

**ÇEŞİTLİ DEZENFEKTANLARIN ATOM
MARULUN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

SEMA YİĞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman: Yrd. Doç. Dr. FİGEN DAĞLIOĞLU

TEKİRDAĞ, 2008

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ DEZENFEKTANLARIN ATOM MARULUN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ

SEMA YİĞİT

GIDA MÜHEDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. FİGEN DAĞLIOĞLU

TEKİRDAĞ-2008

Her hakkı saklıdır

.....danışmanlığında, tarafından hazırlanan bu çalışma/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Anabilim Dalı'nda tezi olarak oyçokluğu / oybirliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı :

İmza :

Üye :

İmza :

Üye :

İmza :

Üye :

İmza :

Üye :

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇEŞİTLİ DEZENFEKTANLARIN ATOM MARULUN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

SEMA YİĞİT

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. FİGEN DAĞLIOĞLU

Tez çalışmasında, çeşitli dezenfektanların atom marulun mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla çeşme suyu ve % 1 sirke (v/v) ile % 1 asetik (v/v) asit, 50 ppm sodyum hipoklorit (v/v), % 1 laktik asit 100 ppm sodyum hipoklorit karışımı ve %2 laktik asit-50 ppm sodyum hipoklorit karışımı dezenfeksiyon çözeltileri kullanılmıştır Tekirdağ' da tesadüfi örnekleme yöntemine göre seçilen manavlardan alınan atom marul örnekleri 5 cm genişliğinde ince şeritler halinde kesilmiş ve dezenfektan çözeltileriyle 10 dakika süresince muamele edilmiştir. Süre sonunda toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam koliform bakteri ve *E. coli* sayılarının belirlenmesinde yüzey ekim yöntemi kullanılmıştır. Kontrol örneklerinde mikrobiyal yükün belirlenmesi için dezenfeksiyon işlemi uygulanmamış örnekten ekim yapılmıştır. Hiçbir atom marul örneğinde *E. coli* ' ye rastlanmamıştır. Çeşme suyu, % 1 asetik asit, % 1 sirke, 50 ppm sodyum hipoklorit, % 1 laktik asit + 100 ppm sodyum hipoklorit ve %2 laktik asit + 50 ppm sodyum hipoklorit çözeltileri toplam aerobik mezofilik bakteri yüklerinde sırasıyla ortalama $1,18 \pm 0,93$, $2,34 \pm 0,40$, $1,93 \pm 0,39$, $1,26 \pm 0,54$, $2,74 \pm 0,34$, $3,15 \pm 0,37$ \log_{10} kob/g azaltma sağlarken toplam koliform bakteri yüklerinde $0,51 \pm 0,75$, $3,45 \pm 1,08$, $2,07 \pm 1,37$, $0,59 \pm 0,22$, $3,95 \pm 1,05$, $4,08 \pm 0,80$ \log_{10} kob/g düzeyinde bir azaltma yapmıştır. Sonuç olarak en etkili dezenfektanın %2 laktik asit + 50 ppm sodyum hipoklorit kombinasyonu olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: *E. coli*, toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam koliform bakteri, kimyasal dezenfektan, dezenfeksiyon, atom marul

2008, 54 sayfa

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF DIFFERENT DISINFECTANTS ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF ICEBERG LETTUCE

SEMA YİĞİT

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. FİGEN DAĞLIOĞLU

Effects of different solutions on microbiological quality of iceberg lettuce have been investigated in this thesis. The disinfectant solutions used in this study were tap water (as control), % 1 vinegar (v/v), % 1 (v/v) acetic acid, 50 ppm sodium hypochloride (v/v), % 1 lactic acid + 100 ppm sodium hypochloride (v/v), %2 lactic acid + 50 ppm sodium hypochloride (v/v). Samples were purchased from greengrocers in Tekirdağ which were selected by the method of random sampling. In experiments, iceberg samples were cut 5 cm width and were subjected to disinfectant solutions for 10 minutes. At the end of time surface plate technique was applied to determine microbiological load of treated iceberg samples through indicator analysis such as aerobic mesophilic bacteria, total coliform bacteria and *E. coli*. Aerobic mesophilic bacteria, total coliform bacteria, and *E. coli* load of untreated iceberg sample were enumerated with the same method to determine initial levels of these microbial groups. Results indicated that none of the samples was contaminated with *E. coli*. Disinfection experiments showed that the average reductions of aerobic mesophilic bacteria were $1,18 \pm 0,93 \log_{10}$ kob/g for tap water; $2,34 \pm 0,40 \log_{10}$ kob/g for % 1 acetic acid; $1,93 \pm 0,39 \log_{10}$ kob/g for % 1 vinegar; $1,26 \pm 0,54 \log_{10}$ kob/g for 50 ppm sodium hypochloride; $2,74 \pm 0,34 \log_{10}$ kob/g for % 1 lactic acid + 100 ppm sodium hypochloride; $3,15 \pm 0,37 \log_{10}$ kob/g for %2 lactic acid + 50 ppm sodium hypochloride. The average reductions of total coliform bacteria were $0,51 \pm 0,75 \log_{10}$ kob/g, $3,45 \pm 1,08 \log_{10}$ kob/g, $2,07 \pm 1,37 \log_{10}$ kob/g, $0,59 \pm 0,22 \log_{10}$ kob/g, $3,95 \pm 1,05 \log_{10}$ kob/g, and $4,08 \pm 0,80 \log_{10}$ kob/g for tap water, % 1 acetic acid, % 1 vinegar, 50 ppm sodium hypochloride, % 1 lactic acid + 100 ppm sodium hypochloride, %2 lactic acid + 50 ppm sodium hypochloride, respectively. Finally, we observed that the %2 lactic acid + 50 ppm sodium hypochloride solution was the most effective disinfectant within tested solutions.

Keywords : *E. coli*, aerobic mesophilic bacteria, total coliform bacteria, chemical disinfectants, disinfection, iceberg lettuce.

2008, 54 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1.Taze Olarak Tüketilen Sebzelerin Mikrobiyal Kalitesi ve Güvenliği.....	3
2.2. Taze Olarak Tüketilen Sebzelerin Dezenfeksiyonu.....	3
2.2.1.Taze Olarak Tüketilen Sebzelerin Dezenfeksiyonunda Kullanılan Dezenfektanlar.....	4
2.2.1.1.Klorlu Bileşikler	4
2.2.1.1.1.Klorlu Bileşiklerin Antimikrobiyal Etkinliği Ve Etki Mekanizması	5
2.2.1.1.2.Klorlu Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktivitesini Etkileyen Faktörler.....	6
2.2.1.2.Organik Asitler ve Tuzları.....	8
2.2.1.2.1.Organik Asitler ve Tuzlarının Antimikrobiyal Etkinliği ve Etki Mekanizması.....	10
2.2.1.2.2.Organik Asitler ve Tuzlarının Antimikrobiyal Aktivitesini Etkileyen Faktörler.....	11
2.2.1.2.3.Dezenfeksiyon Amacıyla Kullanılan Bazı Organik Asitler Ve Tuzları.....	11
2.2.1.2.3.1.Laktik Asit ve Laktatlar.....	11
2.2.1.2.3.2.Asetik Asit ve Asetatlar.....	12
2.2.2.Kimyasal Dezenfeksiyon Amacıyla Kullanılan Diğer Dezenfektanlar.....	12
2.2.2.1. Trisodyum Fosfat.....	12
2.2.2.2. Hidrojen Peroksit	13
2.2.2.3. Ozon.....	14
2.2.2.4. EDTA (Etilendiamin Tetraasetik Asit).....	15
2.2.3.Dezenfektanların Etkinliğini Değiştiren Faktörler.....	16
2.2.3.1.Mikroorganizma Sayısı	16
2.2.3.2. Mikroorganizmanın Gelişim Durumu.....	16
2.2.3.3.Mikroorganizmaların Buldukları Ortam Sebebiyle Dezenfektanlardan Etkilenmemesi	17
2.2.3.4.Dezenfektan Konsantrasyonu.....	17
2.2.3.5. Sıcaklık.....	18
2.2.3.6. Hidrojen İyon Konsantrasyonu (pH).....	18
2.2.3.7. Formülasyon	19
2.2.3.8.Organik Maddeler.....	20
2.2.3.9. Selülozik Ve Sentetik Materyaller.....	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1 Materyal.....	21
3.2.Yöntem.....	21
3.2.1.Marul Örneklerinin Hazırlanması.....	21
3.2.2.Dezenfektan Çözeltilerinin Hazırlanması.....	21
3.2.3.Dezenfeksiyon İşlemi.....	22
3.2.4.Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Aranması.....	22
3.2.5.Toplam Koliform Bakteri Aranması.....	22
3.2.6.E. coli Aranması.....	23
3.3.İstatistik.....	23

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	24
4.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı	24
4.2. Toplam Koliform Bakteri Sayısı.....	30
5.SONUÇ ve ÖNERİLER	39
6.KAYNAKLAR	41
TEŞEKKÜR.....	47
EKLER	48
EK 1 pH Değerleri	48
EK 2 İstatistik Tablolar	49
ÖZGEÇMİŞ.....	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1. Farklı dezenfektanların birinci örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları.....	25
Şekil 4.2. Farklı dezenfektanların ikinci örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma Miktarları.....	26
Şekil 4.3. Farklı dezenfektanların üçüncü örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları	27
Şekil 4.4. Farklı dezenfektanların dördüncü örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları.....	28
Şekil 4.5. Farklı dezenfektanların atom maruldaki TAMB yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar	29
Şekil 4.6. Farklı dezenfektanların birinci örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları	31
Şekil 4.7. Farklı dezenfektanların ikinci örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları	32
Şekil 4.8. Farklı dezenfektanların üçüncü örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları.....	33
Şekil 4.9.Farklı dezenfektanların dördüncü örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları.....	34
Şekil 4.10.Farklı dezenfektanların atom maruldaki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar.....	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. pH' dan Etkileneñ Asit Çözünürlükleri.....	9
Çizelge 2.2. Klorin Dezenfeksiyonunda Aktif Olan Çözünmemiş Hipokloröz Asit Üzerine pH' nın Etkisi.....	19
Çizelge 4.1. Farklı dezenfektanların atom maruldaki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları.....	24
Çizelge 4.2. Farklı dezenfektanların TAMB yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar.....	28
Çizelge 4.3. TAMB yüklerine ait varyasyon tablosu.....	29
Çizelge 4.4. Farklı dezenfektanların atom maruldaki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları.....	30
Çizelge 4.5. Farklı dezenfektanların atom maruldaki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar	34
Çizelge 4.6. Koliform bakteri yüklerine ait varyasyon tablosu.....	35

1-GİRİŞ

Günümüzde insanların sağlıklı beslenmeye daha çok önem vermeleri sonucunda taze olarak tüketilen sebzelere talep giderek artmaktadır. Ancak bu gibi taze sebzeler, toprağa yakın yetiştirildikleri ve tüketilmeden önce yıkamadan başka herhangi bir işlem görmedikleri için gıda kaynaklı zehirlenmelere ve hastalıklara sebep olan patojen grup bakterileri içerebilmektedirler. Kontaminasyon, hasat öncesi, hasat sonrası ve işleme gibi üretimin bütün aşamalarında gerçekleşebilir (De Roever 1998). Muhtemel bulaşma kaynakları toprak, gübre, insan ve hayvan feçesleri, sulama veya yıkama suları, buz, böcekler ve kuşlar gibi hayvanlar, hasat yöntemi, işlem ekipmanları ve nakliye sırasında olabilmektedir. (Beuchat 2002, Johannessen ve ark. 2002).

Gıdada bulunan aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı gıdanın kalitesini gösteren mikrobiyolojik indikatörlerden biridir. Aerobik mezofilik organizmalar, numunenin herhangi bir kontaminasyona maruz kaldığını ve genellikle mikroorganizmaların çoğalmaları için uygun koşulların varlığını yansıtır. Birçok sebepten ötürü bu parametre, endüstriyel işlem, nakliye ve depolama gibi aşamalarda temizlik, dezenfeksiyon, sıcaklık kontrolü işlemlerinin yeterli yapıp yapılmadığını göstermesi açısından yararlıdır (Tortora 1995).

Bir üründe yüksek sayıda mezofilik bakteri bulunması ürünün insan veya hayvan kaynaklı patojenlerin de gelişmesine olanak sağlayacak koşullarda üretilip depolandığını ve üründe bu tür patojenlerin bulunma olasılığının yüksek olduğunu gösterir. Buna ilaveten genelde patojen kabul edilmeyen bazı mezofilik bakterilerin (*Proteus* türleri, *Enterococcus* türleri, mezofilik *Pseudomonas* türleri vb.) gıdada yüksek sayılarda bulunması durumunda hastalıklara neden olabilecekleri bildirilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Koliform grup mikroorganizmalara pek çok gıda hammaddesinde rastlanabilmektedir. Bunların başında; taze sebzeler, taze yumurta, çiğ süt, kanatlı etleri ve koliform bakımından sayıca zengin sulardan alınan kabuklu ve diğer su ürünleri gelmektedir.

Koliformlar, fakültatif anaerob, gram-negatif, spor oluşturmeyen çubuk şeklinde, 35 °C 'de 48 saatte laktoz broth ortamında laktozu fermente edebilen bakterilerdir. Koliform bakteriler memeli hayvanların ve insanların bağırsaklarında doğal olarak bulunurlar (Tortora

1995). *Escherichia coli* (*E. coli*) , fekal kontaminasyon ile ilişkilendirilen bir türdür. Buna rağmen *E. coli*, kontaminasyon kaynağının belirlenmesine izin veren bir indikatör değildir (Beerens 1998).

E. coli' nin temel habitatı insan ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak sistemidir. *E. coli*' nin gıdada bulunması fekal orjinli olması nedeniyle genel olarak gıdaya direkt ya da indirekt yolla bir dışkı bulaşınının olduğuna işaret eder. Buna bağlı olarak da *E. coli* varlığı gıdalarda enterik patojen bakterilerin bulunabileceğinin klasik bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Herhangi bir gıdada yüksek düzeylerde *E. coli* varlığı gıdanın uygun olmayan ya da yetersiz hijyen ve sanitasyon koşullarında üretilip depolandığı konusunda kesin bir fikir verir. Ancak gıdadaki *E. coli* varlığı direkt ve kesin olarak enterik patojenlerin varlığına değil bu gıdanın yalnızca söz konusu patojenleri bulundurma riski taşıdığına işaret eder (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

İnsan sağlığına zarar verebilecek tehlikelerin asgari düzeye indirilebilmesi için taze tüketilen sebzelere uygulanan en yaygın işlem, gıdanın yapısını olumsuz yönde etkilemeyecek ve sağlık riski oluşturmayacak konsantrasyonlarda hazırlanmış dezenfektan çözeltileriyle yapılan yüzey dekontaminasyonudur.

Kullanılan dezenfektanların antimikrobiyal etkinliği gıdanın yapısı, pH, sıcaklık, mikrobiyal yük, organik materyal, metaller ve dezenfektanın etki mekanizması gibi birçok faktöre bağlıdır. Dezenfektanların başlıca etki mekanizmaları hücre membranının yapısının bozulması, hücrede yapısal değişimler, protein sentezinin engellenmesi şeklinde belirtilmektedir (Block ve Febiger 1991).

Bu çalışmada taze olarak tüketilen atom marulda bulunan toplam mezofilik bakteriler, koliform bakteriler ve *E. coli* üzerine çeşitli dezenfektanların antimikrobiyal etkinliklerinin incelenmesi, dezenfektanların antimikrobiyal etkinliklerinin karşılaştırılarak en uygun dezenfektanın ve optimum konsantrasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

2-KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Taze Olarak Tüketilen Sebzelerin Mikrobiyal Kalitesi ve Güvenliği

Taze olarak tüketilen sebzelerde sağlık riski oluşturan başlıca mikroorganizmalar arasında *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *E. coli O157:H7*, *Yersinia enterocolitica* ile birçok virüs, protozoerler ve makro parazitler yer almaktadır (Brackett 1992). Taze sebzelerin mikroflorasında koliform grubundan *Erwinia herbicola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobakter agglomerans* bakterilerinin de izole edildiği belirtilmektedir (Gras ve ark. 1994). Beuchat (1996) taze ürünlerde aerobik mezofilik bakteri sayısının 10^3 ile 10^8 cfu/g arasında değiştiğini bildirmiştir. Diğer alışmalar da maruldaki toplam mezofilik bakteri sayısının 1,84 ve 8,9 log cfu/g arasında değişebildiğini ortaya koymuştur. Ackers ve ark. (1998) marulun sebep olduğu bir gıda kaynaklı hastalıkta hastalık etkenin *E. coli O157:H7* olduğunu göstermişlerdir.

Kontaminasyon riski taze ürün tarladan yemek masasına ulaşana kadar artmaktadır (örneğin; sulama suyu, yanlış kompoze edilmiş gübre, yıkama suyu sistemleri, kirli alet ve ekipmanlar, hijyene önem vermeyen uygulamalar vb.).

Mikrobiyolojik güvenliğe verilen önem arttıka insan patojenlerini elemine etmeyi ya da azaltmayı amaçlayan esasen kimyasal dezenfektanların kullanıldığı stratejiler geliştirilmiştir. Yıkama suyuna kimyasal dezenfektan eklenmesi mikrobiyolojik yükü azaltmıştır (Beuchat ve Ryu 1997, Sapers ve ark. 2001). Marulun yalnızca musluk suyu ile yıkanmasının doğal mikroflorayı yaklaşık 1 log cfu/g azalttığı belirtilmiştir (Adams ve ark. 1989, Nguyen-The ve Carlin 1994). Sonuç olarak yıkama suyu sistemlerinde mikrobiyal kontaminasyonu azaltmak için kimyasal dezenfektanlar kullanmak ihtiyaç haline gelmiştir.

2.2. Taze Olarak Tüketilen Sebzelerin Dezenfeksiyonu

Taze ürünlerin güvenliğini arttırmak için patojenlerin uzaklaştırılmasında kimyasallar yaygın olarak kullanılmaktadır (Cherry 1999). Bu kimyasallar klorin ve asetik asit, askorbik asit, sitrik asit, laktik asit gibi çeşitli asitlerdir (Brackett 1987, Escudero ve ark.1999,

Karapinar ve Gonul 1992, Tortora 1995). Yine bu alanda yaygın olarak kullanılan diğer kimyasallar klorlu bileşikler, hidrojen peroksit ve dezenfektan özellik gösteren bileşiklerdir.

Son zamanlarda tüketicilerin sağlık ile daha çok ilgilenmeleri sebebiyle doğal antimikrobiyal ajanların kullanımı konusundaki çalışmalara artan bir ilgi vardır. Bununla birlikte patojenler üzerinde doğal koruyucuların antimikrobiyal etkisini gösteren sınırlı sayıda çalışma vardır (Karapinar ve Gonul 1992, Parnell ve Harris 2003, Vijayakumar ve Wolf-Hall 2002, Wu ve ark. 2000).

2.2.1.Taze Olarak Tüketilen Sebzelerin Dezenfeksiyonunda Kullanılan Dezenfektanlar

Taze sebzelerin mikrobiyal yükünü azaltarak güvenliğini arttırmak amacıyla birçok kimyasal dezenfektan kullanılmaktadır (Cherry 1999). Uygulamalar gıdanın dezenfektanlı çözeltiliye daldırılması veya dezenfektanlı çözeltinin gıdaya püskürtülmesi şeklinde gerçekleştirilmektedir (Kere ve ark. 2000).

Dezenfektanların antimikrobiyal etkinliği, mikroorganizma türü, mikroorganizma yükü, gıdanın fiziksel özellikleri ve kullanılan dezenfektanın etki mekanizması gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Dezenfeksiyon amacıyla yaygın olarak kullanılan kimyasal maddeler klorlu bileşikler, hidrojen peroksit, ozon, organik asitler, trisodyum fosfat vb. bileşiklerdir (Block ve Febiger 1991,Cherry 1999).

2.2.1.1.Klorlu Bileşikler

Klorlu bileşikler, gıda sanayinde dezenfeksiyon amacıyla kullanılan en önemli kimyasaldır (Russel ve ark. 1992). Yaygın olarak kullanılan klor bileşikleri sodyum hipoklorit (NaOCl), kalsiyum hipoklorit (Ca(OCl)₂), klor dioksit (ClO₂), lityum hipoklorit, klorlu trisodyum fosfat ve klorlu zosiyanürattir (Gardner ve Peel 1991). Hipokloritler ekonomik olmaları, doğru kullanımlarında sağlık riski oluşturmamaları, toksik kalıntı bırakmamaları ve çoğu mikroorganizma üzerinde etkili olmaları nedeniyle endüstride geniş kullanım alanına sahiptirler (Block ve Febiger 1991). Dezenfeksiyon için önerilen klor miktarı pH 8'in altında 1-2 dakikalık temas süresi içinde 50-200 ppm'dir (WHO 1998, FDA 2001a).

2.2.1.1.1.Klorlu Bileşiklerin Antimikrobiyal Etkinliği Ve Etki Mekanizması

Klorun inhibitör ya da antimikrobiyal etkisi, mikroorganizmalar ile temas eden su içinde bulunan hipokloröz asidinin (serbest klor) miktarına bağlıdır. Hipokloröz asidi taze meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan mikroorganizmalara karşı en yüksek bakterisidal aktiviteye sahip serbest klor formudur (Sapers 2003). Hipokloröz asidin yanı sıra serbest klorun bakterisidal aktivitesi suyun pH'sı, suyun sıcaklığı, suda organik madde varlığı, temas süresi, ışık, hava ve metaller gibi etkenlere de bağlıdır (WHO 1998, FDA 2001a, IFPA 2001).

Klorlu bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin nasıl gerçekleştiği birçok teori ile açıklanmıştır. Ancak kesin bir yargıya henüz varılamamıştır. Serbest klorun hücre zarındaki proteinlerle birleşmesi sonucunda oluşan kloramin (N-kloro) bileşenleri hücre zarından difüzyonun etkin olarak yapılamamasına neden olmaktadır. Bu nedenle hücre metabolizması bozularak antimikrobiyal etkinlik gerçekleşmektedir. Ayrıca klorun yaşamsal faaliyetlerin gerçekleşmesinde önemli olan kilit enzimatik reaksiyonları, enzimlerin SH gruplarını oksitleyerek engellediği belirtilmiştir (Block ve Febiger 1991). Buna ek olarak serbest klorun bakteri sporları üzerindeki etkinliğinin çimlenme mekanizmasını önlemesinden ileri geldiği belirtilmektedir (Russel ve ark. 1992).

Beuchat (2000) suya klor eklenmesi durumunda görülen reaksiyonları şu şekilde açıklamıştır:

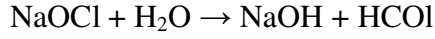
1-) Yıkama suyuna gaz klor eklenmesi:



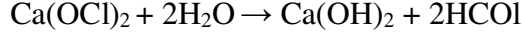
Hipokloröz asit oluşumu(a)

Bu reaksiyonda klor, reaksiyon ürünü olan hipokloröz aside (HCOl), hidrojen (H⁺) , klor iyonlarına (Cl⁻) hidrolize olur. Oluşan hipokloröz asit klorun antimikrobiyal özelliklerinin birincil sebebidir (Sapers 2003).

2-) Yıkama suyuna sodyum hipoklorit (NaOCl) ve kalsiyum hipoklorit (Ca(OCl)₂) gibi sıvı klor eklenmesi:



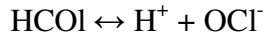
Hipokloröz asit oluşumu(b)



Hipokloröz asit oluşumu(c)

Bu reaksiyonlarda sodyum ve kalsiyum hipoklorit sırasıyla reaksiyon ürünü olan hipokloröz aside ve sodyum hidroksit (NaOH) ile kalsiyum hidroksite Ca(OH)_2 hidrolize olurlar.

3-) Sonuç olarak klorun gaz ya da sıvı formda eklendiği her iki durumda da daima klorun en etkili antimikrobiyal fraksiyonu olan HCOI oluşmaktadır. Oluşan hipokloröz asidi, suda aşağıdaki reaksiyonda görüldüğü gibi hidrojen iyonu (H^+) ve hipoklorit iyonlarına (OCl^-) dissosiyeye olabilir:



Hipokloröz asidin dissosiasyonu

Hipokloröz asidin hidrojen iyonu ve hipoklorit iyonlarına dissosiasyonu yıkama suyunun pH'sına bağlıdır. pH 7'nin altında hipokloröz asidin büyük çoğunluğu dissosiyeye olmamış halde bulunur. pH 5'in üstünde dissosiyeye olmamış hipokloröz asit oranı en yüksektir. pH'nın 4'ün altına düşmesi halinde sağlık riski oluşturan klor gazının oranı artar. pH 4'ün üzerine çıktığında HCOI 'nin OCl^- 'ye oranı düşer. OCl^- , HOCl'ye göre daha az antiseptik özellikte olduğundan yüksek antimikrobiyal etkinlik için klorlu bir dezenfektanın pH'sı 6,5 ile 7,5 arasında olmalıdır. pH 8'de dissosiyeye olmamış hipokloröz asit oranı %25'ten daha azdır.

2.2.1.1.2.Klorlu Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktivitesini Etkileyen Faktörler

pH'nın klorun dissosiasyonuna etkileri göstermiştir ki pH 7,5 ve üzerinde hipokloröz asit (HOCl) miktarı sınırlıdır hatta klor esasen inaktif hipokloritler (OCl^-) halinde ortaya çıkar. Yıkama suyunun pH'sı 4'ün altına düştüğünde ise çalışanlar için sağlık riski oluşturan

klor gazı oluşabilir (IFPA 2001). Bu nedenle yeterli ve güvenli klor aktivitesi için suyun pH'sı 6 ile 7,5 arasında olmalıdır. HCOI olarak klor oranları pH 6'da yaklaşık %97 iken pH 8'de yaklaşık %23'tür (WHO 1998).

Hipokloröz asit (HCOI) olarak klor oranı özellikle pH 6 ile 9 arasına düştüğünde 20 °C'de 0 °C'ye göre çok az daha düşüktür (Eifert ve Sanglay 2002). Klorün sudaki maksimum çözünürlüğü yaklaşık 4 °C'de görülmüştür. Bununla birlikte pozitif sıcaklık farkı oluşumu için suyun sıcaklığının sebze ve meyvelerin sıcaklığından en az 10 °C daha yüksek olması gerekir. Pozitif sıcaklık farkı, bitkide doğal olarak bulunan (kovucuk, gözenek) ya da mekanik zedelenmeler sonucunda oluşan kabuk ya da yapraklardaki açık noktalardan ve ayrıca gövde dokularından yıkama suyu alımını en aza indirir (WHO 1998).

pH ve sıcaklığın yanı sıra organik yük de klorün etkinliği üzerine önemli olumsuz bir etki gösterebilir (Li ve ark. 2001, Takeuchi ve Frank 2001). Organik madde varlığında klorlu bileşiklerin antimikrobiyal etkinliği, yüksek aktiviteye sahip serbest klorun organik maddelerle reaksiyonu nedeniyle azalmaktadır (Gardner ve Peel 1991, Russel ve ark. 1992, Block ve Febiger 1991). Ancak yapılan çalışmalar protein varlığında serbest klor miktarının azalmasına rağmen kloramin bileşiklerinin oluşumu nedeniyle antimikrobiyal etkinliğin daha yavaş olmakla birlikte korunduğu belirtilmiştir (Block ve Febiger 1991).

Zhang ve Farber (1996) çalışmalarında kıyılmış marul ve lahanada bulunan *Listeria monocytogenes* miktarında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, kıyılmış marulda 200 ppm klorla 10 dakikalık bir dezenfeksiyon sonucunda 4 °C' de 1,3 log cfu/g azalma kaydederken 22 °C' de 1,7 log cfu/g azalma sağlayabilmişlerdir. Lahanada ise aynı sürede ve aynı miktar klorda 4 °C'de 0,9 cfu/g azalma gözlenirken 22 °C'de 1,2 log cfu/g azalma gözlenmiştir. Bu çalışma göstermiştir ki *Listeria monocytogenes* üzerindeki bakterisidal etki 22 °C'de 4 °C'dekinden daha fazladır. Ayrıca lahanaya göre marul üzerindeki bakterisidal etki daha fazladır.

Rodgers ve ark. (2004) tarafından yürütülen bir çalışmada tüm elma, tüm marul, çilek ve kavuna 100 ppm klorla yapılan 5 dakikalık bir dezenfeksiyon sonunda *L. monocytogenes* ve *E. coli O157:H7* tespit edilemez seviyelere indirilmiştir. Oysa ki dilimlenmiş elma ve kıyılmış marulda ise aynı dezenfeksiyon uygulaması sonunda yaklaşık 1 log cfu/g *L. monocytogenes* ve *E. coli O157:H7* kalmıştır.

Sonuç olarak taze ve meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda klorlu bileşikler geniş ölçüde kullanılmaktadır. Ancak klorlu bileşiklerin antimikrobiyal etkinliği bazı ürünlerde sınırlı olmaktadır (Brackett 1992). Örneğin, taze marulda serbest klorun *L. monocytogenes* inaktivasyonundaki etkinliği ile musluk suyunun etkinliği arasında bir fark görülmemiştir (Sapers ve Simmons 1998). Ayrıca bazı gıda bileşenleriyle reaksiyon vererek trihalometan (THM) olarak adlandırılan kloroform, bromodiklorometan, klorodibromometan ve bromoform gibi mutajenik, kanserojenik ve teratojenik özellikteki bileşikler oluşturma ihtimalinden dolayı klorun güvenirliliği tartışılır durumdadır (Sapers ve Simmons 1998, Wei ve ark. 1995).

2.2.1.2. Organik Asitler ve Tuzları

Meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan ya da fermentasyon sonucunda biriken organik asitler bazı mikroorganizmaların gelişimini geciktirirken bazı mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir. İnsanlarda hastalık yapan gıda kaynaklı bakteriler pH 4' ün altında gelişemezler. İnsanlar tarafından tüketilen çok sayıda meyvenin asidik pH' ya sahip olması patojen mikroorganizmaların çoğalması için uygun ortam olmalarını engellemektedir. Birçok sebzenin ve kavun gibi bazı meyvelerin pH' sı ise patojen mikroorganizmaların gelişebileceği aralıktadır (Beuchat 2000).

Meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan ya da dışarıdan ilave edilen organik asitlerin bazıları ilk olarak küflere etkili olsa da diğer organik asitler bakteriyel çoğalmayı engellemede daha etkilidir. Asetik, sitrik, süksinik, malik, tartarik, benzoik ve sorbik asitler birçok meyve ve sebzede doğal olarak bulunan majör organik asitlerdir (Beuchat 2000).

Organik asitlerin etki mekanizması direkt olarak pH' yı düşürmeleri, çözünmemiş asit molekülünün iyonizasyonu ile mikrobiyal hücrelerin hücre içi pH dengesinin bozulması ya da hücre membranının geçirgenliğini değiştirerek substrat transferinin engellenmesi gibi nedenlerle açıklanır. Substrat transferini engellemesinin yanı sıra organik asitler NADH oksidasyonunu da engelleyebilir. Bu yolla da elektron transfer sistemindeki indirgeme ajanlarının kaynaklarını elemine ederler. Çünkü asit molekülünün çözünmemiş kısmı antimikrobiyal aktiviteden birinci derecede sorumludur. Belirli bir pH' da asidin

antimikrobiyal açıdan etkinliği asidin dissosiasyon sabitine (pK_a) bağlı olarak değişir (Çizelge 2.1.). Birçok organik asidin pK_a ' sı pH 3 ve 5 arasında olduğundan yüzey uygulaması en etkin şekilde meyvelerde gerçekleştirilir. Sebzelere bir organik asitle yıkanıp arkasından asidi uzaklaştırmak için suyla yıkanması uygulaması da kısmi bir dezenfeksiyondur.

Çizelge 2.1. pH' dan Etkilenen Asit Çözünürlükleri (Sapers 2003)

Çözünmemiş asit oranları pH:

Asit	pK_a	2.5	3.5	4.5	5.0	5.5	6.0	7.0
Asetik	4,74	99	95	63	35	14	5,2	0,55
Sitrik	3,13	81	30	4,1	1,3	0,4	0,13	0,01
Formik	3,75	95	64	15	5,3	1,7	0,56	0,06
Laktik	2,74	64	15	1,7	0,5	0,2	0,06	0,01
Malik	3,40	89	44	7,4	2,5	0,8	0,25	0,03
Tartarik	2,98	75	23	2,9	0,9	0,3	0,10	0,01
Benzoik	4,19	98	83	33	13	4,7	1,5	0,15
Propiyonik	4,87	100	96	70	43	19	6,9	0,74
Sorbik	4,76	99	95	65	37	15	5,4	0,57
Sülfüroz Asidi	1,81	17	2	0,2	0,06	0,02	0,01	0,00

Yıkamada ve sprey şeklinde yapılan uygulamalarda organik asitlerin özellikle de laktik asidin kullanımı ile sığır eti, koyun eti, domuz eti ve kanatlı etlerinin karkaslarının dekontaminasyonunda başarılı sonuçlar alınmıştır. Meyve ve sebzelerin yüzeylerinde bulunan mikroorganizmaların sayısının azaltılması amacıyla organik asitlerle yıkanması uygulaması da iyi sonuçlar vermiştir. Escartin ve ark. (1989) *Salmonella typhi* inoküle edilmiş olan ve pH' sı 5.69 olan papayanın yüzeyine, pH' sı 5.97 olan küp şeklindeki jicaman meyvesinin yüzeyine limon suyu uygulamışlardır. Kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında *Salmonella typhi*' nin sayısında azalma olduğunu görmüşlerdir. Ancak birkaç saat sonra mikroorganizma gelişiminin eski haline döndüğünü gözlemlemişlerdir.

Salatalarda kullanılan sebzelerin mikrobiyal yükünü azaltmak için sitrik asit kullanımı ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır. Shapiro ve Holder (1960) 1,500 ppm (%0.15) ' lik sitrik asit uygulamasının 10 °C' de 4 günlük saklama periyodunda bakteriyel gelişimi etkilemediğini belirlemiştir. 1500 ppm tartarik asit ile yapılan uygulama sonucunda ise toplam bakteri sayısının 10 kat azaldığı gözlenmiştir. 2,000 ppm sorbat ya da 10,000 ppm askorbik asidin tek başına ve kombine olarak kesilmiş marul, havuç, kereviz, turp ve yeşil soğana uygulanmış ve bunu takip eden 10 gün 4,4 °C' de saklanmıştır. Sonuçta aerobik mikroorganizmaların sayısında 1 log' dan az bir düşüş gözlenmiştir.(Priepke ve ark. 1976)

Diğer organik asitler de yapraklı sebzelerden patojen bakterilerin uzaklaştırılması konusunda denenmiştir. *Yersinia enterocolitica* inoküle edilmiş maydanoz yaprakları %2' lik asetik asit ve %40' lık sirke çözeltileri ile 15 dakika boyunca yıkanmış ve sonucunda *Yersinia enterocolitica* sayısında her iki çözelti için de 7 log' dan daha fazla bir düşüş gözlenmiştir. (Karapınar ve Gonul 1992). %5' lik asetik asit çözeltisine 30 dakika daldırma işlemi sonunda aerobik bakteri hiç kalmamıştır. Sirkeye daldırma uygulamasında ise sirkenin konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak 3-6 log 'luk bir azalma gözlenmiştir.

Kullanıma hazır salatalık sebzelere 90 ppm perasetik asit uygulaması sonucunda toplam bakteri ve fekal koliformlarda yaklaşık 100 kata kadar azalma gözlenmiştir. Bu azalma 100 ppm klorin uygulanmasındaki azalmaya benzerdir (Masson 1990). Saklama sırasında mikrofloranın gelişiminin azalması ise perasetik asidin degradasyonu sonucu oluşan asetik asidin etkisi ile açıklanmaktadır.

Taze sebzelerin dezenfeksiyonunda daldırma ya da püskürtme yöntemiyle asetik asit, laktik asit, propiyonik asit, sorbik asit veya askorbik asit kullanılabilir ancak mikrobiyal yükü azaltmak bakımından yeterince verim alınamama olasılığı vardır (Schmidt ve Rodrick 2003). Organik asitlerin antimikrobiyal etkinlikleri iyonlaşma sabitlerine bağlıdır(Beuchat ve ark. 1997).

2.2.1.2.1.Organik Asitler ve Tuzlarının Antimikrobiyal Etkinliği ve Etki Mekanizması

Birçok etkin antimikrobiyal asitler zayıf asitlerdir ve iyonlaşma katsayıları 10^{-3} - 10^{-5} arasında değişmektedir. Zayıf organik asitler "proton motive force" (PMF)'u ortadan

kaldırarak hücreye besin alımını engeller ve antimikrobiyal etki oluşturur (Beuchat ve ark. 1997).

Hücre zarı hidrojen iyonuna (H^+) geçirgen olmadığı için H^+ konsantrasyonu hücre dışında daha fazla olduğunda organizma proton motive force'u kullanarak protonu hücre içine alır ve ATP sentezler (Paustian 2002). Örneğin; *Kluyveromyces fragilis* bakterisi laktoz alımını engelleyen ve enerji kullanımını sınırlayan bileşiklerle muamele edilmiş sonuçta laktoz alımının proton motive force'a bağlı bir mekanizma olduğu ortaya konmuştur (Miclo ve Kallel 1995).

Asetatların ise bakteri hücrelerine substrat girişini engelleyerek ve elektron taşıma sistemini bozarak oksidatif fosforilasyonu engellediği ortaya konmuştur (Beuchat ve ark. 1997).

2.2.1.2.2.Organik Asitler ve Tuzlarının Antimikrobiyal Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Organik asitlerin antimikrobiyal aktivitesi öncelikle asidin iyonlaşma (pK_a) sabitiyle ilgilidir (Schmidt 2003). Bunun yanı sıra pH da antimikrobiyal aktiviteyi etkilemektedir (Beuchat ve ark. 1997).

2.2.1.2.3.Dezenfeksiyon Amacıyla Kullanılan Bazı Organik Asitler Ve Tuzları

Taze olarak tüketilen sebzelerin dezenfeksiyonu amacıyla genelde laktik asit ve laktatlar, asetik asit ve asetatlar kullanılır.

2.2.1.2.3.1.Laktik Asit ve Laktatlar

Laktik asit ($CH_3CHOHCOOH$) gıda yapısındaki şekerin fermentasyonu sonucu oluşan GRAS statüsünde bir kimyasaldır. Sodyum, kalsiyum ve potasyum laktat gibi tuzları da GRAS statüsündedir. Laktik asit spor oluşturan bakterilerin, *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* gelişimini engellemektedir (Russel ve ark. 1992).

Laktik asidin en önemli etkisi, bakteri hücre zarının proton motive force'unu bozmasıdır. Laktatların gıdanın pH'sında fazla bir değişim oluşturmadığı ancak yapılan bazı çalışmalar yüksek konsantrasyonlarda kullanılmaları durumunda su aktivitesini düşürmeleri nedeniyle mikroorganizma gelişimini önlediklerini ortaya koymuştur (Beuchat ve ark. 1997).

2.2.1.2.3.2. Asetik Asit ve Asetatlar

Asetik asit (CH_3COOH), alkolün *Acetobacter* ve *Gluconobacter* tarafından oksidasyonu ve laktik asit fermentasyonu sonucunda oluşan GRAS statüsünde zayıf bir asittir (Russel ve ark. 1992). Kalsiyum, sodyum, potasyum asetat ve sodyum, kalsiyum diasetat ve dehidro asetik asit diğer antimikrobiyal asetik asit formlarıdır (Beuchat ve ark. 1997, Russel ve ark. 1992). Asetik asit *Bacillus* türleri, *Clostridium* türleri, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Campylobacter jejuni* ve *Pseudomonas* türlerine karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (Beuchat ve ark. 1997). Sebzelerde *Listeria monocytogenes* ATCC 1914 bakterisi üzerinde çalışmada asetik asidin hücre duvarı yapısını bozarak ve hücrede ATP kaybına neden olarak antimikrobiyal etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur (Eun ve ark. 2001).

2.2.2. Kimyasal Dezenfeksiyon Amacıyla Kullanılan Diğer Dezenfektanlar

2.2.2.1. Trisodyum Fosfat

Trisodyum fosfatın (TSP) kümes hayvanları etlerindeki *Salmonella* ve diğer mikroorganizmaların sayılarını azaltmak amacıyla kullanımı FDA tarafından kabul görmüştür (Giese 1993). Alkali karakterde olan TSP 'nin kümes hayvanları etlerinde (Lillard 1994) ve kırmızı etlerde (Dickson ve ark. 1994) bulunan *Salmonella*'yı öldürmede etkili olduğu bilinmektedir. TSP'nin bu etkisini göstermesi için karkaslara soğutulmuş şekilde uygulanması ya da işleme sırasında yıkama suyuna eklenmesi gerekmektedir. Zhuang ve ark. (1996) yıkama suyuna eklenen TSP'nin *Salmonella montevideo* inoküle edilmiş olgun yeşil domateslerin yüzeyindeki ve iç dokularındaki *Salmonella montevideo*'yu öldürmedeki etkinliğini araştırmışlardır. Domatesin yüzeyinde bulunan *Salmonella* 'nın tamamının ($5,18 \log \text{cfu/cm}^2$) inaktivasyonu domatesleri %15'lik TSP çözeltisine 15 saniye süreyle daldırmak suretiyle başarılmıştır. %1'lik TSP çözeltisine 15 saniyelik daldırma işlemi de *Salmonella*

sayısında önemli azalmalar sağlamıştır. Domateslerin iç dokularındaki *Salmonella* yükü (5,58 log cfu/g) %4-15' lik TSP çözeltilerine daldırma ile kayda değer şekilde azalma göstermiştir. Bununla beraber %15'lik TSP çözeltisine daldırma işlemi ile yalnızca 2 log 'luk bir azalma sağlanabilmiştir. Olgun yeşil domateslerin yüzeyindeki *Salmonella*' nin uzaklaştırılmasında TSP' nin kullanımının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Kıyılmış marulda bulunan *L. monocytogenes*' in dezenfeksiyonunda TSP çok da etkili değildir. Zhang ve Farber (1996) %2' lik TSP çözeltisi ile marulun muamele edilmesi sonucunda *L. monocytogenes* sayısının hemen hemen hiç azalmadığını belirtmişlerdir. %10'dan fazla TSP içeren çözeltiler marulun duyuşal kalitesinin bozulmasına neden olmuştur. Diğer araştırmacılar *L. monocytogenes* ' in TSP' ye dirençli olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu durumun aksine *Escherichia coli O157:H7* %1' lik TSP çözeltisine duyarlıdır. 10^6 cfu/mL ya da 10^5 cfu/cm² 'lik biyofilm oda sıcaklığında ya da 10 °C' de 30 saniye içinde ölmüştür. *Campylobacter jejuni* ise TSP' ye *Escherichia coli O157:H7*' ye göre biraz daha dirençlidir.

2.2.2.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H₂O₂) suda çözünen 34,01 molekül ağırlığında peroksitlerin hidrolizi sonucu oluşan organik materyal ve metal iyonları varlığında oksijen ve hidrojene ayırışan bir kimyasaldır (Russel ve ark. 1992). Hidrojen peroksit GRAS statüsünde berraklaştırıcı, oksitleyici ve indirgeyici antimikrobiyal madde olarak sınıflandırılmaktadır (Sapers ve Simmons 1998).

Hidrojen peroksit pH, sıcaklık ve diğer çevresel faktörlere bağı olarak mikroroganizmalar üzerinde öldürücü ya da inhibitör etkili olabilir. Hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkinliğı güçlü bir oksitleyici olmasından ileri gelir. Hidrojen peroksit bakteriler, mayalar, küfler, virüsler ve bakteri sporlarına karşı etkilidir. Anaeroblar katalaz oluşturmamaları nedeniyle hidrojen perokside karşı daha duyarlıdır. Küfler diğer organizmalara göre hidrojen perokside daha dirençlidir (Russel ve ark.. 1992). Hidrojen peroksit %3' lük konsantrasyonlarda hızlı bakterisidal etki göstermektedir ve Gram(-) bakterilere karşı Gram(+) bakterilerden daha etkilidir. Enterik virüsler ve bakteri sporlarının inaktivasyonu için yüksek konsantarsyonlar gerekmektedir (Gardner ve Peel 1991).

Hidrojen peroksit en güçlü bakterisidal etkiyi hücre içinde gösterir. Hidrojen peroksit stabil ve yüksüz olduğu için kolaylıkla hücre içine girerek indirgenir. Sonuçta oluşan hidroksi radikaller bakteri DNA'sıyla reaksiyona girerek hücre ölümüne neden olmaktadır (Miyasaki 2004). Hücre dışında da hidrojen peroksidin indirgenmesi sonucu oluşan hidroksi radikaller (OH) hücre zarında lipit peroksidasyonuna neden olarak antimikrobiyal aktivite oluşturmaktadır (Miyasaki 2004, Block ve Febiger 1991). Ayrıca hidrojen peroksidin bakteri sporları üzerindeki etkinliği yüzey proteinlerini etkilemesinden kaynaklanmaktadır (Block ve Febiger 1991).

Hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkisi mikroorganizma yüküne, uygulama konsantrasyonuna, sıcaklığa, pH ve uygulama süresine bağlıdır. Yüksek konsantrasyonlarda ve sıcaklıklarda, düşük pH'larda antimikrobiyal etkinlik artmaktadır (Block ve Febiger 1991, Russel ve ark. 1992).

Hidrojen peroksidin kümes hayvanları etleri için kullanılan soğutucularda bakterisid olarak etkinliği araştırılmıştır (Lillard ve Thomson 1983). 6,600 ppm ya da daha yüksek konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit aerobik mikroorganizmaların sayısını %95-99 azaltırken 5,300 ppm hidrojen peroksit *E.coli* sayısında %97-99 azalma sağlamıştır. Sığır eti dokularındaki aerobik mikroorganizmaların sayılarında %5' lik hidrojen peroksidin sprey yıkama tekniğiyle uygulanması sonucunda da azalma gözlenmiştir (Gorman ve ark. 1995).

Sapers (1996) az işlem görmüş meyve ve sebze ürünlerinin raf ömrünü uzatmada ve mikrobiyal kalitesini geliştirmede hidrojen peroksidin etkinliğini araştırmıştır. Hidrojen peroksit buharı uygulamaları kuru üzüm, kuru erik, ceviz ve şamfıstığının mikrobiyal yüklerinin azalmasında oldukça etkili olmuştur.

2.2.2.3. Ozon

İçme suyunun, mikroorganizmaları öldürmek amacıyla ozonla muamelesi yaklaşık 100 yıldır yapılan bir uygulamadır. FDA tarafından içme suyunun ve kümes hayvanlarının etlerini işleyen fabrikalarda kullanılan geri dönüşümlü suyun konsantrasyonu 0,1 ppm' i geçmemek suretiyle ozonla muamelesine izin verilmiştir. *Salmonella typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* ozonlanmış suya duyarlı

olan patojen bakterilerdir (Restaino ve ark. 1995). Ayrıca enterik virüsler (Finch ve Fairbairn 1991) *Cryptosporidium parvum* (Korich ve ark. 1990) gibi parazitlerin oositleri de ozona karşı duyarlıdır. % 90'dan daha fazla oranda *Cryptosporidium parvum*' un inaktivasyonu 1 ppm ozonla 5 dakikalık bir uygulama sonucunda gerçekleştirilmiştir (Peeters ve ark. 1989).

Birçok farklı gıda maddesinin dekontaminasyonunda ozon kullanımı hakkında araştırmalar yapılmıştır. Balıkların muhafazasında (Haraguchi ve ark. 1969), yer fıstığındaki ve pamuk tohumu unundaki aflatoksinin miktarının azaltılmasında (Dwankanath ve ark. 1968), kümes hayvanları etlerinin mikrobiyal yükünün azaltılmasında (Sheldon ve Brown 1986), ayrıca domuz eti, sığır eti, tereyağı, peynir, yumurta, mantar, patates ve meyvelerin mikrobiyal yüklerinin azaltılmasında (Gammon ve Kerelak 1973) gaz formdaki ozonun kullanımı üzerine çalışılmıştır. Yüksek nisbi nem ve ortamda bulunan su gibi koşullar genellikle mikrobiyal aktiviteyi olumlu yönde etkilemektedir.

Ozonun öldürücü etkisi etkin oksidasyon gücünün bir sonucudur. Bu nedenle örneğin muzlara 1,5 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda yapılan ozon uygulamalarında duyu kalite bozulmadan fizyolojik hasarın ortaya çıkabildiği görülmüştür. 25-30 ppm arasında değişen konsantrasyonlarda yapılan uygulamalarda ise 8 günün sonunda muzların dış yüzeyinde siyah noktalar oluştuğu görülmüştür. Portakalların, çileklerin, ahududuların, üzümün, elmaların ve armutların raf ömürlerinin uzatılması ozonlanmış su ile muameleleri sonucu başarılmıştır (Beuchat 2000).

İnstabil olması sebebiyle ozon, kullanım anında hazır olmalıdır. Oksidasyon gücünün yüksek olması nedeniyle ozonla temas eden metal vb. yüzeylerin korozyon ve çürümeye maruz kalacağı gerçeği göz ardı edilmemelidir. Korozyon ve çürümenin derecesi ozonun konsantrasyonuna bağlı olarak değişir (Beuchat 2000).

2.2.2.4. EDTA (Etilendiamin Tetraasetik Asit)

EDTA bağlayıcı özellikte inorganik bir asittir. Gıda sanayinde antioksidan özelliğinin yanı sıra antimikrobiyal etkisinden faydalanılarak dezenfeksiyon işlemlerinde kullanılmaktadır (Cabo ve ark. 2001).

EDTA Gram(+) bakterilere, mayalara ve küflere karşı antimikrobiyal aktivite göstermemekte Gram(-) bakteriler üzerinde etkili olmaktadır (Block ve Febiger 1991). EDTA, Gram(-) bakteriler üzerinde iki şekilde etki göstermektedir. Birincisinde bakterinin stoplazmik membranına bağlayıcı özelliğinden dolayı zarar vermektedir (Cabo ve ark. 2001). Bakterinin membranındaki katyonlarla birleşerek membranın lipopolisakkarit kaybetmesine neden olmaktadır (Block ve Febiger 1991). Buna ek olarak bakteri yapısındaki nükleotidleri ve RNA' yı etkilediği düşünülmektedir. İkincisinde birçok antimikrobiyalin Gram(-) bakterilere karşı etkinliğini arttırmak suretiyle etkin olmaktadır (Russel ve ark. 1992). Örneğin; EDTA kuarterner amonyum bileşikleriyle etkin bir şekilde kullanılabilir (Troller 1993).

EDTA' nın etkinliği katyon varlığında ve bazı besin bileşenleri varlığında bağlayıcı özelliğinin engellenmesi nedeniyle azalmaktadır (Russel ve ark. 1992).

2.2.3. Dezenfektanların Etkinliğini Değiştiren Faktörler

Her bir kimyasal dezenfektanın antimikrobiyal spektrumu ve etki mekanizması tarafından belirlenen karakteristik bir biyosidal potansiyeli vardır. Bununla birlikte dezenfektanın etkinliği kullanım koşullarından çoğu kez olumsuz yönde etkilenir. Bu koşullar mikroorganizma sayısı, mikroorganizmanın gelişim durumu ve dezenfektan konsantrasyonundaki değişimler gibi faktörlerdir (Gardner ve Peel 1991).

2.2.3.1. Mikroorganizma Sayısı

Kimyasal dezenfeksiyon düşük emniyet payına sahiptir ve mikroorganizmaları öldürme oranı çoğu kez gelişimin ileri evrelerinde yavaşlar. Bu nedenlerden ötürü dezenfeksiyon uygulanacak yüzeylerin ve gıda maddelerinin bir ön temizlik işlemine tabi tutulması ve ayrıca başlangıçtaki kontaminasyon seviyesinin düşük olması dezenfeksiyonun etkinliği açısından önem arz eder (Gardner ve Peel 1991).

2.2.3.2. Mikroorganizmanın Gelişim Durumu

Mikroorganizmaların doğal popülasyonlarının gelişim durumları genellikle bilinmemektedir. Bununla birlikte *Pseudomonas* gibi Gram(-) bakterilerin suda ya da besin

yönünden fakir ortamlarda örneğin; seyreltilmiş dezenfektan ortamında oda sıcaklığındaki gelişimlerinin, 37 °C ' de laboratuvar ortamındaki gelişimlerine nazaran dezenfektanlara karşı daha dirençli olduğu görülmüştür (Bassett ve ark. 1970). Bakteriler, aktif olarak çoğaldıkları logaritmik gelişim evresinde dezenfektanlara daha duyarlıdır.

2.2.3.3. Mikroorganizmaların Buldukları Ortam Sebebiyle Dezenfektanlardan Etkilenmemesi

Kuru ya da pıhtılaşmış kan, yağ ve süt kalıntıları mikroorganizmaları sıvı haldeki dezenfektanlar ile etkin şekilde temas etmekten koruyabilir. Proteinler, alkollerin etkisiyle koagüle olur ya da çökerlerken aldehytler etkisiyle de katılırlar. Virüs partikülleri ya da virüslerin hastalık kaynağı olan nükleik asit çekirdekleri, aşı hazırlamada formalin ile muamele edildiklerinde protein kılıfın katılması sayesinde korunabilirler. Antimikrobiyal mekanizma için nem mutlak surette gereklidir. Zeminde (Ayliffe ve ark. 1966) ya da yüzeylerde (Rubbo ve ark. 1960) bulunan mikroorganizmalar kuru dezenfektanlar ile öldürülemezler.

2.2.3.4. Dezenfektan Konsantrasyonu

Mikroorganizmaları öldürme oranı antimikrobiyal ajanın konsantrasyonu ile beraber artar. Bu etki konsantrasyon katsayısı(**n**) ile ifade edilir.

Konsantrasyon katsayısı(**n**):

$$k = tc^n$$

Ölüm Oranı Sabiti Eşitliği

eşitliği kullanılarak hesaplanır.

Bu eşitlikte **k**: ölüm oranı sabiti

c: konsantrasyon

t: koloni sayısındaki spesifik bir azalma için dakika cinsinden dezenfeksiyon süresini ifade eder.

Birçok dezenfektan için konsantrasyonun yarıya indirilmesi zamanı ikiye katlarken fenoller için durum farklıdır. Fenollerde konsantrasyonda yapılan ufak bir değişim mikroorganizmaları öldürme zamanında büyük değişikliklere sebep olur.

2.2.3.5. Sıcaklık

Kimyasal dezenfektanlar çoğunlukla oda sıcaklığında kullanılırlar. Ancak bazı kimyasal dezenfektanlar sıcak yapılan temizlik işlemlerinde kullanıma da uygundur.

$$\text{Sıcaklık katsayısı} = \frac{x \text{ }^{\circ}\text{C}' \text{ de öldürme için geçen zaman}}{(x + 10 \text{ }^{\circ}\text{C}) \text{ için geçen zaman}}$$

Sıcaklık Katsayısı Eşitliği

“Öldürme” terimi mikroorganizma sayısındaki spesifik bir azalma derecesini ifade eder. Sıcaklık katsayısı 2-14 arasında değişir. Alkali karakterdeki glutaraldehitin sıcaklık katsayısı 4’ tür. Yani 10 ⁰C’ lik bir sıcaklık artışı mikroorganizmaları öldürme zamanında 4 katlık bir azalma sağlar. Fenollerin sıcaklık katsayısı 2-6 arasındadır. Sodyum hipokloridin sporisidal aktivitesi 10 ⁰C’ lik bir sıcaklık artışında %50’ den daha fazla oranda artar. Sıcaklık katsayısı yalnızca belirli bir sıcaklık aralığına uygulanabilir.

2.2.3.6. Hidrojen İyon Konsantrasyonu (pH)

pH’ nın bakterisidal aktiviteyi değiştirmesi, pH’ nın dezenfektana, mikroorganizmaya ya da her ikisine birden olan etkisiyle açıklanabilir. Kuaterner amonyum bileşikleri ve klorheksidin katyonlar gibi aktiftirler. Kuaterner amonyum bileşikleri ve klorheksidin için optimum pH nötre yakın hafif alkalidir. Çünkü bu nötre yakın hafif alkali ortam antibakteriyel ajanın birleşebildiği bakteri yüzeyindeki proteinlerin üzerinde bulunan negatif yüklü grupların

sayısını artırır. Fenollerin aktivitesi genellikle asit pH' da daha iyi iken uygun çözücüler varlığında alkali koşullarda da aktif hale geçebilirler (Prindle 1983).

Halojen temelli dezenfektanların en aktif olduğu pH aralığı 6-8' dir. Klorin dezenfektanların aktif formu iyonize olmamış hipokloröz asidi ve mikroorganizmalarla dezenfektan arasındaki reaksiyonda etkin olmayan iyonik kuvvetlerdir. Alkali çözeltide baskın olan hipoklorit anyonların aktiviteye hemen hemen hiç etkisi yoktur. pH' nın Cl₂, HOCl, OCl⁻ oranları arasındaki ilişki Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Klorin Dezenfeksiyonunda Aktif Olan Çözünmemiş Hipokloröz Asit Üzerine pH' nın Etkisi (Prindle 1983)

pH	%Cl ₂	%HOCl	%OCl ⁻
4	0,5	99,5	0
5	0	99,5	0,5
6	0	99,5	3,5
7	0	72,5	27,5
8	0	21,5	78,5
9	0	1,0	99,0
10	0	0,3	99,7

2.2.3.7. Formülasyon

Birçok dezenfektan sulu çözelti halinde kullanılır. Ancak bazı yüzey dezenfektanlar %60-80 (v/v) gibi yüksek konsantrasyonlarda etil ya da izopropil alkollerini içerir ki bu alkoller biosidal aktivitenin hızlıca gerçekleşmesine katkı sağlamaktadırlar (Rubbo ve ark 1967).

Fenolik dezenfektanlar, aktif bileşenlerin çözünürlüğünü arttıran yüzey aktif ajanlar içerirler. Kuaterner amonyum bileşiklerini yalnızca iyonik olmayan deterjanlarla formüle edilirler. Formülasyon tamamlandıktan sonra mikrobiyolojik testlerle doğrulanmalıdır. Klorheksidin deterjan-sanitizer olarak kullanılmaz ancak bakterisidal yüzey temizleyici olarak

formüle edilir (Lowburry ve Lilly 1973). Farklı dezenfektanların bilinçsizce karıştırılması her dezenfektanın etkinliğini tamamen ortadan kaldırabilir.

Fenolik formülasyonların antibakteriyel spektrumu kullanılan fenollerin çeşidinden ve miktarından etkilenir. Bazıları Gram(+) bakterilere karşı daha aktif iken bazıları da Gram(-) bakterilere karşı daha aktiftir.

2.2.3.8. Organik Maddeler

Dezenfeksiyon sırasında seyreltilmiş çözeltiliye karışan kan, serum, feçes ve yağ gibi çözünmüş, koloidal ya da partikül haldeki organik maddeler tüm dezenfektanların etkisini belirli bir limite kadar inaktive eder (Gélinas & Goulet 1983). Bu etki en çok koloidal ve partikül haldeki organik materyale adsorbe olan kuaterner amonyum bileşiklerinde ve oksidatif reaksiyonlarla inaktif klorid ya da iodide dönüşen halojen dezenfektanlarda görülür. Fenolik bileşikler organik materyal nedeniyle meydana gelen inaktivasyona daha az duyarlıdır.

2.2.3.9. Selülozik Ve Sentetik Materyaller

Her iki tip materyal de yüzey aktif kuaterner amonyum bileşikleri ile klorheksidinin aktivitelerini adsorpsiyon nedeniyle azaltır. Ancak diğer dezenfektanlar bu materyallerden önemli derecede etkilenmezler (Maurer 1985).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

Analizi yapılan atom marul örnekleri Tekirdağ' da tesadüfi örnekleme yöntemine göre seçilmiş bir manavdan alınmıştır. Örnekler laboratuara getirilmiş ve hemen analizler için hazırlık aşamasına geçilmiştir.

Araştırmada kullanılan sarf malzemeler,

- %90' lık laktik asit (Merck, Darmstadt, Almanya)
- Glasiyel %100 asetik asit (Riedel-de Haen, Seelze, Almanya)
- Sodyum hipoklorit
- Sirke

Besin ortamları,

- Violet Red Bile Agar (VRBA) (Disco 0012-17-7)
- TBX Agar (Tryptone Bile X-Glucuronide) (Merck VM 646022) 629
- Plate Count Agar (PCA) (Oxoid, CM 325)
- Dilüsyon SIVISI (%0.85' lik (w/w) NaCl)

3.2.Yöntem

3.2.1.Marul Örneklerinin Hazırlanması

Araştırmada kullanılan atom marul örnekleri satın alındıktan sonraki 1 saat içinde analize alınmıştır. Atom marul yaprakları analize hazırlanırken 5 cm genişliğinde ince şeritler halinde steril bıçak ile kesilmiştir. Her bir analiz için 10 g numune tartılmış ve dezenfektan çözeltileriyle 10 dakika süresince muamele edilmiştir.

3.2.2.Dezenfektan Çözeltilerinin Hazırlanması

Dezenfektan çözeltileri; %1' lik asetik asit (v/w) çözeltisi (%1 A.A) , %1'lik sirke, 50 ppm serbest klor içeren sodyum hipoklorit çözeltisi (50 ppm NaClO), %1 laktik asit (v/w) ve

100 ppm serbest klor içeren sodyum hipoklorit kombinasyonu (%1 L. A. + 100 ppm NaClO) , %2 laktik asit (v/w) ve 50 ppm serbest klor içeren sodyum hipoklorit (%2 L. A. + 50 ppm NaClO) kombinasyonlarının her birinden 200 mL hazırlanmıştır. Etkinliklerini kaybetmemeleri açısından bütün çözeltiler deneylerden hemen önce hazırlanmışlardır. Çözeltiler hazırlandıktan sonra pH değerleri Hanna 211 pHmetre ile ölçülmüş ve not edilmiştir(Ek 1).

3.2.3.Dezenfeksiyon İşlemi

Dezenfeksiyon işlemi için 10 gram numune tartılmış ve saf su, çeşme suyu, %1 A. A., %1' lik sirke, 50 ppm NaClO, %1 L. A. + 100 ppm NaClO ve %1 L. A. + 100 ppm NaClO kombinasyonlarından herhangi birine alınarak 10 dakika süresince çalkalanmıştır. Süre sonunda dezenfektan çözeltisi süzülerek atom marul örneğinden uzaklaştırılmıştır.

3.2.4.Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Aranması

Dezenfeksiyon işlemi sonunda 10 gram numune steril poşete alınmış, üzerine alev yanında 90 mL dilüsyon sıvısı eklenmiş ve 2 dakika süresince homojenize edilmiştir. Bu şekilde elde edilen 10^{-1} lik dilüsyondan 10^{-5} lik dilüsyona kadar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan paralelli olarak daha önceden petri kutularına dökülmüş ve katılaştırılmış PCA besiyeri üzerine 0,1 mL örnek drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır (FDA 2001b).

Ekimler tamamlandıktan sonra petriler inkübatörde 32°C ' de 48 saat inkübasyona bırakılmış, süre sonunda oluşan tüm koloniler sayılmış ve dilüsyon katsayısı ile çarpılmıştır.

3.2.5.Toplam Koliform Bakteri Aranması

Dezenfeksiyon işlemi sonunda 10 gram numune steril poşete alınmış ve 10^{-5} lik dilüsyona kadar hazırlanmıştır. Dilüsyonlardan VRBA besiyeri üzerine 0,1 mL örnek drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır (FDA 2001b).Ekimler tamamlandıktan sonra petriler inkübatörde 35°C ' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Mor renkli zon bulunan 1-2 mm çapında kırmızı renkli koloniler sayılmış ve sonuç uygun dilüsyon katsayısı ile çarpılarak hesaplanmıştır(FDA 2001b).

3.2.6.E. coli Aranması

Dezenfeksiyon işlemi sonunda 10 gram numune steril poşete alınmış ve 10^{-5} lik dilüsyona kadar hazırlanmıştır. Dilüsyonlardan TBX Agar besiyeri üzerine 0,1 mL örnek drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır (FDA 2001b).Ekimler tamamlandıktan sonra petriler inkübatörde 35°C ' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yeşil renkli koloniler sayılmış ve sonuç uygun dilüsyon katsayısı ile çarpılarak hesaplanmıştır(FDA 2001b).

3.3.İstatistik

Sonuçların analizinde Minitab Release 12 programı kullanılmıştır. Dezenfeksiyon işlemleri arasındaki farklılık ANOVA ve tukey çoklu karşılaştırma testleri ile %5 önem düzeyinde belirlenmiştir (Ek 2).

4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu araştırma için 4 adet deneme yapılmış ve bulgular aşağıda verilmiştir. Çizelge 4.1.'de 4 örneğe ait TAMB sonuçları, Çizelge 4.2.'de de yine 4 örneğe ait toplam koliform bakteri sonuçları verilmiş olup istatistiksel değerlendirme daha sonra yapılmıştır.

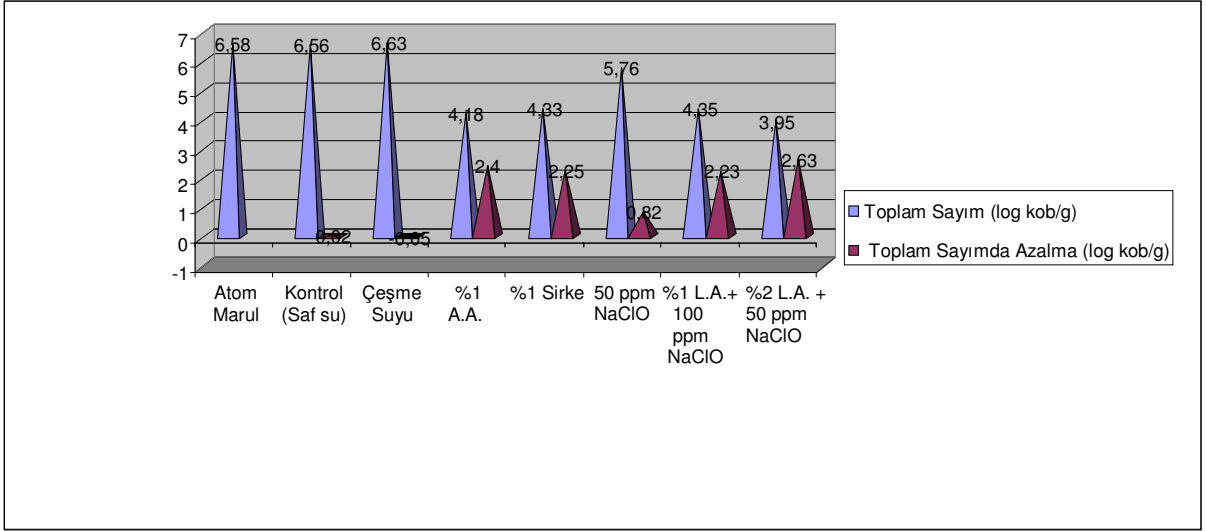
Yapılan 4 denemede de *E.coli* varlığı gözlenmediği için denemeler TAMB ve toplam koliform bakteri yükleri üzerindeki etkilere göre değerlendirilmiştir.

4.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayısı

Çizelge 4.1. Farklı dezenfektanların atom maruldaki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

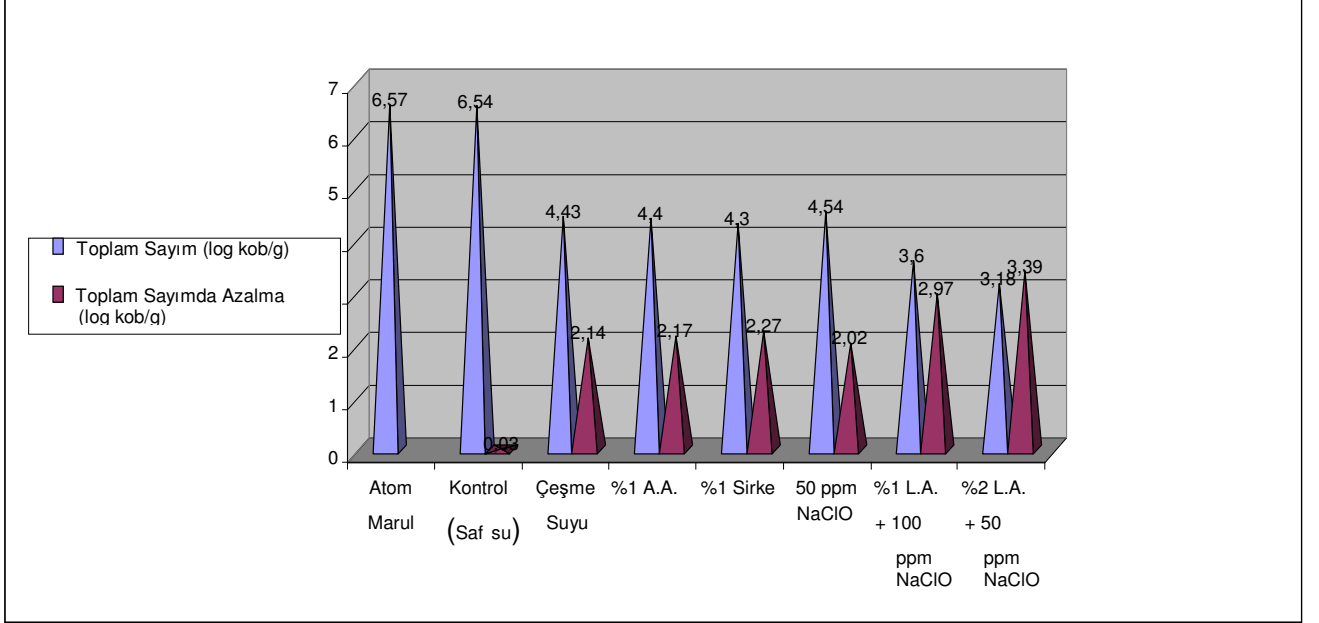
İşlemler	1. Örnek		2. Örnek		3. Örnek		4. Örnek	
	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)
Atom Marul	6,58		6,57		6,59		6,18	
Kontrol (Saf su)	6,56	0,02	6,54	0,03	6,58	0,01	6,15	0,03
Çeşme Suyu	6,63	-0,05	4,43	2,14	5,54	1,05	4,60	1,57
%1 A. A.	4,18	2,40	4,40	2,17	4,66	1,93	3,30	2,88
%1 Sirke	4,33	2,25	4,30	2,27	5,10	1,49	4,48	1,70
50 ppm NaClO	5,76	0,82	4,54	2,02	5,62	0,97	4,96	1,21
%1 L. A. + 100 ppm NaClO	4,35	2,23	3,60	2,97	3,70	2,89	3,30	2,88
%2 L. A. + 50 ppm NaClO	3,95	2,63	3,18	3,39	3,18	3,41	3,00	3,18

Birinci örneğe bakıldığında TAMB yükü üzerinde en etkili dezenfektanın %2 L. A. + 50 ppm NaClO kombinasyonunun olduğu görülmektedir. Bu kombinasyonu takiben sırasıyla %1 A. A., %1 sirke ve %1 L. A. + 100 ppm NaClO kombinasyonu gelmektedir. Diğer dezenfektanlar ise 1 log' dan daha az azaltma göstermiştir. Ayrıca çeşme suyundan bulaşma olduğu için çeşme suyunun etkinliği “-“ olarak ifade edilmiştir.



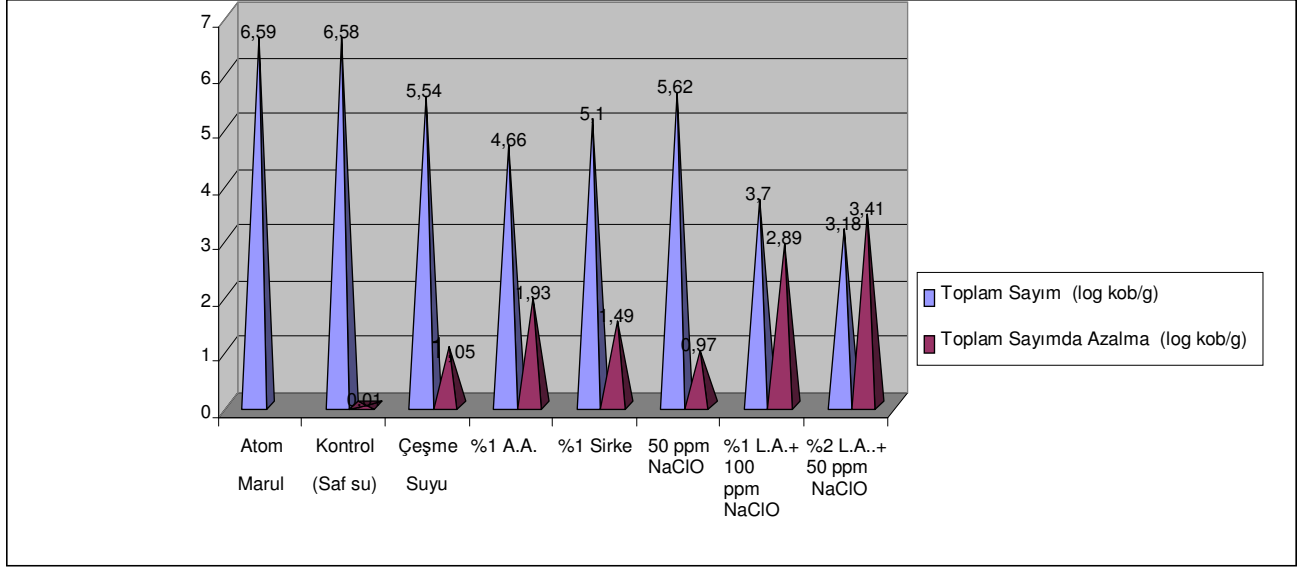
Şekil 4.1. Farklı dezenfektanların birinci örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

İkinci örnekte de 1.örnekte olduğu gibi en etkili dezenfektan %2 L.A.+ 50 ppm NaClO kombinasyonudur. %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu da etkinlik açısından 2. sırada yer almıştır.Bu denemede 1. örnekten farklı olarak sadece kontrol(saf su) 1 log' dan az azaltma göstermiştir. Diğer tüm dezenfektanlar ise 2 log' un üzerinde azaltma göstermişlerdir.



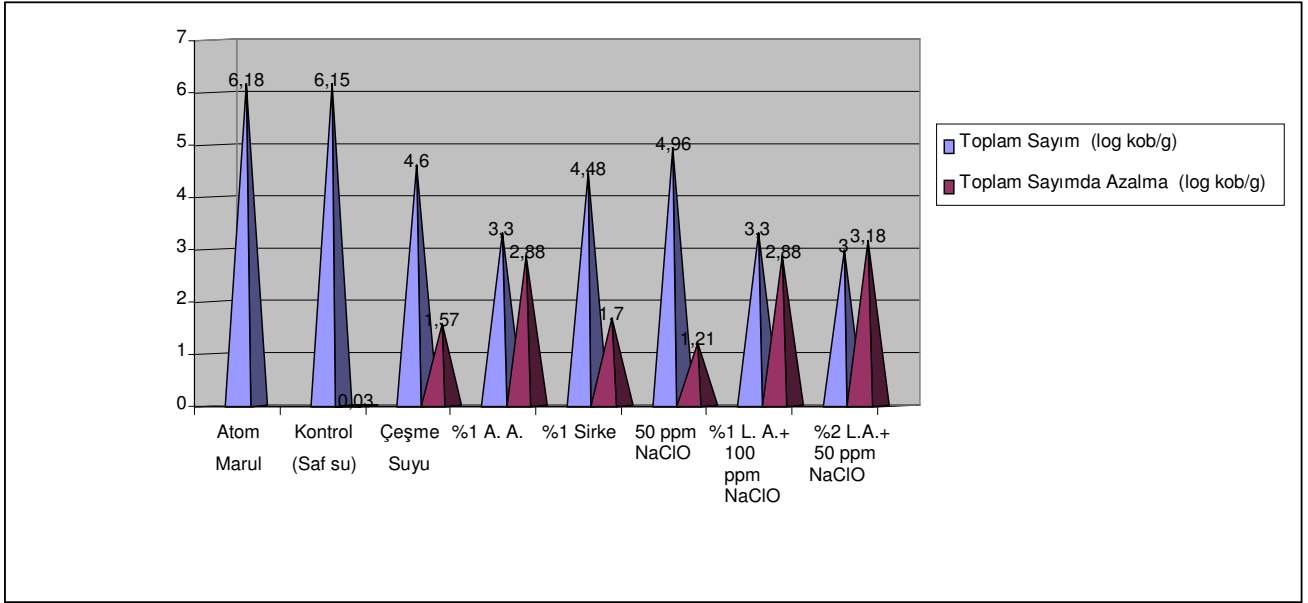
Şekil 4.2. Farklı dezenfektanların ikinci örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

Üçüncü örnekte de en etkin dezenfektanın %2 L.A.+ 50 ppm NaClO kombinasyonu olduğu görülmektedir. 2. örnekte olduğu gibi bu örnekte de %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu etkinlik yönünden 2. sırada yer almıştır. Kontrol(saf su) ve 50 ppm NaClO 1 log' dan düşük azaltma göstermiştir. Diğer dezenfektanlar ise 1-2 log arasında azaltma göstermişlerdir.



Şekil 4.3. Farklı dezenfektanların üçüncü örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

Diğer 3 örnekte olduğu gibi 4. örnekte de en etkili dezenfektan %2 L:A. + 50 ppm NaClO kombinasyonudur.



Şekil 4.4. Farklı dezenfektanların dördüncü örnekteki TAMB yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

Çizelge 4.2. Farklı dezenfektanların TAMB yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar

İşlemler	Toplam Sayımda Ortalama Azaltma (log kob/g)
Kontrol (Saf su)	0,02±0,01 d
Çeşme Suyu	1,18±0,93 c
%1 A.A.	2,34±0,40 ab
%1 Sirke	1,93±0,39 bc
50 ppm NaClO	1,26±0,54 bc
%1 L. A.+ 100 ppm NaClO	2,74±0,34 a
%2 L. A.+ 50 ppm NaClO	3,15±0,37 a

a, b, c, d : tukey çoklu karşılaştırma testi neticesinde saptanan işlem arasındaki farklılıkları ifade etmektedir.(Ek 2)

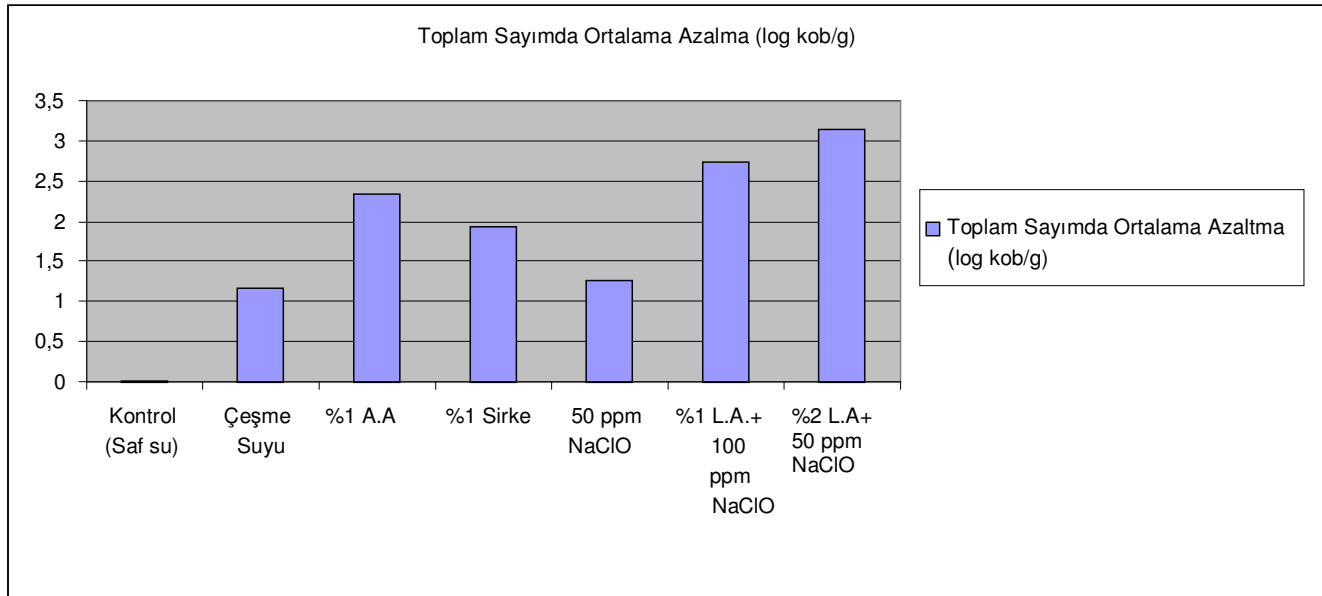
TAMB üzerinde en düşük antimikrobiyal etkiyi çeşme suyu gösterirken en yüksek antimikrobiyal etkiyi %1 L.A.+ 100 ppm NaClO, % 2 L.A. + 50 ppm NaClO

kombinasyonları göstermiştir. Ayrıca %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu ile % 2 L.A. + 50 ppm NaClO kombinasyonu arasında antimikrobiyal etkinlik açısından önemli bir fark gözlenmemiştir ($P<0,05$). %1 L.A. + 100 ppm NaClO ile % 2 L.A. + 50 ppm NaClO kombinasyonlarından sonra ikinci sırada % 1 A.A. çözeltisi gelirken üçüncü sırada 50 ppm NaClO ve % 1 sirke gelmiştir. Yine laktik asit ve sodyum hipoklorit kombinasyonlarında görüldüğü gibi 50 ppm NaClO ile % 1 sirke arasında antimikrobiyal etkinlik açısından önemli bir fark gözlenmemiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.3. TAMB yüklerine ait varyasyon tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Dezenfektan	6	27,5349	4,5891	18,64*
Hata	21	5,1695	0,2462	
Toplam	27	32,7044		

TAMB sayılarındaki inhibisyon etkisine ait varyasyon tablosu Çizelge 4.3.' te verilmiştir. Çizelge 4.3.' e göre dezenfektanlar arasındaki farklılık $P < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Önemli bulunan dezenfektanlar Çizelge 4.2.' de verilmiş ve farklılıklar farklı harflerle belirtilmiştir.



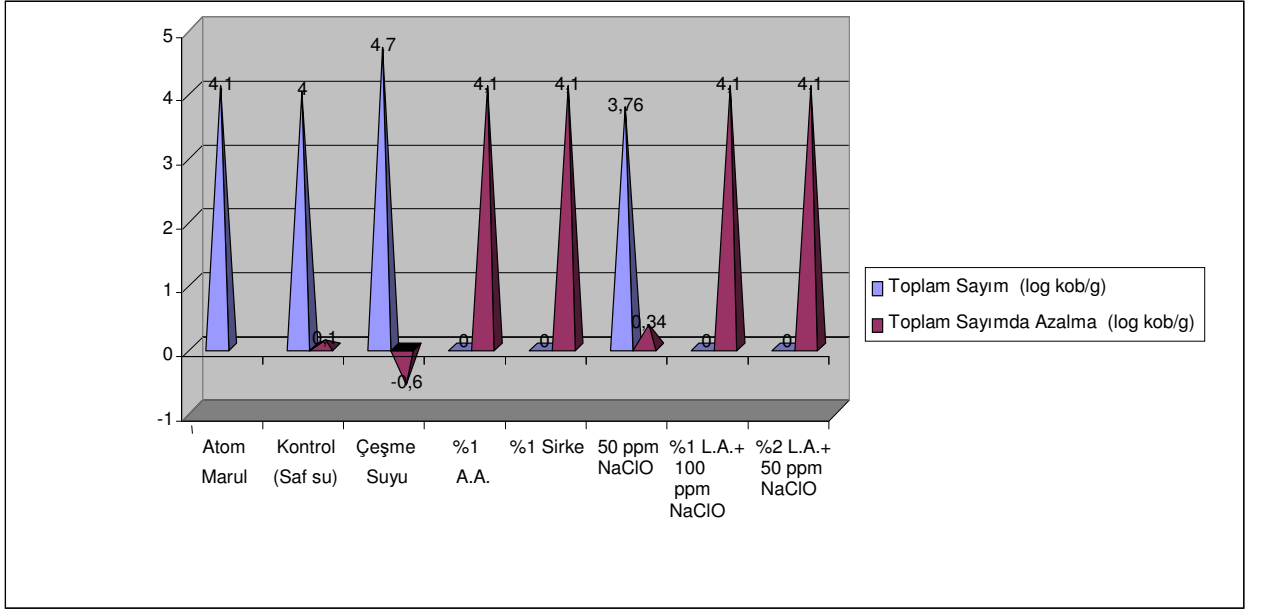
Şekil 4.5. Farklı dezenfektanların atom maruldaki TAMB yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar

4.1.2. Toplam Koliform Bakteri Sayısı

Çizelge 4.4. Farklı dezenfektanların atom maruldaki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

İşlemler	1. Örnek		2. Örnek		3. Örnek		4. Örnek	
	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)	Toplam Sayım (log kob/g)	Toplam Sayımda Azalma (log kob/g)
Atom Marul	4,10		4,62		5,12		4,65	
Kontrol (Saf su)	4,00	0,10	4,60	0,02	5,10	0,02	4,61	0,04
Çeşme Suyu	4,70	-0,60	3,93	0,69	4,24	0,88	3,60	1,05
%1 A.A.	0,00	4,10	0,00	4,62	2,70	2,42	0,00	4,65
%1 Sirke	0,00	4,10	3,52	1,10	3,70	1,42	3,00	1,65
50 ppm NaClO	3,76	0,34	4,11	0,51	4,51	0,62	3,78	0,88
%1 L.A.+ 100 ppm NaClO	0,00	4,10	0,00	4,62	2,70	2,42	2,00	2,65
%2 L. A. + 50 ppm NaClO	0,00	4,10	0,00	4,62	2,18	2,94	0,00	4,65

Birinci örnek, dezenfektanların toplam koliform bakteriler üzerindeki etkinliği açısından değerlendirildiğinde ise %1 L.A. + 100 ppm NaClO kombinasyonu, %2 L.A. + 50 ppm NaClO kombinasyonu, %1 sirke ve %1 A.A.' in etkinliklerinin aynı olduğu görülmektedir. Bu deneme kapsamında yapılan TAMB denemesinde olduğu gibi diğer dezenfektanların gösterdiği azaltma 1 log' dan az olmuştur. Ayrıca çeşme suyundan gelen bulaşma nedeniyle çeşme suyunun etkinliği bu denemede de “-“ olarak ifade edilmiştir.



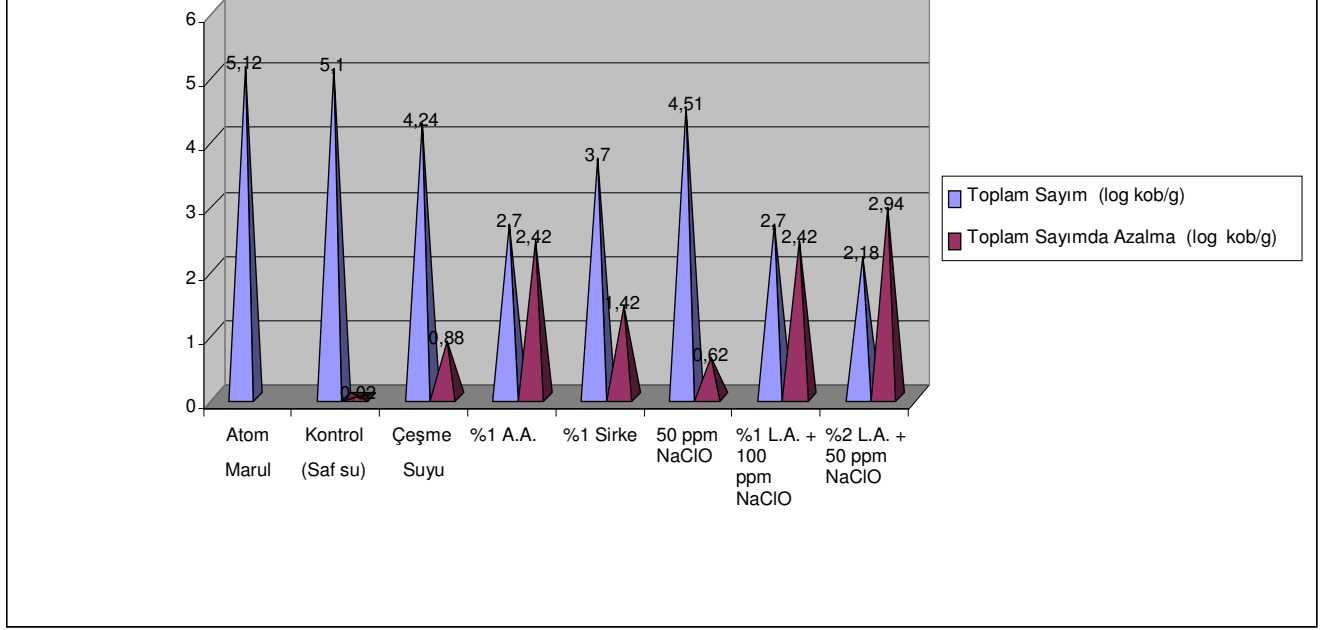
Şekil 4.6. Farklı dezenfektanların birinci örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

İkinci örnekte %2 L.A. + 50 ppm NaClO kombinasyonu, %1 L.A. + 100 ppm NaClO kombinasyonu ve %1 A.A. 4,62 log azaltma göstermişlerdir. %1 sirke 1,1 log azaltma gösterirken diğer dezenfektanlar 1 log' dan daha az azaltma göstermişlerdir.



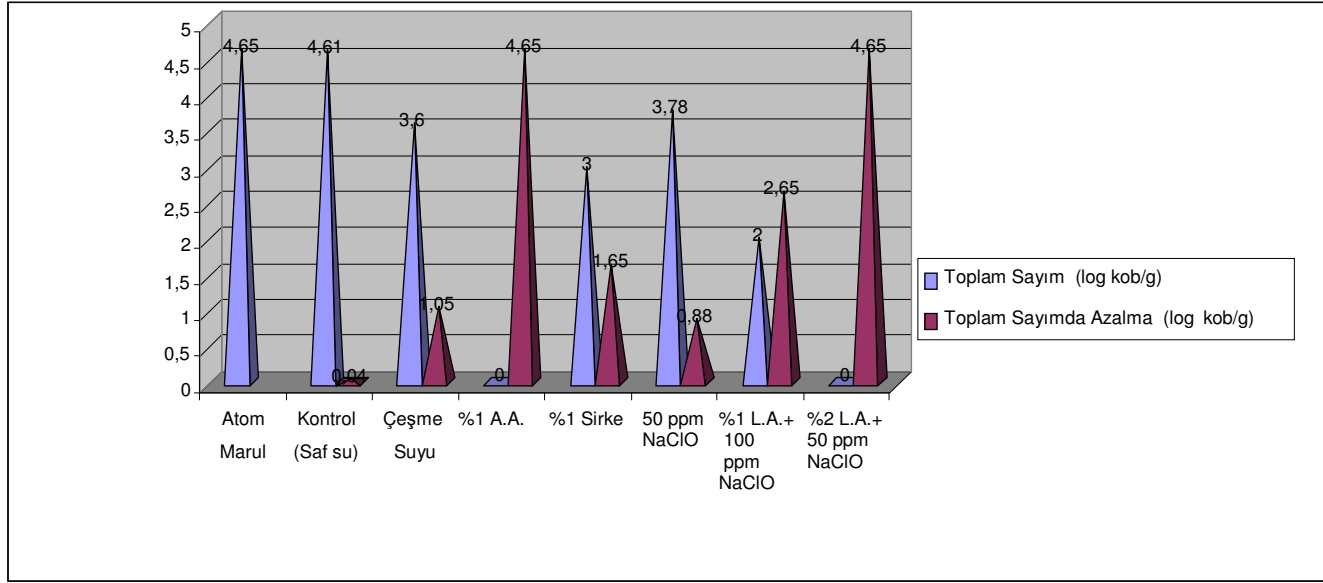
Şekil 4.7. Farklı dezenfektanların ikinci örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

3. örneğin çalışıldığı bu denemede en etkili dezenfektan %2 L.A.+ 50 ppm NaClO kombinasyonu olurken %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu ile %1 A.A. 2,42 log azaltma göstermişlerdir.



Şekil 4.8. Farklı dezenfektanların üçüncü örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

4. örnekte %2 L.A.+ 50 ppm NaClO kombinasyonu ile %1 A.A. 4,65 log azaltma gösterirken %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu 2,65 log azaltma göstermiştir.



Şekil 4.9 Farklı dezenfektanların dördüncü örnekteki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı azaltma miktarları

Çizelge 4.5. Farklı dezenfektanların atom maruldaki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar

İşlemler	Toplam Sayımda Ortalama Azaltma (log ₁₀ kob/g)
Kontrol (Saf su)	0,05±0,04 d
Çeşme Suyu	0,51±0,75 cd
%1 A.A.	3,45±1,08 ab
%1 Sirke	2,07±1,37 bc
50 ppm NaClO	0,59±0,22 cd
%1 L.A+ 100 ppm NaClO	3,95±1,05 ab
%2 L.A+ 50 ppm NaClO	4,08±0,80 a

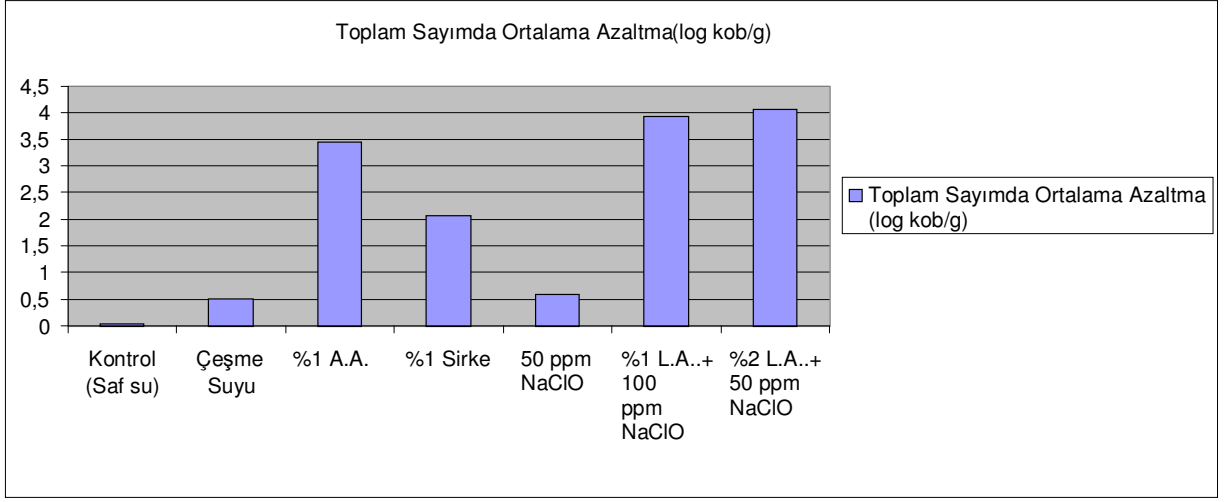
a, b, c, d :tukey çoklu karşılaştırma testi neticesinde saptanan işlem arasındaki farklılıkları ifade etmektedir. (Ek 2)

TAMB' de görüldüğünün aksine toplam koliform bakteriler üzerine en etkin dezenfektan sadece % 2 L.A. + 50ppm NaClO kombinasyonu olmuştur. Bununla birlikte etkinliği en düşük dezenfektanlar ise 50 ppm NaClO ile çeşme suyu olmuştur. 50 ppm NaClO ile çeşme suyu arasında antimikrobiyal etkinlik açısından önemli bir fark gözlenmemiştir ($P<0,05$). % 2 L.A. + 50ppm NaClO kombinasyonundan sonra antimikrobiyal etkinlik açısından ikinci sırada % 1 A.A.ve %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu gelmiştir. % 1 A.A.ve %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu arasında etkinlik açısından önemli bir fark gözlenmemiştir ($P<0,05$). TAMB'de % 2 L.A. + 50ppm NaClO kombinasyonu ile aynı grupta yer alan %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu toplam koliform bakteriler üzerindeki etkinliği değerlendirildiğinde bu kez % 1 A.A. ile aynı grupta yer almıştır. Etkinlik sıralamasında üçüncü sırada % 1 sirke yer almıştır.

Çizelge 4.6. Koliform bakteri yüklerine ait varyasyon tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Dezenfektan	6	72,781	12,130	15,70*
Hata	21	16,223	0,773	
Toplam	27	89,004		

Toplam koliform bakteri sayılarındaki inhibisyon etkisine ait varyasyon tablosu Çizelge 4.6.' da verilmiştir. Çizelge 4.6.' ya göre dezenfektanlar arasındaki farklılık $P < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Önemli bulunan dezenfektanlar Çizelge 4.5.' de verilmiş ve farklılıklar farklı harflerle belirtilmiştir.



Şekil 4.10. Farklı dezenfektanların atom maruldaki toplam koliform bakteri yüklerinde yaptığı ortalama azaltmalar

Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.5. karşılaştırıldığında %1 A.A., %1 sirke, %1 L.A.+ 100 ppm NaClO ve %2 L.A.+ 50 ppm NaClO kombinasyonlarının koliform bakteriler üzerine olan etkisinin TAMB üzerine olan etkisinden daha fazla olduğu görülmektedir.

Bu durum 2 nedenle açıklanabilir :

- 1-)Toplam aerobik mezofilik bakteri yükünün fazla olması
- 2-)Mikroorganizma çeşitliliğinin fazla olması

Aynı karşılaştırma çeşme suyu ve 50 ppm NaClO için yapıldığında koliform bakteriler üzerine olan etkilerinin TAMB üzerine olan etkilerinden daha az olduğu görülmektedir.

Yapılan deneyler tek tek ele alındığında çeşme suyundan bulaşma meydana gelen 1. deney hariç diğer 3 deneyde çeşme suyunun hem TAMB üzerine etkisinin hem de koliform bakteriler üzerine etkisinin 50 ppm NaClO çözeltisinden daha fazla olduğu görülmektedir.

Nascimento ve ark. (2003) yaptığı çalışmada marulun çeşme suyu ile 15 dakikalık dezenfeksiyonu sonucunda TAMB, maya ve küflerin, toplam koliform bakterilerin 1 log düzeyinde azaldığını ortaya koymuştur. Aynı işlemi sebzeler üzerinde yapan Frank ve Takeuchi (1999) ise TAMB, maya ve küflerin, toplam koliform bakterilerin < 1 log azaldığını belirtmiştir. Bu çalışma kapsamında ise atom marulun çeşme suyu ile 10 dakikalık dezenfeksiyonu sonunda toplam aerobik mezofilik bakteriler 1,18 log azalırken, toplam koliform bakteriler 0,51 log azalmıştır.

Nascimento ve ark. (2003) yaptığı çalışmada %2' lik A.A. çözeltisinin marul örnekleri ile 15 dakikalık dezenfeksiyonu sonucunda TAMB 3,37 log azalma kaydederken toplam koliform bakteriler de > 2,25 log azalma kaydetmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise %1' lik A.A. çözeltisi ile atom marulun 10 dakikalık dezenfeksiyonu sonunda TAMB 2,34 log azalma, toplam koliform bakterilerde 3,45 log azalma görülmüştür. Bu durum başlangıç mikroorganizma yüklerinin farklı oluşu, uygulama sürelerinin farklı oluşu ve atom marul ile marulun yaprak sıklıklarının farklı oluşu gibi nedenlerle açıklanabilir.

Taze sebzelerin mikrobiyolojik açıdan güvenilirliğini doğru değerlendirebilmek adına toplam koliform analizine ek olarak yapılan ve fekal kontaminasyon indikatörü olan *E. coli* analizlerinin 4 deney için de negatif çıkması sulamada ve yıkamada kullanılan suların temizliğini göstermesi açısından oldukça önemlidir.

Beuchat ve Brackett (1990)' in marul örnekleri ile yaptığı çalışmada 50-200 ppm serbest klor içeren çözelti toplam koliform bakterilerin sayısında 1 log düzeyinde azaltma yapmıştır. Bizim yaptığımız deneylerde 50 ppm NaClO' in yaptığı azaltma ise 1 log' un altındadır. Bu durum materyalin ya da başlangıç mikroorganizma yüklerinin farklı oluşları ile açıklanabilir.

Nascimento ve ark. (2003) yaptığı çalışmada toplam koliform yükü 3,25 log kob/g olan marul örneklerinin 15 dakika boyunca 200 ppm' lik NaClO ile dezenfeksiyonu sonucunda toplam koliform bakteri sayısında >1,95 log kob/g düzeyinde azalma gözlemlenmiştir. Yapılan 4 deneyde de %1 L.A.+ 100 ppm NaClO ve %2 L.A.+ 50 ppm NaClO kombinasyonlarının toplam koliform bakteriler üzerindeki azaltma değerleri sırasıyla 3,95 log ve 4,08 log olmuştur. Uyguladığımız sürenin 10 dakika olmasına rağmen elde edilen azaltma değerlerinin daha fazla oluşu sodyum hipokloritin laktik asit ile kombine kullanımına bağlanabilir.

Zhang ve Farber (1996) laktik asit ve asetik asidin tek tek ya da klorin ile kombine olarak *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş kıyılmış marulda *Listeria monocytogenes* üzerine etkilerini araştırmışlardır. Musluk suyu ile yıkanmış marulla karşılaştırıldığında %1' lik L.A. ve %0.5'lik ya da %1' lik L.A. ile kombine edilmiş 100 ppm' lik klorin uygulaması sonucunda *Listeria monocytogenes* sayısında azalma görülmüştür. %0.75' lik ya da %1' lik

L.A. ile 100 ppm klorin kombinasyonunun *Listeria monocytogenes* sayısını azaltmadaki etkinliğinin tek tek laktik asit ya da klorin kullanımından daha fazla olduğu görülmüştür. Asetik asit ile yapılan çalışmaların sonuçları da laktik asit çalışmalarının sonuçlarına benzerdir. Bu durum kombinasyonda kullanılan asidin ortam pH'sını düşürmesi sonucunda hipokloröz asit miktarının artışıyla açıklanabilir.

Klorinin asit ile birlikte kullanımındaki antimikrobiyal etkinliğin tek tek kullanımlarına nazaran daha fazla olması, gıdanın güvenliğini ve mikrobiyolojik stabilitesini arttırmak için kullanılan "Hurdle Technology" uygulamalarına bir örnek teşkil etmektedir. Nitekim hurdle technology yani "Engeller Teknolojisi" mikroorganizma gelişimini engelleyen birçok faktörün bir araya getirilerek gıdanın mikrobiyolojik stabilitesini arttırmayı amaçlar. Gıdaların muhafazasında temel mekanizma mikroorganizmaların homeostasisinin bertaraf edilmesidir. Bu çalışmada gözlemlendiği üzere antimikrobiyal etkinlikleri farklı iki ayrı engelin birlikte kullanımı ile elde edilen sinerjistik etki sayesinde daha güçlü bir antimikrobiyal etkinlik sağlanmıştır.

Torriani ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada karışık haldeki salata sebzelerinin %1' lik L.A. ile dezenfeksiyonunun toplam koliform bakterileri 2 log azaltırken fekal koliform bakterileri 1 log azalttığını gözlemlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise %1 L.A.+ 100 ppm NaClO kombinasyonu toplam koliform bakterileri 3,95 log azaltmıştır. %1' lik L.A.' in 100 ppm NaClO ile kombine kullanımı ve uygulamanın sadece atom marul üzerinde denenmesi azalma düzeylerindeki farkı açıklayabilir.

Mazollier (1988) yaptığı çalışmada yeşil yapraklı salata sebzelerinin 50 veya 200 ppm NaClO ile dezenfeksiyonunun mikroorganizma yüklerinde meydana getirdiği azaltmaların aynı olduğunu ortaya koymuştur. Garg ve ark. (1990) 300 ppm NaClO içeren suya daldırılan marulun toplam mikrobiyal popülasyonunun 3 log azaldığını belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada laktik asit ile kombine olarak kullanılan 50 ppm NaClO ve 100 ppm NaClO TAMB ve toplam koliform bakteriler üzerinde > 2,74 log azaltma yapmışlardır. Bu değerler 300 ppm NaClO' in tek başına yaptığı azaltım değerlerine eşdeğer hatta daha fazladır.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma bulguları değerlendirildiğinde hem toplam aerobik mezofilik bakteriler hem de toplam koliform bakteriler üzerine en etkin dezenfektanın % 2 L.A. + 50 ppm NaClO kombinasyonu olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla % 1 L.A. + 100 ppm NaClO kombinasyonu, % 1 A.A., % 1 sirke, 50 ppm NaClO ve çeşme suyu izlemektedir.

Yapılan deneylerde görüldüğü üzere taze sebzelerin yalnızca çeşme suyu ile yıkanması mikroorganizma yükünü azaltmada yetersiz kalmıştır. Ayrıca 1. denemede görüldüğü gibi çeşme suyundan meydana gelen bulaşma her zaman olasıdır. Bu anlamda elde ettiğimiz bulgulara bakıldığında kesinlik söz konusu olmamakla birlikte özellikle evlerde asetik asit içeren sirke ya da sitrik asit içeren limon ve limon suyu kullanılarak dezenfeksiyon işlemi uygulanması mikroorganizma yükünde önemli ölçüde azaltma sağlayacaktır.

Endüstriyel ölçekte yapılan üretimlerde genellikle tercih edilen sodyum hipoklorit dezenfeksiyonu yerine sodyum hipokloritin insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri ve alet, ekipmana korrozif etkisi sebepleriyle asetik asit, laktik asit, sitrik asit gibi organik asitlerle yapılan dezenfeksiyon işlemleri tercih edilmelidir. Ya da çalışmamızda uygulandığı üzere sodyum hipoklorit miktarının düşük tutulduğu kombine olarak hazırlanmış dezenfektanlar kullanılmalıdır.

Üretim sırasında patojen bakterilerin elemine edilmesi ya da sayılarının büyük ölçüde azaltılması tarladan sofraya gıda güvenliği anlayışının gereği olan İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP), Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (HACCP) ve bu gibi sistemlerin uygulanması ile mümkündür. Üretimde uygulanan bu sistemler mikrobiyal kontaminasyonu daha gerçekleşmeden engeller. Söz konusu tüm bu sistemler Taze Sebze ve Meyvelerde Mikrobiyal Gıda Güvenliği Tehlikelerini Minimize Etme Kılavuzunda yer alan “İyi Yönetim Uygulamaları” anlayışının birer parçasıdır (FDA 1998).

Taze Sebze ve Meyvelerde Mikrobiyal Gıda Güvenliği Tehlikelerini Minimize Etme Kılavuzunda sanitasyon terimi “diğer istenmeyen mikroorganizmalar da dahil olmak üzere esasen halk sağlığını ilgilendiren mikroorganizmaların, gıda maddesinin kalitesini olumsuz yönde etkilemeden ve tüketiciler için sağlık riski oluşturmayacak şekilde yok edilmesi ya da

sayılarının önemli ölçüde azaltılması amacıyla yapılan etkili bir temizlik uygulamasıdır ” şeklinde tanımlanmıştır (FDA 1998). Asıl hedef hastalık yapan patojen bakterilerin elemine edilmesidir. Bu açıdan bakıldığında kimyasal dezenfeksiyon kısmi bir sterilizasyon işlemidir. Dezenfeksiyonun amacı yalnızca patojen bakterileri zararsız hale getirmektir. Bu da patojen bakterilerin ortamdaki uzaklaştırılması ya da sayılarının hastalığa neden olmayacak düzeylere indirilmesi ile mümkündür. Bu anlamda dezenfektanların, diğer bakterilerden ziyade patojen bakteriler üzerine etkileri araştırılmalıdır. Ayrıca dezenfektanların kombine kullanımı durumlarında görülen antagonistik ya da sinerjistik etkiler, yeni dezenfektanların ve yeni dezenfeksiyon teknolojilerinin geliştirilmesi, insanlarda hastalık yapan patojen bakteriler ile hasat sonrasında meyve sebzelere bulaşan mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler gibi konulardaki araştırmalara ağırlık verilmelidir.

6.KAYNAKLAR

- Ackers M L, Mahon B E, Leahy E, Goode B, Damrow T, Hayes P S, Bibb W F, Rice D H, Barrett T J, Hutwagner L, Griffin P M, and Slutsker L (1998). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with leaf lettuce consumption. *Journal of Infectious Diseases* 177: 1588–1593.
- Adams M R, Hartley A D and Cox L J (1989). Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiology* 6: 69-77.
- Ayliffe G A J, Collins B J, Lowbury E J L (1966). Cleaning and disinfection of hospital floors. *British Medical Journal* 2: 442-445.
- Bassett D C J, Stokes K J, Thomas W R G (1970). Wound infection with *Pseudomonas multivorans*. A water-borne contaminant of disinfectant solutions. *Lancet*:1188-1191
- Beerens H (1998). Bifidobacteria as indicators of faecal contamination in meat and meat products: detection, determination of origin and comparison with *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology* 40: 203–207.
- Beuchat L R, Brackett R E (1990). Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on lettuce as influenced by shredding, chlorine treatment, modified atmosphere packaging and temperature. *Journal of Food Science* 55: 755-758.
- Beuchat, L.R. (1996). *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. *Food Control* 7: 223–228.
- Beuchat L R (2000). Use of Sanitizers in Raw Fruit and Vegetable Processing. *Minimally Processed Fruits and Vegetables Fundamental Aspects and Applications*, Ed: Alzamora S M, Tapia M S, Lopez-Malo A. An Aspen Publication. Maryland, 63-78.
- Beuchat L R, Ryu J H (1997). Produce handling and processing practices: special issue. *Emergency Infection Disinfection* 3-4: 459-465.
- Beuchat, L.R. (2002) Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes Infection* 4: 413–423.
- Beuchat L R, Doyle M P and Montville T J (1997). *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. Washington ASM Pres, 522-524.
- Block S S, and Febiger L (1991). *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Blackwell Science, Oxford.
- Brackett R E (1987). Antimicrobial effect of chlorine on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 50-12: 999-1003.
- Brackett R E (1992). Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. *Journal of Food Protection* 55-10: 808-814.

- Cabo M L, Pastoriza L, Sampedro G, Gonzales M A, and Murado M A (2001). Joint effect of nisin, CO₂, and EDTA on the Survival of *Pseudomonas aureginosa* and *Enterococcus faecium* in a Food Model System. *Journal of Food Protection* 64-12: 1943-1948.
- Cherry P J (1999). Improving the safety of fresh produce with antimicrobials. *Food Technology* 53-11: 54-57.
- Dickson J S, Nettles-Cutter C G, Siragusa G R (1994). Antimicrobial effects of trisodium phosphate against bacteria attached to beef tissue. *Journal of Food Protection* 57: 952-955.
- Dwankanath C T, Rayner E T, Mann G E, Dollar F G (1968). Reduction of aflatoxin levels in cottonseed and peanut meals by ozonation. *J Am Oil Chem Soc.* 45: 93-95.
- Eifert J D and Sanglay G C (2002). Chemistry of chlorine sanitizers in food processing. *Dairy, Food Environ. Sanit.* 22:534-538.
- Escartin E F, Castillo A A, Lozano J S (1989). Survival and growth of *Salmonella* and *Shigella* on sliced fresh fruit. *Journal of Food Protection* 52: 471-472.
- Escudero M E, Velazquez L, Digenaro M S, and Guzman M (1999). Effectiveness of various disinfectants in the elimination of *Yersinia enterocolitica* on fresh lettuce. *Journal of Food Protection* 62-6: 665-669.
- Eun S A, Yong S K, and Dong H S (2001). Observation of bactericidal effect of allyl isothiocyanate on *Listeria monocytogenes*. *Food Science and Biotechnology* 10-1: 31-35.
- Finch G R, Fairbairn N (1991). Comparative inactivation of poliovirus type 3 and MS2 coliphage in demand-free phosphate buffer by using ozone. *Applied Environment Microbiology* 57: 3121-3126.
- FDA 1998 Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and vegetables. <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/prodguid.html>
- [FDA]. Food and Drug Administration. 2001a. Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. Available at:<http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3exec.html>. Accessed 2005 February 04.
- FDA. 2001b. "Bacteriological Analytical Manual" Online, <http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
- Frank J F, Takeuchi K (1999). Direct observation of *E. coli* O157:H7 inactivation on lettuce leaf using confocal scanning laser microscopy, p. 795-797. In I. Elmadfa and J. König (ed.), *Proceedings of the International Conference of International Committee on Food Microbiology and Hygiene*. S. Karger Medical and Scientific Publishers, Vienna, Austria.

- Gammon R, Kerelak K (1973). Gaseous sterilization of foods. Am Inst Chem Engr Symp Ser. 69: 91.
- Gardner J F, Peel M M (1991). Introduction to Sterilization, Disinfection and Infection Control. Churcill Livingstone, New York.
- Garg N, Churey J J, Splittstoesser DF (1990). Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. Journal of Food Protection, 53: 701-703.
- Gélinas P, Goulet J (1983). Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter. Journal of Applied Bacteriology 54: 243-247.
- Giese J (1993). *Salmonella* reduction process receives approval. Food Technology 47-1: 110
- Gorman BM, Sofos JN, Morgan JB, Schmidt GR, Smith GC (1995). Evaluation of hand-trimming, various sanitizing agents and hot water spray-washing as decontamination interventions for beef brisket adipose tissue. Journal of Food Protection 58: 899-907.
- Gras M H, Druet M C, and Cerf O (1994). Bacterial flora of salad leaves. Sceince des Aliments 14-2: 173-188. (Food Science and Technology Abstracts 29 AN: 94-11-J0113)
- Haraguchi T, Slimidu U, Aiso K (1969). Preserving effect of ozone on fish. Bull Jpn Soc Sci Fish 35: 915-920.
- [IFPA] International Fresh-cut Produce Association 2001. Food safety guidelines for the fresh-cut produce industry. 4th ed. Alexandria, VA: IFPA.
- Johannessen, G S, Loncarevic S and Kruse H (2002). Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. International Journal of Food Microbiology 77: 199–204.
- Karapınar M, Gönül S A (1992). Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. International Journal of Food Microbiology 16: 261-264.
- Kere K G, Aldrich M L, and Waldroup A L (2000). Acidified sodium chlorite antimicrobial treatment of broiler carcasses. Journal of Food Protection 63-8: 1087-1092.
- Korich D G, Mead J R, Madore M S, Sinclair N A, Sterling C R (1990). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and nonchloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. Applied Enviroment Microbiology 56: 1423-1428.
- Li Y, Brackett R E, Chen J, Beuchat L R (2001). Survival and growth of Escherichia coli O157:H7 inoculated onto cut lettuce before or after heating in chlorinated water, followed by storage at 5 °C or 15 °C. Journal of Food Protection 64-3: 305-309.
- Lillard H S, Thomson J E (1983). Efficacy of hydrogen peroxide as a bactericide in poultry chiller water. Journal of Food Science 48: 125-126.

- Lillard H S (1994). Effect of trisodium phosphate on *Salmonella* attached to chicken skin. *Journal of Food Protection* 57: 465-469.
- Lowburry E J L, Lilly H A (1973). Use of 4% chlorhexidine detergent solution (Hibiscrub) and other methods of skin disinfection. *British Medical Journal* 1: 510-515.
- Masson R B (1990). Recherche de Nouveaux désinfectants pour les produits de 4^{ème} gamme. Proc. Congress Produits de 4^{ème} Gamme et de 5^{ème} Gamme. Brussels, Belgium: C.E.R.I.A.; 1990: 101.
- Maurer I M (1985). Hospital hygiene, 3rd edn. Edward Arnold, London.
- Mazollier Jr (1988). IV^e gamme. Lavage-désinfection des salades Infros-Ctifl 41: 19.
- Miclo A, and Kallel M H (1995). Kinetics of lactose transport in *Kluyveromyces fragilis* grown in a chemostat on diluted whey permeate. *Journal of Industrial Microbiology* 15-1: 45-48.
- Miyasaki K (2004). Phagocytes Neutrophils. <http://www.dent.ucla.edu/pic/members/neutrophils/neutrophils2.html>
- Nascimento M S, Silva N, Catanozi M P L M and Silva K C (2003). Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. *Journal of Food Protection*, 66-9: 1697-1700.
- Nyugen-the C., Carlin F (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit Rev Food Science Nutrition* 34: 371-401.
- Parnell T L, Harris L J (2003). Reducing *Salmonella* on apples using wash practices commonly used by consumers. *Journal of Food Protection* 66:741-747.
- Peeters J E, Mazas E A, Masschelein W J, de Maturana IVM, Debacker E (1989). Effect of disinfection of drinking water with ozone or chlorine dioxide on survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied Environment Microbiology* 55: 1519-1522.
- Paustian T (2002). Definitions. University of Wisconsin-Madison. www.bact.wisc.edu/microtextbook/definitions.html
- Priepke P E, Wei L S, Nelson A I (1976). Refrigerated storage of prepackaged salad vegetables. *Journal of Food Science* 41: 379-385.
- Prindle R F (1983). Phenolic compounds. In: Block S S (ed) *Disinfection, sterilization and preservation*, 3rd edn. Lea & Febiger, Philadelphia, ch 9, p 197.
- Restaino L, Frampton EW, Hemphill JB, Palnikar P (1995). Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied Environment Microbiology* 61: 3471-3475.

- Rodgers S L, Cash J N, Siddiq M, Ryser E T (2004). A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries and cantaloupe. *Journal of Food Science* 67: 721-731.
- Rubbo S D, Gardner J F, Webb R L (1967). Biocidal activities of glutaraldehyde and related compounds. *Journal of Applied Bacteriology* 30: 78-87.
- Rubbo S D, Stratford B C, Dixon S (1960). 'Self-sterilization' of chemically treated blankets. *Medical Journal of Australia* 2: 330-332.
- Russel A D, Hogo W B, and Ayliffe G A J (1992). *Principles and Practise of Disinfection, Preservation and Sterilization*. Blackwell Science, Oxford.
- Sapers G M (2003). Washing and sanitizing raw materials for minimally processed fruits and vegetables. In Novak, J.S., G.M. Sapers, and V.K.Juneja. (Eds). *Microbial Safety of Minimally Processed Foods*. Boca Raton, FL: CRC Press:221-253.
- Saper G M (1996). Hydrogen peroxide as an alternative to chlorine. Abstract 59-4, 1996 IFT Ann. Mtg: Book of Abstracts. Chicago: Institute of Food Technology: 140.
- Sapers G M, and Simmons G F (1998). Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology* 52-2: 48-52.
- Sapers G M, Miller R L, Pilizota V, Mattrazzo A M (2001). Antimicrobial treatments for minimally processed cantaloupe melon. *Journal of Food Science* 66: 345-349.
- Schmidt H R, and Rodrick E G (2003). *Food Safety Handbook*. Wiley-Interscience, Hoboken N J.
- Shapiro J E, Holder I A (1960). Effect of antibiotic and chemical dips on the microflora of packaged salad mix. *Applied Microbiology* 8: 341.
- Sheldon B W, Brown A L (1986). Efficacy of ozone as disinfectant for poultry carcasses and chill water. *Journal of Food Science* 51: 305-309.
- Torriani S, Orsi C, Vescovo M (1997). Potential of *Lactobacillus casei*, culture permeate, and lactic acid to control microorganisms in ready-to-use vegetables. *Journal of Food Protection* 60: 1564-1567.
- Tortora G (1995). *Microbiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc. New York, USA, pp. 274–278,668–674.
- Troller J A (1993). *Sanitation in Food Processing*. Academy Press, San Diego.
- Ünlütürk A, Turantaş F (2003). *Gıda Mikrobiyolojisi*. Ege Üniversitesi. META Basım Matbaacılık Hizmetleri, 606 p, İzmir.
- Vijayakumar C, Wolf-Hall C E (2002). Evaluation of household sanitizers for reducing levels

of *Escherichia coli* on iceberg lettuce. Journal of Food Protection 65-10:1646-1650.

[WHO] World Health Organization, Food Safety Unit. 1998. Food Safety Issues: Surface decontamination of Fruits and Vegetables eaten raw: a review. World Health Organization, Geneva. WHO/FSF/FOS/98.2

Wu F M, Doyle M P, Beuchat L R, Wells J G, Mintz E D, Swaminathan B (2000). Fate of *Shigella sonnei* on parsley and methods of disinfection. Journal of Food Protection 63-5:568-572.

Zhang S, Farber JM. (1996). The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. Food Microbiology 13: 311-321.

TEŞEKKÜR

Hayatımın her döneminde olduğu gibi bu çalıőmamda da daima yanımda olan aileme, bütün yardım ve destekleri için danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. FİGEN DAĞLIOĞLU'na, sayın Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŐ' e ve canım arkadaşım sayın Araő. Gör. Volkan KÖSEOĞLU' na teşekkürlerimi sunuyorum.

EKLER

EK 1 pH Değerleri

Dezenfektanlar	1. Deney pH Değerleri	2. Deney pH Değerleri	3. Deney pH Değerleri	4. Deney pH Değerleri
Saf su	6	6,08	6,1	7,1
Çeşme Suyu	8,29	8,19	8,25	8,21
% 1 Asetik Asit	2,74	2,75	2,74	2,72
% 1 Sirke	3,53	3,51	3,5	3,53
50 ppm Sodyum Hipoklorit	7,88	8,42	7,6	7,83
% 1 L.A.+100 ppm Sodyum Hipoklorit	2,37	2,41	2,38	2,34
% 2 L.A.+50 ppm Sodyum Hipoklorit	2,2	2,21	2,2	2,18

EK 2 İstatistik Tablolar

KOLİFORM TEK YOLLU ANOVA SONUÇLARI

Worksheet size: 100000 cells

General Linear Model

Factor Type Levels Values

Dezenfek fixed 7 %1AA 1LA100NaOCI 1sirke 2LA50NaOCI
50NaOCI ÇSu Saf su

Analysis of Variance for Koliform, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Dezenfek	6	72,781	72,781	12,130	15,70	0,000
Error	21	16,223	16,223	0,773		
Total	27	89,004				

ORTALAMALARIN TUKEY SİMÜLTANEOUS TESTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Response Variable Koliform

All Pairwise Comparisons among Levels of Dezenfek

Dezenfek = %1AA subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-value
1LA100Na	0,500	0,6215	0,805	0,9819
1sirke	-1,380	0,6215	-2,220	0,3265
2LA50NaO	0,630	0,6215	1,014	0,9451
50NaOCI	-2,860	0,6215	-4,602	0,0025
ÇSu	-2,943	0,6215	-4,735	0,0019
Saf su	-3,403	0,6215	-5,475	0,0004

Dezenfek = 1LA100Na subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
1sirke	-1,880	0,6215	-3,025	0,0791
2LA50NaO	0,130	0,6215	0,209	1,0000
50NaOCI	-3,360	0,6215	-5,406	0,0004
ÇSu	-3,443	0,6215	-5,539	0,0003
Saf su	-3,902	0,6215	-6,279	0,0001

Dezenfek = 1sirke subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
2LA50NaO	2,010	0,6215	3,234	0,0518
50NaOCI	-1,480	0,6215	-2,381	0,2545
ÇSu	-1,563	0,6215	-2,514	0,2042
Saf su	-2,022	0,6215	-3,254	0,0497

Dezenfek = 2LA50NaO subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
50NaOCI	-3,490	0,6215	-5,615	0,0003
ÇSu	-3,573	0,6215	-5,748	0,0002
Saf su	-4,032	0,6215	-6,488	0,0001

Dezenfek = 50NaOCI subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
ÇSu	-0,0825	0,6215	-0,1327	1,0000
Saf su	-0,5425	0,6215	-0,8729	0,9729

Dezenfek = ÇSu subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
Saf su	-0,4600	0,6215	-0,7402	0,9882

TOPLAM BAKTERİ TEK YOLLU ANOVA SONUÇLARI

General Linear Model

Factor	Type	Levels	Values
Dezenfek	fixed	7	%1AA 1LA100NaOCI 1sirke 2LA50NaOCI 50NaOCI ÇSu Saf su

Analysis of Variance for Toplam B, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Dezenfek	6	27,5349	27,5349	4,5891	18,64	0,000
Error	21	5,1695	5,1695	0,2462		
Total	27	32,7044				

ORTALAMALARIN TUKEY SİMÜLTANEOUS TESTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Response Variable Toplam B

All Pairwise Comparisons among Levels of Dezenfek

Dezenfek = %1AA subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
1LA100Na	0,397	0,3508	1,133	0,9105

1sirke	-0,418	0,3508	-1,190	0,8902
2LA50NaO	0,808	0,3508	2,302	0,2886
50NaOCI	-1,090	0,3508	-3,107	0,0671
ÇSu	-1,168	0,3508	-3,328	0,0426
Saf su	-2,325	0,3508	-6,627	0,0000

Dezenfek = 1LA100Na subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
1sirke	-0,815	0,3508	-2,323	0,2792
2LA50NaO	0,410	0,3508	1,169	0,8981
50NaOCI	-1,487	0,3508	-4,240	0,0057
ÇSu	-1,565	0,3508	-4,461	0,0035
Saf su	-2,722	0,3508	-7,760	0,0000

Dezenfek = 1sirke subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
2LA50NaO	1,225	0,3508	3,492	0,0301
50NaOCI	-0,672	0,3508	-1,917	0,4917
ÇSu	-0,750	0,3508	-2,138	0,3680
Saf su	-1,908	0,3508	-5,437	0,0004

Dezenfek = 2LA50NaO subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
50NaOCI	-1,897	0,3508	-5,409	0,0004
ÇSu	-1,975	0,3508	-5,629	0,0003
Saf su	-3,133	0,3508	-8,929	0,0000

Dezenfek = 50NaOCI subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
ÇSu	-0,078	0,3508	-0,221	1,0000
Saf su	-1,235	0,3508	-3,520	0,0283

Dezenfek = ÇSu subtracted from:

Level	Difference	SE of	Adjusted	
Dezenfek	of Means	Difference	T-Value	P-Value
Saf su	-1,158	0,3508	-3,299	0,0452

ÖZGEÇMİŞ

13.08.1982 tarihinde Bursa' da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi İstanbul' da tamamladım. 2000-2004 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimimi bitirdikten sonra 2005 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. Halen Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü' nde çalışmaktayım.