli mikroorganizmalar (*Moraxella*, laktik asit bakterileri ve mayalar) canlı kalır. Soğuk depolama süresince, canlı kalan mikroorganizmalar daha yavaş gelişir ve buna bağlı olarak bu ürünlerin raf ömrü ışınlanmamış olanlara göre 3-4 misli daha uzundur. Paketleme şekli önemlidir, anaerobik paketlemede laktik asit bakterileri ve mayalar baskın florayı oluşturur.

Radisidasyon, spor oluşturmeyen, canlı patojenik mikroorganizmaların ve parazitlerin sayısını azaltmak için yapılan uygulamadır. Radisidasyon uygulaması ile de bozulmaya neden olan mikroorganizmaların sayısı azaltılarak gıdaların raf ömrü uzatılmaktadır.

Radappertizasyon, gıdada bulunan mikroorganizmaların çok azını yaşayabilir durumda bırakan ve tamamen yok etmek için gerekli olan dozun gıdaya uygulanması işlemidir. Bu uygulamada özellikle radyasyona dirençli bakteri sporlarının kontrolü amaçlanmaktadır. Radappertizasyon için gerekli ışınlama dozu ışınlamaya en dirençli mikroorganizma baz alınarak hesaplanır. Asitliği ve tuz konsantrasyonu düşük olan gıdalarda *Clostridium botulinum* Tip A sporları hedef alınır. Güvenli radappertizasyon prosesi için bu sporlar hedef alındığında desimal indirgeme düzeyi 12 D'dir ve bu indirgenme 45-50 kGy ile sağlanmaktadır (Diehl 1990, Farkas 2001, Abbas 2002).

Genel olarak gıdalarda maksimum uygulanan 10 kGy, düşük miktarda enerjiyi temsil eder ve suyun sıcaklığının 2,4 °C yükselmesine eş değerdir. Bu nedenle, ışınlama ısı olmayan teknolojidir ve ısı yöntemlerle kıyaslandığında et ve et ürünlerinin tazeliğini ve besinsel kalitesini korumaktadır (Farkas 2006).

Tüm gıdaların ışınlama ile muhafazası uygun değildir. Örneğin, bazı meyvelerde ışınlama uygulaması ile yumuşama ve renk kaybı gözlenebilir. Bazı proteinli gıdalarda ışınlama sonucu istenmeyen tat-koku oluşabilir. Temel olarak baharat, kanatlı ve kırmızı et, yumurta ürünleri ve deniz ürünleri radyasyon ile dekontamine edilir. Donmuş gıdalara da radyasyon ile dekontaminasyon uygulanabilir. Yeni araştırma ve geliştirme çalışmaları, minimal işlem görmüş taze ürün ve soğukta muhafaza edilen gıdaların ışınlanmasına yönelmiştir (Farkas 2006).

Işınlama sonucu gıdada kimyasal veya diğer radyasyonla indüklenen değişimler minimum düzeyde iken absorblanan dozun fonksiyonu olarak da birtakım koruyucu etkiler gözlenmektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3 Gıda ışınlamada değişik uygulamalar için doz gereksinimleri  
(Farkas 2006)

Koruyucu etkiler ve uygulama tipleri	Doz gereksinimleri (kGy)
Böceklerin öldürülmesi (gıdanın disinfestasyonu)	0,2-0,8
Gıda kaynaklı parazitlerin üremesinin engellenmesi	0,1-3,0
Mikrobiyel popülasyonun azaltılarak gıdanın raf ömrünün uzatılması, bazı meyvelerde ve sebzelerde olgunlaşmanın geciktirilmesi	0,5-5,0
Taze ve dondurulmuş gıdada spor oluşturmeyen patojen mikroorganizmaların (virüsler hariç) elimine edilmesi	1,0-7,0
Kuru gıda bileşenlerinde mikrobiyel popülasyonun eliminasyonu veya azaltılması	3,0-10

Et ürünleri ve tüketime hazır gıdalarda ışınlamanın uygulanabilirliği kanıtlanmış ve birçok araştırmada da belirtilmiştir. Işınlama, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. gibi gıda kaynaklı patojenlerin varlığını etkili bir şekilde kontrol etmekte, ayrıca et ve et ürünlerinde maya ve küfler etkili bir şekilde elimine edilmektedir (Çizelge 2.4), (Aymerich vd. 2008).

Çizelge 2.4 Et ürünlerinde ışınlamanın etkinliği (Aymerich vd. 2008)

Mikroorganizma	Kaynak	Canlılıkta 5 log azalma için doz hızı	Kaynak
<i>L. monocytogenes</i> - Tüketime hazır et yemekleri <sup>a</sup>	Gama	2.45-3.75 kGy	Sommers vd. 2004
<i>E. coli</i> (KCTC)- Marine edilmiş sığır pirzolası	Gama	3.0 kGy	Jo vd. 2004
<i>Salmonella</i> spp.- Tavşan eti	Gama	3.0 kGy	Badr 2005
FBP <sup>b</sup> -Kürlenmiş kuru jambon	Elektron demeti	5.0-5.4 kGy	Cava vd. 2005
FBP <sup>b</sup> - Fileto			Carrasco vd. 2005
FBP <sup>b</sup> -Tüketime hazır yemekler <sup>c</sup>	Gama	1.8-3.0 kGy	Sommers ve Boyd 2006

<sup>a</sup>Baharatlı sosis, etli salamlı makarna, jambon ve hindi eti

<sup>b</sup>*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* spp.

<sup>c</sup> Baharatlı sosis, sığır cheeseburger, vejeteryan cheeseburger

Al-Bachir ve Mehio (2001) 0, 1, 2, 3 ve 4 kGy'de gama kaynağında ışınlanan etin raf ömrünü incelemiştir. Işınlanmış ve ışınlanmamış örnekler buzdolabı sıcaklığında (1-4 °C) 14 hafta depolanmıştır. Işınlamanın mikroorganizma sayısını azalttığı ve kontrol örneklerinde belirlenen 10 haftalık raf ömrünü ışınlanmış örneklerde 14 haftaya uzattığı gözlenmiştir. Işınlanmış ve ışınlanmamış örneklerde tat ve koku bakımından belirgin farklar bulunmamıştır. Kıymada D değerleri *E. coli* tip 1 için 0,59-0,57 kGy ve *E. coli* O157 serotipi için 0,46 kGy olarak tespit edilmiştir. O157 serotipinin eliminasyonunda ışınlamanın etkinliğinin gösterilmesinde *E. coli* tip 1'in yeterli bir indikatör olacağı önerilmiştir (Halkman vd. 2000).

Vakum paketlenmiş ve ışınlanmış taze sığır kıymasında 1,5 kGy ve 2,5 kGy ışınlama dozları raf ömründe sırasıyla 15 ve 21 günden fazla artışa yol açmıştır. Işınlanmamış vakum paketlenmiş sığır kıymasının raf ömrü sadece 4 gündür (Monk vd. 1995). Dempster (1985) ışınlanmış sığır etinin 2 °C'de depolandığında raf ömrünün 23 gün olduğunu belirlemiştir. Işınlanmamış kontrol örneklerindeki raf ömrünün 4-5 katıdır.

Kamat ve Nair (1995) dondurulmuş paketlenmiş taze tavuk etinden  $10^3$  kob/g düzeyindeki *L. monocytogenes* eliminasyonu için 3 kGy ışınlama dozunun gerekli olduğunu bulmuştur. Fu vd. (1995) biftek ve sığır kıymasında ışınlama sonrası *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* ve *E. coli* O157:H7 canlılığını incelemiş ve kalite değişimlerini belirlemiştir. Bu araştırmada ışınlama dozunun veya depolama sıcaklığının patojen canlılığına etkisinin olmadığı ve pH veya renk için de fark gözlenmemiştir. Orta doz ışınlama (2 kGy) *L. monocytogenes* sayısını 5 log birimi azaldığı ve 7 °C'de depolanan örneklerde belirgin gelişme gözlenmemiştir.

Gıda kaynaklı patojenlerin kontrolünde, ambalajlanmış ürünün işlenmesinde ve tüketimden önceki olası çapraz kontaminasyonun engellenmesindeki etkinliğinden dolayı, gıda güvenliği otoriteleri ve bilim adamları et ve kanatlı işleme için hazırlanan HACCP (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları) sisteminde ışınlamayı etkili bir kritik kontrol noktası olarak görmektedir (Satin 2002).

### 2.1.3 Mikroorganizmaların radyasyon ile inaktivasyonu

Mikroorganizmaların radyasyon duyarlılığındaki farklar, kimyasal ve fiziksel yapıları ve radyasyon hasarı onarım mekanizmaları ile ilişkilidir. Gıdada mikroorganizmaların kontrolü için gereken radyasyon enerjisinin miktarı, mevcut türlerin direncine ve sayısına bağlıdır. Mikroorganizmaların doğal özelliklerinin yanında, buldukları ortamın bileşimi, nem miktarı, ışınlama sırasındaki sıcaklık, oksijen varlığı veya yokluğu gibi çevresel faktörler belirgin olarak özellikle vejetatif hücrelerde radyasyon direncini etkiler. Işınlamada, gıdaya uygulanacak gerçek doz, teknolojik olarak gerekli doz olmalı ve gıdanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinde kabul edilemeyecek değişimlere neden olmamalıdır (Sadecka 2007, Smith ve Pillai 2004). Işınlama ile mikrobiyel inaktivasyona etki eden faktörler çizelge 2.5'te özetlenmiştir (Manas ve Pagan 2005).

Çizelge 2.5 Işınlama ile mikrobiyel inaktivasyona etki eden faktörler  
(Manas ve Pagan 2005)

Faktörler	Işınlama
İşlem parametreleri	Doz (kGy) Sıcaklık
Mikrobiyel karakteristikler	
Direnç	Virüsler > Sporlar > Küf ve mayalar > Gram pozitif vejetatif bakteriler > Gram negatif bakteriler
Spor inaktivasyonu	Yüksek dozlarda
Türler arası fark	Orta
Ürün karakteristikleri	Oksijen Kompozisyon Su aktivitesi

Gıdalarda ışınlamanın etkili bir şekilde uygulanmasının temeli, hücre bölünmesi sırasında DNA sentezini inhibe etmesine dayanmaktadır. Canlı hücrede radyasyon sonrası oluşan genetik hasar çoğalmayı engeller ve hücredeki birçok yaşamsal faaliyeti sonlandırır. İyonlaştırıcı radyasyon ile mikrobiyel inaktivasyonun mekanizması, nükleik asitlerin direk veya indirek hasarına dayanmaktadır. Direk hasar, radyasyon enerjisi ile

DNA arasında direkt çarpışmayı içerir. İndirek hasar ise, radyasyon su moleküllerini iyonlaştırdığında oluşan serbest geçici radikaller ile genetik materyalin tepkimeye girmesi sonucunda oluşmaktadır (Dickson 2001).

Direk etkide, foton veya elektron DNA'ya çarptığında lezyonlar oluşur. Lezyonlar, DNA'nın tek iplikçiginde veya çift iplikçiginde kırılma şeklinde olabilir. Tek iplikçik kırılmaları ölümcül olmayabilir ancak sayıları bakterinin tamir yeteneğini aşarsa hücrenin ölümüne neden olur. Çift iplikçik kırılmaları DNA'yı iki parçaya ayırır ve bu tür hasarların tamiri biyolojik sistemlerin yeteneğinin üstünde olduğu için büyük çoğunlukla ölümcüldür. Bu lezyonlar, tek iplikçik kırılmalarına kıyasla daha az gözlenir. Işınlama, DNA'da pürin, pirimidin ve deoksiriboza kimyasal olarak zarar verirken, fizikokimyasal zararlanmalar ile de fosfodiester bağlarında tek veya çift iplikçik kırılmalarına neden olur (Dickson 2001).

İndirek etkiyi, sudan oluşan radyolitik ürünler olan serbest radikaller ve genetik materyal arasında gerçekleşen reaksiyonlar oluşturmaktadır. Radyasyon, su molekülünden bir elektron ayrılmasına neden olur. Sudan oluşan radikaller arasında  $H^+$ ,  $OH^-$  ve  $e^-_{aq}$  yer alır. En önemli reaktif komponentler  $OH^-$  iyonları ve hidrojen peroksittir. Bu moleküller, nükleik asitler ve tek iplikçikte bir nükleik asidi diğerine bağlayan kimyasal bağlar ile reaksiyon oluşturur. İyonize su moleküllerinin lokalizasyonu rasgele olduğundan nükleik asitlerle sonradan oluşan reaksiyonlar da rasgele oluşur. Işınlamanın oluşturduğu çift iplikçik kırılmaları, tek iplikçik kırılmalarının % 5-10'u kadardır. Birçok mikroorganizma, tek iplikçik kırılmalarını onarabilmektedir. *E. coli* gibi ışınlamaya hassas mikroorganizmalar, çift iplikçik kırılmasını onaramamaktadır. İyonlaştırıcı radyasyon DNA'nın çevresinde bir su tabakası oluşturarak DNA hasarının %90'ından sorumludur. Böylece canlı hücrelerde indirek radyasyon zararı baskındır (Farkas 2001).

Genetik materyaldeki etkilere ilave olarak ışınlama, hücrenin diğer bileşenleri üzerinde de birtakım etkilere sahiptir. Radyasyon uygulaması hücrede membran, enzimler ve plazmitler gibi hücre bileşenleri ile direkt ve indirek etkileşime yol açar. Işınlamada meydana gelen serbest radikaller çiftleşmemiş elektronlara sahip olup, hücre

membranındaki protein ve lipitlerle de etkileşimde bulunmaktadırlar. Işınlama ile hasar görmüş hücrelerde stoplazmik membranın zarar görmesi ve seçici geçirgenliğini yitirmesinin sonucu olarak hücre içi yapıların ve özellikle RNA'nın hücre dışına çıkarak kaybı söz konusu olmaktadır (Dickson 2001).

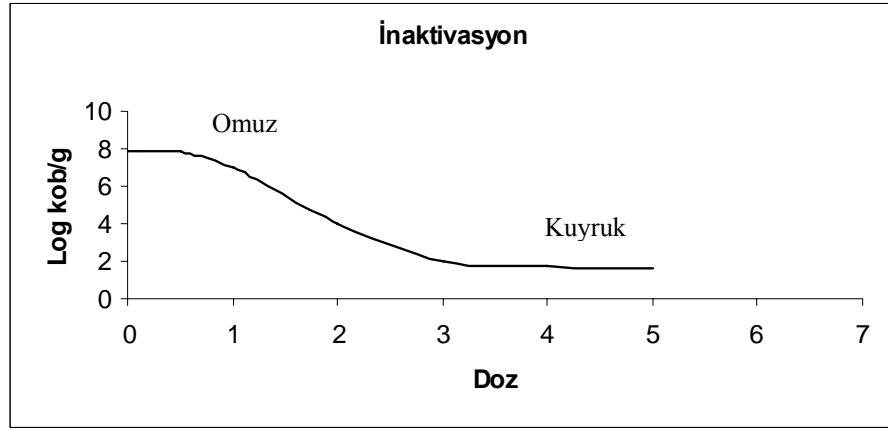
Mikroorganizmanın duyarlılığı, DNA tamir mekanizmasının etkinliğine bağlıdır. Daha etkili DNA tamir mekanizmasına sahip olan mikroorganizmalar, ışınlamaya daha dirençlidir. Etkili enzimatik DNA tamir sistemine sahip *Deinococcus radiodurans* ışınlamaya karşı oldukça dirençlidir ve 35-40 kGy doz uygulanan gıda örneklerinden izole edilmiştir (Dickson 2001).

#### **2.1.4 Mikroorganizmaların radyasyon duyarlılığı**

Mikroorganizmaların iyonlaştırıcı radyasyona karşı duyarlılığı D değerlerine bağlıdır. D değeri, belirlenen koşullarda popülasyonda % 90 azalmaya neden olacak dozu ifade eder (canlı hücre sayısında 1 log birimi azalma). Düşük D değerleri organizmanın yüksek duyarlılığını ifade eder. D değeri, artan ışınlama dozlarında ışınlama sonucunda elde edilen bakteri inaktivasyon grafiği ile belirlenir. Eğimin negatif kesri D değerini verir (Şekil 2.2).

Çoğu mikrobiyel ölüm eğrisi lineer olmasına rağmen ışınlama prosesinde iki önemli özellik gözlenir. Başlangıç dozlarında eğride omuz bölgesi oluşmaktadır. Omuz bölgesi *Deinococcus* gibi radyasyona dirençli mikroorganizmalarda gözlenir. Omuz bölgesi, düşük doz uygulamalarının neden olduğu genetik hasarın, DNA tamir mekanizması ile onarıldığını ifade etmektedir (Dickson 2001).

D değeri genellikle ölüm eğrisinin doğrusal kısmında hesaplanmakta ancak omuz bölgesinin hesaba katılması gerçek dozun hatalı belirlenmesine yol açar. Kuyruk bölgesi, ışınlama sonrası beklenenin üstünde canlı kalan bakteri sayısını ifade eder (Dickson 2001).



Şekil 2.2 Radyasyona dirençli mikroorganizmaların inaktivasyon grafiği (Dickson 2001)

Işınlamaya karşı hassasiyet, organizmanın karmaşıklığı ile artar. Işınlamaya en dirençli organizmalar virüslerdir; böcekler ve parazitler ise duyarlıdır. Sporlar ve sistlerin DNA'sı küçük olduğundan ışınlamanın etkilerine karşı vejetatif hücrelere göre daha dirençlidir. Işınlama ile parçalanacak az sayıda kimyasal bağ olduğu için toksinler ve prionlar ışınlamaya karşı dirençlidir. Spor oluşturan ve toksin üreten bakteriler spor oluşturmayanlara göre ışınlamaya karşı yaklaşık 10 kat dirençlidir. Gram negatif bozulma etmeni bakteriler patojenlere göre daha yüksek hassasiyet gösterirken, Gram pozitif bozulma etmeni bakteriler ışınlamaya karşı patojenlerden daha dirençlidir. Ancak ışınlama hassasiyetinin sınırı dardır (Monk vd. 1995). Çoğu küfün radyasyon duyarlılığı vejetatif bakterilere eş değerdir (Saleh vd. 1988).

Çeşitli organik bileşiklerin radyasyon hassasiyeti moleküler ağırlıkları ile orantılıdır. 0,1 kGy'in aminoasitlerin % 0,005'ine, enzimlerin % 0,14'üne DNA'nın % 2,8'ine hasar verdiği tahmin edilmektedir. Genetik hasarın etkilerini genetik olmayan hasardan ayırmak oldukça zordur (Dickson 2001).

Çizelge 2.6'da bazı donmamış ürünlerde bazı bakterilerin radyasyon duyarlılığı gösterilmiştir (Farkas 2001, Farkas 2006). Bir çalışmada, sığır etine inoküle edilen gıda kaynaklı 5 patojenin ışınlamaya karşı gösterdiği hassasiyet incelenmiştir (Grant ve Patterson 1992). *B. cereus* (vejetatif hücreleri) en duyarlıdır (D=0,126-0,288); *C. perfringens* (vejetatif hücreler), *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* benzer D

değerlerine sahiptir (sırasıyla, 0,342-0,586; 0,371-0,697 ve 0,301-0,648 kGy), *S. aureus* 0,252-0,427 kGy D değerine sahiptir. Patterson (1995) yaptığı bir çalışmada, benzer ışınlama koşullarında *Campylobacter* spp.'nin *Salmonella* ve *L. monocytogenes*'e göre radyasyona daha duyarlı olduğunu gözlemlemiştir.

Çizelge 2.6 Donmamış hayvansal gıdalarda bazı bakterilerin radyasyon dirençleri (Farkas 2001, Farkas 2006)

Bakteriler	D değeri (kGy)
<b>Vejetatif hücreler</b>	
<i>A. hydrophila</i>	0,14-0,19
<i>B. cereus</i>	0,17
<i>B. abortus</i>	0,34
<i>C. jejuni</i>	0,08-0,20
<i>C. perfringens</i>	0,59-0,83
<i>E. coli</i> (O157:H7 dahil)	0,23-0,35
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,30-0,90
<i>L. monocytogenes</i>	0,27-1,0
<i>M. phenylpyruvica</i>	0,63-0,83
<i>P. putida</i>	0,06-0,11
<i>Salmonella</i> spp.	0,30-0,80
<i>S. faecalis</i>	0,65-1,0
<i>S. aureus</i>	0,26-0,60
<i>Vibrio</i> spp.	0,03-0,12
<i>Y. enterocolitica</i>	0,04-0,21
<b>Bakteri sporları</b>	
<i>B. cereus</i>	1,60
<i>C. botulinum</i> tip A ve B	1,0-3,60
<i>C. botulinum</i> tip E	1,25-1,40
<i>C. sporogenes</i>	1,50-2,20

Durma fazındaki *E. coli* O157:H7, *Salmonella* ve *C. jejuni* ile inoküle edilen et hamburgerleri 0-2,52 kGy doz aralığında gama kaynağında ışınlanmıştır. D değerleri

*C. jejuni* için 0,175-0,235, *E. coli* O157:H7 için 0,241-0,307 ve *Salmonella* için 0,618-0,800 kGy olarak tespit edilmiştir (Clavero vd. 1994). Thayer vd. (1998) ışınlanmış, paketlenmiş, buzdolabında depolanmış, taze veya pişmiş tavuk göğüs nuggetlarında ve tavuk kıymasında *L. monocytogenes* ATCC 7644, 15313, 43256 ve 49594 suşlarının radyasyon direncini ve gelişme yeteneklerini incelemiştir. Taze ve pişmiş nuggetlarda D değerlerinin, sırası ile  $0,56 \pm 0,03$  ve  $0,69 \pm 0,03$  kGy, belirgin olarak farklıdır. Ancak taze veya pişmiş tavuk kıymasında bulunan D değerleri belirgin olarak farklı değildir. Taze veya pişmiş tavuk etinde gelişme *L. monocytogenes*'in radyasyon direncini etkilememiştir.

*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *V. parahaemolyticus* ve *C. jejuni* gibi bazı gıda kaynaklı patojenlerin radyasyon direncine ışınlama doz hızının etkisi Dion vd. (1994) tarafından incelenmiştir. En dirençli *L. monocytogenes* (D=1,16-0,38; Gram pozitif basil) ve en duyarlı *V. parahaemolyticus* (D=0,03-0,04; halofilik Gram negatif basil) olarak belirlenmiştir. Çalışılan doz hızlarının radyasyon duyarlılığında belirgin etkisi gözlenmemiştir.

## 2.2 Gıda Teknolojisinde Baharat Kullanımı

Baharat, çeşitli bitkilerin tohum, çekirdek, meyve, çiçek, kabuk, kök ve yaprak gibi çeşitli kısımlarında mevcut olan ve kendilerine özgü koku ve lezzet içeren ve gıdalara çeşni vermek veya hazmı kolaylaştırmak için katılabilen hardal, karabiber, kırmızı biber, kimyon, kekik, safran, anason, vanilya, karanfil, tarçın, zencefil gibi maddelerdir (Gençcelep vd. 2002).

Baharattan elde edilen uçucu yağlar ve uçucu yağ içeren oleorezin, gıda sanayisinde ürünlere tat ve lezzet vermek için kullanılan temel çeşni maddeleridir. Baharatın karakteristik aroması, içerdiği eterik yağlar, kristalize olabilen uçucu maddeler ve keskin lezzeti olan maddelerden ileri gelmektedir. Baharatın tadını uçucu olmayan bileşikler verdiği halde, koku uçucu yağlardan kaynaklanır. Baharatta az ya da çok uçucu yağ bulunmaktadır. Uçucu yağlarda bulunabilen bileşikler; terpenler, aromatik bileşikler, azot ve kükürtlü bileşikler ile düz zincirli hidrokarbonlardır. Kırmızı biber,

içerdiği askorbik asit nedeniyle üründe renk oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Bazı baharat çeşitleri antioksidatif etkilidir. Baharatın antioksidan etkisi fenolik bileşiklerden ileri gelmektedir. En fazla bulunanlar flavanoidler ile fenol karboksilik asittir. Aromatik halkadaki -OH grubu sayısının fazlalığı antioksidan etkiyi artırmaktadır. Antioksidan etki gösteren baharat olarak özellikle biberiye, adaçayı, mercanköşk, karanfil, kekik ve kırmızıbiber sayılmaktadır (Akgül 1993).

Baharatın en fazla kullanıldığı gıda gruplarından birisi et ürünleridir. Et ürünlerinde kullanılan toplam baharat, bazı ürünler hariç % 2-3 ile sınırlıdır (Öztaş 2003). Bazı ürünlerde kullanılan baharat o ürünün bileşeni gibi olmuş ve katılmadığı takdirde beklenen tat ve aroma elde edilememektedir. Örneğin, ülkemizde üretilen Türk sucuğuna ilave edilen kimyon ve kırmızı biber bu üründe mutlaka bulunması gereken baharat çeşitleridir. Bunlara ilaveten damak zevkine uygun lezzet kazandırmak için % 1 oranında da yaş sarımsak ilave edilmektedir. Çeşitli et ürünleri formülasyonunda en yaygın olarak kullanılan baharat çeşitleri: kırmızı biber (tatlı ve acı), karabiber, yenibahar ve zencefildir (Gökalp vd. 1994). Baharat sosis, salam, pastırma, sucuk, jambon, hamburger, köfte ve ham gibi birçok et ürününün hazırlanmasında kullanılan önemli bileşenlerdir.

Baharat hammaddesi mikroorganizma gelişimi için çok uygun olan sıcak ve nemli alanlarda yetiştirilir ve toplanır. Diğer tarımsal ürünlerde olduğu gibi, baharat hammaddesi toplanma, işleme ve satış sırasında toz, atık su ve hayvan dışkısı gibi çeşitli çevresel kontaminasyona maruz kalmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde baharatın gramında Enterobacteriaceae, maya-küf, *S. aureus* ve *B. cereus* için sırasıyla  $10^3$ ;  $10^5$ ;  $10^4$  ve  $10^4$  kob/g-mL maksimum limitleri belirlenmiştir. Bunun yanında 25 gram kuru baharat örneğinde hiç *Salmonella* spp. bulunmamalıdır (Anonim 2009).

Mikrobiyolojik kalite, özellikle Enterobacteriaceae yükü, baharatın yetiştirildiği ve işlendiği bölgenin hijyenik kalitesi için indikatördür (Schwab vd. 1982). İstenilen düzeyde mikrobiyolojik kaliteye sahip baharat, gıda koruma sistemlerinde antimikrobiyel aktivitesi açısından önemli bir faktördür. Hasattan gıdaya katılmasına

kadar olan aşamalarda nemin kontrol edilmesi, üretim sırasında uygun koşulların sağlanması, çalışanların eğitilmesi, uygun taşıma koşullarının sağlanması, uygun depolama, mikrobiyel kalitenin izlenmesi gibi doğru önlemlerin alınması gerekir (Souza vd. 2005).

Baharatın mikrobiyel florası baharatın kendisi ve bileşen olarak kullanıldığı gıdanın korunması açısından önemlidir. Çoğu baharat, antimikrobiyel özelliğe sahip olmakla birlikte, içerdiği mikrobiyel yük ile gıdalar için kontaminasyon kaynağı olabilir. Baharatın toplam bakteri sayısı, çeşide göre değişmekle beraber  $10^4$ - $10^7$  kob/g düzeyindedir. Genellikle *Bacillus* cinsine ait bakterilere rastlanırken, sporsuz bakterilerden sık olarak koliform ve enterokoklara seyrek olarak da *E. coli* 'ye rastlanır. Anaerob bakterilerin düzeyi aerob bakterilere kıyasla daha düşüktür ve genelde *Clostridium* türlerini içerir (Gönül 1999).

Baharat, şifalı otlar ve kurutulmuş sebzelerde mikrobiyel kontaminasyonun elimine edilmesinde ışınlama yaygın şekilde uygulanmaktadır. Işınlama, etilen oksit ve metil bromit uygulamalarının yerine etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Isıl işlem sonucu aromatik uçucu bileşiklerin kaybı ve ısı ile tetiklenen radikallerin üretimi veya termal dekompozisyonu gibi ilave değişimler gözlenirken, ışınlama baharatta daha az değişime neden olmaktadır (Sadecka 2007). Baharatta ticari steriliteyi sağlamada 10 kGy ışınlama uygulaması yeterli olmaktadır. Hijyenik koşullarda işlem gören baharat için 7 kGy doz uygulaması yeterlidir (Gönül 1999). 5-10 kGy doz uygulaması bakteri vejetatif hücre sayısında 6-7 log birimi ve bakteri spor sayısında 2-3 log birimi azalmaya neden olmaktadır. Çoğu ülke maksimum doz için yönetmelikte limitler belirtmiştir ve daha yüksek limitler daha yüksek düzeydeki mikrobiyel kontroller için önerilmiştir (Phianphak vd. 2007). ABD'de şifalı otlar için maksimum doz 30 kGy olarak belirlenmiştir (Anonymous 1986) ancak Türkiye'de uygulanan doz maksimum doz 10 kGy'dir (Anonim 1999).

Temiz vd. (1998) tarafından incelenen karabiber, kırmızı biber ve kimyon örneklerinde 7,5 kGy dozda ışınlamanın örneklerdeki mikroorganizma seviyesini uluslararası kabul edilebilirlik düzeyine indirmediği, ancak bu değerlere aynı orjinli kimyon ve karabiber

örnekleri için 5 kGy dozda ulaşılması, ışınlama uygulamasında başarının baharatın başlangıç mikrobiyel yüküne bağlı olarak değişebileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışma ışınlama ile baharatın mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesinin en iyi şekilde korunabildiğini ortaya koymuştur. Kimyon, karabiber ve kırmızı biberde D değerleri (kGy) sırasıyla *B. cereus*'da 2,41; 2,49 ve 1,49, *C. perfringens*'de 2,16; 2,16 ve 1,42, *E. coli* O157:H7'de 1,58; 1,65 ve 1,17, *S. Enteritidis*'de 1,63; 1,67 ve 1,22 olarak belirlenmiştir (Abbas 2002). Calenberg vd. (1998) X-ışını ve elektron demeti ile ışınlamanın biber, tatlı kırmızı biber ve hindistan cevizinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. X-ışınları için 50 Gy/dak ve elektron demeti için 1 veya 5 kGy/dak dozlarda ışınlamadan sonra koliform, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ve termofilik spor sayısı incelenmiş ve seçilen kuru baharatta iki ışınlama tekniği arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır.

Baharatın antimikrobiyel etkisi genel olarak çoğunluğu 150-160 dalton molekül ağırlıklı fenolik bileşiklerin oluşturduğu uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, antimikrobiyel aktivite denemelerinde baharat ekstraktları veya uçucu yağları kullanılmaktadır (Akgül 1993). Baharatın çeşidi ve kompozisyonu, kullanım miktarı, mikroorganizma tipi, gıdanın kompozisyonu, pH değeri, çevre sıcaklığı ve gıda ortamında bulunan proteinler, lipitler, tuzlar ve fenolik maddeler, antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesinde temel faktörlerdir (Sagdic 2003). Sarımsak ve soğan ekstraktlarının antimikrobiyel özelliklere sahip olduğu bilinmekte ve gıdaların saklanması yardımcı olmaktadır. Özellikle pastırma çemenlerinde ve sucukta kullanılan sarımsağın antimikrobiyel etkisi teknolojiye önem arz etmektedir (Gökalp vd. 1994). Baharatın antimikrobiyel etkisi çeşitler arasında farklılık gösterir. Çizelge 2.7'de baharat ve şifalı otların antimikrobiyel aktivitesi gösterilmektedir (Zaika 1988).

Ünlütürk (1999) tarafından belirtildiği gibi baharata karşı en hassas mikroorganizmalar Gram pozitif bakteriler, en dirençli mikroorganizmalar ise laktik asit bakterileridir. Et ve et ürünlerinde kullanılan baharatın patojen mikroorganizmalar üzerinde de antimikrobiyel etkileri söz konusudur. Uhart vd. (2006) sarımsak, zencefil ve zerdeçalın baharat ezmesine, tamponlanmış peptonlu suya ve ısı işlem görmüş sığır etine inoküle edilen *S. Typhimurium* DT 104 üzerindeki antimikrobiyel aktivitesini incelemiştir.

Örnekler 4 ve 8 °C'de 10 gün depolanmıştır. Baharat ezmelerinde sayım sonuçlarında azalma gözlenmiş ve en fazla azalma (3,39 log birimi) 4 °C'de depolanan sarımsak ezmesinde gözlenmiştir. Tamponlanmış peptonlu suda sarımsak 4 °C'de ve 8°C'de sırasıyla 1,5 log ve 1,0 log birimi azalmaya yol açmıştır. Baharat, sığır etine ilave edildiğinde inhibisyon etkisi azalmıştır.

Çizelge 2.7 Baharat ve şifalı otların antimikrobiyel etkinliği (Zaika 1988)

Inhibisyon etkisi	Baharat ve şifalı otlar
Kuvvetli	Tarçın, karanfil, hardal
Orta	Yenibahar, defne yaprağı, karaman kimyonu, kişniş otu, kimyon, yabani mercanköşk, biberiye, adaçayı, kekik
Zayıf	Karabiber, kırmızı biber, zencefil

Singh vd. (2003) tarafından yapılan başka bir çalışmada, kekik, karanfil ve yenibaharın esansiyel yağlarının *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyel etkisi in vitro koşullarda ve sosiste incelenmiştir. Kekik ve karanfil, peptonlu suda 1 g/L düzeyinde *L. monocytogenes*'e karşı oldukça etkili olmuş ve 1 mL/L düzeyinde bakteri popülasyonunu belirleme limitlerinin altına indirgemıştır. Kekik esansiyel yağının 1 mL/L düzeyinde yağsız ve az yağlı sosislerde bakteri seviyesinde belirgin olarak azalmaya neden olup, tam yağlı sosislerde etkisinin gözlenmediği bulunmuştur. Karanfil esansiyel yağı 1 mL/L düzeyinde bütün sosislerde antimikrobiyel etkili olurken ve 5 mL/L düzeyinde kekikten daha etkili olduğu belirlenmiştir. Gıda bileşenleriyle olan etkileşimlerinden dolayı esansiyel yağların etkinliğinin gıda sistemlerinde azaldığı sonucuna varılmıştır.

Baharat ve baharat ekstraktlarının ve esansiyel yağların antimikrobiyel etkileri üzerindeki çalışmalara ek olarak kimyasal bileşenlerin antimikrobiyel etkisi üzerine de yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır. Karapınar ve Aktug (1987) dört baharat bileşeninin, yani timol, ögenol, mentol ve anethol'ün *S. Typhimurium*, *S. aureus* ve *V. parahaemolyticus* üzerindeki antibakteriyel etkisini incelemiştir. En etkili olarak ögenol bulunurken bunu sırasıyla timol, anethol ve mentol takip etmiştir. Karvakrol,

(+)-karvon, timol ve transsinamaldehit'in inhibisyon etkisi Helander vd. (1998) tarafından *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium*'a karşı denenmiştir. Karvakrol, timol ve transsinamaldehit 1-3 mM düzeyinde *E. coli* ve *S. Typhimurium*'u inhibe ederken (+)-karvon daha düşük inhibisyon etkisine sahip olduğu bildirilmiştir. Karvakrol ve timol hücre dışı membranına zarar vermektedir. Karvakrol ve timol *E. coli*'de hücre içi ATP içeriğini azaltıp ve hücre dışı ATP düzeyini arttırarak sitoplazma membranında tahrip edici etki göstermektedir.

### **2.3 Hasarlı Hücreler**

Gıda gruplarında mikroorganizma sayılarının yanlış tahmin edilmesi ve temsili gıda örneklerindeki patojen mikroorganizma varlığının belirlenememesi halk sağlığı açısından önemli bir tehlikedir. Ayrıca, gıdaların ve gıda bileşenlerinin mikrobiyolojik yönden incelenmesi tüketiciye gıdanın güvenli olduğunu, stabilitesini, uygun depolama koşullarındaki raf ömrünü, proste uygulanan sanitasyon düzeyini göstermede gıda mikrobiyologlarına yardımcı olmaktadır. Mikrobiyel yük ve tipi bir gıda ürünü için belirtilen mikrobiyolojik standart, spesifikasyon veya yönetmeliklere uyulup uyulmadığı konusunda önemli bilgi verir.

Standart mikrobiyolojik yöntemlerde canlı bakteri belirlenmesinde gelişme ve bölünme temeldir, yani canlılık kültüre alınabilirlik ile eşdeğerdir. Kültüre alınabilirlik, tek hücreden gözle görülebilecek bir popülasyon oluşmasıdır; örneğin, Nutrient Agar besiyerinde koloni oluşturmasıdır. Kültüre dayalı teknikler uzun zamandır kullanılmaktadır.

#### **2.3.1 Subletal hasar**

Hasarlı hücre stress koşullarında canlı kalabilen ancak bazı belirgin özelliklerini kaybeden hücre olarak tanımlanmaktadır (Busta 1976). Çizelge 2.8'de subletal hasar gözlenen bazı önemli patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmalar gösterilmektedir (Ray 1996).

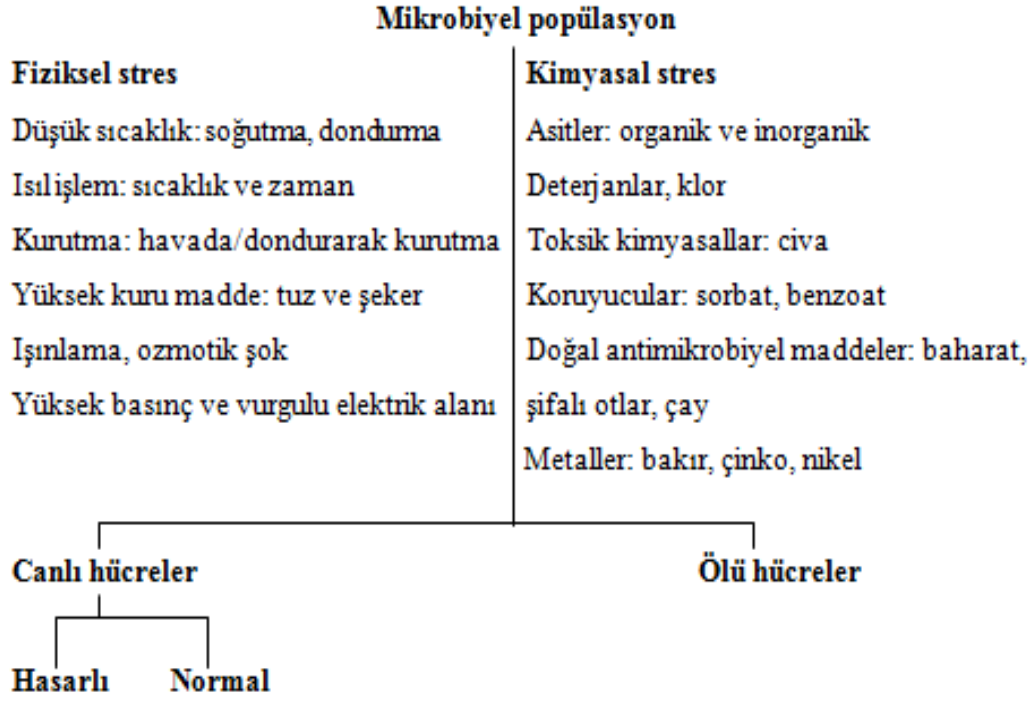
Çizelge 2.8 Subletal hasar belirlenen bazı önemli mikroorganizmalar (Ray 1996)

---

Gram pozitif patojenik bakteriler	<i>S. aureus</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>B. cereus</i>
Gram negatif patojenik bakteriler	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., Enteropatojenik <i>E. coli</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>A. hydrophila</i>
Gram pozitif bozulma etmeni bakteriler	<i>C. sporogenes</i> , <i>C. bifementum</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. stearothermophilus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. coagulans</i>
Gram negatif patojenik bakteriler	<i>Pseudomonas</i> spp.
Gıda biyoprosesinde kullanılan Gram pozitif bakteriler	<i>L. lactis</i> subsp., <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. Acidophilus</i>
Gram pozitif indikatör bakteriler	<i>E. faecalis</i>
Gram negatif indikatör bakteriler	<i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>Klebsiella</i> spp.

---

Seçici olmayan ortamda koloni oluşturabilen ancak seçici ortamda koloni oluşturmayan hücreler ilk defa Hartsell (1951) tarafından hasarlı hücre olarak tanımlanmıştır. Normal hücreler ile kıyaslandığında, hasarlı hücrelerde hasarın onarılması ve gelişme için gerekli protein ve nükleik asitlerin sentezi için lag fazının uzadığı görülmektedir (Shintani 2006). Hasarlı hücre, hücresel hasarı onarabilir (canlandırma) ve seçici maddelerin olduğu ortamda koloni oluşturabilir ancak ölü hücre herhangi bir koşul altında koloni oluşturamaz (Palumbo 1989). Canlı mikroorganizma popülasyonu fiziksel veya kimyasal uygulama sonucunda ölü, hasarlı ve hasarsız olmak üzere üç şekilde bulunur. Mikroorganizmaların hasar alması, ısıtma uygulaması, soğutma, dondurma, kurutma, ışınlama gibi gıda prosesleri sonucunda veya koruyuculara maruz kalma, asitlik ve düşük su aktivitesi gibi uygulamalar sonucunda oluşmaktadır. Hasar görmüş mikroorganizmaların belirlenmesi son üründe kalite ve gıda güvenliği açısından oldukça önemlidir (Şekil 2.3)



Şekil 2.3 Mikroorganizmalar üzerinde subletal uygulamaların etkileri (Wu 2008)

*Hücresel değişimler:* Ray (1979) tarafından ifade edildiği gibi hücre hasarının boyutu hasarın tipini belirler (Wu 2008). Bütün hasarlı hücrelerde görülen geçirgenlik bariyerinin zarar görmesi sonucu seçici maddelere karşı duyarlılığın artması yapısal hasarı gösterir. Ayrıca, bazı hücrelerde metabolik aktiviteyle ilişkili olan bazı fonksiyonel bileşenlerin de hasar görmesi metabolik hasarı gösterir.

Çevresel streslere maruz kalan gıda kaynaklı mikroorganizmalarda besinsel gereksinimler artış gösterir. MacConkey, Deoxycholate veya Violet Red Bile Agar (VRBA) gibi seçici besiyerlerine kıyasla yüksek besin içeriğine sahip seçici olmayan besiyerlerinde daha fazla geri kazanım sağlanabilir. Lag fazının uzaması, seçici ortam ajanlarına artan duyarlılık, hücre membranının ve trikarboksilik asit döngüsünün (TCA) enzimlerinin zarar görmesi, ribozomların yıkıma uğraması ve DNA hasarı gibi durumlar mikroorganizmalardaki hasar sonucudur. Subletal ısıl işlem hasarında ribozomların ve hücre membranının hasarı belirgin olmasına rağmen, bütün zararlı maddeler tanımlanabilir hasarlar oluşturmaz (Jay 1992).

Hurst (1977)'de hasarlı hücrelerde geçirgenlik bariyerlerinin (yüzey yapıları ve sitoplazmik membran) zarar gördüğünden, hasarlı hücrenin çoğu seçici maddelere veya antimikrobiyel maddelere karşı hassasiyet gösterdiği belirtilmiştir. Örneğin, vurgulu elektrik alanı ile mikrobiyel inaktivasyonda etki, hücre membranı üzerindedir. Hasarlı hücreler  $Mg^{++}$ ,  $K^+$ , aminoasitler, 260 nm'yi absorbe eden materyal (nükleik asitler) ve 280 nm'yi absorbe eden materyal (protein) gibi bazı hücrel materyalleri kaybeder. *E. coli*'nin donmuş hücreleri, aminoasitleri, küçük molekül ağırlığına sahip ribonükleik asitleri ve peptitleri, ısı işlem ile hasar görmüş *S. aureus* hücreleri potasyum, aminoasitleri ve proteinleri kaybeder. Hücre içi bileşenlerinin kaybı hücre membranına zarar verir ve gelişmeyi ve hücre çoğalmasını zayıflatır.

Bazı hasarlı hücrelerin metabolik aktiviteleriyle ilişkili fonksiyonel bileşenlerinin zarar görmesi sonucu metabolik hasar gözlenir. *L. bulgaricus*'da ribozomlar ve/veya proteinler 65 °C ve biraz üzerinde ısı işlem uygulandığında denatüre olmakta ve hücre duvarı parçalanmakta; DNA hasarı 90 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda ise ölüme neden olduğu bildirilmiştir (Teixera vd. 1997).

Dondurarak kurutma sırasında hasar görmüş *S. aureus* S-6 suşu hücrelerinde RNA replikasyonunun sonlandığı Fung ve Vanden Bosch (1975) tarafından saptanmıştır (Wu 2008). Allwood ve Russell (1968) ise, ısı işlem uygulaması ile *S. aureus* hücrelerinde, ribozomal RNA'nın parçalandığını göstermiş, trikarboksilik asit siklusundaki enzimlerde, RNA replikasyonunda ve DNA'da hasar gözlenebildiğini bildirmiştir.

Alpas vd. (2003), *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7'nin yüksek basınç uygulamasına gösterdiği hassasiyetin farklı olmasına karşın, hücre ölümünde ribozomal denatürasyonun temel faktör olduğunu göstermiştir. Bakteriyosin veya bakteriyosin ve yüksek basıncın kombine uygulaması ile *L. monocytogenes*'te hücre duvarı ve hücre membranının zarar gördüğü ve hücre parçalanmasının olduğu ve kombine uygulama ile hasarın etkisinin arttığını bildirmiştir (Kalchayanand vd. 2004).

Lacroix vd. (2009), yabancı mercanköşk esansiyel yağının kültür ortamında *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'nin radyasyon duyarlılığını arttırmadaki etkisini

incelemiştir. Etki mekanizmasının anlaşılması için gama ışınlanması tek başına veya esansiyel yağ ile kombine uygulanmıştır. Membran murein kompozisyonu ile hücre içi ve dışı ATP konsantrasyonu belirlenmiştir. Işınlama ile esansiyel yağların kombine uygulaması radyasyon duyarlılığını 3,1 kattan daha fazla arttırmıştır. Uygulamalar murein kompozisyonuna belirgin bir etkiye sahip iken, bazı muropeptitler uygulamadan etkilenmemiş gözükmektedir. Her bir uygulama muropeptitlerin yüzdesini ve sayısını farklı etkilemiştir. Esansiyel yağ uygulaması sonucu hücre içi ATP azalması ve hücre dışı ATP artışı arasında belirgin korelasyon vardır. Kombine uygulamada hücre içi ATP azalması daha önemlidir. Ancak, *L. monocytogenes*'in tek başına ışınlanması hücre dışı ATP'yi etkilemeksizin hücre içi ATP'de belirgin bir azalmaya neden olmuştur.

Popülasyondaki bütün hücreler aynı düzeyde hasara maruz kalmaz ve tüm stres türleri benzer hasarlar oluşturmaz. Stresin tipi, mikrobiyel tür, gıdanın kompozisyonu ve kıvamı ve depolama koşulları hasarda etkili olan faktörlerdir. Hasar görmüş mikroorganizmaların etkili geri kazanma yöntemlerinin geliştirilmesinde bu faktörler ve farklar dikkate alınmalıdır (Jay 1992).

### **2.3.2 Canlı fakat kültüre edilemeyen durum**

Hücre, gelişme sıcaklık aralığının dışında inkübasyon, yetersiz besin ortamı, çeşitli ozmotik derişimler (örneğin, deniz suyu), oksijen derişimi ya da beyaz ışığa maruz kalma gibi doğal stres formlarına yanıt olarak, canlı fakat kültüre edilemeyen duruma geçer. Bunlar, hücre dormant duruma geçmediği takdirde genelde ölümcül olabilecek çevresel streslerdir. Ayrıca, bazı çalışmalarda normalde bakteri için bakterisidal olduğu kabul edilen işlemlerin de hücrede canlı fakat kültüre edilemeyen duruma yol açtığı gösterilmiştir. Örneğin, sütün pastörizasyonu (Gunasekera vd. 2002) ve atık suyun klorlanması gibi uygulamalar bunları kapsamaktadır (Oliver 2005). Canlı fakat kültüre edilemeyen durumdaki bakteri normal koşullarda gelişeceği ve koloni oluşturabileceği rutin besiyerinde gelişemez ancak canlıdır ve metabolik aktiviteyi yeniden kazanabilir. Canlı fakat kültüre edilemeyen durumdaki hücreler çok düşük düzeylerde metabolik aktivite gösterir fakat canlandırmada yeniden kültür edilebilir duruma geçer.

Canlı fakat kültüre edilemeyen duruma geçen türlerin sayısı şimdilik yaklaşık 60 olmakla beraber giderek artmaktadır. *Campylobacter* spp., *E. coli*, *Francisella tularensis*, *Helicobacter pylori*, *Legionella pneumophila*, *L. monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* ve *V. vulnificus* bunlara örnek olarak verilebilir (Oliver 2005).

Türlerin başarılı bir şekilde gelişmesi için besin kısıtlamasının ve birtakım streslerin mikroorganizmalar tarafından üstesinden gelinmesi gerekir. Canlı fakat kültüre edilemeyen durumdaki organizmanın canlılığını koruması ve çevredeki koşullar uygun olduğunda normal duruma geçmesini, sporülasyonu takiben gözlenen germinasyona benzetilebilir (Gupte vd. 2003).

*Canlı fakat kültüre edilemeyen hücreler ile hasar görmüş hücrelerin farkı:* Bakterideki hasar, normalde inhibe edici etkisi olmayan gelişme ortamına karşı artan duyarlılık olarak tanımlanır (Mackey 2000). Hasar durumu geçicidir ve kümülatif hücre hasarından kaynaklanır. Hasar görmüş hücre uygun koşullarda yeniden gelişmeye başlar. Bakteride ölüm ise hasarlı hücrenin yeniden gelişmesini sağlama yeteneğinin üstünde olduğu durum olarak belirtilir.

Canlı fakat kültüre edilemeyen hipotezi, belirgin bir farklılaşma programı olan uzun süre canlı kalma durumunu önerir. Bu durum, ölüm ile sonuçlanan kısa süreli hasar durumundan açıkça farklıdır. Canlı fakat kültüre edilemeyen durumdan canlandırma, kültüre edilemeyen hücrelerin, kültüre edilebilir duruma geçerken yeniden gelişme sonucu hücre sayısında artış olmamasıdır (Bogosian ve Bourneuf 2001).

Hasarlı ve kültüre edilemeyen mikroorganizmalar arasındaki fark başlangıçta bu duruma neden olan koşullar arasındaki farktan olduğu ve takiben gözlenen fizyolojik karakteristikleriyle ilişkilendirilmiştir. Subletal hasar fiziksel veya kimyasal strese maruz kalma ve seçici olmayan ortamda gelişirken, seçici ortamda gelişme yeteneğini kaybetmesi olarak düşünülmüştür. Canlı fakat kültüre edilemeyen hücreler tipik olarak aç kalma durumuyla ilişkilidir ve seçici olmayan ortamda dahi gelişemez. Bu ayrımlar

birbirine girmiştir; çünkü canlı fakat kültüre edilemeyen terimi aerosolizasyon gibi ani fiziksel etkiye maruz kalan hücreler için de kullanılmaktadır. Oksidatif strese duyarlı olmasından dolayı hasarlı hücrelerin de seçici olmayan ortamda gelişmemesinin belirlenmesi sonucu fizyolojik özelliklerdeki farklar daha az nettir (Mackey 2000).

### **2.3.3 Hasarlı hücrelerin geri kazanımı/onarımı**

Subletal hasar görmüş hücreler uygun koşullar altında onarılmakta ve gelişme ve hücre bölünmesini takiben normal fizyolojik koşullara geri dönmektedir. Canlandırma, hasarlı hücrelerin kaybettiği yetenekleri geri kazanması olarak tanımlanmaktadır (Hurst 1984).

Abbis (1983) ve Busta (1976, 1978) tarafından yapılmış araştırmalarda hasar görmüş mikroorganizmaların optimal geri kazanımı değişik koşullarda gösterilmiştir. Örneğin, ideal olmayan koşullar, onarılamaz hasara neden olabilir. Bu durum ölüme kadar uzanır (Wu 2008). Tiwary ve Maxcy (1972), gıdada birçok mikroorganizma için geri kazanım protokollerinin incelenmesine rağmen, incelenen hasar veya stres ajanlarının ısıtma, dondurma, soğuk muhafaza ve kurutma ile sınırlandırıldığını belirtmiştir. Işınlamanın gıda endüstrisinde dekontaminasyon yöntemi olarak uygulanması artış göstermesine rağmen, ışınlamayı takiben hasarlı mikroorganizmaların geri kazanımını inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (Lucht vd. 1997).

Hasar görmüş mikroorganizmalarda onarım hızı ve düzeyi, uygulama sonrası inkübasyon sıcaklığını da içeren birtakım çevresel faktörlere bağlıdır. Genel olarak ışınlama hariç diğer stres tipleri sonucu gözlenen hasarın *E. coli*'de onarılması optimal olarak 30-37 °C'de gözlenmektedir (Ray 1986). Ray ve Speck (1973) tarafından maksimum onarım için gereken sürenin, hasarın doğasına göre değişmesine rağmen dondurma, kurutma, asit veya tuz uygulamasına maruz kalan *E. coli* hücrelerinin 30 dakikada tamir olduğu gösterilmiştir. Isıl işlem sonucu hasar gören hücrelerin tamiri 3-4 saat sürmektedir (Warseck vd. 1973). Hasarlı hücrelerin geri kazanımı ışınlama sonrası depolama sıcaklığına bağlıdır (Tiwari ve Maxcy 1972). *E. coli* ve *Salmonella* için geri kazanım sıcaklığa bağlıdır. *S. faecalis* radyasyona dirençlidir ve ışınlama sonrası depolama sıcaklığında da etkilenmez.

Bozoglu ve Caner (1988) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* ve *Salmonella* ile kontamine edilmiş gıda örneklerinin ışınlanması sonucu ölü, canlı ve subletal hasar görmüş hücre olmak üzere üç tip hücre gözlenmiştir. Işınlama sonucu gözlenen hasarın onarılabileceği bulunmuştur. Tavuk ve dana kıyması  $10^8$ /g düzeyinde *L. monocytogenes* SLCC 9488 ile inoküle edilerek gama kaynağında ışınlanmıştır (Gursel ve Gurakan 1997). *L. monocytogenes* tavuk kıymasında dana kıymasına göre ışınlamaya daha duyarlıdır. Işınlama sırasında sıcaklık kontrol edilmediği için gözlenen farkın etin fiziksel veya kimyasal kompozisyonundan ileri geldiği sonucuna varılamamıştır.

Tarte vd. (1996) tarafından yapılan başka bir çalışmada domuz kıyması beş *Listeria* suşu ile inoküle edilmiş ve elektron hızlandırıcıda 1-1,25 kGy dozlarında ışınlanmıştır. *L. innocua*, diğer üç *L. monocytogenes* suşuna ve *L. ivanovii*'ye göre ışınlamaya karşı daha dirençlidir. *L. monocytogenes*'in patojenik suşlarında ışınlama sonucu subletal hasar gözlenmemiştir. Patojen suşlar, subletal hasarın onarımı için belirgin olarak çok etkili mekanizmalara sahiptir. *L. monocytogenes*'in patojen olmayan suşlarında, *L. innocua* ve *L. ivanovii*'de subletal hasar gözlenmiştir. Subletal hasar görmüş hücreler seçici ortamda seçici olmayan ortamdaki gibi gelişemez. Subletal ışınlama hasarlı hücreler gelişme ve onarımını engelleyen selektif ortama ekildiğinde işlemin etkinliği yanlış tahmin edilebilir.

Sherry vd. (2004), ısı işlem, yüksek basınç ve ışınlama ile hasar görmüş 40 adet *S. Enterica* serotipini incelemiş ve seçici olmayan ve seçici ortam sayım sonuçlarını kıyaslamıştır. Isıl işlem ve yüksek basınç hasarı belirgindir ve sayım sonuçları arasındaki fark sırasıyla 0,74 ve 0,66 kob/mL'dir. Ancak, ışınlama belirgin bir hasara yol açmamıştır ve sayım sonucu arasındaki fark 0,05 kob/mL düzeyindedir.

Hasarın bir başka etkisi de, *Salmonella* için gözlenen lag fazın uzamasıdır. Isıl işlem, dondurma, kurutma ve gama ışınlamasının *S. Typhimurium*'un lag fazına etkisi Mackey ve Derrick (1982) tarafından çalışılmış ve subletal hasarın onarılması için geçen süre belirlenmiştir. Isıl işlem ve dondurma sonucu gözlenen hasarın onarılması için gereken süre, kurutma veya gama ışınlamasına göre daha uzundur. Lag fazın belirlenmesi ile kısa veya uzun canlandırma uygulamasına karar verilir. Isıl işlem sonucu hasar gören

popülasyonda lag fazı 9 saat iken bazı hücrelerin onarım sonucu % 3 NaCl'e direnç göstermesi 14 saat sürmüştür. Bu nedenle *Salmonella*'nın maksimum geri kazanımının sağlanması için ön zenginleştirme uygulanır.

Sarjeant vd. (2005) *S. Typhimurium* ile kontamine edilen tavuk göğsünü 0; 1; 2 ve 3 kGy dozlarında elektron hızlandırıcıda ışınlamıştır. 1 kGy'de ışınlanan örnekte başlangıçta *Salmonella* tespit edilmiş ancak 2 ve 3 kGy'de ışınlanan örneklerde sayım alınamamıştır. Ancak ışınlama sonucu hasar gören hücrelerin onarımı için zenginleştirme ortamı kullanıldığında tüm dozlarda *Salmonella* belirlenmiştir. Yüksek dozlarda ( $10^8$  gibi) inokülasyon yapıldığında, 3 kGy dozda bile onarım sonucu enfeksiyon için tehdit oluşturabilecek yeterli sayıda hücre bulunduğu belirlenmiştir.

Canlandırma amacıyla, başlangıçta sıvı ortamlar kullanılmasına rağmen daha sonra katı ortamlar da kullanılmıştır. Onarım sırasında, normal gelişmeden önce gelişme yeteneklerinin geri kazanımı söz konusudur. İnkübasyon sırasında çoğu hücrel modifikasyonlar tersine çevrilir ve kaybolmuş hücre bileşenleri yapılandırılır. Subletal ısı, dondurma, kurutma ve ışınlama hasarları sonucunda ribozomların ve membranın onarımı geri kazanım için gereklidir (Jay 1992). Besinsel olarak zengin ve seçici olmayan ortamda uygun inkübasyon sıcaklığında 2-4 saat içinde çoğu hasarlı hücre onarılır. Hasar sırasında kaybolan RNA'nın tekrar sentezlenmesi onarımın ilk basamağında kritiktir (Ray 1986). Patojenlerdeki hasar, hastalık oluşturmalarını engellese bile hücreler onarıldıktan sonra patojenite tekrar kazanılır.

Onarım mekanizması stresin veya hasarın doğasına bağlıdır. En azından hasarın onarılmasının ilk aşamasında enerji sentezine ihtiyaç duyulur. Enerji sentezi elektron transport sistemindeki oksidatif fosforilasyon ile ATP sentezi şeklindedir. Dondurarak kurutulan *S. Anatum* popülasyonunda bazı hücrelerde hücre duvarında bulunan lipolisakkaritin hasar gördüğü ve ATP sentezinin onarım için gerekli olduğu Ray vd. (1972) tarafından belirlenmiştir.

Ray ve Adams (1984) tarafından ifade edildiği gibi, hasarın doğasından bağımsız olarak hasarlı vejetatif hücreler için (a) uygun ortamlarda inkübe edildiğinde hasar onarılır (b) stres faktörüne bağlı olarak optimum sıcaklık ve süre değişir (c) tamamen onarılan

hücreler ortamdaki seçici maddelere karşı normal direncini tekrar kazanır ve (d) onarım hücre bölünmesinin önüne geçer. Bu nedenle geleneksel yöntemlerle izolasyon veya sayımdan önce hasarlı hücrelerin onarılmasına olanak verilmelidir.

Çizelge 2.9'da Hurst (1977), Blankenship (1981), Zayaitz ve Ledford (1985) tarafından yapılan araştırmalarda değişik uygulamalar sonucu gözlenen hasar ve onarım gösterilmektedir (Ray 1986, Przybylski ve Witter 1979, Jay 1992, Wu 2008).

Çizelge 2.9 Değişik uygulamalar sonucu gözlenen hasar ve onarımı  
(Ray 1986, Przybylski ve Witter 1979, Jay 1992, Wu 2008)

	Uygulamalar			
	Dondurma	Isıl işlem	Kurutma	Asitlendirme
<i>Hasar</i>				
<b>Hasarın büyüklüğü</b>				
Hüresel materyalin kaybı	+	+	+	-
Seçici maddelere hassasiyet	+	+	+	+
Bazı enzimlerin aktivasyonu	+	+	+	+
<b>Hasar bölgesi</b>				
Hücre duvarı bileşenleri	+	+	+	-
Hücre membranı	+	+	+	-
Ribozomlar ve ribozomal RNA	+	+	+	+/-
<i>Onarım</i>				
<b>De novo sentez</b>				
Mukopeptit	-	-	-	-
rRNA	+	+	+	+/-
DNA	-	-	-	-
Protein	-	+	+	+
ATP	+	+	+	+

Dış veya sitoplazmik membran hasarının onarılmasında, hasarlı hücreler sıvı ortamda inkübe edilir ve katı besiyerindeki sodyum deoksiçolat veya sodyum klorüre gösterdiği dirençteki değişim izlenir (Mackey 2000). Sıvı ortama ilave edilen inhibitörler ile

membran onarımı için gerekli biyosentetik gereksinimler ortaya çıkar. Bu amaçla, protein sentezi için kloramfenikol, RNA sentezi için rifambisin ve enerji metabolizması için sodyum azid kullanılmıştır (Ray ve Speck 1972). Chilton vd. (2001), yüksek basınç uygulanan *E. coli* hücrelerinin besiyerinde bulunan sodyum azide veya sodyum klorüre karşı hassasiyetinin arttığını göstermiştir. Hücreler 37 °C'de Tryptic Soy Broth'da inkübe edildiğinde subletal membran hasarı onarılmıştır. İnhibisyon çalışması stoplazmik membranın onarımının enerjiye bağlı olduğunu ve RNA ve protein sentezinin gerekli olduğunu gösterirken, dış membran hasarında enerji, RNA veya protein sentezi gerekli değildir.

### **2.3.4 Hasarlı hücrelerin belirlenmesi**

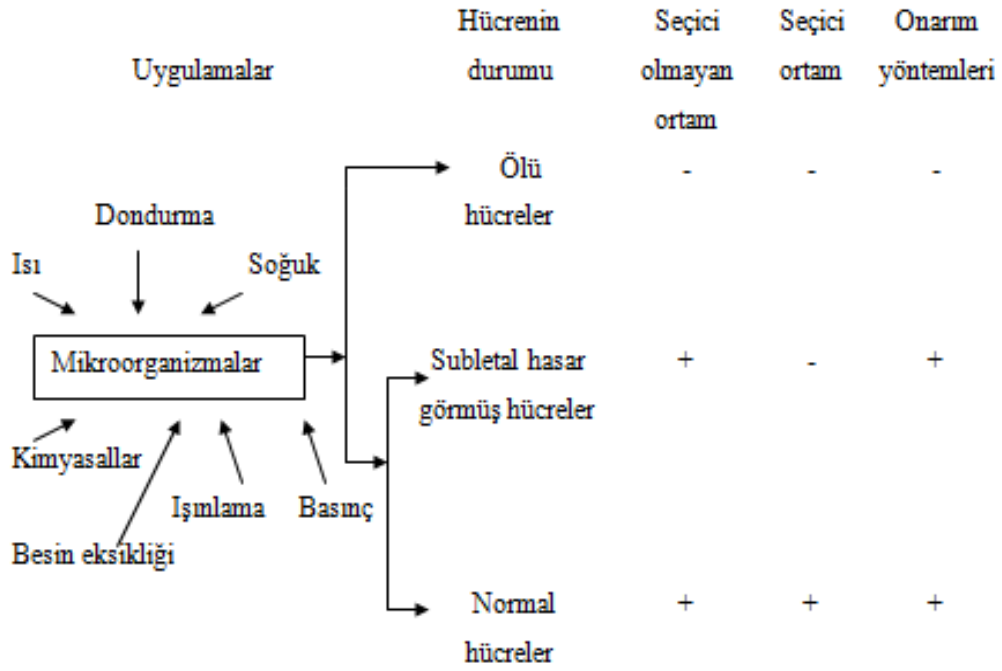
Gıdalarda mikroorganizmaların izolasyonu ve sayımı için kullanılan kabul görmüş yöntemlerde hasarlı mikroorganizmaların onarımı sağlanamamakta ve tespitite başarısız olunmaktadır. Patojen, bozunma etmeni veya diğer mikroorganizmaların seçici ve diferansiyel tespitinde katı ve sıvı ortama yüzey aktif ajanlar, tuzlar, antibiyotikler, sulfanilamidler, asitler ve boyalar gibi seçici bileşikler ilave edilmektedir. Bu tür maddeler, hasarlı mikroorganizmaların canlandırılmasını engellemektedir. Örnekteki hasarlı mikroorganizmalar uygun bir ortamda canlandırıldıktan sonra selektif maddeleri içeren ortamlara aktarılmalıdır (Wu ve Fung 2001, 2003, 2006, Wu vd., 2001). Seçici olmayan ortamlar normal ve subletal hasarlı hücrelerin gelişmesine olanak verirken karışık popülasyondan hedef patojenleri ayıramaz (Şekil 2.4).

Busta (1976), Ray (1979) ile Foegeding ve Ray (1992) tarafından seçici ortama maruz kalmadan önce hasarlı mikroorganizmaların onarımını sağlayacak birçok yöntem geliştirildiği belirtilmiştir. Hasarlı mikroorganizmaların tespiti için yöntemlerin geliştirilmesindeki prensipler:

- (1) Hasarlı hücreler ortamdaki çoğu seçici bileşiklere karşı geçici olarak hassas hale geçer.
- (2) Hassasiyet hücrede stoplazmik membranın hasarı sonucu gözlenebilir.
- (3) Hasar tersinirdir ve besin açısından zengin seçici olmayan ortamda onarılabilir ve onarılan hücreler seçici bileşiklere karşı direncini ve bölünme yeteneğini tekrar kazanır.

(4) Seçici ortama maruz kalmadan önce uygun ortamda onarılan hasarlı hücreler seçici ortamda sayılabilir veya izole edilebilir.

(5) Canlı kalan popülasyon normal ve hasarlı hücrelerden oluşur.



Şekil 2.4 Hasarlı ve normal hücrelerin çeşitli yöntemlerle geri kazanımı (Wu 2008)

Onarım yöntemleri sıvı veya katı olmak üzere gruplandırılabilir. Sıvı ortamda onarım yöntemi, en muhtemel sayım (EMS) tekniği ile sayım ve patojen ve indikatör bakterilerin izolasyonu amacıyla uygulanır. Katı ortamda onarım yöntemi seçici yöntem ile sayılan organizmaların doğrudan sayılması için kullanılır (Wu 2008).

*Sıvı ortamda onarım yöntemleri:* Sıvı ortamda onarım yönteminde gıda örneği hasarın onarılması için seçici olmayan bir ortamda inkübe edilir. Çoğu mezofil organizmalar için 25-37 °C’de inkübasyon daha etkili olurken, optimum onarım için 1-5 saatlik inkübasyon süresi kullanılmıştır. Seçici izolasyonda onarım ilk basamak olarak sıklıkla kullanılmakta ve takiben patojen ve indikatör bakteriler için ekim veya EMS tekniğine geçilmektedir. Ancak, özellikle inkübasyon süresi uzatıldığında seçici katı ortamdaki

sayım sonucu hasarlı hücrelerin onarılmasının yanında normal hücrelerin çoğalması sonucu olabilir. Onarım için yapılan inkübasyonda normal hücreler ve hedef olmayan hücreler de çoğalacağından, kurumsal analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde bu yöntemin etkin olmayacağı Ray (1979) ve Ray ve Adams (1984) tarafından belirtilmiştir. Ayrıca, EMS tekniği sonuçlar arasında farklılık göstermekte, zaman alıcı (yaklaşık 48-96 saat) ve (sarf malzemesi ve iş gücü açısından) ekonomik değildir (Wu 2008).

Sıvı ortamda canlandırma, katı ortama kıyasla daha basit ve hızlıdır. Kang ve Siragusa (2001), mikroorganizmaların sayımı ve subletal hasar görmüş koliform bakterilerin sayımında iki kat dilüsyon yöntemini kullanmıştır. İki kat dilüsyon seti 96 kuyucuklu mikropalakada tamponlanmış peptonlu su kullanılarak hazırlanır ve hasar görmüş hücrelerin canlandırılması için 37 °C'da 3 saat inkübe edilir. Takiben, her bir kuyucuğa eşit miktarda çift kuvvette seçici sıvı ortam ilave edilir ve karanlıkta 37 °C'da 13 saat daha inkübe edilir. Yöntem zaman ve yer tasarrufu sağlamasına rağmen tekrar kültüre edilme olmaksızın mikroorganizmaların izolasyonuna olanak vermemektedir.

*Katı ortamda onarım yöntemleri:* Katı ortamda onarım yönteminde dökme plak veya yüzeye yayma yöntemiyle seçici olmayan ortama ekim yapılır ve uygun sıcaklık (25-37 °C) ve süre (1-4 saat) inkübe edilerek onarıma olanak verilir. Takiben Petri kutuları 7-12 mL seçici agarlı besiyeri ile kaplanır ve inkübe edilir. İnkübasyonda seçici ortamda bulunan seçici maddeler seçici olmayan ortama difüzlenir ve seçici ortam oluşur. Hasarlı hücreler onarıldığı için seçici maddeler ile inhibe olmaz ve çoğalarak koloni oluşturur. Sadece hedef organizmalar seçici ortama direnç gösterir ve sayılabilir (Wu 2008).

Katı ortamda onarım yöntemi, geleneksel seçici değerlendirme yöntemi yerine kullanılabilir. Sıvı onarım yöntemi ile kıyaslandığında daha direk ve ekonomiktir. Ancak Ray (1979) tarafından belirtildiği üzere sonuçlar düşük sayılarda (<10 kob/g) değişkendir. Bazı bakteriler zayıf koloni oluşturur ve izolasyonları zordur. Kaplamada kullanılan katı besiyerinin sıcaklığı da canlanmakta olan hasarlı hedef hücreleri etkileyebilir.

Hartman vd. (1975) ve Speck vd. (1975), hasarlı hücrelerin geri kazanımı ve sayımı için yüzey kaplama yöntemini geliştirmiştir. Hasarlı hücrelerin onarımı ve canlandırılması için, hasarlı hücreler seçici olmayan ortamda uygun bir sıcaklıkta 2-4 saat inkübe edilir. Üzeri seçici ortam ile kaplanır ve uygun sıcaklıkta 21-24 saat daha inkübe edilir. Seçici olmayan ortamda onarım ve takiben seçici ortamın kullanılması hasarlı organizmanın daha fazla onarımına olanak vermektedir. Ray ve Adams (1984) tarafından belirtildiği gibi yöntem az miktardaki örnekler için etkili olduğundan düşük sayıdaki organizma içeren örnekler için uygun değildir. İki katı besiyeri arasında gözlenen kolonilerin izolasyonu zor olabilir. Hasarlı hücrelerin sayımı için uygun bir yöntem olmasına rağmen işlem basamaklarından dolayı uygulaması biraz zahmetlidir (Kang ve Fung 2000).

Katı onarım yöntemi kullanarak Oscroft vd. (1987), donmuş tavuk, sığır kıyması, fasulye ve yengeçlerde doğal mikrofloranın geri kazanımını incelemişlerdir. Hall's Resuscitation Agar (HRA), Tryptic Soy Agar (TSA), Minerals Modified Glutamate Agar (MMGA) ve Plate Count Agar (PCA) ortamlarında canlandırmayı takiben sayım sonuçları aerobik koloni sayımları (APC) ile kıyaslanmıştır. HRA ve MMGA sayım sonuçları normal APC sayım sonuçlarından belirgin olarak daha yüksektir. HRA, test edilen gıdalar için etkili iken, MMGA'a göre daha yüksek geri kazanım sağlanmıştır. TSA ya da PCA'da canlandırmayı takiben geri kazanımda mikroorganizma gelişimi gözlenmemiştir. Geri kazanım için denenen canlandırma sıcaklıklarının optimal olmadığı ve 20 °C ve 30 °C'deki onarımın kıyaslanabilir düzeyde olduğu belirlenmiştir.

İnce agar tabaka (Thin Agar Layer; TAL) yöntemi, Kang ve Fung (1999) tarafından geliştirilmiştir. Patojene spesifik seçici ortam (~25 ml) 14 mL seçici olmayan ortam (TSA) ile kaplanır ve uygun sıcaklıkta 24 saat inkübe edilir. Hasarlı hücreler TSA besiyerinde onarılır ve ilk birkaç saat inkübasyon sonunda normal fonksiyonlarını gösterir. Onarılan hücreler alt tabakada bulunan seçici ortamdaki maddelerle etkileşime girerken, diğer mikroorganizmalar seçici maddelerden inhibe olur. Bu yöntem ile yüzey kaplama yöntemindeki zahmetli işlem basamakları azaltılmıştır. Isıl işlem sonucu hasar görmüş (55 °C'de 10 dakika) *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* ve *Y. enterocolitica*'nın geri kazanımında kullanılmış ve test edilen patojenler

için iyi seçicilik ve geri kazanım sağlanmıştır (Wu ve Fung 2001). TAL yöntemi soğuk ile hasar görmüş (-20 °C'de 2 saat ve takiben 25 °C'de 2 saat) *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* sayımında kullanılmıştır. Seçici ortamdaki elde edilen sonuçlar TSA veya TAL'dan elde edilen sonuçlardan daha düşüktür. TAL yönteminin seçici ortama göre daha iyi geri kazanım kapasitesi gösterdiği ve hedef organizmaların ayırımında TSA'ya göre daha iyi seçicilik gösterdiği belirlenmiştir.

Gıda işleme sırasında ısıtma, soğutma, düşük sıcaklık ve antimikrobiyel maddelerin beraber veya kombine uygulaması sonucu patojenlerde hasar gözlenebilir. Kombine uygulamaların verdiği hasar farklı olabilir. TAL yönteminin gerçek gıda sisteminde çoklu engel ile hasar görmüş patojenlerin geri kazanımında etkinliği değerlendirilmiştir. *Cornus* meyvesi ekstraktı ilave edilen elma suyunda *E. coli* O157:H7'nin geri kazanımında TAL yönteminin etkinliği belirlenmiştir (Wu vd. 2008). *Cornus* meyvesi ekstraktı oda sıcaklığında ve buzdolabında saklanan meyve suyunda *E. coli* O157:H7'yi inhibe edebilir ve elma suyunda kontaminasyonu engellemek için depolama sıcaklığı ve süresi ile kombine olarak kullanılabilir. TAL yöntemi çeşitli uygulamalarda hasar gören bakteriler için geri kazanım ortamı olarak düşünülebilir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Bu çalışmada, bakteri kültürleri olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 6538 kullanılmış ve TAEK-SANAEM Uygulama Bölümü Gıda Birimi kültür koleksiyonunda bulunan mikroorganizmalardan yararlanılmıştır.

Stok kültürler Tryptic Soy Agar (TSA; Merck) yatık besiyerinde  $4\pm 2$  °C'de saklanmış ve iki ayda bir yenilenmiştir. Ayrıca, kültürler 5 mL'lik şişecikler içinde  $-12\pm 2$  °C'de % 20 (w/v) gliserol (Merck) çözeltisi içinde saklanmıştır. Stok kültürler kullanılmadan önce 5 mL'lik Tryptic Soy Broth (TSB; Merck)'a aşılanmış  $37$  °C'de yaklaşık 17 saat inkübe edilerek 1 kez aktifleştirilmiş ve inokülümdeki canlı hücre sayısı belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan kıyma, perakende satış mağazasından alınmış ve  $2\pm 1$  °C'de laboratuvara getirilmiş ve 100 g'lık porsiyonlarda paketlenip 25 kGy'de ışınlanmıştır. Işınlama uygulamasını takiben kıyma paketleri analize kadar  $-20\pm 2$  °C'de depolanmıştır. Kıyma örnekleri her deneyden önce,  $4\pm 2$  °C'de bir gece bekletilerek çözündürülmüştür.

Ayrıca çalışmada kullanılan hazır köfte baharatı, perakende satış mağazasından alınmış ve yulaf ezmesi, galeta unu, karabiber, acı biber, kişniş, köri, kimyon, soğan, sarımsak, maydanoz, tuz, aroma arttırıcı ve toz şeker içerdiği bildirilir. Baharat örnekleri 25 kGy'de ışınlanmıştır. Baharattaki mikroorganizma yükü Plate Count Agar (PCA; Merck)'a ekim yapılarak kontrol edilmiştir.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Işınlama işlemi

Işınlama işlemi, Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi (TAEK-SANAEM)'nde gerçekleştirilmiştir. İşlemin gerçekleştirildiği ışınlama cihazı, Issledovatelj (Gamma-cell) firması tarafından 6 Nisan 1994 tarihinde 10568 Ci aktivite ile kurulmuş Co-60 kaynağıdır.

Işınlanacak malzeme asansör yardımıyla ışınlama alanına indirilmiş, kapağı kapatılmış ve ışınlama işlemi uygulanmıştır. Işınlama işlemi sona erdikten sonra ışınlanan malzeme kapak açılarak yukarı alınmıştır.

Örneklerin absorbladığı dozları belirlemek için ışınlama işlemi sırasında Gammachrome YR dozimetre (Chromwell, UK) kullanılmıştır. Absorbanstaki değişim spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

### 3.2.2 *E. coli* ve *S. aureus* radyasyon duyarlılığının belirlenmesi

50 g'lık kıyma ve köfte numunesi 0,5 mL kültür ( $\sim 10^8$ - $10^9$  kob/ml) ile aşılansmış ve 1 dakika el masajı ile yoğurulmuştur. Köfte örnekleri hazırlanırken, 50 g'lık steril kıyma örneğine 5 g'lık steril hazır köfte harcı eklenmiş ve 1 mL steril damıtık su ilave edilerek yoğurulmuştur. Her doz için 5 g'lık 9 paket hazırlanmış ve ışınlama işleminden önce 1 gece buzdolabında bekletilmiştir.

Belirlenen mikroorganizmalarla inoküle edilmiş örnekler 0,00; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50; 1,75; 2,00 kGy dozlarında ışınlanmış ve işlem sırasında sistemin doz hızı 1,20-1,24 kGy/saat olarak belirtilmiştir.

Işınlama işleminden sonra her bir ışınlama dozu için kullanılan 5 g'lık kıyma örnekleri 45 mL'lik Maximum Recovery Diluent (MRD; Merck) içinde 2 dakika homojenize edilmiştir.  $10^{-1}$  olan seyreltiden MRD seyreltme sıvısı ile standart 1:9 oranında ardışık seyreltmeler yapılmıştır. Her seyreltiden 1 mL/0,1 mL alınarak TSA besiyerine aktarılmış ve petrideki besiyerlerine dökme/yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben mikroorganizma sayımları yapılmış ve standart yöntemle hesaplanarak sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (Anonim 2005).

Elde edilen sayım sonuçları ile grafik çizilerek D değerleri hesaplanmıştır (Dickson 2001). Takiben, mikroorganizmanın belirlenen ortamdaki radyasyon duyarlılığı kontrol koşulları ile karşılaştırılmıştır. Kontrol örneği kontamine edilen sığır kıymasıdır. Bağlı radyasyon duyarlılığı (RRS) katsayısı incelenen organizma için belirli test ortamında hesaplanmaktadır. RRS katsayısı, kontrol ortamındaki D değerinin belirlenen ortamdaki D değerine oranı olarak ifade edilmektedir. Herhangi bir uygulama için, RRS katsayısı >1 ise radyasyon duyarlılığını ifade eder; RRS katsayısı <1 ise radyasyona karşı korumayı ifade eder; RRS katsayısı 1 olduğunda uygulamanın radyasyon duyarlılığına etkisi olmadığını ifade eder (Borsa vd. 2004).

Denemeler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.3 *E. coli* ve *S. aureus* sayım sonuçlarına uygulamaların etkisinin belirlenmesi**

Çalışmamızda dört uygulama kurulmuş ve bunlar kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi, ışınlama+köfte harcı ilavesi isimleri ile adlandırılmıştır.  $4\pm 2$  °C'de 10 gün ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 gün süre ile depolanan örneklerde belli aralıklarla genel ve selektif besiyerinde sayım sonuçları alınmıştır.

Kontrol olarak adlandırılan uygulamada, 100 g steril kıyma örneği 1 mL kültür ( $\sim 10^8$ - $10^9$  kob/ml) ile aşılansmış ve 1 dakika el masajı ile yoğurulmuştur. Bir gece buzdolabında bekletilip,  $4\pm 2$  °C'de 10 gün ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 gün süre ile depolanmıştır.

2. grup örnekler: Bu grup örnekler, 100 g steril kıyma örneği 1 mL kültür ( $\sim 10^8$ - $10^9$  kob/ml) ile aşıl原因arak ve 1 dakika el masajı ile yoğurularak hazırlanmıştır. İlk aşamada hesaplanan D değerlerinden yola çıkılarak 0,50 kGy ışınlama dozu seçilmiştir. Uygulama sırasında sistemin doz hızı 1,11-1,12 kGy/saat olarak belirtilmiştir. Işınlama işlemine kadar 1 gece buzdolabında bekletilmiş ve bu süre sonunda 0,50 kGy'de ışınlanmıştır. Işınlanmış örnekler  $4\pm 2$  °C'de 10 gün ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 gün süre ile depolanmıştır.

3. grup örnekler: Bu grup örnekler, 100 g steril kıyma örneğine 10 g steril hazır köfte harcı eklenmiş ve 2 mL steril damıtık su ilave edilerek elle yoğurulmuş; daha sonra 1 mL kültür ( $\sim 10^8$ - $10^9$  kob/mL) ile aşıl原因arak ve 1 dakika el masajı ile yoğurularak hazırlanmıştır. Bir gece buzdolabında bekletilen örnekler  $4\pm 2$  °C'de 10 gün ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 gün depolanmıştır.

4. grup örnekler: Bu grup örnekler, 100 g steril kıyma örneğine 10 g steril hazır köfte harcı ve 2 mL steril damıtık su ilave edilerek yoğurulmuş; 1 mL kültür ( $\sim 10^8$ - $10^9$  kob/mL) ile aşıl原因arak ve 1 dakika el masajı ile yoğurularak hazırlanmıştır. Işınlama işlemine kadar 1 gece buzdolabında bekletilip, 0,50 kGy'de ışınlanmıştır ve  $4\pm 2$  °C'de 10 gün ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 gün depolanmıştır.

#### *Uygulamalarda E. coli sayısındaki değişimin belirlenmesi*

MRD içerisinde uygun seyreltmeler hazırlanmış ve seçilen besiyerlerine ekim yapılmıştır.

Genel besiyeri olarak TSA besiyeri kullanılmış ve her seyreltiden 0,1 mL alınarak TSA besiyerine aktarılmış ve yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon süresi sonunda mikroorganizma sayımı yapılmış ve sayım sonuçları standart yöntemle hesaplanarak kob/g olarak verilmiştir (Anonim 2005).

Selektif besiyeri olarak Violet Red Bile Lactose Agar (VRBA; Merck) besiyeri kullanılmış ve her seyreltiden 0,1 mL alınarak VRBA besiyerine aktarılmış ve yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 °C’de 24-48 saat inkübasyonu takiben sayımları yapılmış ve sayım sonuçları standart yöntemle hesaplanarak kob/g olarak verilmiştir (Anonim 2005).

#### *Uygulamalarda S. aureus sayısındaki değişimin belirlenmesi*

MRD içerisinde uygun seyreltmeler hazırlanmış ve seçilen besiyerlerine ekim yapılmıştır.

Genel besiyeri olarak TSA besiyeri kullanılmış ve her seyreltiden 0,1 mL alınarak TSA besiyerine aktarılmış ve yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 °C’de 24-48 saat inkübasyonu takiben sayımları yapılmış ve sayım sonuçları standart yöntemle hesaplanarak kob/g olarak verilmiştir (Anonim 2005).

Selektif besiyeri olarak Baird Parker Agar (BPA; Merck) besiyeri kullanılmıştır. Her seyreltiden 0,1 mL alınarak BPA besiyerine aktarılmış ve yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 °C’de 24-48 saat inkübasyonu takiben sayımları yapılmıştır ve sayım sonuçları standart yöntemle hesaplanarak kob/g olarak verilmiştir (Anonim 2005).

Denemeler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

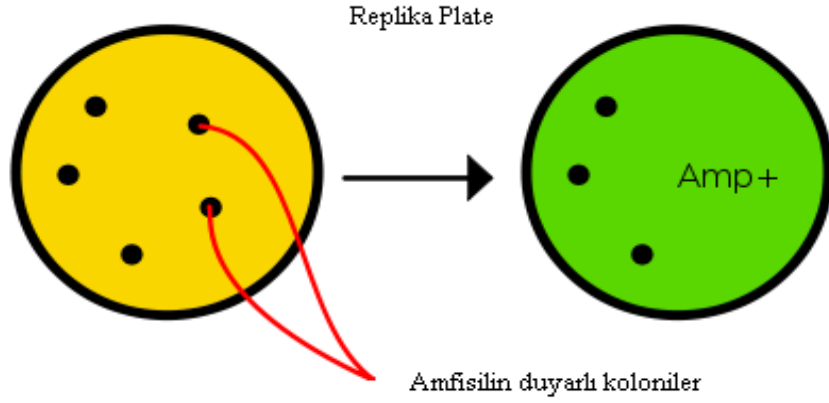
### **3.2.4 Replika Plate yönteminin uygulanması**

Replika Plate yöntemi ilk kez Lederberg ve Lederberg (1952) tarafından geliştirilmiştir. Moleküler biyolojide ve mikrobiyolojide Replika Plate yöntemi, birinci Petri kutusunda gelişen kolonilerin farklı seçici besiyerleri içeren bir veya daha fazla farklı Petri kutusuna inoküle edilmesidir.

Kadife kaplı disk veya nitroselüloz membran ya da filtre kağıdı, genel besiyeri içeren Petri kutusundaki kültür yüzeyine bastırılır ve orjinal Petri kutusundaki koloniler seçici besiyeri

içeren Petri kutusuna aynı konumda aktarılarak damgalanır. Genelde, yüksek sayıdaki kolonilerin her birinin ayrı ayrı farklı Petri kutularına sürülmesi zorluğundan dolayı Replika Plate yöntemi kullanılır.

Yöntemin amacı, seçici fenotip taranması için birinci Petri kutusu ile herhangi bir ikinci Petri kutusunun karşılaştırılmasını hedefler. Örneğin, birinci Petri kutusunda gözlenen ancak ikinci Petri kutusunda aynı konumda gelişmeyen koloni, bu koloninin ikinci Petri kutusundaki bir maddeye duyarlı olduğunu gösterir. Sıklıkla taranan fenotipler oksotrof ve antibiyotik dirençliliğidir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Replika Plate yöntemi ile Amp- kolonilerin belirlenmesi

Işınlanan ve köfte harcı ilave edilen örneklerde  $4\pm 2$  °C'de 10 günlük depolama ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 günlük depolama süresince Replika Plate yönteminin uygulanmasında kadife kaplı steril damgalar kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Replika Plate yönteminde kullanılan damga

Replika Plate yönteminin *E. coli* için etkinliğinin belirlenmesi:

37 °C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben genel besiyeri olan TSA besiyerinde gelişen koloniler steril damga ile VRBA selektif besiyerine aktarılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben iki besiyerinde gelişen koloniler arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Replika Plate yönteminin *S.aureus* için etkinliğinin belirlenmesi:

37 °C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben genel besiyeri olan TSA besiyerinde gelişen koloniler steril damga ile BPA selektif besiyerine aktarılmıştır. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyonu takiben iki besiyerinde gelişen koloniler arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Denemeler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.5 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi**

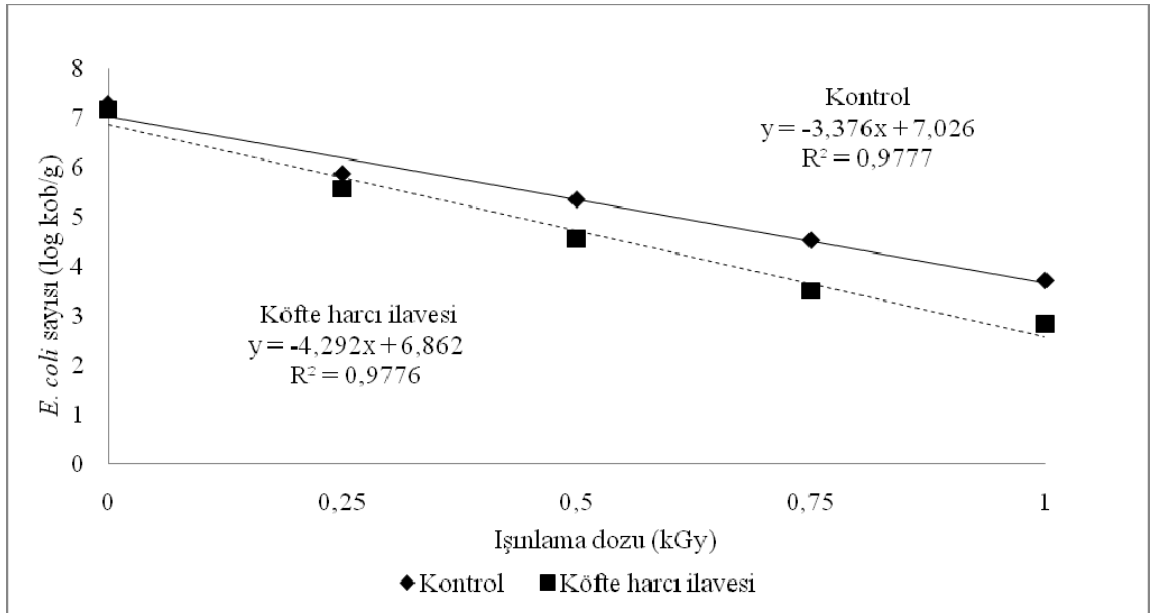
Analizler için MINITAB (ver. 15, Minitab Inc., State College, PA, ABD) paket programı kullanılmıştır. Grup ortalamalarının arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı Varyans Analizi Tekniği (ANOVA) ile saptanmıştır. ANOVA sonucunda gerekli olduğu zaman hangi grup ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olduğu Duncan testi MSTAT-C (Michigan State University, East Lansing, MI, ABD) kullanılarak belirlenmiştir (Düzgüneş vd. 1987).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1 *E. coli* ve *S. aureus* Radyasyon Duyarlılığına Işınlama ve Baharat İlavesinin Etkisi

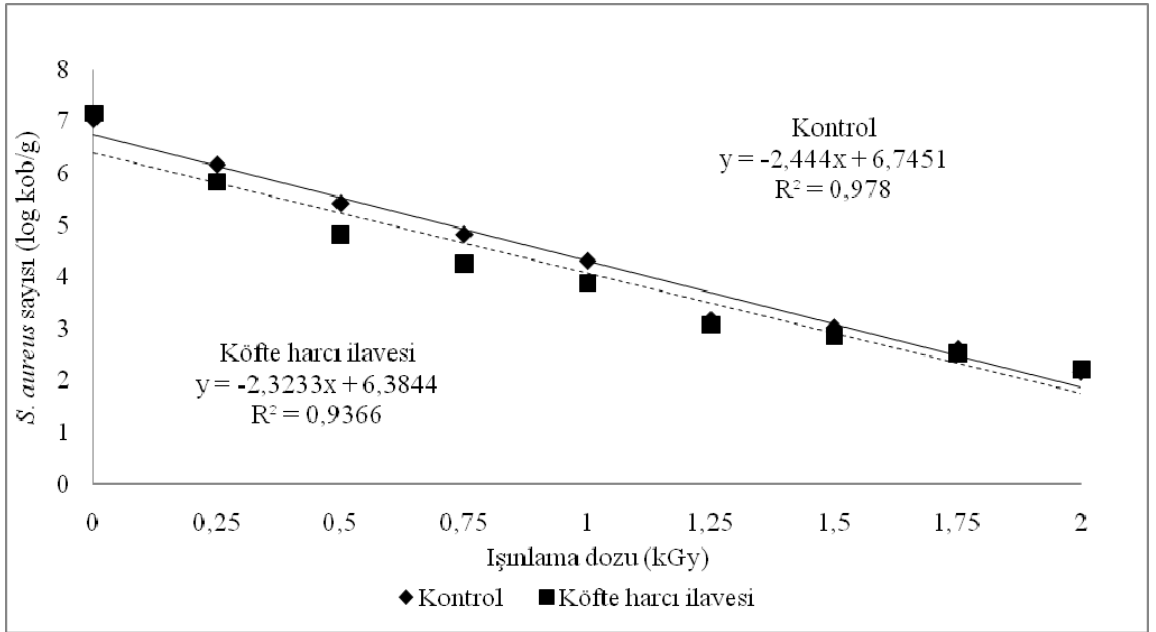
Işınlama ve köfte harcı ilavesinin *E. coli*'nin radyasyon duyarlılığına etkisi şekil 4.1'de gösterilmiştir. Kıyma ve köftede D değerleri sırasıyla 0,296 ve 0,233 kGy'dir. Bulunan değerler sığır ve tavuk etinde belirtilen 0,16-0,39 kGy değerleri ile uyusmaktadır (Patterson 1988, Thayer vd. 1995).

Şekil 4.1'den anlaşılacağı gibi, köfte harcı ilavesi *E. coli*'nin radyasyon duyarlılığını arttırmıştır. Mahroure vd. (2003), biberiye, kekik ve limon suyunda marinasyon ile ışınlamayı kombine uygulamış ve kanatlı etinde belirgin olarak radyasyon duyarlılığında artış olduğunu gözlemiştir. Işınlama ile mikrobiyel inaktivasyonun mekanizması DNA'daki kimyasal bağların kopması, membran geçirgenliğinin ve diğer hücresel fonksiyonların değişimidir ve bu durumun antimikrobiyel moleküller ile hücre membranının etkileşimini sağladığı ve inhibisyon etkisini arttırabildiği bildirilmiştir (Lacroix vd. 2004).



Şekil 4.1 Köfte harcı ilavesinin *E. coli*'nin radyasyon duyarlılığına etkisi

Işınlama ve baharat ilavesinin *S. aureus*'un radyasyon duyarlılığına etkisi şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kıyma ve köftede D değerleri sırasıyla 0,409 ve 0,430 kGy'dir. Bulunan değerler sığır ve tavuk etinde belirtilen 0,22-0,58 kGy değerleri ile uyuşmaktadır (Thayer ve Boyd 1992). Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı Gram negatiflere göre çok daha kalındır ve bol miktarda peptidoglikan içerir. Gram negatif bakterilerin hücre duvarı ise daha ince ve komplekstir. Farklı katmanlardan oluşur ve çok az peptidoglikan içerir. En dışta lipopolisakkarit ve proteinden oluşan bir dış zar bulunur. Yapılarındaki bu farklılıklar ışınlama duyarlılığını etkilemekte ve sonuçta Gram pozitif bakterileri ışınlamaya karşı Gram negatiflere göre daha dirençli hale getirmektedir (Manas ve Pagan 2005). Yapılan bir çalışmada, *E. coli*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* için sığır kıymasında D değerleri sırasıyla 0,33; 0,39 ve 0,43 kGy olarak bulunmuştur (Kiss vd. 2001).



Şekil 4.2 Köfte harcı ilavesinin *S. aureus*'un radyasyon duyarlılığına etkisi

Şekil 4.2'den anlaşılacağı gibi, köfte harcı ilavesi *S. aureus*'un radyasyon direncinde artışa sebep olmuştur. Yapılan bir çalışmada, kırmızı biber, karabiber ve zencefilin sulu ekstraktlarının *E. coli*, *B. megaterium* ve *B. pumilus* sporlarının gama radyasyon

duyarlılığına etkisi araştırılmış ve baharat ekstraktlarının gama radyasyonu ile inaktivasyona karşı koruma sağladığı sonucuna varılmıştır (Sharma vd. 2000). Elde edilen sonuçlara göre koruma etkisinin baharat bileşenleri ile DNA'nın korunması sonucu olabileceği bildirilmiştir. Bu araştırma, gıdada bulunan baharatın radyasyon proseslerinde dozu değiştiren faktörler olarak önemini göstermiştir.

*E. coli* ve *S. aureus* için hesaplanan RRS katsayıları çizelge 4.1'de verilmiştir. Köfte harcı ilavesi, *E. coli* radyasyon duyarlılığında (RRS) 1,27 kat artışa neden olurken, *S. aureus* için radyasyon direncinde 0,95 kat artışa neden olmuştur. Köfte harcı ilavesinin *S. aureus* için gama radyasyonu ile inaktivasyona karşı koruma sağladığı sonucuna varılabilir. Işınlama esnasında gıda bileşenlerinin mikroorganizmalar için koruma sağladığı bilinmektedir (Josephson ve Peterson 1983). Lacroix vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, yabani mercanköşk esansiyel yağının *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* radyasyon duyarlılığını sırasıyla 3,10 ve 2,75 kat arttırdığı belirlenmiştir. Borsa vd. (2004), kıymada transsinamaldehit ilavesinin *E. coli*'nin radyasyon duyarlılığına etkisini incelemiştir. Kontrol, % 0,025 ve % 1,10 (w/w) transsinamaldehit ilave edilen ortamda D değerleri sırasıyla 0,126; 0,115 ve 0,037 kGy bulunurken, buna karşılık gelen RRS katsayıları 1,00; 1,10 ve 3,41 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 *E. coli* ve *S. aureus* için RRS katsayıları

Uygulama	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	D (kGy)	RRS	D (kGy)	RRS
Kontrol	0,296	1,00	0,409	1,00
Köfte harcı ilavesi	0,233	1,27	0,430	0,95

## 4.2 Işınlama ve Baharat İlavesinin *E. coli* ve *S. aureus* Gelişimi Üzerine Etkisi

Hasarlı bakteriler normal koşullarda direnç göstereceği maddelere karşı hassasiyet kazanır. Kültürde hasarın belirlenmesi için selektif ve selektif olmayan besiyelerine ekim yapılır ve uygun inkübasyonu takiben koloniler incelenir. Seçici olmayan besiyerinde gelişen koloniler hasarlı ve hasarsız hücreleri gösterirken, seçici besiyerinde sadece hasarsız hücreler gelişme gösterir. Her iki koşuldaki sayım sonuçları arasındaki fark, orjinal kültürdeki hasarlı hücrelerin sayısının bir ölçüsüdür (Jay 1992). Subletal hasar etkisinden bahsedilmesi için, *E. coli* ve *S. aureus* için aktifleştirmeyi takiben genel ve selektif besiyerinde elde edilen sayım sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Aktif kültürde genel ve selektif besiyerinde sayım sonuçları arasında fark gözlenmemiştir.

Çizelge 4.2 *E. coli* ve *S. aureus* sayım sonuçları (log kob/g) ve standart sapmaları

<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
TSA	VRBA	TSA	BPA
9,20±0,09	9,18±0,10	8,96±0,01	8,95±0,02

### 4.2.1 Işınlama ve baharat ilavesinin *E. coli* sayım sonuçlarına etkisi

*Soğukta depolama:*

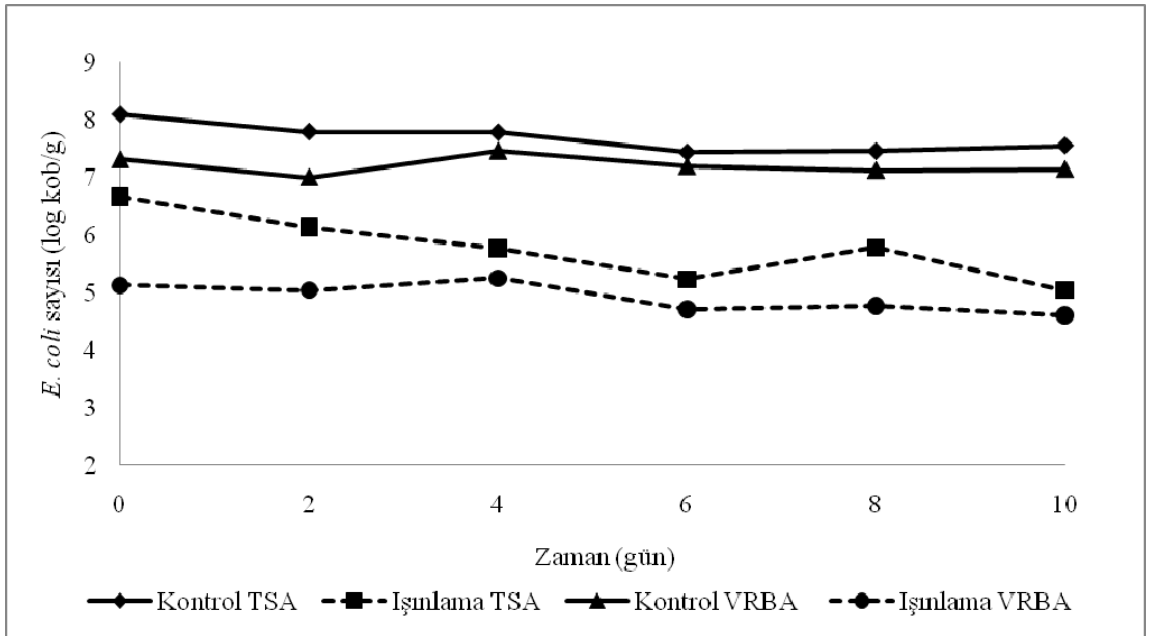
*E. coli* için 4±2 °C’de 10 günlük depolamada kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi sonucu genel ve selektif besiyerinde elde edilen sayım sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.3 4±2 °C’de 10 günlük depolamada *E. coli* sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları

Uygulama		0	2	4	6	8	10	Ortalama
Kontrol	TSA	8,09 ±0,84	7,79 ±0,69	7,78 ±0,60	7,43 ±1,18	7,45 ±0,60	7,55 ±0,57	7,442 <sup>a</sup> ±0,761
	VRBA	7,31 ±1,31	7,00 ±0,85	7,46 ±0,68	7,19 ±1,15	7,12 ±0,52	7,14 ±0,54	
Işınlama	TSA	6,66 ±0,46	6,13 ±0,57	5,77 ±0,30	5,23 ±0,65	5,78 ±0,72	5,04 ±0,27	5,343 <sup>c</sup> ±0,781
	VRBA	5,13 ±0,91	5,04 ±0,60	5,25 ±0,38	4,71 ±0,62	4,76 ±0,93	4,60 ±0,25	
Köfte harcı ilavesi	TSA	7,68 ±0,19	7,55 ±0,22	7,39 ±0,14	7,45 ±0,40	6,78 ±0,34	6,34 ±0,63	7,0833 <sup>b</sup> ±0,5635
	VRBA	7,21 ±0,25	7,18 ±0,22	7,32 ±0,13	7,26 ±0,41	6,67 ±0,24	6,16 ±0,73	
Işınlama+Köfte harcı ilavesi	TSA	5,80 ±0,39	4,57 ±1,20	4,50 ±0,81	3,89 ±1,19	4,36 ±0,55	4,12 ±0,71	4,252 <sup>d</sup> ±0,974
	VRBA	4,98 ±0,54	3,85 ±1,14	4,08 ±0,84	3,33 ±1,31	3,85 ±0,48	3,68 ±0,85	
Ortalama		6,608 <sup>A</sup> ± 1270	6,140 <sup>B</sup> ±1,557	6,195 <sup>B</sup> ±1,483	5,811 <sup>BC</sup> ±1,819	5,847 <sup>BC</sup> ±1,393	5,579 <sup>C</sup> ±1,452	

\* Depolama süresi ortalamalarının karşılaştırılmasında büyük harfler, uygulama ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler kullanılmış olup, aynı veya ortak harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemli değildir (p>0,05).

Işınlanan ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* için alınan sayım sonuçları Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Buzdolabı koşullarında depolama süresince *E. coli* sayısı azalmıştır. Kontrol örneklerinde başlangıç 8,09 (TSA) ve 7,31 (VRBA) log kob/g olan *E. coli* sayısı depolama sonunda sırasıyla 7,55 ve 7,14 log kob/g düzeyine azalmıştır. Işınlama, kontrol ile kıyaslandığında TSA besiyerinde 1,62 log azalmaya neden olurken (TSA: 6,66'dan 5,04 log kob/g'a) VRBA besiyerinde 0,53 log azalmaya neden olmuştur (VRBA: 5,13'den 4,60 log kob/g'a).

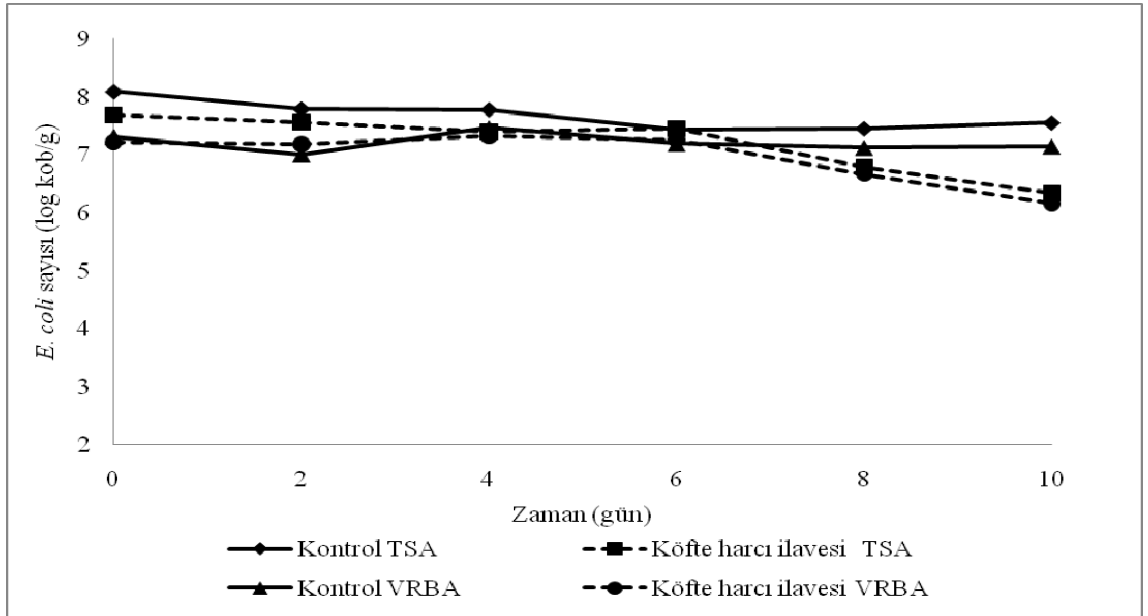


Şekil 4.3 Işınlama ve  $4\pm 2$  °C depolamanın *E. coli* sayım sonucuna etkisi

Işınlama ve soğukta depolama gıda muhafazasında en sık kullanılan kombine uygulamadır. Yapılan bir çalışmada, buzdolabında depolanan tavuk kıymasında artan ışınlama dozu ve depolama süresince *E. coli* sayımlarında azalma gözlenmiştir ve 2 kGy ışınlama yaklaşık 3 log birimi azalmaya neden olmuştur. 6 ve 8 kGy'de ışınlanan örneklerde *E. coli* tespit edilmemiştir. 28 günlük depolamada kontrol ve 2 kGy'de ışınlanan örneklerde *E. coli* sayısında yaklaşık 2 log birimi azalma gözlenmiştir (Spoto vd. 2000). Banati vd. (1993)

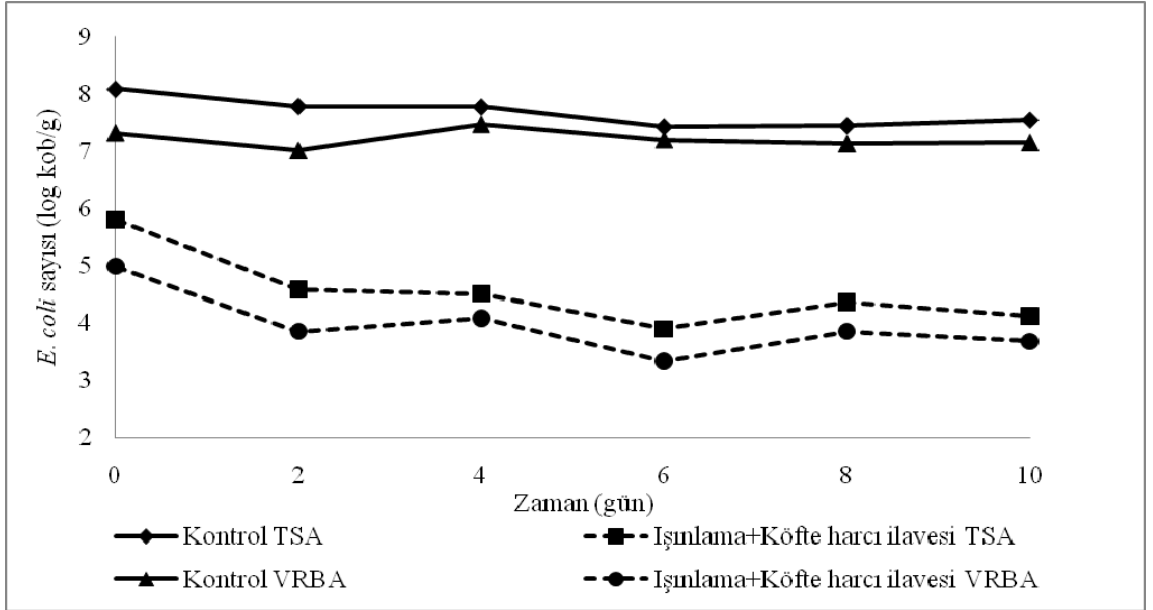
tavuk etinde 2 kGy ışınlama dozunun 4 log birim azalmaya yol açtığını tespit etmiştir. Şekil 4.3'ten görüldüğü üzere, TSA besiyerindeki elde edilen sonuçlarımıza göre 2 kGy ışınlama dozu yaklaşık 6 log birim azalmaya yol açmaktadır.

Şekil 4.4'te köfte harcı ilave edilen ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* sayım sonuçları verilmiştir. Köfte harcı ilave edilen örneklerde *E. coli* sayısı genel besiyerinde 7,68 log kob/g'dan 6,34'e azalırken selektif besiyerinde 7,21 log kob/g'dan 6,16'ya azalmıştır. Hazır köfte harcının içeriğinde karabiber, acı kırmızı biber, kişniş, köri, kimyon, soğan, sarımsak ve maydanoz yer almaktadır. Köfte harcı antimikrobiyel etkiye sahiptir ancak kıyma gibi gıda ortamları kompleks yapıdadır ve protein, yağ, sıcaklık, iyonik güç ve pH gibi değişkenler antimikrobiyel etkiyi etkileyebilir. Shelef vd. (1984) yaptıkları bir çalışmada, inhibisyon etkisi için gıda ortamında kültür ortamına kıyasla daha yüksek oranlarda baharat düzeyinin gerekli olduğunu belirtmiştir. Gıdadaki yağ, protein ve su içeriği tuzda olduğu gibi mikrobiyel direnci etkiler. Yağ ve/veya su, karbohidratlara göre bakteriyi baharatın inhibisyon etkisinden korumada daha etkilidir.



Şekil 4.4 Köfte harcı ilavesi ve  $4\pm 2$  °C depolamanın *E. coli* sayım sonucuna etkisi

Şekil 4.5'te köfte harcı ilave edilen, ışınlanan ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* sayım sonuçları verilmiştir. Işınlama ve köfte harcı ilavesi TSA besiyerinde 1,68 log birim (TSA: 5,80'den 4,12 log kob/g'a) ve VRBA besiyerinde 1,30 log birim (VRBA: 4,98'den 3,68 log kob/g'a) azalmaya yol açmıştır.



Şekil 4.5 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $4\pm 2$  °C depolamanın *E. coli* sayım sonucuna etkisi

Karadağ ve Güneş (2007), hazır taze köfte ve kıymada toplam mezofil aerobik bakteri (TMAB) için D değerlerini sırasıyla 0,86 ve 1,26 kGy olarak tespit etmiştir. 4 °C'de depolanan örneklerde TMAB sayısı tüm köftelerde kıymadakinden daha az bulunmuştur. Işınlanmış köfte örneklerinde kıymaya göre daha fazla mikrobiyel inaktivasyon, daha düşük lipid oksidasyonu ve daha az istenmeyen duyuşal özellik gözlenmiştir. Köfte hazırlamada kullanılan baharat karışımı ile ışınlama sonucu oluşan kalite özelliklerindeki bozulma azalırken mikrobiyel inaktivasyon arttırmıştır. 3 kGy dozda ışınlanan köftelerin depolamanın ilk 3 gününde kalitelerinde önemli miktarda değişim gözlenmezken, TMAB sayısı 4 log birim azalarak raf ömrü mikrobiyel açıdan 14 gün uzatılmıştır. Daha yüksek doz ve daha uzun depolama sonucu kalitede istenmeyen değişiklikler tespit edilmiştir.

Kıyma için önerilen dozların kalitede belirgin bir değişime neden olmadan köfte için de güvenle kullanılabilceği belirtilmiştir (Karadag ve Gunes 2008).

Çalışmamızda yapılan istatistiksel değerlendirmede günler, uygulamalar ve besiyerleri ortalamaları arasındaki farkın *E. coli* sayısı bakımından istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). Çizelge 4.3’de görüldüğü üzere, 2.; 4.; 6. ve 8. günlerin ortalamaları ile 8. ve 10. günlerin ortalamalarının benzer olduğu; ancak 0. gün ortalamasının diğer günlerin ortalamalarından farklı olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). 6.; 8. ve 10. günlerin ortalamalarının da benzer olduğu bulunmuştur. Aynı çizelgede,  $4 \pm 2$  °C’de 10 günlük depolamada uygulamalara göre sayım ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi uygulamalarının ortalamalarının istatistiksel açıdan birbirinden farklı olduğu bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ).

Çizelge 4.4’te  $4 \pm 2$  °C’de depolanan örneklerde *E. coli* için hesaplanan % subletal hasar ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Subletal hasarlı hücre membran geçirgenliğindeki değişimler sonucu çoğu seçici bileşenlere karşı hassasiyet kazanır ve selektif besiyerinde gelişme yeteneğini kaybeder. Subletal hasarlı hücreler seçici olmayan besiyerinde çoğalır ve koloni oluşturur ancak seçici besiyerinde genelde koloni oluşturamaz. Yüzde subletal hasar, seçici olmayan ortamdaki sayım sonucu ile seçici ortamdaki sayım sonucu arasındaki farkın seçici olmayan ortamdaki sayım sonucuna bölünüp 100 ile çarpılmasıyla hesaplanır (Besse vd. 2000). En yüksek hasar oranı ışınlama uygulamasında gözlenmiş; bunun nedeninin ise, ilk anda iyonlaştırıcı radyasyonun DNA’daki kimyasal bağları kırması ve hücre geçirgenliğinde değişime neden olduğu düşünülmektedir. Mikroorganizmanın radyasyon duyarlılığı, iyonlaştırıcı radyasyonun direkt ve indirekt etkisine gösterdiği hassasiyet yanında tek ve çift iplikçik kırılmalarını onarım yeteneğine bağlıdır. Lacroix vd. (2004), kıymada *E. coli* ve *S. Typhi*’nin radyasyon duyarlılığını arttırmada en etkili bileşenin transsinamaldehit olduğunu tespit etmiştir. Transsinamaldehit hedef bakterideki aminoasit dekarboksilazı inhibe etmekte (Wendakoon ve Sakaguchi 1995) ve iyonlaştırıcı radyasyon DNA’daki kimyasal bağları kırmakta veya hücre geçirgenliğinde ve diğer hücre fonksiyonlarda değişime neden olmaktadır. Bunun

sonucunda antimikrobiyel moleküller ve hücre membranı arasındaki temas kolaylaşmakta ve inhibisyon etkisi artmaktadır. Tüketime hazır hamburgerde hijyenik kalitenin sağlanmasında gama ışınlamanın kullanılabileceği ve ışınlama sonucu duyu kalitenin korunması için biberiyenin kullanılması önerilmiştir (Lee vd. 2005).

Çizelge 4.4  $4\pm 2$  °C’de 10 gün depolanan örneklerde *E. coli* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları

	Uygulama		
	Işınlama	Köfte harcı ilavesi	Işınlama+köfte harcı ilavesi
Subletal hasar (%)	63,63 $\pm 2,51$	31,61 $\pm 18,34$	62,64 $\pm 12,55$

Işınlamayı takiben canlılığını sürdüren hücrelerin aynı ortamda tutulması subletal hasarlı hücrelerin inaktivasyonuna neden olabilir ve bunun sonucunda da depolama süresince inaktivasyon düzeyi artar. Subletal hasarlı hücreler hasarı onaramaz ve seçici ortamda bulunan maddelere karşı direnç gösteremez. Vurgulu elektrik alanı, 2000 ppm sorbik asit ilavesinin pH 3,8’de kombine uygulaması *Dekkera bruxellensis* ve *S. cerevisiae* suşlarında 5 log birimden daha yüksek inaktivasyon sağlamıştır (Somolinos vd. 2007). Subletal hasarlı hücrelerin inaktivasyonu yanında canlılığını sürdüren hücrelerin bir kısmında da depolama süresince hasar ve inaktivasyon gözlenmiştir.

#### *Dondurarak depolama:*

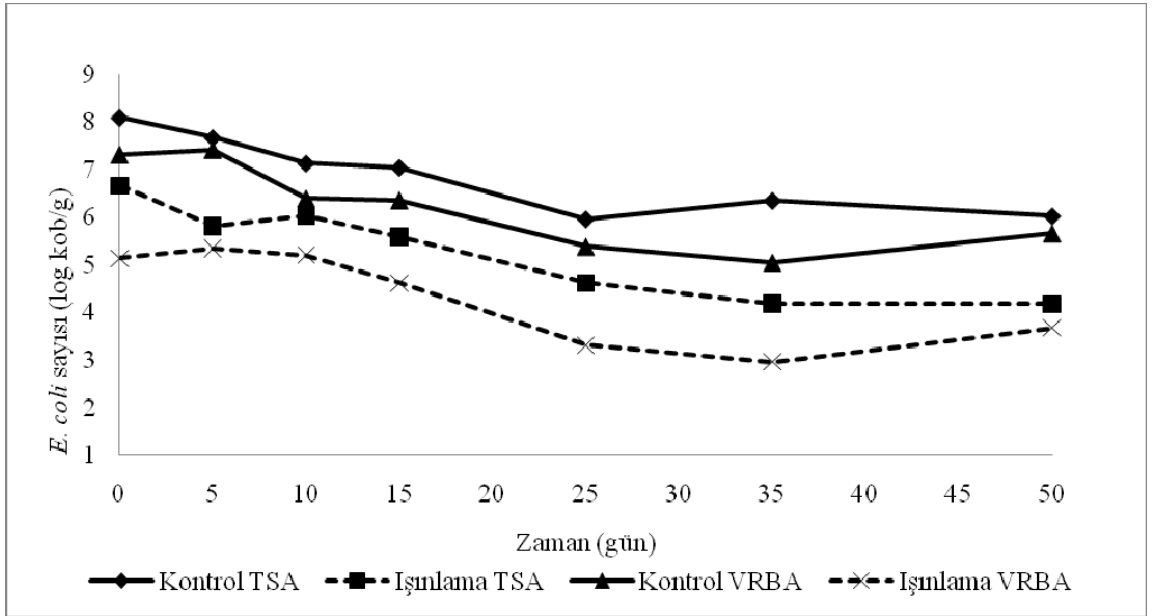
*E. coli* için  $-12\pm 2$  °C’de 50 günlük depolamada kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi sonucu genel ve selektif besiyerinde elde edilen sayım sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları Çizelge 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.5 -12±2 °C’de 50 günlük depolamada *E. coli* sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları

Uygulama		0	5	10	15	25	35	50	Ortalama
Kontrol	TSA	8,09 ±0,84	7,67 ±0,67	7,13 ±0,54	7,04 ±0,95	5,95 ±0,79	6,34 ±0,67	6,02 ±0,53	6,557 <sup>a</sup> ±1,085
	VRBA	7,31 ±1,31	7,42 ±0,71	6,39 ±0,55	6,35 ±0,84	5,38 ±0,87	5,04 ±0,28	5,66 ±0,53	
Işınlama	TSA	6,66 ±0,46	5,81 ±0,68	6,03 ±0,08	5,58 ±0,07	4,61 ±0,24	4,18 ±0,85	4,17 ±0,63	4,803 <sup>c</sup> ±1,176
	VRBA	5,13 ±0,91	5,33 ±0,76	5,20 ±0,15	4,61 ±0,25	3,31 ±1,16	2,96 ±1,01	3,67 ±0,53	
Köfte harcı ilavesi	TSA	7,68 ±0,19	6,71 ±0,35	6,19 ±0,37	6,01 ±0,39	5,85 ±0,19	4,98 ±0,12	4,50 ±0,42	5,798 <sup>b</sup> ±1,009
	VRBA	7,21 ±0,25	6,31 ±0,55	5,89 ±0,40	5,61 ±0,28	5,14 ±0,17	4,69 ±0,27	4,40 ±0,41	
Işınlama+Köfte harcı ilavesi	TSA	5,80 ±0,39	4,72 ±0,77	4,54 ±0,53	3,99 ±0,36	3,79 ±0,55	3,09 ±0,17	3,29 ±0,59	3,864 <sup>d</sup> ±1,001
	VRBA	4,98 ±0,54	4,38 ±0,85	4,16 ±0,37	3,48 ±0,30	2,94 ±0,27	2,47 ±0,40	2,74 ±0,61	
Ortalama		6,608 <sup>A</sup> ±1,270	6,043 <sup>B</sup> ±1,283	5,656 <sup>C</sup> ±1,039	5,335 <sup>C±</sup> 1,236	4,622 <sup>D</sup> ±1,227	4,219 <sup>E</sup> ±1,334	4,304 <sup>DE±</sup> 1,156	

\* Depolama süresi ortalamalarının karşılaştırılmasında büyük harfler, uygulama ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler kullanılmış olup, aynı veya ortak harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemli değildir (p>0,05).

Işınlanan ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* için alınan sayım sonuçları Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Kontrol örneğinde 50 gün sonunda genel ve selektif besiyerinde 8,09 log kob/g ve 7,31 log kob/g başlangıç *E. coli* sayıları sırasıyla 6,02 log kob/g ve 5,66 log kob/g'a azalmıştır. 0,5 kGy TSA besiyerinde 2,49 log birim (TSA: 6,66 log kob/g'dan 4,17 log kob/g'a) ve VRBA besiyerinde de 1,46 log birim (VRBA: 5,13 log kob/g'dan 3,67 log kob/g'a) azalmaya yol açmıştır.

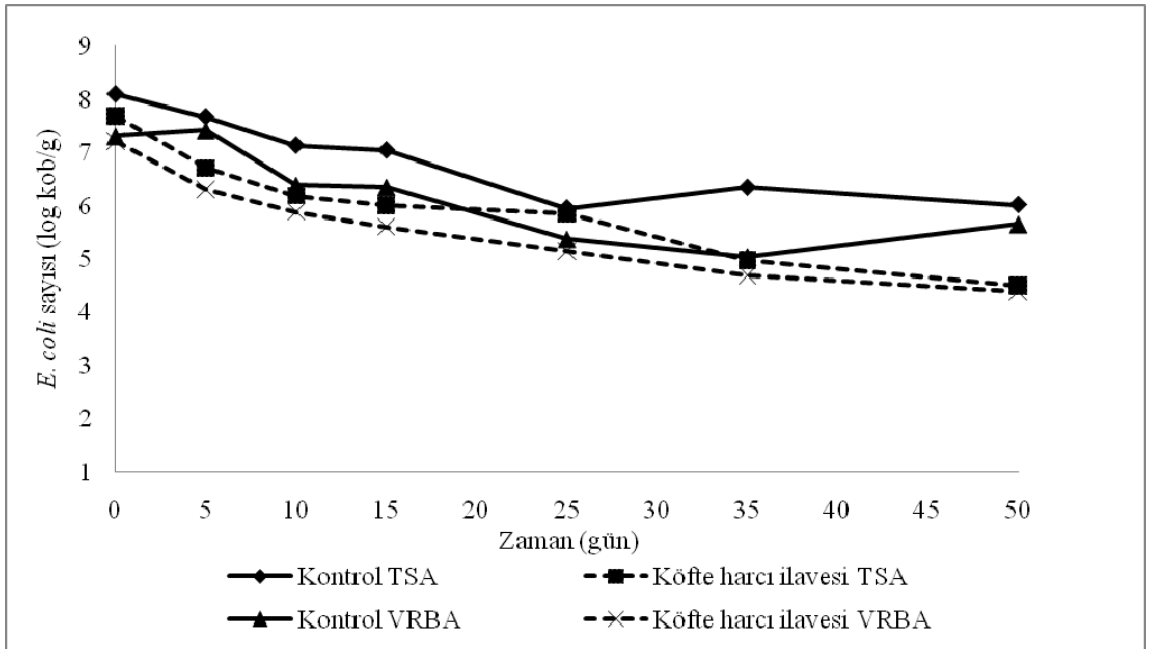


Şekil 4.6 Işınlama ve  $-12\pm 2$  °C depolamanın *E. coli* sayım sonucuna etkisi

Dondurma işlemi vejetatif hücrelerin radyasyona dirençliliğinde önemli bir artışa neden olmaktadır. Mikroorganizmaların radyasyon dirençliliği, dondurulmuş ortamlarda, oda sıcaklığına göre 2-3 kat artmaktadır. Bu artışa, ortam donduğu zaman serbest radikallerin immobilize olması ve serbest difüzyonun engellenmesi neden olmaktadır. Böylece dondurulmuş durumda OH<sup>-</sup> iyonları ile DNA'nın indirek hasarı önlenmekte ve daha fazla doz uygulanması gerekmektedir. Sıcaklık ile dirençlilikte değişim su aktivitesi yüksek gıdalarda direk etkinin önemini göstermektedir (Dickson 2001). Işınlama ve dondurarak depolamanın tavuk etinde bakteri gelişiminde belirgin azalma sağladığı ve biyokimyasal karakteristiklerin stabilizasyonunu sağladığı Javanmard vd. (2006) tarafından gösterilmiştir.

Kombine uygulama toplam mezofil aerobik bakteri sayısını ve koliform sayısını azaltmada tek başına uygulamadan daha etkilidir. Doza bağlı olarak bakteri sayısında azalma gözlenmiştir.

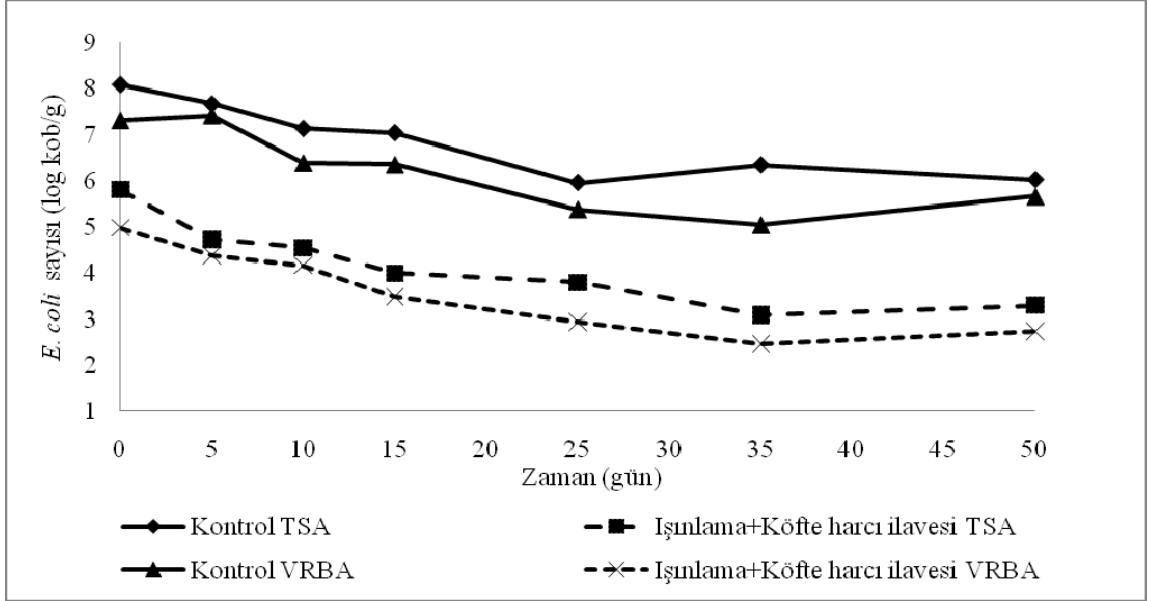
Şekil 4.7’de köfte harcı ilave edilen ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* için alınan sayım sonuçları gösterilmiştir. Genel ve selektif besiyerinde kontrol örneklerinde *E. coli* sayımları sırasıyla 2,07 (TSA: 8,09 log kob/g’dan 6,02 log kob/g’a) ve 1,65 log birim (VRBA: 7,31 log kob/g’dan 5,66 log kob/g’a) azalmıştır. Baharat ilaveli örnekte 7,68 (TSA) ve 7,21 (VRBA) başlangıç *E. coli* sayısı 50 gün depolama sonunda sırasıyla 4,50 ve 4,40 log kob/g’a azalmıştır.



Şekil 4.7 Köfte harcı ilavesi ve  $-12\pm 2$  °C depolamanın *E. coli* sayım sonucuna etkisi

Köfte harcı ilave edilen, ışınlanan ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* sayısı Şekil 4.8’de verilmiştir. Genel besiyerinde 2,51 log birim (TSA:5,80 log kob/g’dan 3,29 log kob/g’a) ve selektif besiyerinde 2,24 log birim (VRBA: 4,98 log kob/g’dan 2,74 log kob/g’a) azalma gözlenmiştir. Işınlama esnasında gıda bileşenlerinin mikroorganizmalar

için koruma sağladığı iyi bilinmektedir (Josephson ve Peterson 1983). Çoğu hazır gıda temel bileşen olarak baharat içerir. Baharatta hijyen amacıyla gama ışınlamasının kullanılması yaygın olarak çalışılmıştır. Ancak, gıda bileşenleri olarak baharatın gıda mikroflorasının radyasyon duyarlılığına etkisi araştırılmamıştır.



Şekil 4.8 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $-12\pm 2$  °C depolamanın *E. coli* sayım sonucuna etkisi

Çalışmamızda yapılan istatistiksel değerlendirmede günlere, uygulamaya ve besiyerlerine göre *E. coli* sayısındaki değişim istatistiksel açıdan önemlidir ( $p\leq 0,05$ ). Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere 10. ve 15. gün ortalamalarının benzer olduğu gözlenmiştir. 25. ve 50. gün ortalamalarının ve 35. ve 50. gün ortalamalarının benzer olduğu bulunmuştur. Aynı çizelgede,  $-12\pm 2$  °C'de 50 günlük depolamada uygulamalara göre sayım ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi uygulamalarının ortalamalarının istatistiksel açıdan birbirinden farklı olduğu bulunmuştur ( $p\leq 0,05$ ).

-12±2 °C’de depolanan örneklerde *E. coli* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları çizelge 4.6’da verilmiştir. En yüksek hasar oranı ışınlama+ köfte harcı ilavesi uygulamasında gözlenmiştir.

Çizelge 4.6 -12±2 °C’de 50 gün depolanan örneklerde *E. coli* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları

	Uygulama		
	Işınlama	Köfte harcı ilavesi	Işınlama+köfte harcı ilavesi
Subletal hasar (%)	67,59 ±7,05	20,13 ±10,39	72,00 ±1,61

İki farklı pH değerinde vurgulu elektrik alanının etkisini çalışan Saldana vd. (2009) tarafından *L. monocytogenes* ve *S. aureus* suşları için pH 4,0 ve 7,0’de ve *S. Typhimurium* suşları için pH 7,0’de önemli bir subletal hasar gözlenmemiştir. *E. coli* suşları için subletal hasar gözlenmiştir. Vurgulu elektrik alanı uygulamasında direncin ve subletal hasarın bakteri suşlarında farklılık gösterdiği ve uygulama ortamının pH değerine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Somolinos vd. (2008) tarafından yapılan diğer bir çalışmada yüksek hidrostatik basınç uygulaması sonucu yüksek oranda subletal hasarlı hücre elde edilmiştir. *E. coli* ve *L. monocytogenes*’de gözlenen inaktivasyon ve subletal hasar pH ve uygulama ortamının kompozisyonuna bağlı iken, *S. cerevesiae* için test edilen koşullarda bu şekilde bir ilişki bulunmamıştır.

#### 4.2.2 Işınlama ve baharat ilavesinin *S. aureus* sayım sonuçlarına etkisi

*Soğukta depolama:*

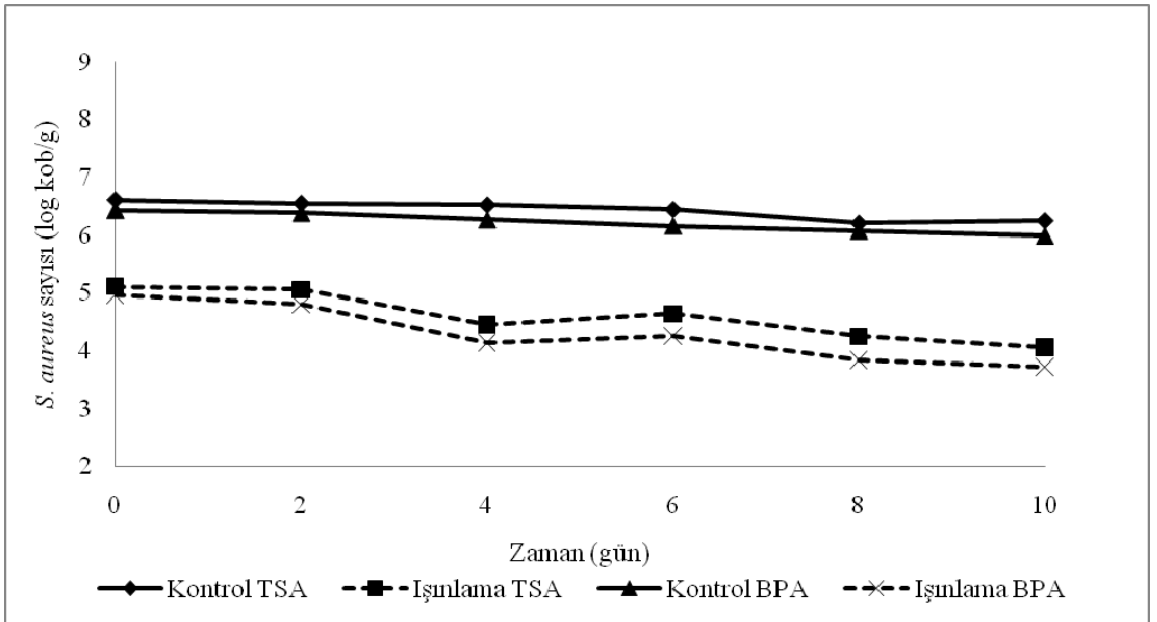
*S. aureus* için 4±2 °C’de 10 günlük depolamada kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi sonucu genel ve selektif besiyerinde elde edilen sayım sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7 4±2 °C'de 10 günlük depolamada *S. aureus* sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları

Uygulama		0	2	4	6	8	10	Ortalama
Kontrol	TSA	6,61 ±0,46	6,55 ±0,56	6,52 ±0,44	6,44 ±0,33	6,20 ±0,23	6,25 ±0,41	6,3228 <sup>b</sup> ±0,3863
	BPA	6,43 ±0,40	6,38 ±0,55	6,26 ±0,42	6,16 ±0,23	6,08 ±0,24	5,99 ±0,41	
Işınlama	TSA	5,11 ±0,52	5,06 ±0,60	4,45 ±0,97	4,64 ±0,54	4,25 ±0,68	4,06 ±0,51	4,440 <sup>d</sup> ±0,701
	BPA	4,96± 0,52	4,80 ±0,49	4,13 ±1,05	4,26 ±0,48	3,84 ±0,60	3,72 ±0,38	
Köfte harcı ilavesi	TSA	6,98 ±0,24	7,01 ±0,24	6,61 ±0,13	6,92 ±0,08	6,92 ±0,09	6,54 ±0,19	6,7342 <sup>a</sup> ±0,2905
	BPA	6,90 ±0,17	6,95 ±0,18	6,27 ±0,18	6,79 ±0,12	6,59 ±0,24	6,33 ±0,19	
Işınlama+Köfte harcı ilavesi	TSA	5,53 ±0,70	5,40 ±0,62	4,73 ±0,92	4,54 ±0,54	4,85 ±0,79	4,53 ±0,64	4,797 <sup>c</sup> ±0,723
	BPA	5,35 ±0,65	5,26 ±0,63	4,54 ±0,95	4,08 ±0,23	4,47 ±0,57	4,28 ±0,47	
Ortalama		5,984 <sup>A</sup> ±0,892	5,926 <sup>A</sup> ±0,952	5,442 <sup>B</sup> ±1,182	5,480 <sup>B</sup> ±1,193	5,398 <sup>B</sup> ±1,200	5,212 <sup>B</sup> ±1,172	

\* Depolama süresi ortalamalarının karşılaştırılmasında büyük harfler, uygulama ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler kullanılmış olup, aynı veya ortak harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemli değildir (p>0,05).

Işınlanan ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* için alınan sayım sonuçları Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Kontrol örneklerinde depolama süresince *S. aureus* popülasyonu TSA besiyerinde 6,61 ile 6,25 log kob/g ve BPA besiyerinde 6,43 ile 5,99 log kob/g düzeyindedir. 0,5 kGy’de ışınlanan örneklerde *S. aureus* popülasyonu, depolamada TSA besiyerinde 5,11 ile 4,06 log kob/g ve BPA besiyerinde 4,06 ile 3,72 log kob/g düzeyinde kalmıştır. 0,5 kGy ışınlama dozu genel besiyerinde 1,05 log birim azalmaya neden olurken selektif besiyerinde 1,24 log birim azalmaya neden olmuştur. TSA besiyerindeki sonuçlara göre 2 kGy ışınlama dozu yaklaşık 2 log azalmaya yol açmaktadır.



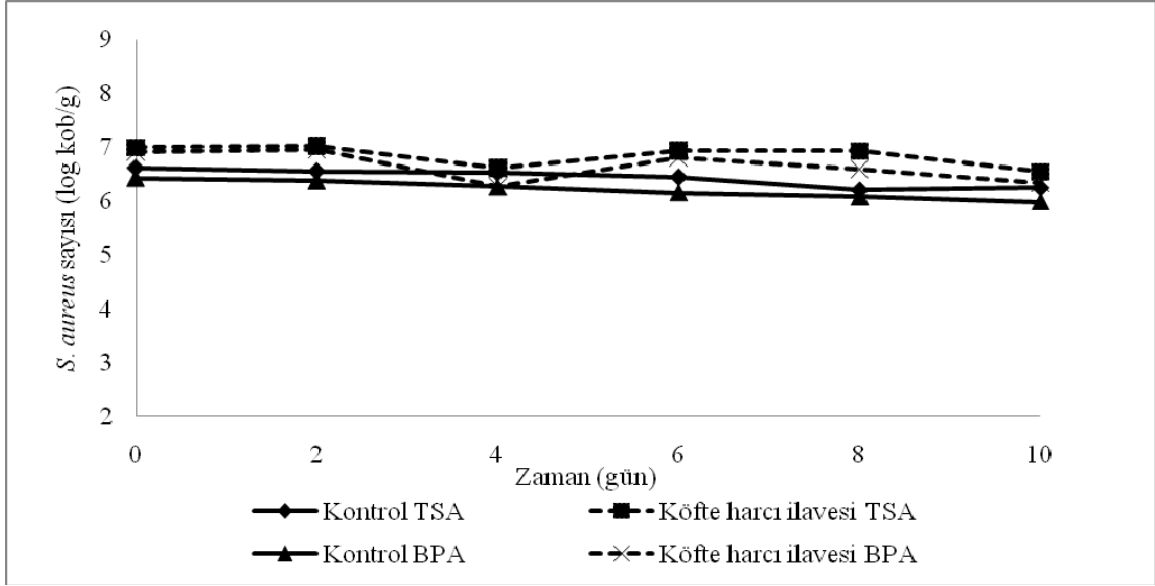
Şekil 4.9 Işınlama ve  $4\pm 2$  °C depolamanın *S. aureus* sayım sonucuna etkisi

Soğukta depolanmış ( $3-5$  °C) ışınlanmamış laboratuvarında tavuk etinden hazırlanan yemekte 28 günlük depolamada *S. aureus* canlı sayımlarının 2 log birim azaldığı Adu-Gyamfi vd. (2008) tarafından tespit edilmiştir. 2 kGy ışınlama *S. aureus* sayımlarını yaklaşık 5 log birimi azaltmıştır. 3 kGy ışınlama ise *S. aureus* sayımlarını tespit seviyesinin altına indirmiştir. Thayer ve Boyd (1992), *S. aureus* inoküle edilen ( $8 \times 10^3$  kob/g) mekanik olarak ayrılmış tavuk etini 1,50 kGy’de ışınladığında canlı sayımı alamamıştır. Kolsarıcı ve

Kırımca (1995) tavuk etinde *Staphylococcus*'un 3 kGy doza kadar dirençli olduğunu doğrulamıştır. Idziak ve Incze (1968), tavuk karkaslarında *S. aureus* sayımlarında 5-7 kGy doz uygulamasının 11 log birim azalmaya yol açtığını gözlemiştir. Thayer vd. (1997) 1,5-3 kGy doz uygulamasının ve 5 °C depolamanın bizon, devekuşu, kertenkele, timsah etlerinde *S. aureus* sayımlarını büyük oranda azalttığı sonucuna varmıştır. 3 kGy ışınlama uygulaması soğukta depolanan tavşan etinde *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* ve *Enterobacteriaceae* sayımlarında sırasıyla 3; 3; 1,4 ve 4 log birim azalmaya yol açmıştır (Badr 2004).

Vural vd. (2006), pişmemiş köftede artan ışınlama dozuna bağlı olarak mikrobiyel florada belirgin bir azalma olduğunu göstermiştir. Fekal koliform bakteri, koliform bakteri ve *S. aureus* sayısı sırasıyla 2 kGy, 3 kGy ve 7 kGy doz uygulandığında elimine edilmiştir. 4 °C'de depolama süresince bakteri popülasyonu sistematik olarak artmıştır. Köfte ile yapılan başka bir çalışmada 1,5 kGy ve 3,0 kGy dozlarında TMAB sayısında yaklaşık 0,7 log ve 1 log birim azalma rapor edilmiş ve 4°C'de depolama sonucunda TMAB sayısında belirgin fark gözlenmemiştir (Aytac vd. 1994).

Depolama süresince *S. aureus* sayımlarında azalma gözlenmiştir. Şekil 4.10'da köfte harcı ilave edilen ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* sayısı gösterilmiştir. Genel ve selektif besiyerinde kontrol örneklerinde sırasıyla 0,36 (TSA: 6,61 log kob/g'dan 6,25 log kob/g'a) ve 0,44 log birim (BPA: 6,43 log kob/g'dan 5,99 log kob/g'a) azalma gözlenirken, baharat ilaveli örneklerde 0,44 (TSA: 6,98 log kob/g'dan 6,54 log kob/g'a) ve 0,57 log birim (BPA: 6,90 log kob/g'dan 6,33 log kob/g'a) azalma gözlenmiştir. Gram negatif bakteriler esansiyel yağların antibakteriyel aktivitesine karşı Gram pozitif bakterilerden daha dirençlidir (Agaoglu vd. 2007).

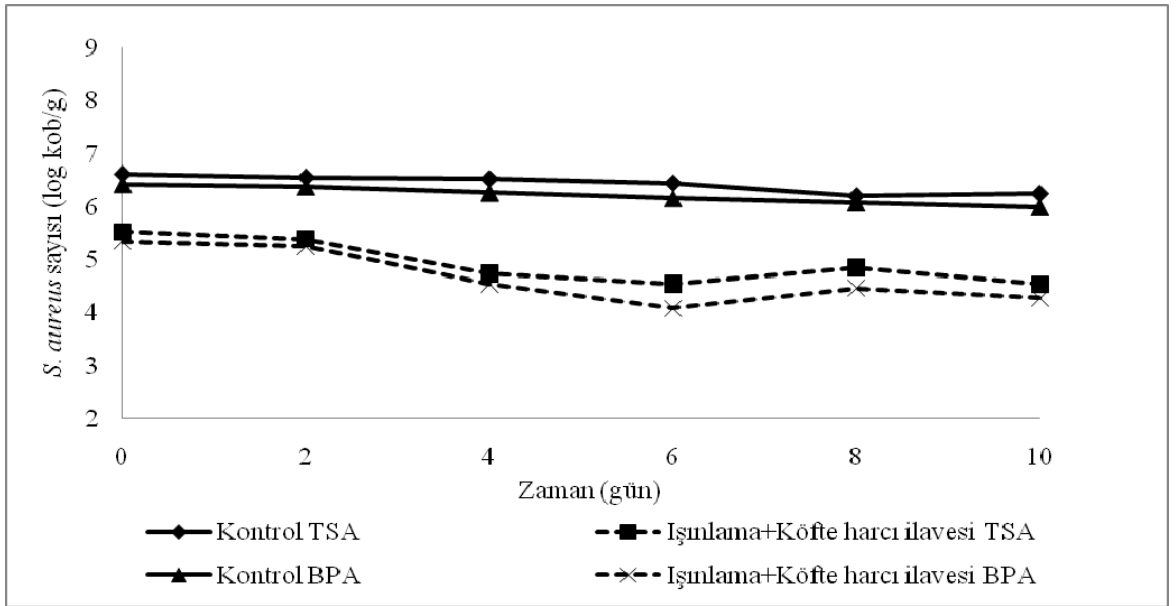


Şekil 4.10 Köfte harcı ilavesi ve  $4\pm 2$  °C depolamanın *S. aureus* sayım sonucuna etkisi

Akgul ve Kivanc (1989), kefe kimyonunun (*Laser trilobum*) *S. aureus* sayımlarında azalmaya neden olduğunu, gelişmenin depolama sıcaklığına, baharat düzeyine, inokülasyona ve kıyma örneklerine göre değişiklik gösterdiğini belirtmiştir. Düşük sıcaklıkta saklanan ve orta veya yüksek oranlarda yağ içeren kıymadan hazırlanan köftede baharat kullanımının uygun olabileceği sonucuna varılmıştır. Kivanc ve Akgul (1991), yaptıkları diğer bir çalışma sonucunda, düşük yağ içeren ve 7 °C’de depolanan köftenin hijyenik kalitesinin kefe kimyonu ilavesi ile geliştiğini bulmuştur. Baharat ilavesinin % 1 olduğu durumda az ya da hiç inhibisyon gözlenmez iken, toplam canlı, koliform, psikrotroflar ve maya-küfleri içeren doğal floranın gelişimi 7 °C’de % 2 baharat düzeyinde belirgin olarak inhibe edilmiştir. Azalan yağ içeriği ve artan su ile protein içeriğinde baharatın inhibe edici etkisi artmıştır. Baharatın etkinliğinin, azalan su ve protein içeriğinde ve artan yağda kaybolduğu belirgindir.

Şekil 4.11’de köfte harcı ilave edilen, ışınlanan ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* sayım sonuçları gösterilmiştir. Işınlama+köfte harcı ilavesi uygulaması genel besiyerinde 1 log birim (TSA: 5,53 log kob/g’dan 4,53 log kob/g’a) ve selektif besiyerinde 1,07 log

birim (BPA: 5,35 log kob/g'dan 4,28 log kob/g'a) azalma gözlenmiştir. Kontrol örneklerinde TSA ve BPA başlangıç sayısı 6,61 ve 6,43 log kob/g'dan sırasıyla 6,25 ve 5,99 log kob/g'a azalmıştır. Çeşitli dozlarda ışınlanan ve buzdolabı sıcaklığında 7 gün depolanan Tekirdağ köftesinde 3,2 kGy doz uygulaması *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* sayımlarını tespit edilebilir düzeye indirirken, *S. Typhimurium* için etkisiz kalmıştır. 4,5 kGy'de ışınlanan örneklerde, çalışılan mikroorganizmalar tespit edilmemiştir (Gumus vd. 2008).



Şekil 4.11 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $4\pm 2$  °C depolamanın *S. aureus* sayım sonucuna etkisi

Oda sıcaklığı ve buzdolabı sıcaklığında saklanan çiğ köfte örneklerinde mikrobiyolojik karakteristikler ve pH değerleri Ardic ve Durmaz (2006) tarafından belirlenmiştir. TMAB, koliform, maya ve küf, laktik asit bakterileri ve *S. aureus* sayımları belirgin olarak depolama sıcaklığından etkilenmiştir. *S. aureus* sayımı buzdolabı sıcaklığında depolamada azalırken oda sıcaklığında artmıştır. Gıdada *S. aureus* gelişimi pH, başlangıç *S. aureus* sayısı, depolama koşulları, tuz miktarı, nem ve rekabetçi flora gibi birtakım faktörlerden etkilenmektedir (Noletto vd. 1987, Samelis ve Metaxopoulos 1998, Sagun vd. 2003).

Tüketime hazır çiğ köfte örnekleri ile yapılan başka bir çalışmada, ışınlamanın dozuna bağlı olarak TMAB sayısının azaldığı gösterilmiştir. 2 kGy ışınlama koliform bakterilerin ve *E. coli*'nin inhibe edilmesinde yeterli iken, *Staphylococcus* spp. eliminasyonu için 4 kGy yeterli olmaktadır. Çiğ köftenin mikrobiyolojik kalitesinin sağlanmasında 7 kGy doz uygulamasının gerekli olduğu vurgulanmıştır (Yildirim vd. 2005). Gezgin ve Gunes (2007) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, 2 kGy'de ışınlamanın çiğ köftenin raf ömrünü uzatmada ve *E. coli* O157:H7 ve diğer bakterilerin sayısını azaltarak güvenliğini sağlamada potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir. TMAB sayısı artan ışınlama dozu ile azalmış ve D değeri 0,83 kGy olarak bulunmuştur. 2 kGy'de ışınlanan ve 4 °C'de depolanan örneklerde 5,1 log kob/g olan *E. coli* O157:H7 sayısı 1 günlük depolama sonrasında tespit edilemeyen düzeye inmiştir (<1 log kob/g).

Çalışmamızda yapılan istatistiksel değerlendirmede günlere, uygulamaya ve besiyerlerine göre *S. aureus* sayısındaki değişim istatistiksel açıdan önemlidir ( $p \leq 0,05$ ). Çizelge 4.7'de görüldüğü üzere, 0. ve 2. gün ortalamalarının benzer olduğu ve diğer günlerden farklı olduğu gözlenmiştir. 4.; 6.; 8. ve 10. gün ortalamaları da birbirine benzerdir. Aynı çizelgede,  $4 \pm 2$  °C'de 10 günlük depolamada uygulamalara göre sayım ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi uygulamalarının ortalamalarının istatistiksel açıdan birbirinden farklı olduğu bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ).

Çizelge 4.8'de  $4 \pm 2$  °C'de depolanan örneklerde *S. aureus* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. En yüksek hasar ışınlama uygulamasında gözlenmiştir. Quattara vd. (2002) ışınlama, doğal baharat bileşikleri ve çapraz bağlanmış film kaplamasının kombine uygulamasının sığır kıymasının kalitesi üzerine etkisini çalışmıştır. Antimikrobiyel etkinin büyük çoğunluğunun gama radyasyonundan kaynaklandığı belirlenmiştir. Askorbik asitin tek başına kullanımı ve çapraz bağlanmış film ile kombine edilmesi ışınlanmamış örneklerde bakteriyel gelişmede belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Ancak, kombine uygulamalar ışınlamanın antimikrobiyel etkinliğini belirgin olarak arttırmamıştır. *Enterobacteriaceae* ve diğer Gram negatif bakteriler

(koliform grup bakteriler ve *Pseudomonas* spp.) ışınlamaya karşı Gram pozitif bakterilerden (*B. thermosphacta*, *S. aureus* ve laktik asit bakterileri) daha duyarlıdır. Askorbik asit ve baharat tozu içeren çapraz bağlanmış film kaplaması ışınlama sonrası depolamada lipit oksidasyonunu ve –SH radikal üretimini azaltmıştır. Işınlama ile doğal bitki ekstraktlarında marinasyon sinerjistik etki göstermiş ve toplam mikrobiyel yükü azaltmış ve 4 °C’de depolamada çoğalmayı kontrol etmiştir.

Çizelge 4.8 4±2 °C’de 10 gün depolanan örneklerde *S. aureus* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları

	Uygulama		
	Işınlama	Köfte harcı ilavesi	Işınlama+köfte harcı ilavesi
Subletal hasar (%)	51,98 ±16,47	38,04 ±12,30	41,75 ±21,28

Jo vd. (2004), ticari olarak hazırlanmış marine edilmiş sığır pirzolasında *S. aureus*, *B. cereus*, *S. Typhimurium* ve *E. coli* için D değerlerini sırasıyla 0,663±0,01; 0,594±0,05; 0,636±0,02 ve 0,538±0,01 kGy olarak belirlemiştir. 20 °C’de 9 günlük depolamada dört patojenin sayısı çok az artmıştır. Başlangıçta 1 log kob/g canlı sayısı tespit edilen 3 kGy’de ışınlanan ve soğukta depolanan örnekte iki haftalık depolama sonunda sayım alınamamıştır. Işınlama sonucu oluşan sublethal hasar hücrelerin çevresel faktörlere olan hassasiyetini arttırmaktadır (Grant ve Patterson 1992). Benzer olarak, ışınlama ile hasar gören *S. Typhimurium* hücreleri soğukta depolamada gelişmemiştir (Thayer vd. 1992).

#### *Dondurarak depolama:*

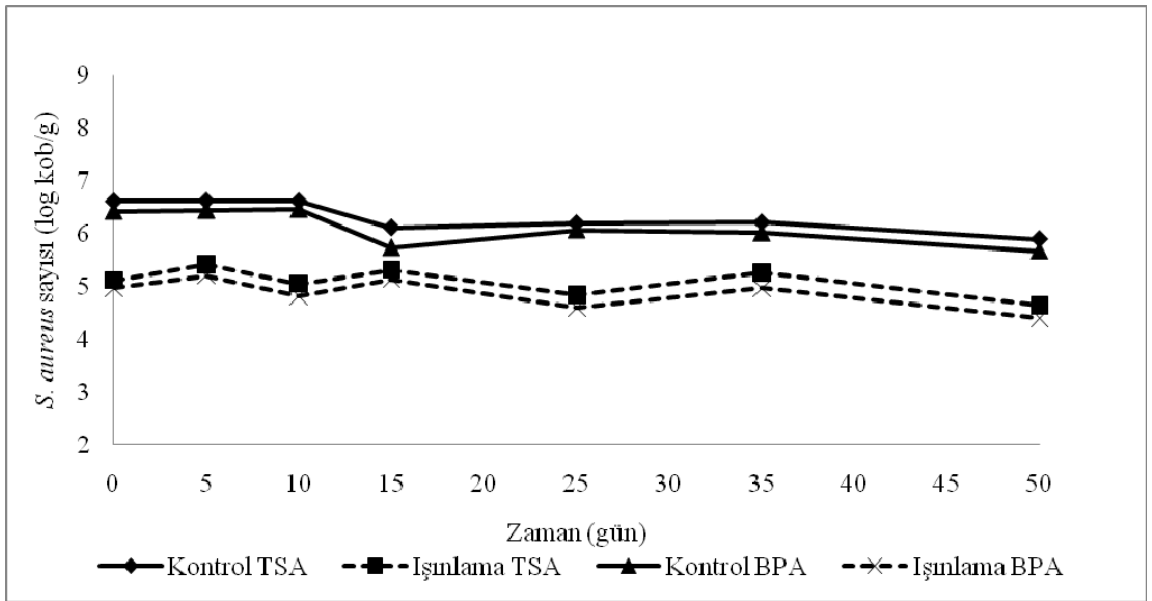
*S. aureus* için -12±2 °C’de 50 günlük depolamada kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi sonucu genel ve selektif besiyerinde elde edilen sayım sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9 -12±2 °C’de 50 günlük depolamada *S. aureus* sayım sonuçlarının (log kob/g) ortalamaları arasındaki farklılıklar ve standart sapmaları

Uygulama		0	5	10	15	25	35	50	Ortalama
Kontrol	TSA	6,61 ±0,46	6,62 ±0,50	6,62 ±0,41	6,11 ±0,16	6,20 ±0,39	6,21 ±0,54	5,89 ±0,57	6,22 <sup>b</sup> ±0,5065
	BPA	6,43 ±0,40	6,44 ±0,43	6,46 ±0,44	5,73 ±0,46	6,07 ±0,43	6,01 ±0,67	5,67 ±0,65	
Işınlama	TSA	5,11 ±0,52	5,42 ±0,75	5,04 ±0,91	5,31 ±0,86	4,83 ±0,59	5,26 ±0,63	4,64 ±0,76	4,977 <sup>d</sup> ±0,673
	BPA	4,96 ±0,52	5,20 ±0,73	4,82 ±0,85	5,13 ±0,90	4,59 ±0,48	4,96 ±0,78	4,39 ±0,82	
Köfe harcı ilavesi	TSA	6,98 ±0,24	6,74 ±0,44	6,86 ±0,17	6,89 ±0,17	7,16 ±0,11	6,72 ±0,21	6,72 ±0,12	6,79 <sup>a</sup> ±0,2767
	BPA	6,90 ±0,17	6,66 ±0,41	6,72 ±0,12	6,73 ±0,31	7,03 ±0,07	6,45 ±0,25	6,49 ±0,27	
Işınlama+Köfe harcı ilavesi	TSA	5,53 ±0,70	5,46 ±1,07	5,57 ±0,83	5,79 ±0,96	5,77 ±0,81	5,50 ±0,48	5,48 ±0,80	5,493 <sup>c</sup> ±0,673
	BPA	5,35 ±0,65	5,23 ±0,97	5,40 ±0,75	5,62 ±0,94	5,52 ±0,74	5,33 ±0,45	5,34 ±0,65	
Ortalama		5,984 ±0,892	5,972 ±0,890	5,938 ±0,943	5,915 ±0,828	5,897 ±0,984	5,806 ±0,751	5,576 ±0,934	

\* Uygulama ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler kullanılmış olup, aynı veya ortak harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemli değildir (p>0,05).

Işınlanan ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* için alınan sayım sonuçları Şekil 4.12’de gösterilmiştir. 0,5 kGy ışınlama dozu genel besiyerinde 0,47 log birim azalmaya neden olurken selektif besiyerinde 0,57 log birim azalmaya neden olmuştur. 0,5 kGy’de ışınlanan örneklerde *S. aureus* popülasyonu depolamada TSA besiyerinde 5,11 ile 4,64 log kob/g ve BPA besiyerinde 4,96 ile 4,39 log kob/g düzeyinde kalmıştır. Kontrol örneklerinde depolama süresince *S. aureus* popülasyonu TSA besiyerinde 6,61 ile 5,89 log kob/g ve BPA besiyerinde 6,43 ile 5,67 log kob/g düzeyindedir.

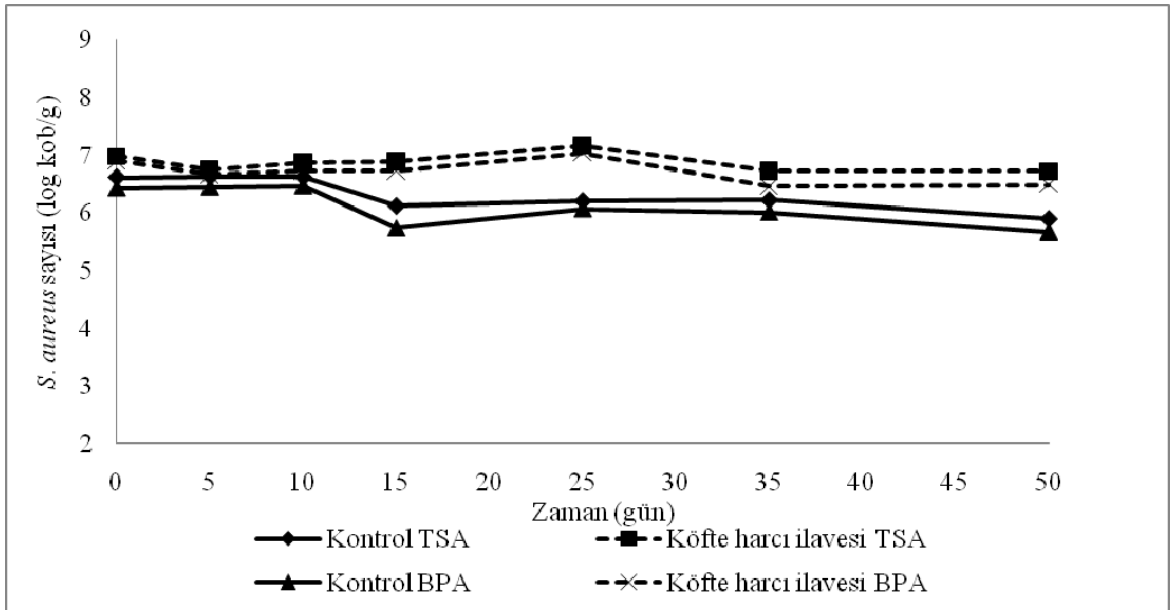


Şekil 4.12 Işınlama ve  $-12\pm 2$  °C depolamanın *S. aureus* sayım sonucuna etkisi

3 kGy’de ışınlanan ve dondurarak depolanan mekanik olarak ayıklanmış tavuk etinde *S. aureus* popülasyonunda kontrol ile kıyaslandığında 2,54 log birimi azalma gözlenmiştir (Gomes vd. 2006). Jo vd. (2005) yaptıkları diğer bir çalışmada, hayvansal hazır gıdalarda (ticari olarak bulunan baharatlı ve pişmiş sığır eti, kızarmış yumurta ve jambon) D değerlerini sırasıyla *S. aureus*, *L. ivanovii*, *S. Typhimurium* ve *E. coli* için  $0,34\pm 0,01$ ,  $0,24\pm 0,02$ ;  $0,24\pm 0,01$  ve  $0,27\pm 0,01$  kGy olarak bulmuştur. 3 kGy ışınlama dozunda canlı hücre tespit edilmemiştir. Test edilen örnekler içinde jambona inoküle edilen *E. coli*, ışınlamaya en dirençli olarak tespit edilmiştir. *E. coli* 0,95 su aktivitesi değerinde

gelişmektedir ve ışınlanmamış ve 1 kGy'de ışınlanmış örneklerde yavaş düzeyde gelişme göstermiştir. Jambon dışındaki örneklerde 2 kGy ve daha yüksek dozlarda ışınlama sonucunda ışınlama ile hasar görmüş hücrelerin geri kazanımı ve gelişimi gözlenmemiştir.

Şekil 4.13'te köfte harcı ilave edilen ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* için alınan sayım sonuçları gösterilmiştir. Baharat ilavesi kontrol ile kıyaslandığında TSA besiyerinde 0,26 log birim (TSA: 6,98 log kob/g'dan 6,72 log kob/g'a) azalmaya yol açarken BPA besiyerinde 0,41 log birim (BPA: 6,90 log kob/g'dan 6,49 log kob/g'a) azalmaya neden olmuştur. Kontrol örneğinde başlangıç *S. aureus* popülasyonu depolama süresince 6,61'den 5,89 log kob/g'a azalırken selektif besiyerinde 6,43'ten 5,67 log kob/g'a azalmıştır.

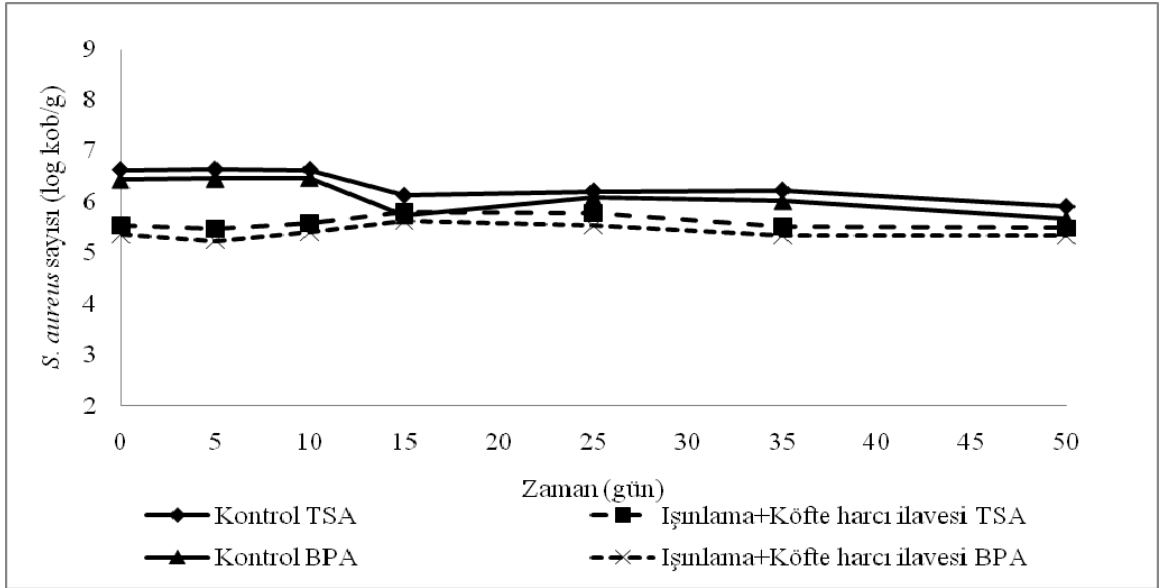


Şekil 4.13 Köfte harcı ilavesi ve  $-12\pm 2$  °C depolamanın *S. aureus* sayım sonucuna etkisi

Sarımsak, zencefil, karanfil, karabiber ve yeşil biberin patojen bakteriler ve mayalara karşı gösterdiği antimikrobiyel etkisi incelenmiştir (Arora ve Kaur 1999). Sadece sarımsak ve

karanfilin antimikrobiyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Sarımsağın bakterisidal etkisi 1 saatlik inkübasyonda belirgindir ve 3 saatlik inkübasyonu takiben *S. epidermis* ve *S. Typhi*'nin % 93'ü ölmüştür. Mayalar ise, sarımsak ekstraktında 1 saat ve karanfilde 5 saat içinde tamamen ölmüştür.

Köfte harcı ilave edilen, ışınlanan ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* sayısı Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Işınlama+köfte harcı ilavesi *S. aureus* sayımlarında genel besiyerinde 0,72 log birim (TSA: 6,61 log kob/g'dan 5,89 log kob/g'a) ve selektif besiyerinde 0,76 log birim (BPA: 6,43 log kob/g'dan 5,67 log kob/g'a) azalmaya neden olmuştur. *S. aureus* sayısı kontrol örneğinde genel besiyerinde 6,61'den 5,89 log kob/g'a ve selektif besiyerinde 6,43'den 5,67 log kob/g'a azalmıştır.



Şekil 4.14 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $-12\pm 2$  °C depolamanın *S. aureus* sayım sonucuna etkisi

Agaoglu vd. (2007) yaptıkları çalışmada et endüstrisinde sıklıkla kullanılan kimyon, tarçın, karanfil, kırmızıbiber, rezene ve anasonun bazı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyel etkisini incelemiştir. Tarçın, kimyon, karanfil ve rezenenin antimikrobiyel etkileri uçucu

yağlarında bulunan sırasıyla sinamik aldehit ve ögenol, karvon ve karvakrol, ögenol ve ögenol asetat, anetholün etkisi ile açıklanabilir. Yapılan çalışma ile Gram pozitif (*S. aureus*) bakterilerin baharat örneklerine daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Gram negatif bakteriler ile kıyaslandığında Gram pozitif bakterilerin fenolik bileşiklere daha duyarlı olması ile bu durum açıklanabilir. Tarçın, karanfil ve kimyonun test edilen suşlara karşı önemli antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda yapılan istatistiksel değerlendirmede uygulamaya ve besiyerlerine göre *S. aureus* sayısındaki değişim istatistiksel açıdan önemli ( $p \leq 0,05$ ) iken, günlere göre *S. aureus* sayısındaki değişim istatistiksel açıdan önemli değildir ( $p > 0,05$ ). Çizelge 4.9'da görüldüğü üzere, kontrol, ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi uygulamalarının ortalamalarının istatistiksel açıdan birbirinden farklı olduğu bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ).

Çizelge 4.10'da  $-12 \pm 2$  °C'de depolanan örneklerde *S. aureus* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. En yüksek hasar ışınlama uygulamasında gözlenmiştir.

Çizelge 4.10  $-12 \pm 2$  °C'de 50 gün depolanan örneklerde *S. aureus* için hesaplanan subletal hasar (%) ortalamaları ve standart sapmaları

	Uygulama		
	Işınlama	Köfte harcı ilavesi	Işınlama+köfte harcı ilavesi
Subletal hasar (%)	43,00 $\pm 11,07$	38,42 $\pm 21,02$	24,90 $\pm 22,82$

İnaktive edilen hücrelerin bağıl yüzdesi literatürde farklılık göstermekte ve türe, uygulama ortamına, doğasına, stresin süresine ve tespit yöntemine göre değişiklik göstermektedir. 20 °C'de 20 kV/cm elektrik alanı uygulandığında vurgu sayısına bağlı olarak *E. coli* O157:H7 hücrelerinde % 35,92-43,36 hasar ve *S. aureus* hücrelerinde % 17,26-30,86 hasar gözlenmiştir (Damar vd. 2002).

### **4.3 Replika Plate (RP) Yöntemi ile Hasarlı *E. coli* ve *S. aureus* Saptanması**

Gıda kaynaklı patojenlerin izolasyonu ve belirlenmesine yönelik pek çok yöntem ve besiyeri geliştirilmiştir. Bu yöntemler zenginleştirme, izolasyon ve doğrulamayı içeren geleneksel mikrobiyolojik yöntemlere dayanmaktadır. Zenginleştirme teknikleri zaman alıcıdır ve doğrulama öncesi uzun zaman harcanmaktadır (Kang ve Fung 2000). Hedef mikroorganizmaların izolasyonu için ticari kataloglarda çeşitli seçici besiyerleri geliştirilmiştir. Bu tür seçici besiyerleri sağlam organizmaların seçimine yönelik maddeler içermektedir. Sıklıkla kullanılan seçici maddeler organik boyalar, antibiyotikler, safra tuzları ve yüzey aktif maddelerdir. Ancak, bu tür maddeler hedef organizmanın hasarlı hücrelerinin onarımını inhibe edebilir. Seçici olmayan besiyerleri sağlam ve subletal hasarlı hücrelerin gelişimine olanak verirken karışık popülasyondan hedef patojenleri ayıramayabilir (Kang ve Fung 1999).

#### **4.3.1 *E. coli* için alınan RP sonuçları**

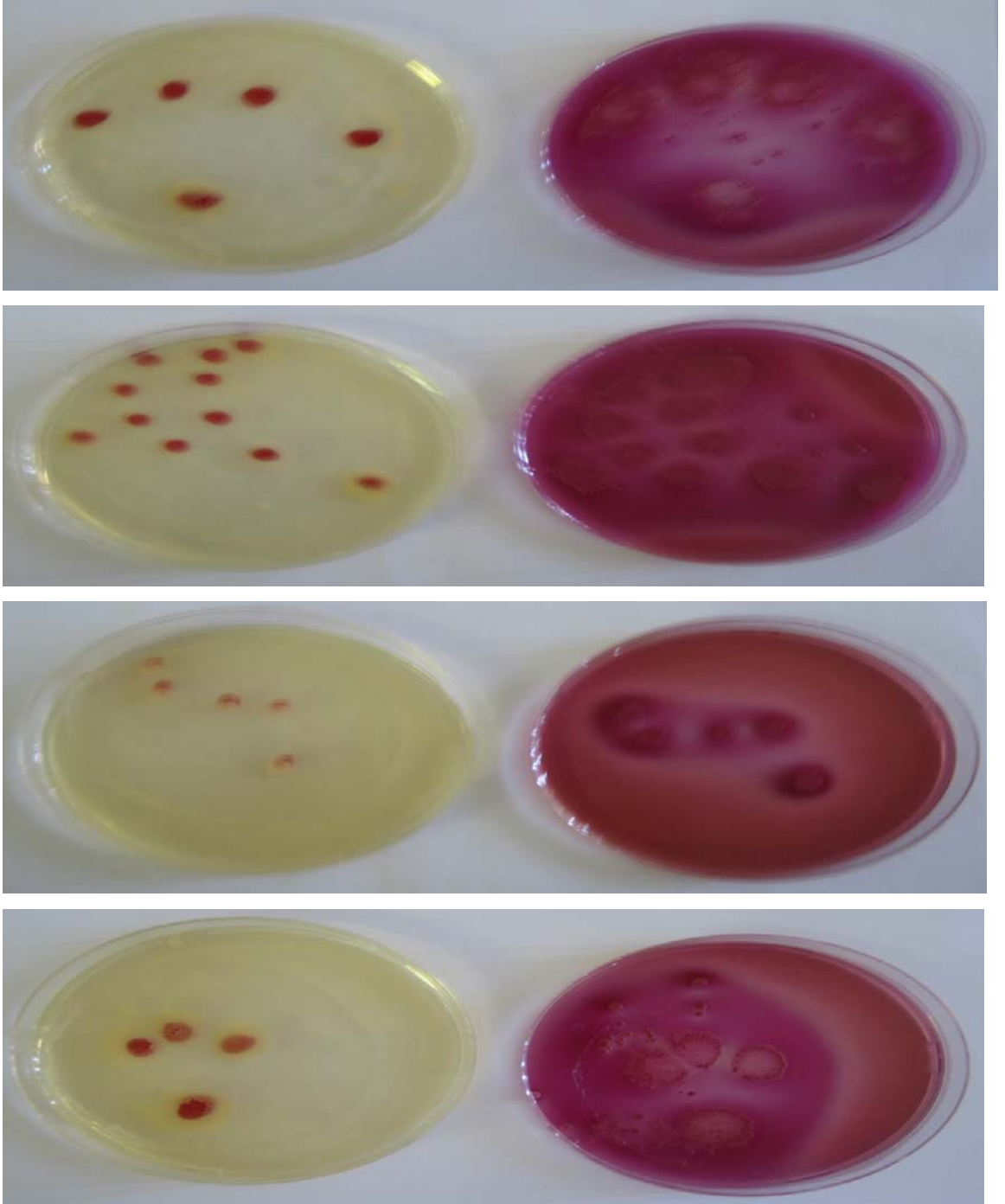
*Soğukta depolama:*

Işınlanan, köfte harcı ilave edilen ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *E. coli* için alınan RP sonuçlarına bazı örnekler Şekil 4.15'te gösterilmiştir. TSA besiyerinde gözlenen koloniler VRBA besiyerine aktarıldığında inkübasyonu takiben aynı düzlemdeki kolonilerin geliştiği gözlenmiştir. Selektif besiyerinde koloni oluşumu hasarın onarıldığını göstermektedir.

Stres altındaki hücrelerin ışınlamayı takiben geri kazanımı iki veya daha fazla saat sürmektedir. Hücrelerin geri kazanımında besiyeri ve inkübasyon koşulları önem kazanmaktadır (Monk vd. 1995).

Genel besiyeri (TSA)

Seçici besiyeri (VRBA)



Şekil 4.15 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $4\pm 2$  °C depolama koşullarında *E. coli* için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler

Elma suyunda *E. coli* O157: H7 inaktivasyonunda CO<sub>2</sub> ve tarçının kombine etkisinin araştırıldığı çalışmada hasarlı hücrelerin geri kazanımı için TAL yöntemi kullanılmıştır (Yuste vd. 2002). Hasarlı hücrelerin geri kazanımında TAL yönteminin TSA besiyeri kadar etkili olduğu tespit edilmiştir. İnkübasyonun ilk saatlerinde, hasarlı hücreler geri kazanılmakta ve TSA tabakasında gelişmekte ve seçici ortamda bulunan maddeler TSA tabakasına difüzenmektedir. *E. coli* O157: H7, seçici besiyerinde gösterdiği reaksiyonları göstermekte ve diğer mikroorganizmaların gelişimi seçici maddelerle inhibe edilmektedir.

#### *Dondurarak depolama:*

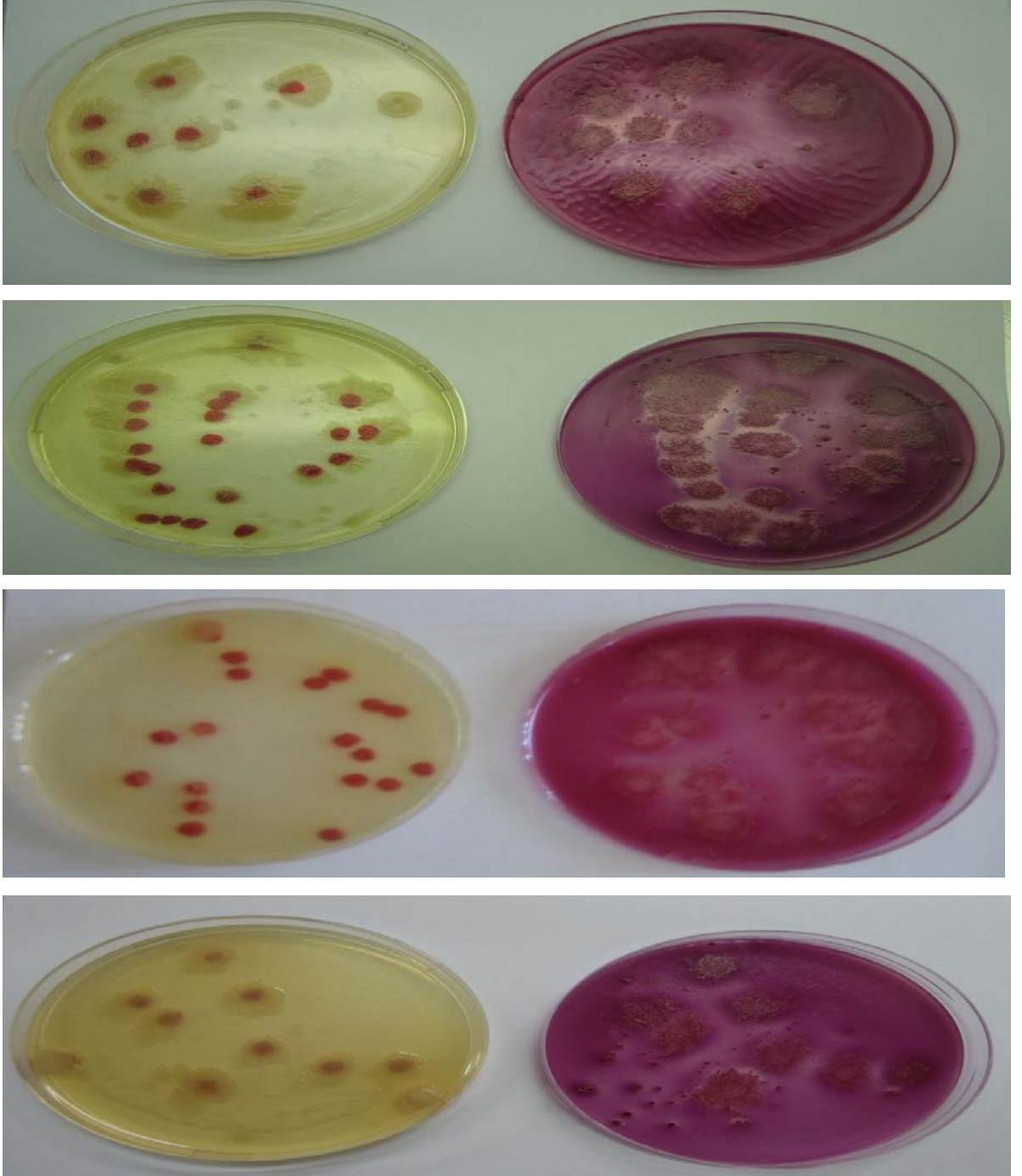
Işınlanan, köfte harcı ilave edilen ve -12±2 °C depolanan örneklerde *E. coli* için alınan RP sonuçlarına bazı örnekler Şekil 4.16'da gösterilmiştir. TSA besiyerinde gözlenen koloniler VRBA besiyerine aktarıldığında inkübasyonu takiben aynı düzlemdeki kolonilerin geliştiği gözlenmiştir.

Wu ve Fung (2001) ve Wu vd. (2001), ısı işlem ve asit uygulaması sonucu hasarlı hücrelerin geri kazanımında TAL yöntemini uygulamış ve yüksek düzeyde subletal hasarlı *E. coli* O157: H7 sayısı elde etmiştir.

Bozoglu vd. (2004) yüksek hidrostatik basınç uygulanan sütte depolama süresince *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 ve *S. Enteritidis*'in hasar onarımını incelemiştir. İki tip hasar gözlenmiştir. İkinci tip hasar temel olandır ve onarımını takiben yani ikinci tipten birinci tipe geçildiğinde hücreler seçici olmayan besiyerinde koloni oluştururken seçici besiyerinde koloni oluşturamaz. Seçici ve seçici olmayan besiyerinde koloni oluşumu hasarın tamamen onarılması sonucu gözlenir. Uygulamayı takiben hasarlı hücrelerin belirlenmemesi ikinci tip hasarın mevcut olabileceğini gösterir. Raf ömrü çalışmalarında ikinci tip hasarın onarılması için gereken süre göz önünde bulundurulmalıdır.

Genel besiyeri (TSA)

Seçici besiyeri (VRBA)



Şekil 4.16 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $-12\pm 2$  °C depolama koşullarında *E. coli* için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler

#### 4.3.2 *S. aureus* için alınan RP sonuçları

##### *Soğukta depolama:*

Işınlanan, köfte harcı ilave edilen ve  $4\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* için alınan RP sonuçlarına bazı örnekler Şekil 4.17'de gösterilmiştir. TSA besiyerinde gözlenen koloniler BPA besiyerine aktarıldığında inkübasyonu takiben aynı düzlemdeki kolonilerin geliştiği gözlenmiştir. Selektif besiyerinde koloni oluşumu hasarın onarıldığını göstermektedir.

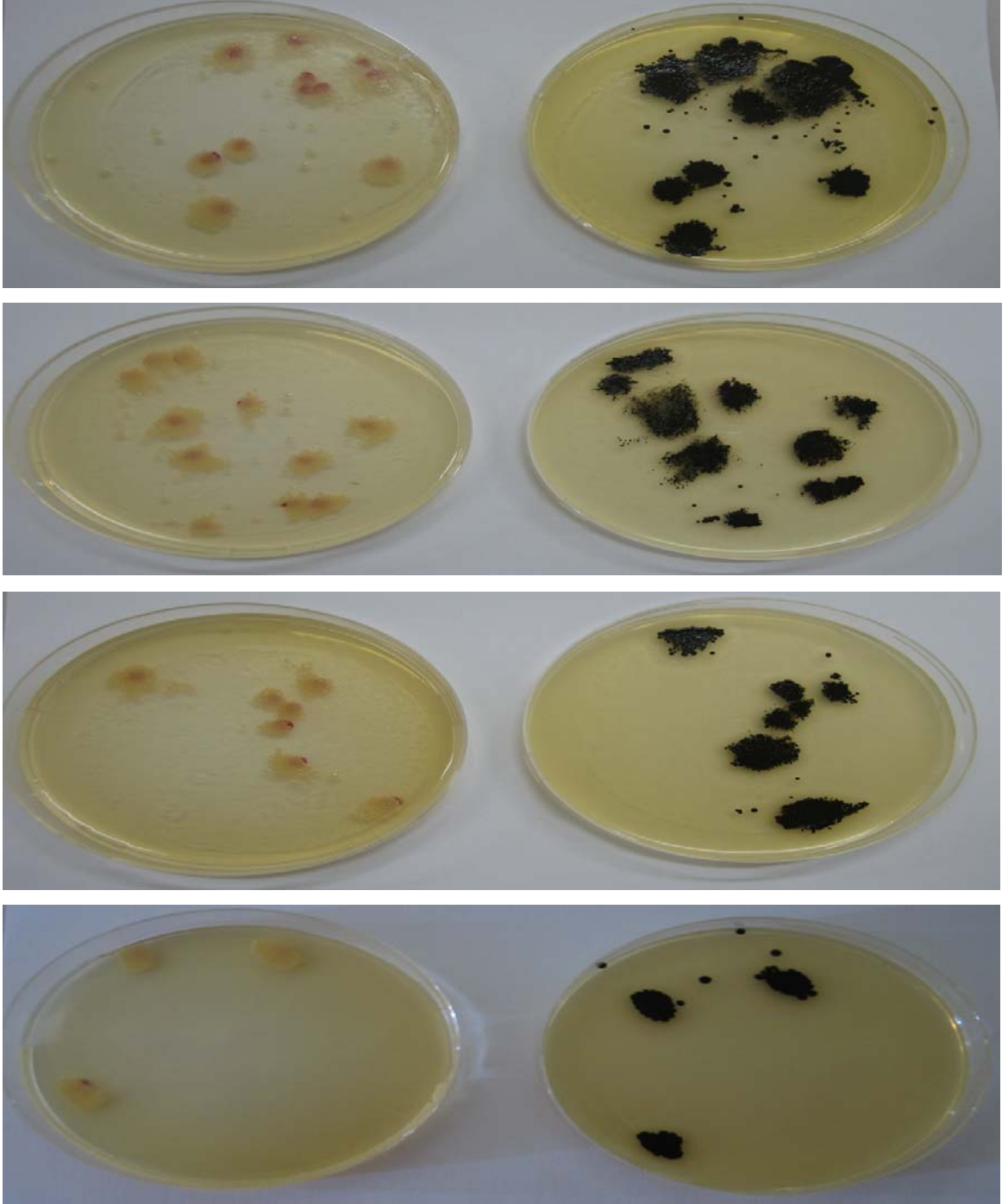
Oda sıcaklığında yüksek basınç uygulanan kanatlı ürünlerinde *S. Typhimurium*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* geri kazanımında geleneksel besiyerleri ile TAL yöntemi karşılaştırılmıştır (Yuste vd. 2003). TAL yöntemi inoküle edilen patojenlerin background floradan ayırt edilmesini sağlamaktadır. TSA, seçici besiyeri ve TAL sayımlarında belirgin fark gözlenmemiştir. Bazı uygulamalarda, tavuk kıymasına ve sıvı yumurtaya inoküle edilen *S. Typhimurium* ve sıvı yumurtaya inoküle edilen *L. monocytogenes* başlangıçta TSA besiyerinde gelişmemiş ancak zenginleştirme aşamasından sonra TSA, seçici ortam ve TAL'da gelişme göstermiştir. TSA besiyerinde gelişme gözlenmemesi tamamen inaktivasyonu veya subletal hücrelerin olmadığı anlamına gelmemektedir.

##### *Dondurarak depolama:*

Işınlanan, köfte harcı ilave edilen ve  $-12\pm 2$  °C depolanan örneklerde *S. aureus* için alınan RP sonuçlarına bazı örnekler Şekil 4.18'de gösterilmiştir. TSA besiyerinde gözlenen koloniler BPA besiyerine aktarıldığında inkübasyonu takiben aynı düzlemdeki kolonilerin geliştiği gözlenmiştir.

Genel besiyeri (TSA)

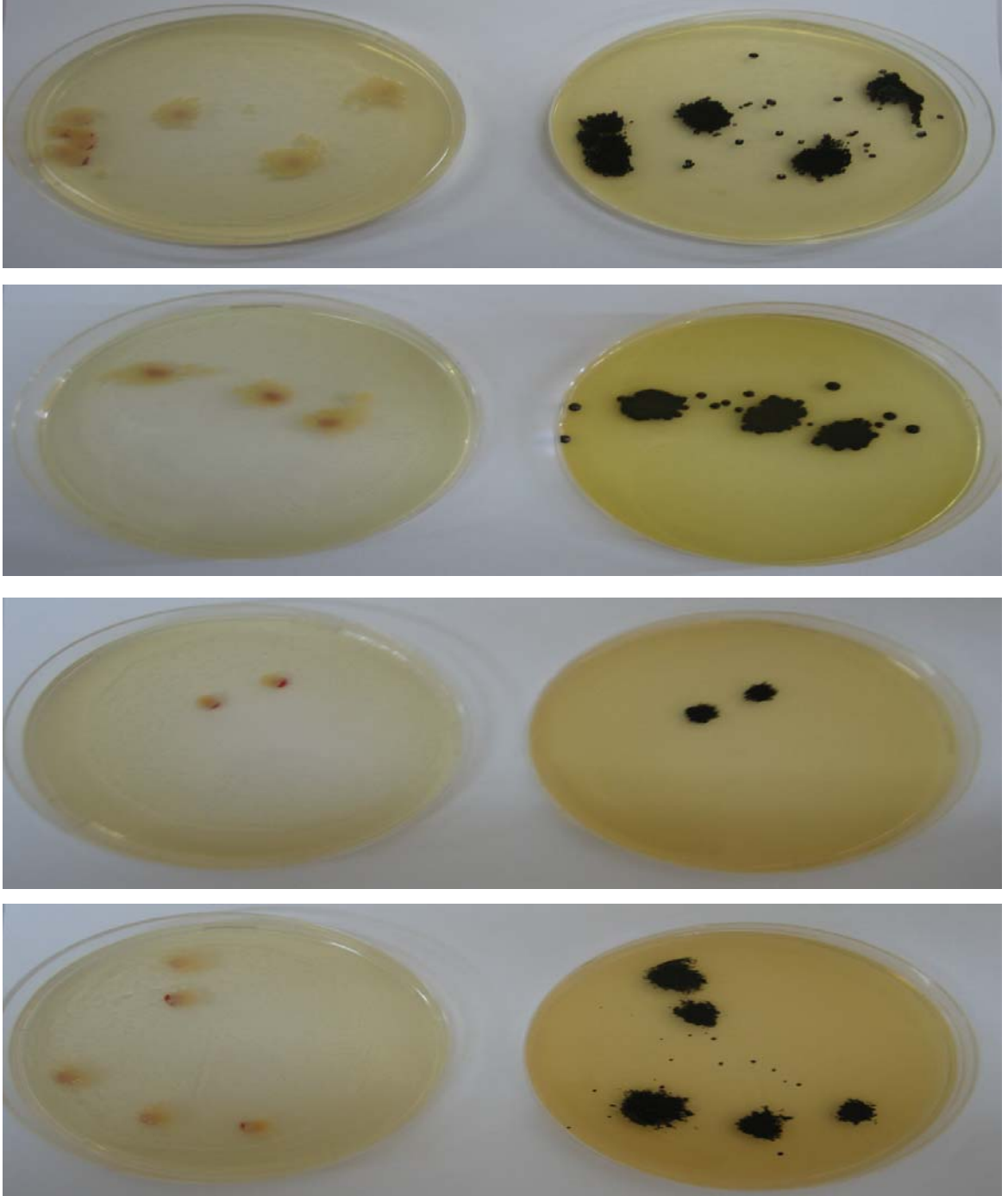
Seçici besiyeri (BPA)



Şekil 4.17 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $4\pm 2$  °C depolama koşullarında *S. aureus* için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler

Genel besiyeri (TSA)

Seçici besiyeri (BPA)



Şekil 4.18 Işınlama, köfte harcı ilavesi ve  $-12\pm 2$  °C depolama koşullarında *S. aureus* için elde edilen RP Petri kutusu fotoğraflarına bazı örnekler

Replika Plate yöntemi, ışınlanan, köfte harcı ilave edilen, soğukta depolanan ( $4\pm 2$  °C'de 10 gün) ve dondurarak depolanan ( $-12\pm 2$  °C'de 50 gün) örneklerde hasarlı *E. coli* ve *S. aureus* hücrelerinin belirlenmesinde etkili bulunmuştur. RP Petri kutularında inkübasyonu takiben hasarlı hücrelerin onarıldığı ve besiyerinde koloni oluşturduğu gözlenmiştir. Hasarlı hücrelerin geri kazanımında RP yönteminin TSA besiyeri kadar etkili olduğu tespit edilmiştir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Baharatta hijyen amacıyla gama ışınlamasının kullanılması yaygın olarak çalışılmıştır. Ancak, baharatın gıdada bulunan mikroorganizmaların radyasyon duyarlılığına etkisi konusunda az sayıda çalışma mevcuttur. Işınlama esnasında gıda bileşenlerinin mikroorganizmalar için koruma sağladığı bilinmektedir. Yapılan bu araştırma sonucunda, köfte harcı ilavesinin *E. coli*'nin radyasyon duyarlılığını arttırırken *S. aureus*'un radyasyon direncinde artışa neden olduğu bulunmuştur. Köfte harcı ilavesinin *S. aureus* için gama radyasyonu ile inaktivasyona karşı koruma sağladığı sonucuna varılabilir.
2. Soğukta ( $4\pm 2$  °C) 10 günlük depolamada ve dondurarak ( $-12\pm 2$  °C) 50 günlük depolamada ışınlama, köfte harcı ilavesi ve ışınlama+köfte harcı ilavesi sonucu genel ve selektif besiyerinde *E. coli* ve *S. aureus* sayım sonuçları arasında fark gözlenmiştir. Uygulamaların *E. coli* ve *S. aureus* suşlarında subletal hasara yol açtığı sonucuna varılabilir. Hasar görmüş mikroorganizmaların belirlenmesi son üründe kalite ve gıda güvenliği açısından oldukça önemlidir.
3. Işınlama uygulamasında gözlenen subletal hasar düzeyi diğer uygulamalardan daha yüksektir. İyonlaştırıcı radyasyon DNA'daki kimyasal bağları kırmakta ve hücre geçirgenliğinde değişime neden olmaktadır. Mikroorganizmanın radyasyon duyarlılığı, iyonlaştırıcı radyasyonun direkt ve indirekt etkisine gösterdiği hassasiyet yanında tek ve çift iplikçik kırılmalarını onarım yeteneğine bağlıdır.
4. Işınlama sonucu canlılığını sürdüren hücrelerin soğukta ve dondurarak depolama koşullarında tutulması subletal hasarlı hücre popülasyonunda inaktivasyona neden olmuş olabilir. Depolama süresince inaktivasyon düzeyinin artması, hasarın onarılamadığını ve seçici ortamdaki maddelere karşı hassasiyeti göstermiştir.
5. Replika Plate yönteminin hasar görmüş patojenlerin geri kazanımında etkinliği değerlendirilmiştir. Işınlanan, köfte harcı ilave edilen ve  $4\pm 2$  °C'de 10 günlük depolamada ve  $-12\pm 2$  °C'de 50 günlük depolamada *E. coli* ve *S. aureus* için alınan Replika Plate sonuçları hasarın onarıldığını göstermiştir. TSA besiyerinde gözlenen

koloniler VRBA besiyerine aktarıldığında inkübasyonu takiben aynı düzlemdeki kolonilerin geliştiği gözlenmiştir.

6. Replika Plate yönteminin çeşitli uygulamalarda hasar gören bakteriler için geri kazanım ortamı olarak düşünölebileceği sonucuna varılabilir. Geri kazanımında seçici besiyerine göre daha etkili olduğu ve seçici olmayan besiyeri kadar da etkili olduğu bulunmuştur.

## KAYNAKLAR

- Abbas, S. M. N. 2002. Baharat mikroflorası üzerine ışınlamanın etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, 81s. Ankara.
- Abbis, J. S. 1983. Injury and resuscitation of microbes with reference to food microbiology. Irish J. Food Sci. Technol., 7, 69-81.
- Adu-Gyamfi, A. and Nketsia-Tabiri, J. 2008. Elimination of bacterial isolates from Jollof rice meal by irradiation and chilled storage. J. Food Safety, 28, 210-219.
- Agaoglu, S., Dostbil, N. and Alemdar, S. 2007. Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. Bull Vet Inst Pulawy, 51, 53-57.
- Akgül, A. 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Tek. Derneği Yay. No:15, 451s., Ankara.
- Akgul, A. and Kivanc, M. 1989. Growth of *Staphylococcus aureus* in köfte, a Turkish ground meat product, containing *Laser trilobum* spice, J. Food Safety, 10, 11-19.
- Al-Bachir, M. and Mehio, A. 2001. Irradiated luncheon meat: microbiological, chemical and sensory characteristics during storage. Food Chem., 75 (2) 169-175.
- Alkan, H. 2003. Türkiye’de Endüstriyel Gama Işınlaması Uygulamaları. 3. Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, Samsun
- Alpas, H., Lee, J., Bozoglu, F. and Kaletunc, G. 2003. Evaluation of differential scanning calorimetry of high hydrostatic pressure sensitivity of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 strains. Int. J. Food Microbiol., 87, 229-237.
- Allwood, M. C. and Russell, A. D. 1968. Thermally induced ribonucleic acid degradation and leakage of substances from the metabolic pool of *Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol. 95, 345–349.
- Anonim. 1999. Gıda Işınlama Yönetmeliği, Resmi Gazete Tarih.06.11.1999, Sayı: 23868.
- Anonim. 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 358 sayfa.
- Anonim. 2009. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Resmi Gazete Tarih. 06.02.2009, Sayı: 27133.
- Anonymous. 1986. Food and Drug Administration- Irradiation in the production, processing and handling of foods- Final rule (21CFR Part. 179), Federal Register, 55 (75), 13376-13399.
- Anonymous. 2008. Foodborne Illness-Causing Organisms in the U. S.- What You Need to Know. <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm103263.htm>
- Anonymous. 2009. The Community Summary Report on Food-borne Outbreaks in the European Union in 2007, European Food Safety Authority (EFSA) Journal, 271.
- Ardic, M. and Durmaz, H. 2006. Determination of changes occurred in the microflora of cig kofte (raw meat balls) at different storage temperatures. Int. J. Food Sci. Tech., doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01519.x
- Arora, D.S. and Kaur, J. 1999. Antimicrobial activity of spices. Int. J. Antimicrob. Ag., 12, 257-262.
- Aymerich, T., Picouet, P.A. and Monfort, J.M. 2008. Decontamination technologies for meat products. Meat Sci., 78, 114-129.

- Aytac, A. S., Vural, H. and Ozbas, Y. Z. 1994. Effects of radiation, microwave and conventional cooking procedures on inhibition of *Yersinia enterocolitica* in meatball (Kopfte). *Chemie, Mikrobiologie, Technologie der Lebensmittel*, Vol. 16, No. 3-4, 93-96.
- Badr, H. M. 2004. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. *Meat Sci.*, 67, 541-548.
- Badr, H. M. 2005. Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* from raw beef sausage by  $\gamma$ -radiation. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 343–349.
- Banati, D., Fielding, L. M., Grandinson, A. S. and Cook, P. E. 1993. The effect of combination of irradiation and pH on the survival of *Escherichia coli* on chicken meat. *Lett. Appl. Microbiol.*, 16, 239-242.
- Besse, N. G., Brissonnet, F. D., Lafarge, V. and Leclerc, V. 2000. Effect of various environmental parameters on the recovery of sublethally salt-damaged and acid-damaged *Listeria monocytogenes*. *J. of Appl. Microbiol.*, 89, 944-950.
- Blankenship, L.C. 1981. Some characteristics of acid injury and recovery of *Salmonella bareilly* in a model system, *J. Food Prot.* 44, 73–77.
- Bogosian, G. and Bourneuf, E.V. 2001. A matter of bacterial life and death, *EMBO Reports*, 2 (9), 770-774.
- Borsa, J. 2006. Introduction: Food irradiation is moving on. In: *Food Irradiation Research and Technology*. Sommers, C. H. and Fan, X. (eds.), Blackwell Publishing Professional, pp. 31, Iowa.
- Borsa, J., Lacroix, M., Quattara, B. and Chiasson, F. 2004. Radiosensitization: enhancing the radiation inactivation of foodborne bacteria. *Radiat. Phys. Chem.*, 71, 135-139.
- Bozoglu F. and Caner T. 1988. Sublethal effect of gamma irradiation on *Salmonella* and *E. coli*. *J. Food Prot.*, 51, 829.
- Bozoglu, F., Alpas, H. and Kaletunc, G. 2004. Injury recovery of foodborne pathogens in high hydrostatic pressure treated milk during storage. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 40, 243–247.
- Busta, F.F. 1976. Practical implications of injured microorganisms in food. *J. Milk Food Technol.*, 39, 138-145.
- Busta, F.F. 1978. Introduction to injury and repair on microbial cells. *J. Food Prot.* 23, 195-207.
- Calenberg, S. B., Vanhaelewyn, G., Cleemput, O. V., Callens, F., Mondelaers, W. and Huyghebaert, A. 1998. Comparison of the effect of X-ray and electron beam irradiation on some selected spices. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 31, 252-258.
- Carrasco, A., Tarrega, R., Ramirez, M. R., Mingoarranz, F. J. and Cava, R. 2005. Colour and lipid oxidation changes in dry-cured loins from free-range reared and intensively reared pigs as affected by ionizing radiation dose level. *Meat Sci.*, 69, 609–615.
- Cava, R., Tarrega, R., Ramirez, M. R., Mingoarranz, F. J. and Carrasco, A. 2005. Effect of irradiation on colour and lipid oxidation of dry-cured hams from free-range reared and intensively reared pigs. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 6, 135–141.
- Chilton, P., Isaacs, N. S., Manas, P. and Mackey, B. M. 2001. Biosynthetic requirements for the repair of membrane damage in pressure-treated *Escherichia coli*. *Int. J. Food Microbiol.*, Volume 71, Issue 1, 101-104

- Clavero, M. R. S., Monk, J. D., Beuchat, L. R., Doyle, M. P. and Brackett, R. E. 1994. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in Raw Ground Beef by Gamma Irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 60, No. 6, 2069-2075.
- Damar, S., Bozoglu, F., Hizal, M. and Bayindirli, A. 2002. Inactivation and injury of *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* by pulsed electric fields, *World J. Microb. Biot.*, 18, 1-6.
- Dempster, J. F. 1985. Radiation preservation of meat and meat products: A review, *Meat Sci.*, 12 (2) 61-89.
- Dickson, J.S. 2001. Radiation inactivation of microorganisms, In: *Food Irradiation: Principles and Applications*. Molins, R. A. (ed.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 23-35, NY.
- Diehl, J. F. 1990. Biological effects of ionizing radiation. In: *Safety of irradiated foods*. Diehl, J. F. (ed.), Marcel-Dekker Inc., 95-136, NY.
- Dion, P., Charbonneau, R. and Thibault, C. 1994. Effect of ionizing dose rate on the radioresistance of some food pathogenic bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 40 (5) 369-374.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve deneme metotları. A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları, Ankara.
- Farkas, J. 2001. Physical methods of food preservation. In: *Food microbiology. Fundamentals and frontiers*. Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montville, T. J. (eds.), ASM Press, 561-591, Washington DC.
- Farkas, J. 2006. Irradiation for better foods. *Trends Food Sci. Tech.*, 17,148-152.
- Foegeding, P.M. and Ray, B. 1992. Repair and detection of injured microorganisms. In: *Compendium of Method for the Microbiological Examination of Foods*. Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. (eds.), American Public Health Association Inc., Washington, DC, pp. 121-134. .
- Fu, A. H., Sebranek, J. G. and Murano, E. A. 1995. Survival of *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* and *Escherichia coli* O157:H7 and quality changes after irradiation of beef steaks and ground eef, *J. Food Sci.*, 60 (5) 972-977.
- Fung, D.Y.C. and Vanden Bosch, L.L., 1975. Repair, growth, and enterotoxigenesis of *Staphylococcus aureus* S-6 injured by freeze-drying. *J. Milk Food Technol.* 38, 212-218.
- Gençcelep, H., Zorba, Ö. ve Kurt, Ş. 2002. Baharatlar ve et teknolojisinde kullanımı. Türkiye 7. Gıda Kongresi, 849-855, Ankara.
- Gezgin, Z. and Gunes, G. 2007. Influence of gamma irradiation on growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 and quality of 'ciğ kofte', a traditional raw meat product. *Int. J. Food Sci. Tech.*, Vol. 42,1067-1072.
- Gomes, H. A. and da Silva, E. N. 2006. Effects of ionizing radiation on mechanically deboned chicken meat during frozen storage. *J. Radioanal. Nucl. Ch.*, 270 (1), 225-229.
- Gökalp, H. Y., Kaya, M. ve Zorba, Ö. 1994. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 320, 520s., Erzurum.
- Gönül, Ş. A. 1999. Diğer gıdalarda mikrobiyolojik bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri. Alınmıştır 'Gıda Mikrobiyolojisi İkinci baskı. Eds. A. Ünlütürk ve F. Turantaş. s. 414-416'. Mengi Tan Basımevi, 598s., İzmir.

- Grant, I.R. and Patterson, M.F. 1992. Sensitivity of foodborne pathogens to irradiation in the components of a chilled ready meal. *Food Microbiol.*, 9(2) 95–103.
- Gumus, T., Demirci, A.S., Velioglu, H. M., Velioglu, S. D., Yilmaz, I. and Sagdic, O. 2008. Application of gamma irradiation for inactivation of three pathogenic bacteria inoculated into meatballs. *Radiat. Phys. Chem.*, 77, 1093– 1096.
- Gunasekera, T.S., Sorensen, A., Attfield, P.V., Sorensen, S.J. and Veal, D.A. 2002. Inducible gene expression by nonculturable bacteria in milk after pasteurization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 1988-1993.
- Gupte, A.R., de Rezende, L.E. and Joseph, S.W. 2003. Induction and resuscitation of viable but nonculturable *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT 104. *Appl. Environ. Microbiol.*, Nov., 6669-6675.
- Gursel, B. and Gurakan, G. C. 1997. Effects of gamma irradiation on the survival of *Listeria monocytogenes* and on its growth at refrigeration temperature in Poultry and red meat. *Poultry Sci.*, 76, 1661–1664.
- Halkman, A. K., Doğan, H. B. and Yazıcı, N. 2000. Reducing of *Escherichia coli* O157 serotype and cohabitant flora by irradiation in minced meat. I. Eurasia Conference on Nuclear Science and Its Application, 104-106, İzmir.
- Halkman, A. K., Noveir, M. R. ve Doğan, H. B. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., 44s.,Ankara.
- Hartman, P.A., Hartman, P.S. and Lanz, W.W. 1975. Violet red bile 2 agar for stressed coliforms. *Appl. Microbiol.* 29, 537–539.
- Hartsell, S.E., 1951. The longevity and behavior of pathogenic bacteria in frozen food: the influence of plating media. *Am. J. Public Health* 41, 1072–1077.
- Helander, I. M., Alakomi, H-L., Latva-Kala, K., Matilla-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M. and von Wright, A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria, *J. Agric. Food Chem.*, 46 (9) 3590-3595.
- Hurst, A. 1977. Bacterial injury: a review. *Can. J. Microbiol.*, 23, 935–944.
- Hurst, A. 1984. Revival of vegetative bacteria after sublethal heating. In: *The Revival of Injured Microbes*. Andrew, M.H. and Russell, A.D. (eds.), Academic Press Inc., pp. 77–103, FL.
- Idziak, E. S. and Incze, K. 1968. Radiation treatment of foods. *Appl. Microbiol.*, 16, 1061-1066.
- Jay, J.M. 1992. *Modern Food Microbiology*, Chapman & Hall, London.
- Javanmard, M., Rokni, N., Bokaie, S. and Shahhosseini, G. 2006. Effects of gamma irradiation and frozen storage on microbial, chemical and sensory quality of chicken meat in Iran. *Food Control*, 17, 469-473.
- Jo, C., Lee, N. Y., Kang, H. J., Shin, D. H. and Byun, M. W. 2004. Inactivation of foodborne pathogens in marinated beef rib by ionizing radiation. *Food Microbiol.*, 21, 543-548.
- Jo, C., Lee, N. Y., Kang, H., Hong, S., Kim, Y., Kim, H. J. and Byun, M. W. 2005. Radio- sensitivity of pathogens in inoculated prepared foods of animal origin. *Food Microbiol.*, 22, 329-336.
- Josephson, E. S. and Peterson, M. S. 1983. *Preservation of food by ionizing radiation*. CRC Press, FL, USA.

- Kalchayanand, N., Dunne, P., Sikes, A. and Ray, B. 2004. Viability loss and morphology change of foodborne pathogens following exposure to hydrostatic pressures in the presence and absence of bacteriocins. *Int. J. Food Microbiol.*, 91, 91–98.
- Kamat, S. A. and Nair, M. P. 1995. Gamma irradiation as a means to eliminate *Listeria monocytogenes* from frozen chicken meat. *J. Sci. Food Agr.* 69 (4) 415-422.
- Kang, D.H. and Fung, D.Y.C. 1999. Thin agar layer method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.*, 62, 1346–1349.
- Kang, D, H. and Fung, D. Y. C. 2000. Application of thin agar layer method for recovery of injured *Salmonella* Typhimurium. *Int. J. Food Microbiol.*, 54, 127-32.
- Kang, D.H. and Siragusa, G.R. 2001. A rapid twofold dilution method for microbial enumeration and resuscitation of uninjured and sublethally injured bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 232–236.
- Karadağ, A. ve Güneş, G. 2007. Gama ışınlarının pişirmeye hazır köftelerin kalitesi üzerine etkileri ve bu etkilerin kıymadaki etkilerle karşılaştırılması. *Gıda Mühendisliği 5. Kongresi*, 243-248, Ankara.
- Karadag, A. and Gunes, G. 2008. The effects of gamma irradiation on the quality of ready-to-cook meatballs. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, Vol. 32, 269-274.
- Karapinar, M. and Aktug, S.E. 1987. Inhibitor of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *Int. J. Food Microbiol.*, 4, 2, 161-166.
- Kiss, I. F., Meszaros, L. and Kovacs-Domjan, H. 2001. Reducing microbial contamination including some pathogens in minced beef by irradiation, In: *Irradiation for Food Safety and Quality. Proceedings of FAO/IAEA/WHO International Conference on Ensuring the Safety and Quality of Food through Radiation Processing IAEA*. Loaharanu, P. and P. Thomas, P. (ed.), Technomic Publishing Company Inc., USA.
- Kivanc, M. and Akgul, A. 1991. Effect of *Laser trilobum* spice on natural microflora of köfte, a Turkish ground meat product, *Die Nahrung*, 35 (2) 149-154.
- Kolsarıcı, N. and Kırımca, G. 1995. Effect of radurization on microbiological, chemical and sensorial properties of chicken meats. *Gıda*, 20, 67-73.
- Lacroix, M., Caillet, S. and Shareck, F. 2009. Bacterial radiosensitization by using radiation processing in combination with essential oil: Mechanism of action. *Radiat. Phys. Chem.*, doi:10.1016/j.radphyschem.2009.03.012
- Lacroix, M. and Chiasson, F. 2004. The influence of MAP condition and active compounds on the radiosensitization of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi present in chicken breast. *Radiat. Phys. Chem.*, 71, 67-70.
- Lacroix, M., Chiasson, F., Borsa, J. and Quattara, B. 2004. Radiosensitization of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhi in presence of active compounds. *Radiat. Phys. Chem.*, 71, 63-66.
- Lederberg, J. and Lederberg, E. M. 1952. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J. Bacteriol.*, 63, 399–406.
- Lee, J-W., Park, K-S., Kim, J-G., Oh, S-H., Lee, Y-S., Kim, J-H. and Byun, M-W. 2005. Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak. *Radiat. Phys. Chem.*, 72, 49-56.
- Lucht, L., Blank, G. and Borsa, J. 1997. Recovery of *Escherichia coli* from potentially lethal radiation damage: characterization of a recovery phenomenon, *J. Food Safety*, 17, 261-271.

- Mackey, B.M. 2000. Injured bacteria, In: The Microbiological Safety and Quality of Food. Lund, B.M., Baird-Parker, A. and Gould, G.M. (eds), Aspen Publishers, Inc., pp. 315-341, MD.
- Mackey, B. M. and Derrick, C. M. 1982. The effect of sublethal injury by heating, freezing, drying and gamma-radiation on the duration of the lag phase of *Salmonella* Typhimurium. The Journal of Applied Bacteriology, 53 (2) 243-51.
- Mahrour, A., Caillet, S., Nketsia-Tabiri, J. and Lacroix, M. 2003. The antioxidant effect of natural substances on lipids during irradiation of chicken legs. J. Am. Oils Chem. Soc. 80 (7), 679-684.
- Manas, P. and Pagan, R. 2005. Microbial inactivation by new technologies of food Preservation. J. Appl. Microbiol., 98 (6) 1387 – 1399.
- Monk, J.D., Beuchat, L.R. and Doyle, M.P. 1995. Irradiation inactivation of food borne microorganisms. J. Food Protect., 58 (2) 197-208.
- Noleto, A. L. S., Malburg, L. M. and Bergdoll, M.S. 1987. Production of staphylococcal enterotoxin in mixed cultures. Appl. Environ. Microbiol., 53, 2271-2274.
- O'Bryan, C. A., Crandall, P. G., Ricke, S. C. and Olson, D. G. 2008. Impact of irradiation on the safety and quality of poultry and meat products: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48 (5), 442-457.
- Oliver, J.D. 2005. The viable but nonculturable state in bacteria. The Journal of Microbiology, 43 (Special Issue No. S), 93-100.
- Oscroft, C. A., Alcock, S. J. and Clayden, J. A. 1987. Recovery of sub-lethally injured bacteria from frozen foods. Food Microbiol., Volume 4, Issue 3, 257-268.
- Öztaş, A. 2003. Et Bilimi ve Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayın No.1, 495 s., Ankara.
- Palumbo, S.A. 1989. Injury in emerging foodborne pathogens and their detection. In: Injured Index and Pathogenic Bacteria: Occurrence and Detection in Food, Water and Feeds. Ray, B. (Ed.), CRC Press, Inc., 115–132, FL.
- Patterson, M.F. 1988. Sensitivity of bacteria to irradiation on poultry meat under various atmospheres. Lett. Appl. Microbiol., 7, 55-58.
- Patterson, M.F. 1995. Sensitivity of *Campylobacter* spp. to irradiation in poultry meat. Lett. Appl. Microbiol., 20(6):338–340.
- Phianphak, W., Rengpipat, S. and Cherdshewasart, W. 2007. Gamma irradiation versus microbial contamination of Thai medicinal herbs. Songklanakarın J. Sci. Technol., March, 29 (Suppl. 1), 157-166.
- Przybylski, K.S. and Witter, L.D. 1979. Injury and recovery of *Escherichia coli* after sublethal acidification. Appl. Environ. Microbiol., 37, 261–265.
- Quattara, B., Giroux, M., Smoragiewicz, W., Saucier, L. and Lacroix, M. 2002. Combined effect of gamma irradiation, ascorbic acid, and edible coating on the improvement of microbial and biochemical characteristics of ground beef. J. Food Prot., 65 (6), 981-987.
- Ray, B. 1979. Methods to detect stressed microorganisms. J. Food Prot., 42, 346–355.
- Ray, B. 1986. Impact of bacterial injury and repair in food microbiology: its past, present and future. J. Food Prot. 49, 651-655.
- Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press Inc., FL.
- Ray, B. and Adams, D.M., 1984. Repair and detection of injured microorganisms. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Speck, M.L. (Ed.), American Public Health Association, Inc., Washington, DC, pp. 112–123.

- Ray, B., Janssen, D. W. and Busta, F. F. 1972. Characterization of the repair of injury induced by freezing *Salmonella* Anatum. *Appl. Microbiol.*, 23 (4) 803-809.
- Ray, B. and Speck, M. L. 1972. Metabolic process during the repair of freeze-injury in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol.*, 24 (4) 585-590.
- Ray, B. and Speck, M. L. 1973. Freeze-injury in bacteria. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 4, 61-166.
- Sadecka, J. 2007. Irradiation of spices-a review, *Czech. J. Food Sci.*, Vol. 25, No.5, 231-242.
- Sagdic, O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and wild marjoram hydrosols. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 36, 467-473.
- Sagun, E., Alisarli, M. and Durmaz, H. 2003. The effect of different storage temperatures on the growth and enterotoxin producing characteristics of *Staphylococcus aureus* in cig kofte. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 27, 839-845.
- Saldana, G., Puertolas, E., Lopez, N., Garcia, D., Alvarez, I. and Raso, J. 2009. Comparing the PEF resistance and occurrence of sublethal injury on different strains of *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in media of pH 4 and 7. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 10, 160-165.
- Saleh, Y. G., Mayo, M. S. and Ahearn, D. G. 1988. Resistance of some common fungi to gamma irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 2134-2135.
- Samelis, J. and Metaxopoulos, J. 1998. The microbiological of traditional Greek country-style sausage during manufacture followed by storage at 3 and 12°C in air. *Ital. J. Food Sci.*, 2, 155-163.
- Sarjeant, K. C., Williams, S. K. and Hinton, Jr., A. 2005. The Effect of Electron Beam Irradiation on the survival of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and psychrotrophic bacteria on raw chicken breasts stored at Four Degrees Celsius for fourteen days, *Poultry Sci.*, 84, 955-958.
- Satin, M. 2002, Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives, *Meat Sci.* 62, 277-283.
- Schwab, A.H., Harpestad, A.D., Swartzentruber, A., Lainer, J.M., Wentz, B.A., Duran, A.P., Barnard, A.J. and Read Jr., R.B. 1982. Microbiological quality of some spices and herbs in retail markets. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 627-630.
- Sharma, A. Gautam, S. and Jadhav, S. S. 2000. Spice extracts as dose-modifying factors in radiation inactivation of bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1340-1344.
- Shea, K. M. 2000. Technical report: Irradiation of food. *Pediatrics*, Vol. 106, No. 6, 1505-1510.
- Shelef, L. A., Jyothi, E. K. and Bulgarelli, M. A. 1984. Growth of enteropathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and foods. *J. Food Sci.* 49 (3), 737-740.
- Sherry, A. E., Patterson, M. F. and Madden, R. H. 2004. Comparison of 40 *Salmonella* Enterica serovars injured by thermal, high-pressure and irradiation stress. *J. Appl. Microbiol.*, 96, 887-893.
- Shintani, H., 2006. Importance of considering injured microorganisms in sterilization validation. *Biocontrol. Sci.*, 11, 91-106.
- Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A. K. and Singh, N. 2003. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 36, 787-794.

- Siyakuş, G. 2004. Gıda ışınlanmanın tarihçesi. Gıda Işınlama Kursu, 15-26, Ankara,
- Smith, J.S. and Pillai, S. 2004. Irradiation and food safety. *Food Technology*, 58 (11) 48-55.
- Sommers, C. and Boyd, G. 2006. Variations in the radiation sensitivity of foodborne pathogens associated with complex ready-to-eat food products. *Radiat. Phys. Chem.*, 75, 773–778.
- Sommers, C., Fan, X., Niemira, B. and Rajkowski, K. 2004. Irradiation of ready-to-eat foods at USDA. *Radiat. Phys. Chem.*, 71, 509–512.
- Somolinos, M., Garcia, D., Condon, S., Manas, P. and Pagan, R. 2007. Relationship between sublethal injury and inactivation of yeast cells by the combination of sorbic acid and pulsed electric fields. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73 (12) 3814-3821.
- Somolinos, M., Garcia, D., Manas, P., Condon, S. and Pagan, R. 2008. Effect of environmental factors on the survival of *Escherichia coli* strains to pulsed electric fields. *Int. J. Food Microbiol.*, 124, 260–267.
- Souza, E.L., Stamford, T.L. M., Lima, E.O., Trajano, V.N. and Filho, J.M.B., 2005, Antimicrobial effectiveness of spices : an approach for use in food conservation systems, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 48 (4), 549-558.
- Speck, M.L., Ray, B. and Read, R.B. 1975. Repair and enumeration of injured coliforms by a plating procedure. *Appl. Microbiol.* 29, 549–550.
- Spoto, M. H. F., Gallo, C. R., Alcarde, A. R., Gurgel, M. S. A., Blumer, L., Walder, J. M. M. and Domarco, R. E. 2000. Gamma irradiation in the control of pathogenic bacteria in refrigerated ground chicken meat. *Sci. Agric.*, 57 (3), 389-394.
- Tarte, R., Murano, E. A. and Olson, D. G. 1996. Survival and injury of *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* and *Listeria ivanovii* in ground pork following electron beam irradiation. *J. Food Prot.*, Vol. 59, No. 6, 596-600.
- Teixeira, P., Castro, H., Mohacsi-Farkas, C. and Kirby, R. 1997. Identification of sites of injury in *Lactobacillus bulgaricus* during heat stress. *J. Appl. Microbiol.*, 83, 219–226.
- Temiz, A., 1999. Gıdalarda mikrobiyal gelişmeyi etkileyen faktörler. Alınmıştır ‘Gıda Mikrobiyolojisi. Eds. A.Ünlütürk ve F. Turantaş. Bölüm 3’. Mengi Tan Basımevi, İzmir, 605s.
- Temiz, A., Saldamlı, İ., Vazgeçer, B. ve Özbey, F. 1998. Ticari önemi olan bazı baharatlarda gamma ışınlarının mikrobiyolojik ve kimyasal özellikler üzerine etkisi, TOGTAG 1738.
- Thayer, D.W. and Boyd, G. 1992. Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. *J. Food Sci.*, 57, 848–851.
- Thayer, D. W., Boyd, G., Fox, J. B. J. R. and Lakritz, L. 1997. Elimination by gamma irradiation of *Salmonella* spp., and strains of *Staphylococcus aureus* inoculated in bison, ostrich, alligator, and caiman meat. *J. Food Prot.*, 60, 756-760.
- Thayer, D. W., Boyd, G., Fox, Jr., J. B., Lakritz, L. and Hampson, J. W. 1995. Microbial and sensory quality of marinated and irradiated chicken. *J. Food Prot.*, 66 (11), 2156-2159.
- Thayer, D. W. , Boyd G., Kim A., Fox, J. B. and Farrell Jr., A. H. M. 1998. Fate of gamma-irradiated *Listeria monocytogenes* during refrigerated storage on raw or cooked Turkey breast meat. *J. Food Prot.*, Vol. 61, No. 8, 979-987.

- Thayer, D. W., Dickerson, C. Y., Rao, D. R., Boyd, G. and Chawan, C. B. 1992. Destruction of *Salmonella* Typhimurium on chicken wings by gamma radiation. *J. Food Sci.*, 57, 586–589.
- Tiwari, N.P. and Maxcy, R.B. 1972. Post-irradiation evaluation of pathogens and indicator bacteria. *J. Food Sci.* 37, 485-487.
- Uhart, M., Maks, N. and Ravishankar, S. 2006. Effect of spices on growth and survival of *Salmonella* Typhimurium DT 104 in ground beef stored at 4 and 8 °C. *J. Food Safety*, 26 (2) 115–125.
- Ünlütürk, A., 1999. Gıda muhafaza ilkeleri. Alınmıştır ‘Gıda Mikrobiyolojisi. Eds. A.Ünlütürk ve F. Turantaş. Bölüm 3’. Mengi Tan Basımevi, İzmir, 605s.
- Vural, A., Aksu, H. and Erkan, M. E. 2006. Low-dose irradiation as a measure to improve microbiological quality of Turkish raw meat ball (cig kofte). *Int. J. Food Sci. Tech.*, 41, 1105-1107.
- Warseck, M., Ray, B. and Speck, M.L., 1973, Repair and enumeration of injured coliforms in frozen foods. *Appl. Microbiol.* 26, 919-922.
- Wendakoon, C. N. and Sakaguchi, M. 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *J. Food Prot.* 58, 280-283.
- Wu, V.C.H. 2008. A review of microbial injury and recovery methods in food. *Food Microbiol.*, 25, 735– 744.
- Wu, V.C.H. and Fung, D.Y.C. 2001. Evaluation of thin agar layer method for recovery of heat-injured foodborne pathogens. *J. Food Sci.*, 66, 580–583.
- Wu, V.C.H. and Fung, D.Y.C. 2003. Simultaneous recovery of four injured foodborne pathogens in the four-compartment thin agar layer plate. *J. Food Sci.*, 68, 646–648.
- Wu, V.C.H. and Fung, D.Y.C. 2006. Simultaneous recovery and detection of four heat-injured foodborne pathogens in ground beef and milk by a four-compartment thin agar layer plate. *J. Food Safety*, 26, 126–136.
- Wu, V.C.H., Fung, D.Y.C. and Kang, D.H. 2001. Evaluation of thin agar layer method for recovery of cold-injured foodborne pathogens. *J. Rapid Meth. Auto. Microbiol.*, 9, 11–25.
- Wu, V.C.H., Fung, D.Y.C., Kang, D.H. and Thompson, L.K. 2001. Evaluation of thin agar layer method for recovery of acid-injured foodborne pathogens. *J. Food Prot.*, 64, 1067–1071.
- Wu, V.C.H., Qiu, X. and Hsieh, Y-H.P. 2008. Evaluation of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice with *Cornus* fruit (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.) extract by conventional media and thin agar layer method. *Food Microbiol.*, 25, 190–195.
- Yildirim, I., Uzunlu, S. and Topuz, A., 2005. Effect of gamma irradiation on some principle microbiological and chemical quality parameters of raw Turkish meat ball. *Food Control*, 16, 363–367.
- Yuste, J., Capallas, M., Pla, R., Llorens, S., Fung, D. Y. C. and Mor-Mur, M. 2003. Use of conventional media and thin agar layer method for recovery of foodborne pathogens from pressure-treated poultry products. *J. Food Sci.*, 68 (7), 2321-2324.
- Yuste, J., Fung, D. Y. C., Thompson, L. K. and Crozier-Dodson, B. A. 2002. Combination of carbon dioxide and cinnamon to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *J. Food Sci.*, 67 (8), 3087-3090.

- Zaika, L. L. 1988. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, 9 (2) 97-118.
- Zayaitz, A.E.K., Ledford, R.A. 1985. Characteristics of acid-injury and recovery of *Staphylococcus aureus* in a model system. *J. Food Prot.*, 48, 616–620.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Pelin YÜCEL

**Doğum Yeri** : Ankara

**Doğum Tarihi** : 25/08/1975

**Medeni Hali** : Evli

**Yabancı Dili** : İngilizce

### Eğitim Durumu

**Lise** : TED Ankara Koleji (1990-1993)

**Lisans** : Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (1993-1997)

**Yüksek Lisans** : ODTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
(1997-2000)

### Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

**1998-2000** : ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü-Araştırma Görevlisi

**2000-** : Türkiye Atom Enerjisi Kurumu-Gıda Mühendisi