İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ULTRAVİYOLE VE OZON UYGULAMALARININ BAHARATLARIN DEKONTAMİNASYONU VE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Esra DOĞU BAYKUT

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

ŞUBAT 2016

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ULTRAVİYOLE VE OZON UYGULAMALARININ BAHARATLARIN DEKONTAMİNASYONU VE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Esra DOĞU BAYKUT
(506082505)

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ

ŞUBAT 2016

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506082505 numaralı Doktora Öğrencisi Esra DOĞU BAYKUT, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "ULTRAVİYOLE VE OZON UYGULAMALARININ BAHARATLARIN DEKONTAMİNASYONU VE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ** .....
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Beraat ÖZÇELİK** .....
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR .....
Gebze Teknik Üniversitesi

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

Doç. Dr. Mehmet BAŞLAR .....
Yıldız Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : 25 Aralık 2015
Savunma Tarihi : 26 Şubat 2016

Anneme, babama ve oğluma,

ÖNSÖZ

Doktora çalışmalarım boyunca desteğini hissettiğim, ihtiyaç duyduğum her an bana zaman ayıran, önemli görüş ve önerileriyle tezimin ortaya çıkmasında büyük katkısı olan danışmanım Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez izleme komitemde yer alarak görüşlerini, desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Beraat ÖZÇELİK ve Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın bir kısmını ABD'de gerçekleştirmem için gerekli burs desteğini sağlayan İTÜ Rektörlüğü'ne, çalışmamın şekillenmesinde ve gerçekleştirilmesinde emeği olan, laboratuvar ve malzeme imkanlarını sunmak üzere beni kabul eden Prof. Dr. Eric DECKER'a ve Massachusetts Amherst Üniversitesi (UMASS) Gıda Bilimi Bölümü'ndeki Jean ALAMED, Dr. Kettinun KITTIPONGPITTAYA ve Cansu Ekin GÜMÜŞ başta olmak üzere tüm laboratuar arkadaşlarıma destek ve yardımları için teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalışmalarımın bir kısmını gerçekleştirmem için sağladığı olanaklardan dolayı TÜBİTAK MAM Gıda Ensititüsü ve enstitü çalışanlarına da çok teşekkür ederim.

Ayrıca, bu aşamalara gelmemde büyük emekleri olan İTÜ Gıda Mühendisligi Bölümü'ndeki değerli hocalarıma çok teşekkür ediyorum. 7 yıllık araştırma görevliliğim boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili dostlarım Celale KIRKIN ve Ayşe SAYGÜN başta olmak üzere İTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü'ndeki tüm çalışma arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışmanın hayata geçmesine imkan sağlayan İTÜ Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne projeye verdikleri maddi destekten dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, doktora eğitimim boyunca bursiyeri olmaktan gurur duyduğum TÜBİTAK'a desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca elde ettiğim tüm başarılarımı borçlu olduğum, her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme tüm özverileri için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim sırasında tanıştığım ve sonrasında günlerimin daha anlamlı ve mutlu geçmesini sağlayan sevgili eşim Süleyman'a bana olan güveni, desteği ve sabrı için en derin sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum. Doktora çalışmalarımın sonlarında varlığını öğrendiğim ve yoğun çalışmalarım sırasında bana enerji veren canım oğlum Şerif Tolga'ya sevgilerimi sunuyorum.

Şubat 2016

Esra Doğu Baykut
(Gıda Yüksek Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **ix**
KISALTMALAR ..... **xiii**
SEMBOLLER ..... **xv**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xvii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xix**
ÖZET ..... **xxi**
SUMMARY ..... **xxv**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **5**
2.1. Baharatların Tanımı, Özellikleri ve Üretimi 5
2.1.1 Kekik (*Thymus vulgaris* L.) 5
2.1.2 Karabiber (*Piper nigrum* L.) 7
2.2 Baharatların Mikrobiyal Dekontaminasyonu 9
2.2.1 Ticari olarak uygulanan yöntemleri 11
2.2.1.1 Fumigasyon 11
2.2.1.2 Termal inaktivasyon 12
2.2.1.3 Gama ışınlama 13
2.2.2 Alternatif olarak çalışılan yöntemler 15
2.2.2.1 Mikrodalga ışın ve radyofrekansı uygulamaları 16
2.2.2.2 Kızılötesi (infrared) ışın uygulamaları 18
2.2.2.3 Yüksek basınç uygulamaları 20
2.2.2.4 Soğuk plazma uygulamaları 22
2.2.2.5 Darbeli elektrik alan uygulamaları 25
2.2.2.6 Darbeli ışık uygulamaları 26
2.2.2.7 Ozonlama uygulamaları 28
2.2.2.8 Kombine yöntemler 31
2.3 Ultraviyole (UV) Işınlama Teknolojisi 33
2.3.1 Ultraviyole C (UVC) ışınları 33
2.3.2 UVC ışığının oluşum mekanizması ve ışın kaynakları 34
2.3.3 UVC ışığın mikrobiyal inaktivasyon mekanizması 37
2.3.4 UVC ışığın baharat dekontaminasyonunda kullanımı 38
2.3.5 UVC ile ilgili yasa ve yönetmelikler 39
3. MATERYAL VE METOT **41**
3.1 Materyal 41
3.1.1 Baharatlar 41
3.1.2 Bakteri suşu 41
3.1.3 Besiyerleri 41
3.1.4 Kimyasallar 42
3.2 Metot 42
3.2.1 Akışkan yataklı UVC reaktör tasarımı, imalatı ve uygulamaları 42

3.2.1.1 UVC-1 reaktör sistemi (dört lambalı) 42
3.2.1.2 UVC-2 reaktör sistemi (modifiye, sekiz lambalı) 44
3.2.1.3 Ozonlama sistemi 46
3.2.1.4 UVC ve ozon kombine sistemi 46
3.2.1.5 Deneysel tasarım 47
3.2.2 Baharatlara uygulamalar öncesi yapılan işlemler 48
3.2.2.1 Toz karabiber örneklerinde fiziksel ayırma 48
3.2.2.2 Baharat örneklerine bakteri inokülasyonu 49
Bakteri süspansiyonunun hazırlanması 49
Bakteri inokülasyonu 49
3.2.3 Mikrobiyolojik analizler 49
3.2.3.1 Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) analizi 49
3.2.3.2 Küf-maya analizi 50
3.2.3.3 *Bacillus cereus* analizi 50
3.2.3.4 *Salmonella* spp. analizi 51
3.2.3.5 *Escherichia coli* analizi 51
3.2.3.6 *Escherichia coli* O157:H7 analizi 51
3.2.4 Uçucu yağların eldesi 52
3.2.5 Baharatlardan fenolik maddelerin ekstraksiyonu 52
3.2.6 Toplam fenol miktarı tayini 53
3.2.7 Toplam antioksidan kapasitesi 53
3.2.7.1 Serbest radikal yakalama aktivitesi (DPPH) 53
3.2.7.2 Demir iyonlarını indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP) 54
3.2.8 Antioksidan aktivitenin emülsiyon sisteminde incelenmesi 54
3.2.8.1 Kekik ekstraktlarının hazırlanması 54
3.2.8.2 Toplam fenol miktarı tayini 55
3.2.8.3 DPPH tayini 55
3.2.8.4 Emülsiyon hazırlama 55
3.2.8.5 Lipid hidroperoksitlerinin ölçümü 56
3.2.8.6 Hekzanal analizi 57
3.2.8.7 UV spektrum taraması 57
3.2.9 Nem/bağıl nem/su aktivitesi tayini 57
3.2.10 Sıcaklık ölçümü 58
3.2.11 Renk ölçümü 58
3.2.12 Duyusal analiz 58
3.2.13 İstatiksel analiz 59
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 61
4.1 UVC Uygulamasının Mikrobiyolojik Kaliteye Etkisi 61
4.1.1 Kekik ve karabiber örneklerinin doğal mikroflorası 61
4.1.2 UVC-1 sistemi uygulamalarının kekik ve karabiber örneklerin doğal florasına etkisi 63
4.1.3 UVC-2 sistemi uygulamalarının kekik ve karabiber örneklerinin doğal florasına etkisi 64
4.1.4 UVC ve ozon kombine sistemlerinin karabiber örneklerinin doğal florasına etkisi 69
4.1.5 *E. coli* inoküle edilmiş kekik ve karabiber örneklerinde mikrobiyal inaktivasyon 71
4.1.5.1 *E. coli* inokülasyonunda nispi nemin etkisi 71
4.1.5.2 UVC-2 sisteminin *E. coli* inaktivasyonuna etkisi 75

4.1.5.3 UVC ve ozon kombine sistemlerinin *E. coli* inaktivasyonuna etkisi..... 77
4.2 UVC Uygulamasının Kimyasal Kaliteye Etkisi..... 79
4.2.1 UVC-1 sistemi uygulamalarının toplam fenol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi..... 80
4.2.2 UVC-2 sistemi uygulamalarının toplam fenol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi..... 84
4.2.3 UVC uygulanmış kekik örneklerin antioksidan aktivitesinin emülsiyon sisteminde incelenmesi..... 86
4.2.3.1 Emülsiyonlarda kullanılan kekik ekstraktların antioksidan aktivitesi..... 87
4.2.3.2 Renk ve UV spektrumu sonuçları..... 87
4.2.3.3 UVC uygulamasının emülsiyonlarda oksidasyona etkisi..... 89
4.3 UVC Uygulamasının Fiziksel/Duyusal Kaliteye Etkisi..... 91
4.3.1 UVC-1 sistemi uygulamalarının renk değerleri üzerine etkisi..... 91
4.3.2 UVC-2 sistemi uygulamalarının renk değerleri üzerine etkisi..... 93
4.3.3 UVC ve ozon kombine sistemleri uygulamalarının renk değerleri üzerine etkisi..... 96
4.3.4 UVC-2 sistemi uygulamalarının nem değerleri üzerine etkisi..... 97
4.4.5 UVC-2 sistemi uygulamalarının duyusal kaliteye etkisi..... 99
5. SONUÇ VE ÖNERİLER..... 101
KAYNAKLAR..... 105
EKLER..... 119
ÖZGEÇMİŞ..... 125

KISALTMALAR

ASTA : Amerikan Baharat Ticaret Birliği
BHT : 3,5-di-tert-4- butilhidroksitoluen
CT : Cefixim Tellurit
DNA : Deoksiribonükleik asit
DPPH : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DRBC : Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar
DVB : Divinylbenzene
EPA : ABD Çevre Koruma Ajansı
EPS : Hücredışı polimerik madde
ESA : Avrupa Baharat Birliği
FAO : ABD Gıda ve Tarım Örgütü
FCR : Folin–Ciocalteu Reaktifi
FDA : ABD Gıda ve İlaç Dairesi
FIR : Uzak kızılötesi
FRAP : Demir iyonlarını indirgeme kapasitesi
GAP : İyi Tarım Uygulamarı
GMP : İyi Üretim Uygulamaları
GRAS : Genel olarak güvenilir
HCl : Hidroklorik asit
HHP : Yüksek basınç uygulaması
HPCD : Yüksek basınçlı karbondioksit
IAEA : Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu
IARC : Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
ICMSF : Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar Uluslararası Komisyonu
IR : Kızılötesi
LP : Düşük basınç
LPHO : Düşük basınç yüksek verim
MP : Orta basınç
MYP : Mannitol egg yolk polymyxin agar
MW : Mikrodalga
NIR : Yakın kızılötesi
OSHA : ABD İş Sağlığı ve İş Güvenliği İdaresi
PCA : Plate Count Agar
PDMS : Polydimethylsiloxane
PE : Polietilen
PL : Darbeli ışık
PTFE : Politetrafluoroetilen
RF : Radyofrekans
SMAC : Sorbitol MacConkey Agar
SPME : Stable flex solid phase microextraction
TAL : Thin Agar Layer
TAMB : Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TBX : Tryptone Bile X-glucuronide

TCA **:** Trikloroasetik asit
TGK **:** Türk Gıda Kodeksi
TPS **:** Tamponlanmış peptonlu su
Trolox **:** 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
TSB **:** Tryptic Soy Broth
UV **:** Ultraviyole
UVA **:** Uzun dalga boylu ultraviyole
UVB **:** Orta dalga boylu ultraviyole
UVC **:** Kısa dalga boylu ultraviyole
WHO **:** Dünya Sağlık Örgütü
XLD **:** Xylose Lysine Deoxycholate Agar

SEMBOLLER

λ	**:** Radyasyon dalgaboyu
ΔE	**:** Toplam renk değişimi
A	**:** Avagadro Sayısı
a_w	**:** Su aktivitesi
c	**:** Işık hızı
Co^{60}	**:** Kobalt 60
Cs^{137}	**:** Sezyum 137
h	**:** Plank katsayısı
$K_3[Fe(CN)_6]$	**:** Potasyum ferrisiyanit
Na_2CO_3	**:** Sodyum karbonat
$NaH_2PO_4.2H_2O$	**:** Sodyum dihidrojenfosfat
$Na_2HPO_4.2H_2O$	**:** Disodyum hidrojenfosfat
Na_2SO_4	**:** Sodyum sülfat

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Ozon uygulamalarında maruz kalma limitleri (Çatal ve İbanoğlu, 2010)..... **30**
Çizelge 3.1 : Emülsiyonlarda kullanılan toplam fenolik konsantrasyonlar... **56**
Çizelge 4.1 : Baharat örneklerinin başlangıç mikrobiyal yükü (log kob/g)... **61**
Çizelge 4.2 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik, toz ve tane karabiber örneklerinin TAMB sayısına (log kob/g) etkisi..... **63**
Çizelge 4.3 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin doğal mikroflorasına (log kob/g) etkisi..... **65**
Çizelge 4.4 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) toz karabiberin doğal mikroflorasına (log kob/g) etkisi..... **66**
Çizelge 4.5 : UVC ve ozon uygulamalarının tane karabiberin TAMB yükü (log kob/g) üzerine etkisi..... **69**
Çizelge 4.6 : Kekik ve tane karabiber örneklerinin *E. coli* (ATCC 25922) inokülasyonu sırasında su aktivitesi, nem ve *E. coli* yükünün değişimi..... **74**
Çizelge 4.7 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik örneklerine inoküle edilen *E. coli* yükü (log kob/g) üzerine etkisi..... **75**
Çizelge 4.8 : UVC ve ozon uygulamalarının tane karabibere inoküle edilen *E. coli* (log kob/g) yüküne etkisi..... **78**
Çizelge 4.9 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiberin toplam antioksidan kapasitesine etkisi..... **80**
Çizelge 4.10 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiber uçucu yağlarının toplam antioksidan kapasitesine etkisi..... **82**
Çizelge 4.11 : UVC uygulamasının(0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiberin IC_{50} değerine etkisi..... **82**
Çizelge 4.12 : UVC uygulamasının(0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiber uçucu yağlarının IC_{50} değerine etkisi..... **83**
Çizelge 4.13 : Toz karabiber uçucu yağına UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) toplam antioksidan kapasitesiye etkisi..... **83**
Çizelge 4.14 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin toplam fenol içeriği (TP) ve toplam antioksidan kapasitesine etkisi..... **84**
Çizelge 4.15 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin IC_{50} değerine etkisi..... **85**
Çizelge 4.16 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) karabiberin toplam fenol içeriği (TP) ve toplam antioksidan kapasitesine etkisi.. **85**
Çizelge 4.17 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) karabiberin IC_{50} değerine etkisi..... **86**
Çizelge 4.18 : Emülsiyonlarda kullanılan kekik örneklerinin DPPH radikalinin yakalama (% inhibisyon) ve IC_{50} değerleri..... **87**

Çizelge 4.19 : Emülsiyonlarda kullanılan kekik örneklerinin renk değerlerinin UVC uygulamasıyla değişimi..... **88**
Çizelge 4.20 : UVC ve ozon uygulamalarının tane karabiberin L*, a*, b* ve ΔE değerlerine etkisi..... **96**
Çizelge 4.21 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin duyusal özelliklerine etkisi..... **99**
Çizelge 4.22 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) karabiberin duyusal özelliklerine etkisi..... **99**
Çizelge A.1 : UV lambaların şiddeti..... **120**
Çizelge A.2 : UV lambaların farklı kombinasyonlar şeklinde uygulanması ile A noktasında ölçülen UV şiddetleri..... **120**
Çizelge A.3 : UV lambaların farklı kombinasyonlar şeklinde uygulanması ile B noktasında ölçülen UV şiddetleri..... **121**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Baharat üretim basamakları (Schweiggert ve diğ., 2007)..... **6**
Şekil 2.2 : Korono deşarj ozon üretme sistemi (Patil ve diğ., 2014)..... **29**
Şekil 2.3 : UV ışınına maruz kalan DNA'nın yapısı (Koutchma ve diğ., 2009)..... **37**
Şekil 2.3 : UV ışınının mikroorganizmalar üzerine etkisinin dalga boyu ile değişimi (López-Malo ve Palou, 2005)..... **38**
Şekil 3.1 : Laboratuar ölçekli UVC sisteminin genel şematik gösterimi..... **43**
Şekil 3.2 : Akışkan yataklı UVC-2 sistemi..... **45**
Şekil 3.3 : UVC cihazı içinde lambaların dizilimi ve ölçüm noktaları..... **45**
Şekil 3.4 : UVC uygulanan lamba sayısı ile UVC şiddetinin değişimi..... **46**
Şekil 3.5 : UVC ve ozon kombine sistemleri şematik çizimi..... **47**
Şekil 3.6 : Tez kapsamında uygulanan deneysel plan..... **48**
Şekil 3.7 : Toz karabiber örnekleri a) firmadan gelen örnek b) 212 µm ve üzeri c) 212 µm'den daha ufak tane boyutu..... **48**
Şekil 3.8 : Klevenger hidrodistilasyon sistemi..... **52**
Şekil 4.1 : UVC uygulamaları sırasında sıcaklığın doz ile değişimi..... **68**
Şekil 4.2 : İnokülasyon yapılmış kekik ve tane karabiber örneklerinde nisbi nem ve depolama süresiyle a) *E. coli* sayısının logaritmik değişimi b) su aktivitesinin değişimi..... **73**
Şekil 4.3 : Kekik ekstraktlarının UV tarama (225-450 nm) sonuçları..... **88**
Şekil 4.4 : %5 mısır yağı-su emülsiyonuna UVC uygulanmış ve uygulanmamış 0,15 ve 0,30 mM (mmol GAE/L emülsiyon) kekik ekstraktı ilavesinin a) lipid hidroperoksit ve b) hekzanal değerlerine etkisi..... **90**
Şekil 4.5 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve karabiberin renk değerlerine etkisi..... **92**
Şekil 4.6 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve karabiberin toplam renk değişimine etkisi..... **93**
Şekil 4.7 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik ve karabiberin renk değerlerine etkisi..... **95**
Şekil 4.8 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik ve karabiberin toplam renk değişimine etkisi..... **96**
Şekil 4.9 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik ve karabiberin nem değerlerine etkisi..... **98**
Şekil 4.10 : Farklı dozlarda UVC uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) kekik ve karabiber örneklerinin görünümü..... **100**
Şekil A.1 : UV uygulanan dizilimi ve radyometre ölçüm noktaları..... **120**
Şekil A.2 : UV uygulanan lamba sayısı ile A noktasındaki UV şiddetinin değişimi..... **120**

Şekil A.3 : UV uygulanan lamba sayısı ile B noktasındaki UV şiddetinin değişimi..... **121**
. **Şekil B.1 :** Duyusal analiz formu..... **123**

ULTRAVİYOLE VE OZON UYGULAMALARININ BAHARATLARIN DEKONTAMİNASYONU VE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZET

Baharatlar insanlar tarafından çok eski çağlardan beri farklı amaçlarla kullanan bitkilerdir. Çeşitli aromatik bitkilerin meyve, tohum, sap, kök, yaprak, çiçek ve kabuk gibi farklı kısımlarından meydana gelen baharatlar gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetik sektöründe sıkça kullanılmaktadır. Baharatlar bitkisel kökenli olması, nemli ve sıcak iklimlerde hijyenik olmayan koşullarda üretilmesi, uygulanan hasat yöntemleri ve hasat sonrası işlem basamakları sebebiyle mikrobiyal kontaminasyona oldukça duyarlıdır. Baharatların mikroorganizma yükü 6-8 log kob/g düzeyine kadar çıkabilmekte ve bazı durumlarda ilave edildiği gıdaların güvenliğini tehlikeye sokmaktadır. Baharat kaynaklı gıda zehirlenmelerinin önlenebilmesi için, baharat üretiminin son aşamasında baharatın toplam mikroorganizma yükünün azaltılmasını ve olası patojenlerin inaktivasyonunu sağlayan uygun dekontaminasyon işlemine ihtiyaç vardır. Baharatın mikrobiyal dekontaminasyonunda ticari olarak kullanılan başlıca yöntemler; fumigasyon, buhar ile termal inaktivasyon ve gama ışınları ya da yüksek enerjili elektronlar ile ışınlamadır. Bu yöntemlerin sahip olduğu bazı dezavantajlar nedeniyle alternatif olarak kullanılabilecek yöntemlerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar devam etmektedir.

Kısa dalga boylu ultraviole (UVC) ışınlama, gıda ürünlerinin, hava ve yüzeylerin mikrobiyal yüklerinin düşürülmesinde kullanılan etkili bir mikrobiyal dekontaminasyon yöntemidir. UVC ışınlamanın yasal ve güvenli bir yöntem olması, kolay uygulanabilir olması, ekipman ve uygulama maliyetlerinin düşük olması gibi avantajları sebebiyle son yıllarda farklı gıda ürünlerinde UVC uygulamaları ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı artmıştır. Baharatların tüm yüzeylerin etkin şekilde UVC ışınlarına maruz kalmasının sağlanması durumunda, bu yöntemin baharatların dekontaminasyonunda kullanım potansiyeli olabileceği düşünülmektedir. Ozon ise güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip, termal olmayan bir dekontaminasyon yöntemidir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından, Genel Olarak Güvenilir (GRAS) ve gıda dekontaminasyonunda kullanılabilir olduğu onaylanmıştır.

Bu doktora tez çalışmasında, baharatların UVC uygulamalarında kullanmak üzere tasarımı ve imalatı yapılan laboratuar ölçekli akışkan yataklı ultraviyole reaktör sisteminin kekik ve karabiber örneklerinin doğal mikroflorası **(**toplam aerobik mezofilik bakteri, küf-maya ve *Bacillus cereus*) üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca, *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu inoküle edilen kekik ve karabiber örneklerine UVC uygulanarak, UVC ışınların *E. coli* bakterisi üzerine etkisi belirlenlenmiştir. Daha sonra, UVC ve ozon sistemlerinin birlikte kullanımının kekik ve karabiber örneklerinin doğal mikrobiyal yükü ve inoküle *E. coli* bakterisi üzerine katkı veya sinerjistik etkisinin olup olmadığı incelenmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise, UVC uygulamasının kekik ve karabiber örneklerin fiziksel, kimyasal ve duyusal kalitesinde (örneğin nemi, rengi, antioksidan özellikleri ve duyusal özellikleri)

meydana getirdiği değişiklikler araştırılmıştır. Ayrıca, UVC uygulanmış kekik örneklerin antioksidan aktivitesi emülsiyon sisteminde de incelenmiştir.

Bu çalışmada iki sistem tasarlanmıştır (UVC-1 ve UVC-2). Tasarlanan ilk UVC sisteminin (UVC-1) şiddeti 8 mW/cm^2 olarak ölçülmüştür. Bu sistemin 16 ve 64 dakika çalıştırılmasıyla elde edilen 7,7 ve 30,7 J/cm^{2}dozlarında UVC ışınına maruz bırakılan kekik, toz ve tane karabiber örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısındaki değişim incelenmiştir. Kekik, toz ve tane karabiber örneklerinin başlangıç TAMB sayısı 4,53, 7,48 ve 6,94 log kob/g olarak bulunmuştur. 30,7 J/cm^2 dozunda UVC uygulamasıyla kekik, toz karabiber ve tane karabiber örneklerinin TAMB sayısındaki azalma sırasıyla 1,38, 0,76 ve 0,72 logkob/g olmuştur. TAMB sayısındaki azalmaların yeterli seviyede olmadığı görülmüştür. Daha sonra ilk sisteme yapılan modifikasyonlar ile UVC-2 sistemi tasarlanmış ve bu sistemin şiddeti 26,7mW/cm^2 olarak ölçülmüştür. Uygulama sürelerini değiştirerek, UVC-2 sisteminde 4 farklı doz (25,7, 51,4, 102,8 ve 205,6 J/cm^2) ile çalışılmıştır. Doz arttıkça inaktivasyon seviyesi artmış ve 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile kekik örneklerinin TAMB, küf-maya ve *B. cereus* yüklerindeki azalma sırasıyla 1,77, 1,29 ve 0,31 log kob/g olarak bulunmuştur ($p<0,05$). Toz karabiber örneklerinde 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile TAMB, küf-maya ve *B. cereus* yüklerinde elde edilen azalma ise sırasıyla 1,00, 1,16 ve 0,51 log kob/g olmuştur ($p<0,05$).

Çalışmanın devamında, ozon (15 ppm) ve UVC (28,8 J/cm^2) sistemleri tane karabiberin mikrobiyal dekontaminasyonun da tek başına, arka arkaya ya da aynı anda uygulanmıştır. Tane karabiberin TAMB sayısında 1 saat ozon uygulaması ile 0,41 log kob/g ve 1 saat UVC uygulaması ile 0,77 log kob/g azalma sağlanmıştır ($p<0,05$). Ozon ve UVC sistemlerini kombine etmenin inaktivasyon düzeyine katkıda bulunmadığı, TAMB sayısını azaltmada herhangi bir katkı ya da sinerjistik etkisinin olmadığı görülmüştür.

E. coli inokülasyon çalışmalarında daldırma yöntemi kullanılmıştır. UVC ve/veya ozonlama uygulamaları öncesinde *E. coli*'nin kekik ve karabiber örneklerinde stabil hale gelmesi için uygun koşullar araştırılmıştır. Öncelikle baharatlar %90 nispi nemde 24 saat bekletilerek bakterinin ortama adaptasyonu sağlanmıştır. Daha sonra %30 nispi nemde 24 saat kurutularak baharatlar ilk su aktivitesi ve nem değerlerine ulaşmıştır. Başlangıç *E. coli* yükü 7,03 log kob/g olan kekik örneklerine farklı dozlarda (0-205,6 J/cm^2) UVC uygulanmış ve en fazla azalma 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla 2,61 log kob/g olarak tespit edilmiştir. 1 saat UVC (28,8 J/cm^2) ve 1 saat ozon (15 ppm) uygulaması ise başlangıç yükü 6,35 log kob/g olan inoküle tane karabiberin yükünde sırasıyla 0,83 ve 0,82 log kob/g azalma sağlanmıştır ($p<0,05$). UVC ve ozon sistemlerinin birlikte kullanımının ise katkı etki sağladığı görülmüştür. Sistemlerin arka arkaya ve eş zamanlı kullanımı ile elde edilen inaktivasyon değeri 1,67 ve 1,38 log kob/g olarak bulunmuştur ($p<0,05$).

UVC uygulanan kekik ve karabiber örneklerinin toplam fenolik madde içeriği; Folin Ciocalteau yöntemi ile toplam antioksidan aktivitesi ise; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikalini bağlama oranının tespiti ve demir iyonlarını indirgeme kapasitesi (FRAP) metotları ile belirlenmiştir. Kekik ve karabiber ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 79,81 mg GAE/g ve 12,44 mg GAE/g olarak bulunmuştur. UVC uygulamasının tüm dozlarında (0- 205,6 J/cm^2) baharatların toplam fenolik madde miktarında önemli bir değişiklik meydana gelmediği görülmüştür ($p>0,05$). FRAP ve DPPH yöntemleri ile analiz edilen kekik örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri sırasıyla 181,18 ve 121,69 mg TE/g

olarak bulunmuştur. Karabiber örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi ise FRAP ve DPPH yöntemleri ile analiz edildiğinde sırasıyla 6,25 ve 5,32 mg TE/g olarak tespit edilmiştir. Kekik ve karabiber örneklerinin toplam antioksidan aktivitesinin UVC uygulamalarından önemli ölçüde etkilenmediği görülmüştür ($p>0,05$). UVC uygulanmamış kekik ve karabiber uçucu yağlarının toplam antioksidan kapasitesi ise 35,00 ve 1,28 mg TE/g olarak hesaplanmıştır. 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozlarında UVC uygulamasından sonra, kekik uçucu yağının toplam antioksidan aktivitesi önemli derecede değişmezken; karabiber esansiyel yağının toplam antioksidan aktivitesinde 30,7J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla azalma olmuştur ($p<0,05$). Bu çalışma neticesinde karabiber esansiyel yağının UVC uygulamasına karşı daha hassas olduğu görülmüştür.

Kekik örneklerinin antioksidan aktivitesi ayrıca su içinde yağ (O/W) emülsiyon sistemlerinde incelenmiştir. 7,7 ve 30,7 kJ/cm^2 dozda UVC uygulanmış kekik örneklerinin ekstrakları mısır yağı-su emülsiyonlarına eklenerek, 55 °C'de depolanan emulsiyonlardaki hidroperoksit ve hekzanal oluşumları izlenmiştir. Kekik ekstraktı ilave edilmemiş kontrol örneğinde lipid oksidasyonu çok hızlı şekilde gerçekleşmiş, lag fazı 4 gün olarak bulunmuştur. 0,15 µmol GAE/ml emülsiyon konsantrasyonunda kekik ekstraktı ilave edilen emülsiyonlarda ise lag fazı 9 güne çıkmıştır ($p<0,05$). Kekik ekstraktı konsantrasyonu 0,30 µmol GAE/ml emülsiyon seviyesine çıkarıldığında ise lag fazı 14 güne uzamıştır ($p<0,05$). UVC ışını uygulanan ve uygulanmayan örneklerin oksidasyon hızları arasında ise önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu çalışma neticesinde kekik ekstraktlarının bu konsantrasyonlarda (UVC uygulanmış ya da uygulanmamış) O/W emulsiyonlarında lipid oksidasyonunu önlemede etkili olduğu görülmüştür.

Çalışmanın son aşamasında, UVC uygulamalarının kekik ve karabiber örneklerinin fiziksel ve duyusal kalitesine etkisi incelenmiştir. Kekik ve karabiber örneklerinin nem değerlerinde tüm UVC dozlarında (0-205,6 J/cm^2) önemli bir fark bulunmamıştır. Kromometre ölçüm sonuçlarına göre, örneklerin L*, a*, b* ve ΔE değerlerinde ise UVC uygulamasıyla değişimler olsa da bu farklılıkların duyusal analizde panelistler tarafından ayırt edilemeyecek seviyede olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Ayrıca, UVC uygulanmış kekik ve karabiber örnekleri duyusal panelde koku ve genel beğenilirlik açısından UVC uygulanmamış örnekler ile aynı puanları almıştır ($p>0,05$).

Sonuç olarak, UVC ışınlara maruz bırakılan kekik ve karabiber örneklerinin kimyasal, fiziksel ve duyusal özelliklerinde önemli değişiklikler olmadan; TAMB, küf-maya ve *B. cereus* düzeylerinde önemli ölçüde azalmalar olduğu saptanmıştır. Ayrıca, UVC uygulamasının *E. coli* inaktivasyonunda da etkili olduğu görülmüştür. Fakat mevcut sistemdeki dekontaminasyon seviyelerinin başlangıç mikrobiyal yükü yüksek olan baharatlar için yeterli olmayacağı görülmüştür. Sistemin diğer dekontaminasyon yöntemleri ile kombine edildiğinde baharatların kalitesinin daha iyi korunmasına yardım ederek baharat örneklerinin mikrobiyal yükünün azaltılmasında kullanım potansiyelinin olabileceği düşünülmektedir.

.

EFFECTS OF ULTRAVIOLET AND OZONE APPLICATIONS ON THE DECONTAMINATION AND QUALITY OF SPICES

SUMMARY

Spices have been used throughout the world for different purposes since ancient times. They are produced from a large variety of plant parts such as seeds, stems, roots, leaves, flowers, etc. and commenly used in the food, pharmaceutical and cosmetics industries. Spices can be highly contaminated by microorganisms due to their growth conditions, harvesting methods, and postharvest processes such as drying, size reduction, packaging and storage practices. Microbial contamination of spices may sometimes reach as high as 8 log cfu/g which can constitute a significant contamination problem to the added food and contribute to serious public health risk. Several decontamination methods have been developed to reduce the microbial load of spices and to inactivate pathogens. Microbial quality of spices must be taken into consideration by the manufacturers before using in food products to prevent spice related poisonings.

Fumigation with ethylene oxide, thermal treatment with steam, and irradiation with gamma rays or high-energy electrons are the most common treatments for reducing the microbial load of spice. Ethylene oxide is classified as a carcinogen and its use in foods is prohibited in many countries. Thermal treatment with steam was associated with discolouration and reduction of volatile oil contents. Additionally, it is usually applied to whole spices before grinding, therefore, the moisture condensed on the surface of the particles needs to be removed after treatment to avoid mold growth. The use of irradiation, instead of these two techniques to ensure hygienic quality of spices and herbs has increased. However, this treatment has high installation costs and poor consumer acceptance. In order to reduce the microbial load of food powders, some researchers have also studied and suggested some nonthermal technologies as promising alternative ssuch as pulsed electric field, infrared heating, microwave, high hydrostatic pressure, high pressure carbon dioxide, radio frequency, pulsed UV light, ozone and ultraviolet radiation.

UVC radiation has an effective microbial inactivation power and has been successfully applied to reduce the microbial load on various surfaces, liquids, and air environments. UVC light inactivates microorganisms by forming thymine dimers in DNA, thereby preventing microorganisms from replicating. Because of its low degree of penetration, inactivation of microorganisms occurs only on the surface of foods. If all the surfaces of spices are effectively exposed to UVC light, this method can have a high potential in microbial decontamination and can be an alternative to the existing technologies. Ozone is also an effective nonthermal decontamination method that has strong antimicrobial properties. Ozone was approved as Generally Recognized as Safe (GRAS) and allowable for food decontamination by the Food and Drug Administration (FDA).

In this thesis, a laboratory scale fluidized bed UVC reactor system was designed and manufactured to use for decontamination process of thyme and black pepper. Firstly, the effect of UVC radiation on the natural microflora (total aerobic mesaphilic bacteria, mold-yeast and *Bacillus cereus*) of thyme and black pepper was studied. Then, the efficiency of UVC radiation for inactivating *Escherichia coli* strain ATCC 25922 on thyme and black pepper was investigated. Afterwards, UVC and ozone treatments were combined to examine whether they have any additive or synergistic effects on both natural flora or inoculated *E. coli* on thyme and black pepper. In the last part of the study, the changes caused by the application of UVC treatment on physical, chemical and sensory quality (humidity, color, antioxidant properties and sensory properties) of thyme and black pepper were evaluated. In addition, the antioxidant activity of UVC treated thyme samples on the emulsion system was also studied.

Two systems have been designed during the study, namely, UVC-1 and UVC-2 systems. The UV intensity of the firstly designed system (UVC-1) was measured as 8 mW/cm^2. 7.7 and 30.7 J/cm^2 UVC doses were obtained by operating the system 16 and 64 minutes, respectively. The changes in the number of total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) in thyme, ground and whole black pepper were investigated after UVC treatment. The initial microbial counts of the thyme, ground and whole black pepper were found as 4.53, 7.48 ve 6.94 log cfu/g, respectively. The decrease in TAMB counts of thyme, ground and whole black pepper when exposed to UVC radiation with dose of 30.7 J/cm^2 were 1.38, 0.76 and 0.72 log cfu/g, respectively. These results indicated that the rates of microbial decontamination were not sufficient. Then, the UVC-2 system was designed with some modifications over UVC-1. The UV intensity of the UVC-2 system was measured as 26.7 mW/cm^2. By varying the treatment time, four different UVC doses (25.7, 51.4, 102.8 and 205.6 J/cm^2) were studied in the UVC-2 system. Microbial inactivation increased with the increasing UVC doses. The decrease in the TAMB, mold-yeast and *B. cereus* counts of thyme samples were 1.77, 1.29 and 0.31 log cfu/g after UVC treatment at 205.6 J/cm^2, respectively ($p<0.05$). The reduction levels of TAMB, mold-yeast and *B. cereus* counts of ground black pepper when treated with UVC radiation at 205.6 J/cm^2 were 1.00, 1.16 and 0.51 log cfu/g, respectively ($p<0.05$).

Afterwards, ozone (15 ppm) and UVC (28.8 J/cm^2) treatments were applied alone, in succession or in combination to whole black pepper for microbial decontamination. Rates of microbial inactivation obtained by 1 hour ozone and UV treatments for TAMB counts of whole black pepper were 0.41 and 0.77 log cfu/g, respectively ($p<0.05$). Any statistically meaningful reduction is not observed in the TAMB counts of whole black pepper after combined treatments. TAMB inactivation rates obtained by applying combined systems were 0.74 and 0.66 log cfu/g for consecutive and simultaneous treatments. It is observed that, combination of ozone and UVC treatments did not result in any additive or synergistic effect.

Dip inoculation method was used for *E. coli* inoculation studies. The suitable conditions for inoculation were investigated to become *E. coli* stable on thyme and black pepper samples before applying UVC and/or ozone treatments. Firstly, spices were kept at %90 relative humidity and 25 ºC for 24 hours for adaptation to environment. Then, they were dried at %30 relative humidity and 30 ºC for 24 hours. After this pretreatments, the samples were reached their initial water activity and moisture. The initial population of *E. coli* on inoculated thyme samples was found 7.03 log cfu/g. The samples were subjected to different UVC doses (0-205.6 J/cm^2).

The maximum reduction level of *E. coli* was 2.61 log cfu/g with UVC treatment at 205.6 J/cm^2. The initial *E. coli* load of the whole black pepper was found 6.35 log cfu/g. *E. coli* counts were decreased by 0.83 and 0.82 log cfu/g when treated with UVC radiation at a dose of 28.8 J/cm^2 and 15 ppm of ozone for 1 hour, respectively ($p<0.05$). An additive effect was observed when UVC and ozone treatments used in combination. When UVC and ozone treatments were applied sequentially and simultaneously, 1.67 and 1.38 log cfu/g reduction was observed in the population of *E. coli*, respectively.

It was found that UVC and ozone treatments applied to thyme and black pepper resulted higher inactivation levels for *E. coli* than natural flora. It can be explained that, according to literature gram negative bacteria such as *E. coli* is more susceptible to UVC and ozone treatments than gram positive bacteria such as *Bacillus* and *Clostridium* species. Furthermore, natural flora of the thyme and black pepper can form biofilms which protects them from UVC and ozone treatments. It is known that, biofilm cells are more resistant to decontamination treatments as they have a barrier which protects them from environmental and physical influences.

Total phenol content of thyme and ground black pepper samples was determined by the Folin Ciocalteau assay. The total antioxidant activity of the samples was measured by the scavenging of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and Ferric reducing capacity (FRAP) methods. Total amounts of phenolics were found to be 79.81 and 12.44 mg GAE/100 g for thyme and black pepper, respectively. There were no significant changes in total amounts of phenolics after UVC treatment with doses up to 205.6 J/cm^2($p>0.05$). The total antioxidant capacity of thyme samples analyzed by FRAP and DPPH methods were 181.18 and 121.69 mg TE/g, respectively. The total antioxidant capacity of black pepper samples determined by FRAP and DPPH methods were 6.25 and 5.32 mg TE/g, respectively. The differences in the total antioxidant capacities of thyme and black pepper samples were found to be statistically insignificant at all UVC doses ($p<0.05$). The total antioxidant capacities of thyme and black pepper essential oils determined by DPPH method were 35.00 and 1.28 mg TE/g, respectively. After 7.7 and 30.7 J/cm^2 doses of UVC treatments, the total antioxidant capacity of thyme essential oil was not changed significantly whereas the total antioxidant capacity of black pepper essential oil significantly decreased at dose of 30.7 J/cm^2 ($p<0.05$). It can be concluded that black pepper essential oil is more sensitive to UVC treatment than thyme essential oil.

Many lipid containing food products are in the form of oil in water (O/W) emulsions. Such foods are very susceptible to oxidative deterioration especially if they contain high amounts of polyunsaturated fatty acids. The oxidation of lipids is a detrimental process that causes nutritional losses and development of undesirable flavour, colour, and toxic compounds. As a consequence, food manufacturers are searching for methods to prevent, or at least retard, lipid oxidation in foods. Several researchers have evaluated the antioxidant properties of extracts from different herbs and spices in lipid systems and thyme has exhibited substantial antioxidant activity in oil and oil-in-water emulsions. In this part of the study, the effect of UVC treatment with 7.7 and 30.7 kJ/cm^2 on the antioxidant activity of thyme extracts in corn O/W emulsions was investigated by monitoring the formation of hydroperoxides and hexanal of oil in water emulsions during storage at 55 °C. A corn O/W emulsion was used alone as control. Lipid oxidation occurred rapidly in the control, with a lag phase of 4 days. Addition of thyme extracts at 0.15 µmol GAE/ml emulsion significantly increased

the lag phase from 4 to 9 days ($p<0.05$). Lipid oxidation was also strongly inhibited by thyme extracts at 0.3 µmol GAE/ml emulsion, in which the lag phase was extended to 14 days ($p<0.05$). No significant changes in oxidation rates were observed between UVC treated and untreated samples at same concentrations ($p>0.05$). The results of the lipid oxidation experiments indicate that all thyme extracts (with or without UVC treatment), at the two applied concentrations, are effective in inhibiting the oxidation of O/W emulsions.

In the last part of the study, the effects of UVC treatments on physical and sensory quality of thyme and black pepper samples were examined. Moisture content of thyme and black pepper samples were not significantly changed at all UVC doses (0-205.6 J/cm^2). There were slight changes in L*, a*, b* and ΔE values of samples treated with UVC according to chromometer results, but panelists did not recognize significant differences ($p>0.05$). In addition, all UVC treated thyme and black pepper samples received similar sensory scores with the untreated ones ($p>0.05$).

As a result, TAMB, mold-yeast and *B. cereus* counts of the thyme and black pepper samples treated with UVC radiation were reduced significantly, without any significant changes in the physical, chemical and sensory properties. In addition, UVC treatment was also found effective in the inactivation of *E. coli*. However, the decontamination level of the existing system was not found sufficient for highly contaminated spices even though the inactivation rates were statistically meaningful. It can be said that this system could potentially be used in reducing microbial load of spices without any changes in quality if it is combined with other decontamination methods.

In spice processing industry, all production stages should be taken into consideration to minimize the contamination potential. Implementation of HACCP systems in spice production plants should be preceded by implementing principles of Good Agricultural Practices (GAP) and Good Manufacturing Practices (GMP). These programs can minimize the contamination risk during growing, harvesting, drying, transport, processing, and post processing storage and can help spice industry to provide spices with low microbial load. In this way, the reduced level of contamination could increase the applicability of alternative methods.

1. GİRİŞ

Baharatlar insanoğlunun çok eski çağlardan beri farklı amaçlarla kullandığı bitkilerdir. Gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetik sektöründe baharatlar sıkça kullanılmaktadır. Baharatlar çeşitli aromatik bitkilerin meyve, tohum, sap, kök, yaprak, çiçek ve kabuk gibi farklı kısımlarından meydana gelir (Coggins, 2001; Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014). Gıdalara lezzet, tat, koku, keskinlik ve renk katmak için kullanılan baharatların ayrıca antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri de bulunmaktadır. Bu sebeple baharatlar dokuyu ve tadı geliştirmenin yanında gıdanın korunması ve bozulmanın geciktirilmesinde de önemli rol oynamaktadır. Ayrıca baharatların tuz ve şekeri azaltma ve dokuyu geliştirme gibi kompleks ikincil etkileri de vardır (Peter ve Babu, 2004). Baharat ekstraktları ve oleoresinleri de, Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından "genel olarak güvenilir" (GRAS) statüsünde kabul edilmiş gıda katkı maddeleridir (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014).

Baharatlar yetiştirildikleri ortam, bitkisel özelikleri, uygulanan hasat yöntemleri ve hasat sonrası işlem basamakları dikkate alındığında mikrobiyal kontaminasyona oldukça duyarlıdır. Özellikle baharatların kurutma sonrası öğütme veya ufalama aşamalarından sonra yüzey alanları oldukça artmakta ve yüzey kontaminasyonu potansiyeli de artmaktadır. Ayrıca baharatların bitkisel kökenli olması, nemli ve sıcak iklimlerde özensiz ve hijyenik olmayan koşullarda üretilmesi, uygun olmayan koşullarda depolanması ve taşınması da kontaminasyon kaynağı olarak sıralanabilir (Schweiggert ve diğ., 2007).

Yüksek mikroorganizma yükü baharatların ihracatında önemli bir sorun teşkil etmektedir. Ayrıca kullanıldıkları ürünlerde de kontaminasyonuna neden olabilmektedir. Baharatlar *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella* patojen bakterileri ile *Aspergilllus flavus* ve *Penicillium citrinum* gibi toksik küflerle yüksek oranda kontamine olabilmekte ve bu sebeple bazı durumlarda ilave edildiği gıdaların güvenliğini tehlikeye sokmaktadır (Coggin, 2001; Nicorescu ve diğ., 2013). Toprak, toz, böcek, kuş ve kemirgenlerin fekal bulaşıları, işleme ve

üretim sırasında kullanılan su vb. unsurlar başlıca kontaminasyon kaynakları olarak sayılabilir (Lacroix ve diğ., 2003; Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014).

Son yıllarda birçok patojen mikroorganizma baharatlar vasıtasıyla gıda kaynaklı hastalıklara neden olmuştur. Baharatlar düşük su aktivitesi nedeniyle çabuk bozulan gıdalar değildir fakat yüksek su aktivitesine sahip gıdalarla karıştırıldığında mikrobiyal populasyonlar hızla artmaktadır. Özellikle ısıl uygulamalara maruz kalmayan yemeye hazır gıdalarda baharat kullanımı dikkat gerektirmektedir (Schweiggert ve ark., 2007). Baharat kaynaklı gıda zehirlenmelerinin önlenebilmesi için, baharatların toplam mikroorganizma yükünün azaltılmasını ve olası patojenlerin inaktivasyonunu sağlayan dekontaminasyon işlemine ihtiyaç vardır.

Fumigasyon, buhar ile termal inaktivasyon ve gama ışınları ya da yüksek enerjili elektronlar ile ışınlama ticari olarak kullanılan dekontaminasyon yöntemleridir (Tainter ve Grenis, 2001). Fakat bu yöntemlerin bazı dezavantajlarının olması nedeniyle baharatların mikrobiyal yükünü azaltmak için alternatif yöntemlerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar devam etmektedir. Alternatif olarak çalışılan yöntemler mikrodalga, kızılötesi, yüksek basınç, soğuk plazma, darbeli elektrik alan, darbeli ışık, ozonlama ve ultraviyole uygulamaları olarak sayılabilir (Akbas ve Ozdemir, 2008; Buckow ve diğ., 2014; Calvo ve Torres, 200; Dababneh, 2013; Erdoğdu ve Ekiz, 2011; Fine ve Gervais, 2004; Grabowski ve diğ., 2014; Keith ve diğ., 1997; Nicorescu ve diğ., 2013; Staack ve diğ., 2008).

Kısa dalga boylu ultraviole (UVC) ışınlama mikrobiyal inaktivasyon sağlayan etkili bir yöntem olup çeşitli gıda ürünlerinin, hava ve yüzeylerin mikrobiyal yüklerinin düşürülmesinde kullanılmaktadır. Taze meyve, sebze ve yumurta gibi katı gıdalarda yüzey dezenfeksiyonu ve diğer amaçlar için, çeşitli sıvı gıdalarda (meyve suları, süt) pastörizasyon amacıyla kullanım potansiyeli araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Koutchma ve diğ., 2009). UVC ışınlama uygulamasının yasal ve güvenli bir yöntem olması, kolay uygulanabilir olması, ekipman ve uygulama maliyetlerinin düşük olması gibi avantajları sebebiyle son yıllarda farklı gıda ürünlerinde UVC uygulamaları ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı artmıştır. Baharatlarda da tüm yüzeylerin etkin şekilde UVC ışınlarına maruz kalmasının sağlanması durumunda kullanım potansiyeli olabileceği düşünülmektedir.

Bu doktora tez çalışmasının amacı;

- Baharatların UVC uygulamalarında kullanmak üzere tasarımı ve imalatı yapılan laboratuar ölçekli akışkan yataklı ultraviyole reaktör sisteminin kekik ve karabiber örneklerinin doğal mikroflorası (TAMB, küf-maya ve *B. cereus*) üzerine etkisinin incelenmesi,
- *E. coli* ATCC 25922 suşu inoküle edilen kekik ve karabiber örneklerine UVC uygulanarak, UVC ışınların *E. coli* bakterisi üzerine etkisinin belirlenmesi,
- UVC uygulamasının kekik ve karabiber örneklerin kimyasal, fiziksel ve duyusal kalitesinde (örneğin nemi, rengi, antioksidan özellikleri ve duyusal özellikleri) meydana getirdiği değişikliklerin araştırılması,
- UVC uygulanmış kekik örneklerinin antioksidan aktivitesinin emülsiyon sisteminde incelenmesi,
- UVC ve ozon sistemlerinin birlikte kullanımının kekik ve karabiber örneklerinin doğal mikrobiyal yükü ve inoküle *E. coli* bakterisi üzerine katkı veya sinerjistik etkisinin olup olmadığının incelenmesidir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Baharatların Tanımı, Özellikleri ve Üretimi

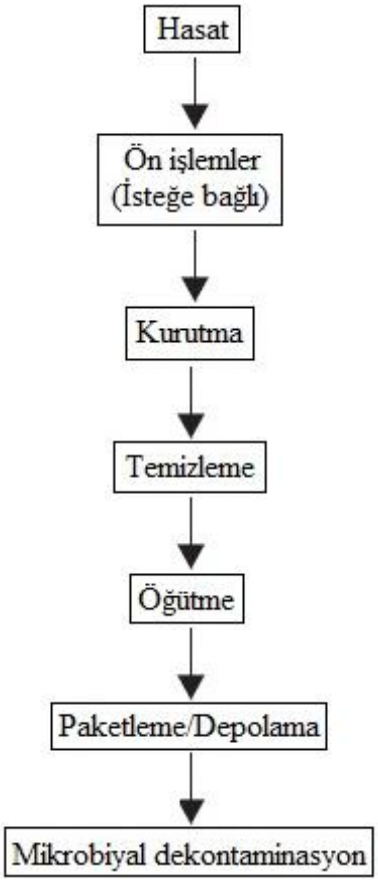
Tez çalışması kapsamında kekik ve karabiber baharatları ile çalışılmıştır. Bu sebeple bu bölümde bu baharatların tanımı, özellikleri ve üretim basamakları ile ilgili genel bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

2.1.1 Kekik (*Thymus vulgaris* L.)

Kekik (*T. vulgaris*) Lamiaceae familyasına ait aromatik ve tıbbi bir bitkidir. Dünyanın birçok bölgesinde yetişmekte olan kekik, en çok Akdeniz bölgesinde bulunur (Morales, 2002). Türk mutfağında ve dünya mutfaklarında yemeklere lezzet ve koku vermek için sıkça kullanılmaktadır. İçeriğindeki timol ve karvakrol isimli monoterpenler kekiğin karakteristik aromasını oluşturan başlıca bileşiklerdir. Ayrıca lipid peroksidasyonunu önleyen kuvvetli antioksidanlardır (Schwarz ve Ernst, 1996; Yanishlieva-Maslarova ve Heinonen, 2001). Hasat zamanı, mevsimsel değişimler ve kurutma koşulları gibi birçok etken kekiğin kompozisyonunu değiştirebilir. Kekik farklı oranlarda timol (%12–61), karvakrol (%0,4–20,6), 1,8-cineole (%0,2–14,2), q-cymene (%9,1–22,2), linalool (%2,2–4,8), borneol (%0,6–7,5), α-pinene (0.9–6.6%) ve camphor (%0–7,3) gibi fenolik bileşikler içerir (Uhl, 2000).

Baharat üretim aşamaları Şekil 2.1'de özetlenmiştir. Kırmızıbiber gibi bazı baharatlara kurutma öncesi baharatın hacmini azaltmak, kurutma işlemini hızlandırmak ve ürünün rengini geliştirmek için delme, kürleme gibi bazı ön işlemler yapılabilmektedir (Schweiggert ve diğ., 2007). Her üretim basamağı son ürünün kalitesini etkilemektedir. Kekiğin büyüme ve hasat zamanındaki iklim koşulları oldukça önemlidir. Yapılan bir çalışma da %15-100 arası değişen oranlarda güneş ışığı gören kekik örneklerinden %100 güneş ışığı görenlerin uçucu yağ veriminin diğer örneklere göre daha fazla olduğu görülmüştür (Li ve diğ., 1996). Genellikle hasat zamanlarında da güneşli günler tercih edilir. Özellikle yağmurdan sonraki günler tercih edilmez. Çünkü nemli ürünleri kurutmak daha zor olduğu için bu

ürünlerde renk ve kalite kaybı olabilir ve daha çabuk bozulabilirler (Venskutonis, 2002).



Şekil 2.1 : Baharat üretim basamakları (Schweiggert ve diğ., 2007).

Baharatlara genellikle %10 nem seviyesine kadar kurutma işlemi uygulanır. Kurutma işleminde uçucu yağ ve renk kaybı olmaması için mekanik kurutuculardа sıcaklık kontrol altında tutulur. Genellikle kurutma sıcaklığı olarak 45-60 ºC arasındaki sıcaklıklar önerilmektedir (Díaz-Maroto ve diğ., 2003; Calín-Sánchez ve diğ., 2013).

Genel olarak kekiğin kurutulmasında kullanılan metotlar termal ve termal olmayan yöntemler olarak ikiye ayrılabilir. Termal metotlar güneşte kurutma, güneş enerjili dolaylı kurutma ve ticari kurutma olarak ayrılabilir. Termal olmayan metotlar ise nem tutma materyalleri, kurutma ajanları ya da elektrolitler ile yapılmaktadır. Güneşte kurutma ucuz olduğu için bir çok ülkede en çok tercih edilen metottur. Fakat baharatın kemirgen ve böceklerle kontamine olması, uçucu madde kaybı, ısı ve ışığa hassas bileşenlerin kaybolması, prosesin kontrolünün zor olması ve uzun zaman gerektirmesi bu metodun başlıca dezavantajlarıdır. Kekiğin kurutulmasında yaşanan başlıca problem ise bitkinin yaprakları çabuk kururken kökünün daha zor

kurumasıdır. Bu sebeple proses 120 saate kadar uzun sürebilmekte ve bu da uçucu yağ kaybına sebep olmaktadır (Venskutonis, 2002).

Kekiğin boyutunu küçültmek için farklı kesiciler, kırıcılar, öğütücüler gibi birçok ekipman kullanılmaktadır. Bu aşamada karşılaşılan başlıca iki problem yağ taşıyan kısımların parçalanması ve ısı açığa çıkmasından dolayı olan lezzet kayıplarıdır (Venskutonis, 2002). Paketleme ve depolama da önemli bir proses basamağıdır. Üründe kalite kayıplarının olmaması için depolama sıcaklığı ve nemi kontrol altında tutulmalıdır (Schweiggert ve diğ., 2007).

Baharatların mikrobiyal kontaminasyon sebepleri ve dekontaminasyonu Bölüm 2.2'de detaylı olarak anlatılmıştır.

2.1.2 Karabiber (*Piper nigrum* L.)

Karabiber (*P. nigrum*) Piperaceae familyasına ait çok yıllık, tırmanıcı, çiçekli bir bitkidir. Bitkinin meyvelerinin tam olgunlaşmadan toplanıp kurutulmasıyla elde edilen tane karabiber, dünyanın en eski ve en önemli baharatlarındandır (Nisha ve diğ., 2009). Küresel, yeşil veya yeşilimsi sarı olan meyveler kurutulduktan sonra kırışık ve siyah olur. Karabiber, nemli tropik bölgelerde yetişir. Bu sebeple yetiştirildiği yerler Asya Pasifik Bölgesi'nin (özellikle Hindistan, Endonezya, Malezya , Sri Lanka , Tayland ve Vietnam) tropik alanlarıyla sınırlıdır. Bu bölgenin dışında Brezilya ve Madagaskar'da yetiştirilir. Tropik bölgelerde de sıcak ve nemli iklimi olan yerlere yoğunlaşılmıştır. Yıl boyunca gün uzunluğu ve nemde önemli değişiklikler olmayan, bol yağışlı, tek düze sıcaklığa sahip, yüksek bağıl nemli bölgeler karabiberin yetiştirilmesi için uygundur (Sadanandan, 2000).

Karabiberin sahip olduğu karakteristik ve keskin tadı içerdiği oleoresinlerden özellikle piperinden kaynaklanmaktadır. Aroması ise terpen hidrokarbonlar ve oksijenli bileşiklerden oluşan uçucu yağdan oluşmaktadır. Piperin tat oluşumundan sorumlu başlıca alkoloittir. Diğer alkoloit chavicine ise piperinin reçine izomeridir ve hidrolizi ile piperidin ve isochavicinic asit oluşur (Zachariah, 2000). Karabiberde 43 tane oksijenli bileşik, 23 tane sesquiterpen hidrokarbon ve 15 tane monoterpen hidrokarbon tanımlanmıştır. Karabiberde bulunan başlıca monoterpen hidrokarbonlar α-pinen, β-pinen, sabinen ve limonendir (Narayanan, 2000). Bunların yanı sıra, klorofil ve diğer renklendirici maddeler, reçineler, şekerler, sabit yağlar vb. de bulunur. (Zachariah, 2000). Özellikle içerdiği piperininden dolayı karabiberin ağrı

kesici, ateş, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri gibi bir çok fonksiyonel özelliği bulunmaktadır (Meghwal ve Goswami, 2013; Nisha ve diğ., 2009).

Karabiber üretiminde de Şekil 2.1'deki üretim basamakları uygulanmaktadır. Öğütme işlemi sadece toz karabiber üretiminde yapılır. Hasat zamanı biberler tam olgunlaşmadan toplanır. Mekanik bir merdiven yardımıyla ağaca ulaşan işçiler, temiz torbalara biber dallarını toplar. Daha sonra harmanlama makinesinde ya da temiz bir alana yayarak manuel olarak, yeşil biber taneleri dallarından ayrılır. Su dolu tanka daldırılarak tanelere yapışan toz ve kirler uzaklaştırılır. Kurutma işlemine geçilmeden sınıflandırma yapılır. Biber taneleri <3,25 mm, 3,25-4,25 mm ve >4,25 mm olmak üzere 3 gruba ayrılır (Zachariah, 2000).

Biber taneleri kurutma işleminden önce kaynar suda 1 dakika ya da 82 °C'deki suda 2 dakika haşlanır. Bu işlem ile biber tanelerinin üzerindeki toz parçacıkları, kuş dışkıları ve diğer yabancı partiküller uzaklaştırılmış olur. Ayrıca, haşlama işlemi ile siyah renk oluşumundan sorumlu fenolaz enzimi aktifleşir ve iç çekirdekteki nemin çıkışı hızlanır. Dolayısıyla haşlanmış biber daha parlak siyah renkte olur ve daha hızlı kurur. Polifenolaz enzimi, biber tanelerinin yüzeyinde bulunan renksiz fenolik maddeleri (3,4 dihidroksi fenil etanol glikozid) siyah polimerik bileşiklere dönüştürür. Daha sonra biber taneleri güneşte ya da mekanik kurutucular ile nemi yaklaşık %10 olana kadar kurutulur. Ambalajlamadan önce kurutulmuş biberler kum, taş, sap yaprak vs. gibi yabancı maddelerden arındırılır (Zachariah, 2000).

Karabiber higroskopiktik ve yağışlı havalarda nem alır. Nişasta miktarının da fazla olmasından dolayı böcek istilası ve küf gelişimi görülebilir. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küfler genellikle yaygındır. Ayrıca karabiberlerde aroma kaybı, kekimsi yapı ve hidrolitik acılaşma görülebilir. Ürünü bu etkilerden korumak için paketleme ve depolamanın düzgün yapılması gerekmektedir. Karabiber taneleri genelikle çuvallarla ya da polietilen kaplanmış çift çuval torbalarla taşınır (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014; Zachariah, 2000).

Karabiber en çok bakteri ile kontamine olan baharatlar arasındadır ve genellikle TAMB sayısı 10^8 kob/g seviyelerine çıkmaktadır (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014). Baharatların mikrobiyal kontaminasyon sebepleri ve dekontaminasyonu Bölüm 2.2'de detaylı olarak anlatılmıştır.

2.2 Baharatların Mikrobiyal Dekontaminasyonu

Baharatlar tüm dünya mutfaklarında kullanılan bitkilerdir. Fakat değişen düzeylerde bakteri, maya ve küf ile kontamine olmaları sebebiyle gıda güvenliği açısından riskli ürünlerdir. Özellikle baharatların yetiştiği toprak başlıca kontaminasyon kaynağıdır. Ayrıca toz, böcek, kuş ve kemirgenlerin fekal bulaşıları, işleme ve üretim sırasında kullanılan su vb. unsurlar da diğer kontaminasyon kaynakları olarak sayılabilir. Ayrıca baharatların açık yerlerde kurutulması da kontaminasyon riskini arttırmaktadır. Özellikle ateşle veya güneşte kurutma, baharatların böcek, kemirgen ve kuş gibi kontaminantlara ve dumana maruz kalmasından dolayı baharat üretiminde kritik bir basamaktır (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014; Schweiggert ve diğ., 2007). Ayrıca baharatların uygun olmayan koşullarda depolanması ve taşınması da kontaminasyon kaynağı olarak sayılabilir. Tüm bu faktörlere bağlı olarak baharatlardaki mikrobiyal yük 10^8 kob/g seviyelerine kadar çıkabilmektedir (Schweiggert ve diğ., 2007).

Baharatlardaki mikrobiyal yük ağırlıklı olarak mezofilik ve spor oluşturan bakteriler, mayalar, küfler ve de *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Escherichia* ve *Staphylococcus* gibi patojen ve gıda bozulmalarından sorumlu bakteri cinslerinden oluşur (Nicorescu ve diğ., 2013; Schweiggert ve diğ., 2007). Koliform bakteriler fekal kontaminasyonla ilgilidir ve bazı bakterilerde düşük popülasyonlarda bulunabilir (Parveen ve diğ., 2014).

Baharatlarda küf varlığı, mikotoksin oluşturma potansiyelleri sebebiyle önemli bir problemdir. Baharatlarda en çok *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küfler görülmektedir. Bu küflerin bazı türleri aflatoksin, okratoksin ve sterigmatocystin gibi insanlar ve hayvanlar için zararlı mikotoksinler üretmektedirler. Akut toksisitelerinin yanında bazı mikotoksinler teratojenik, mutajenik ve kanserojenik olarak sınıflandırılmıştır. Düşük sıcaklıklarda depolanan ürünlerde bile bazı küfler gelişebilir. Küf gelişimi özellikle uygun şekilde kurutulmayan veya yüksek nemli ortamda saklanan baharatlarda olur (Hashem ve Alamri, 2010). Mikotoksinler, özellikle aflatoksinler ısıya karşı dirençlidir. Bu sebeple çiçeklenme sırasında fungisit kullanımı ve ham maddenin hemen haşlanması, mikrobiyal gelişimin erken önlenmesini ve mikotoksin oluşum riskinin azaltılmasını sağlar (Schweiggert ve diğ., 2007).

Baharatların dekontaminasyonunda bir diğer problem ise mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilmlerdir. Biyofilmler, bir yüzeye tutunarak kendi ürettikleri hücredışı polimerik maddelerin (EPS) oluşturduğu matris içinde yaşayan mikroorganizmalar topluluğu olarak tanımlanabilir. EPS esas olarak polisakkaritler, proteinler, nükleik asitler ve yağlardan oluşur. Bunlar biyofilme mekanik kararlılık sağlar ve yüzeylere yapışmasına aracılık eder (Flemming ve Wingender, 2010). Bu tabaka bitki yüzeylerindeki bakteri, maya ve küflerin birbirlerine ve yüzeye tutunmasını ve koloni oluşturmasını sağlar (Beuchat, 2002). Bu sayede mikroorganizmalar çevresel koşullara daha dirençli olmaktadırlar. Her türlü bozulmaya sebep olan ya da patojen mikroorganizma biyofilm oluşturabilir ve bir çok enfeksiyona sebep olabilir. Mikroorganizmaların yüzeye bağlanması; doku (sert veya yumuşak), yüzey yükü, hidrofobisite, pH, sıcaklık ve ortamın besin kompozisyonu gibi birçok fizikokimyasal özelliğe bağlıdır. Örneğin *Salmonella* ve *Listeria* hidrofobik yüzeylere hidrofilik yüzeylerden daha fazla sayıda bağlanabilmektedir (Srey ve diğ., 2013).

Baharatların düşük nem içeriğinden dolayı mikrobiyal popülasyonlar baharatlarda çoğalamazlar. Fakat yüksek nem içerikli gıdalara katıldığında, mikrobiyal populasyonlar hızla gelişmeye başlar. Baharatlar genellikle gıdalara pişirme aşamasından sonra ilave edildiği ve sonrasında herhangi bir işlem uygulanmadığı için sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Parween ve diğ., 2014). Baharatlar; çorbalar, pişmiş ve haşlanmış gıdalar ve soslarda spor oluşturan bakterilerin üremesinin temel nedenidir (Garbowska ve diğ., 2015). 1973-2010 yılları arasında ABD, Kanada, İngiltere, Fransa, Almanya, Danimarka ve Norveç'te kontamine baharatların neden olduğu 1946 zehirlenme vakası olmuş, bu vakaların 128'i hastaneye yatış ve 2'si ölümle sonuçlanmıştır (Van Doren ve diğ., 2013). Bu vakalar, baharat üretiminde gıda güvenliği için İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Tarım Uygulamaları (GAP)'nın entegresyonunun gerekliliğini ortaya çıkartmaktadır. Ayrıca bu uygulamalar ile birlikte, baharat üretiminin tüm aşamalarını kapsayan HACCP (Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları) sisteminin uygulanması, baharatlarda mikrobiyal güvenliğin arttırılmasını sağlayacaktır.

Baharatların güvenliği ile ilgili yaşanan bu sorunların azaltılması ve baharatların mikrobiyal yükünü insan sağlığını tehdit etmeyecek seviyelere inmesini sağlamak için baharatlara bazı dekontaminasyon işlemleri uygulanmaktadır. Bu bölümün

devamında baharatların mikrobiyal dekontaminasyonunda ticari olarak uygulanan ve alternatif olarak çalışılan yöntemler derlenmiştir.

2.2.1 Ticari olarak uygulanan yöntemler

Baharatların dekontaminasyonunda ticari olarak fumigasyon, termal inaktivasyon ve gama ışınlama yöntemleri uygulanmaktadır (Hertwig ve diğ., 2015).

2.2.1.1 Fumigasyon

Fumigasyon, üründe istenmeyen mikroorganizma ve böceklere karşı ürüne etilenoksit, propilen oksit, metilbromit, fosfin gibi gaz fazındaki kimyasallarla yapılan uygulamadır. Baharata fumigasyon uygulaması genellikle etilen oksit ile yapılmaktadır ve bu yöntemin baharattaki mikrobiyal yükü azaltmada oldukça etkili olduğu bulunmuştur (Tateo ve Bononi, 2006; Yılmaz ve Şanlıer, 2014). Etilen oksit gazının dekontaminasyon etkisi, mikroorganizma ve böceklerin protein yapılarındaki karboksil, sülfidril grupları, amino ve hidroksil grupları ile etkileşime girmesiyle meydana gelmektedir (Hirasa ve Takemasa, 1998). Fakat etilen oksitin uzaklaştırılması için yapılan havalandırma işlemi baharatlarda aroma kaybına, renkte değişikliklere ve uçucu bileşiklerin kaybına sebep olmaktadır. Ayrıca, etilen oksitin yayılması sırasında klorür ve bromür ile etkileşime girmesiyle kanserojen ve mutajen olan 2-kloroetanol ve 2-bromoetanol bileşikleri açığa çıkmaktadır (Schweiggert ve diğ., 2007). Ayrıca etilen oksitin klorürle etkileşiminden açığa çıkan etilen klorohidrin de mutajen bir maddedir ve etilen oksit ile fumigasyonun tespitinde kullanılmaktadır (Tateo ve Bononi, 2006).

Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada karabiber, tarçın/sinameki, kırmızıbiber, köri tozu ve bu baharatların karışımından oluşan 200 örnek analiz edilmiştir. Sadece 2 tarçın örneğinde 6 ve 15 mg/kg düzeyinde etilen oksit varlığı tespit edilmiştir. Fakat 31 örnekte etilen klorohidrin ve etilen bromohidrin varlığı saptanmıştır (Fowles ve diğ., 2001). İtalyan marketlerinden alınan 25 karabiber örneği ile yapılan bir çalışmada ise 11 örneğin etilen klorohidrin seviyesinin deteksiyon limiti olan 0,020 mg/kg'dan yüksek olduğu ve bunlardan 2 tanesinin etilen klorohidrin seviyesinin 5 mg/kg'dan yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak bu örneklerin %44'üne etilen oksit ile fumigasyon işlemi yapıldığı saptanmıştır (Tateo ve Bononi, 2006).

Yapılan toksikokinetik çalışmalarda etilen oksitin solunum ve oral yolla alımının insan ve hayvanlarda DNA ve protein kaynaklı kimyasal değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Ayrıca yapılan çalışmalarda insan ve hayvanlar üzerine genotoksik etkisinin olduğunun kanıtlanmasıyla, 1994 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından etilen oksit Grup 2A'dan Grup 1'e alınmıştır (Fowles ve diğ., 2001; Tateo ve diğ., 2006). Bu nedenle, etilen oksit kullanımı Avrupa Birliği'nde ve bir çok ülkede yasaklanmıştır (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014; Hertwig ve diğ., 2015).

2.2.1.2 Termal inaktivasyon

Baharatın dekontaminasyonu amacıyla farklı ısıl işlem teknikleri uygulanmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı buhar uygulamasıdır (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2014). Kurzeja ve diğ. (2012) yaptıkları bir çalışmada kekik, mercanköşk ve biberiye örneklerine 10 bar basınçta 110-140 ºC sıcaklıkta 30-180 saniye doymuş buharla muamele etmişlerdir. Uygulanan süre ve sıcaklık, baharatın türüne ve mikrobiyal yüküne göre değişebilmektedir. Uygulamada, baharata gerekli sürede doymuş buhar ile muamele edilir ve ürün hızla vakum ile soğutulur. Buhar toksik olmadığı için tercih sebebidir (Bagdatlıoglu ve Orman, 2010).

Kimyasal içermediği için tüketici tarafından kabul görse de yüksek sıcaklıkta buhar uygulaması üründe renk kayıplarına, uçucu yağ içeriğinde azalmaya ve nem miktarında artışa ve dolayısıyla da raf ömrünün azalmasına neden olmaktadır (Lilie ve diğ., 2007; Schweiggert ve diğ., 2007). Buharlı sterilizasyon genellikle ufalama veya öğütme öncesi uygulanır. Uygulama sonrası baharat yüzeyinde kalan nem uzaklaştırılmazsa öğütme sonrası üründe küf gelişimine sebep olur (Schweiggert ve diğ., 2007; Sharma ve Demirci, 2003). Ufalanmış baharatlara uygulanması durumunda nem uzaklaştırma işlemi daha da zorlaşmaktadır. Bu sebeple buhar uygulaması zor olup üründe olumsuz etkileri olabilmektedir.

Yapılan bir çalışma da kırmızıbiberlere 1020 mbar basınçta, 100 ˚C civarı sıcaklıkta, 16 dakika buhar uygulaması yapılmış ve 10 kGy ışınlanmış kırmızı biber örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Herhangi bir işlem görmeyen kontrol grubunun TAMB sayısı 10^6 kob/g olarak bulunmuştur. Buhar uygulaması ile TAMB sayısında sadece 1 log azalma olurken, ışınlama ile 4-5 log azalma sağlanmıştır. Ayrıca buhar uygulamasının renk değişimlerine sebep olduğu ve duyusal analizde daha düşük

puanlar aldığı görülmüş ve kırmızıbiberlerin dekontaminasyonu için ışınlama uygulaması önerilmiştir (Rico ve diğ., 2010).

2.2.1.3 Gama ışınlama

Işınlama genellikle paketlenmiş veya yığın haldeki gıda maddelerine iyonize enerji ile muamele edilerek uygulanan fiziksel bir dekontaminasyon metodudur. Mikroorganizmaların inaktivasyonu düşük sıcaklıklarda yapıldığı için bu metoda "soğuk pastörizasyon" da denilmektedir. Işınlama ile gıdaların besinsel, kimyasal ve fiziksel özellikleri değişmeden ürünün mikrobiyolojik güvenliği sağlanarak raf ömrü arttırılabilmektedir (Diehl, 2002). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu (IAEA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gibi uluslararası gıda organizasyonları tarafından 1981 yılında 10 kGy doza kadar gıda ışınlamanın güvenli ve etkin bir teknoloji olduğu onaylanmıştır (Caledo ve diğ., 2014).

Gıdalardaki mikroorganizmaların inaktivasyonunda kullanılan ışın tipleri Kobalt-60 (Co^{60}) ve Sezyum-137 (Cs^{137}) radyonüklit kaynaklarından yayılan gama ışınları, 5 MeV ve daha düşük enerjide çalışan makine kaynaklarından üretilen X ışınları ve 10 MeV ve daha düşük enerjide çalışan makine kaynaklarından üretilen elektronlar olarak sayılabilir (Farkas ve Mohácsi-Farkas, 2011). Bu kaynaklardan endüstride en çok kullanılanı Co^{60} kaynaklı gama ışınlarıdır (Gezgin ve Güneş, 2003; Calado ve diğ., 2014).

Işınlama uygulaması; balık, beyaz et ve kırmızı ette hijyenik kalite ve dayanma süresinin yükseltilmesinde, tahıl ve meyve gibi tarım ürünlerinde böcekle mücadelede, patates ve soğan gibi ürünlerde filizlenmenin engellenmesinde ve hasat sonrası meyvelerin olgunlaşma sürelerinin uzatılmasında kullanılmaktadır. Farklı gıda grupları ve amaçlar için kullanılabilecek doz aralıkları standartlarda belirtilmiştir (Gezgin ve Güneş, 2003). Baharatların dekontaminasyonunda gama ışınlama yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle ortalama 10 kGy dozlarda son ambalaj içerisinde uygulanmaktadır. Baharatların Avrupa'da ve ülkemizde 10 kGy, Amerika, Avustralya ve Arjantin gibi başka ülkelerde 30 kGy doza kadar gamma ışınlanmasına izin verilmektedir (Suhaj ve diğ., 2006; Polovka ve Suhaj, 2010; Gumus ve diğ., 2011).

Işınlamanın antimikrobiyal mekanizması, hücre bileşenlerine direkt ve indirekt etkileriyle açıklanmaktadır. Direkt etki, yüksek enerjili ışınların DNA'nın tek veya

çift ipliğinde kırılmaya sebep olması şeklinde gerçekleşir. İndirekt etki ise hücredeki ve ortamdaki suyun radyolizi ile meydana gelir. Radyoliz sırasında su molekülü bir elektronunu kaybeder ve H_2O^+ ve e^- açığa çıkar. Bu ürünlerin ileri reaksiyonlarıyla yüksek reaktif hidrojen ve hidroksil radikalleri açığa çıkar ve bu radikaller timin bazını bozarak dihidroksi ve dihidrotimin meydana getirir. Bu reaktif bileşikler, DNA ve diğer değişik hücre bileşenleriyle reaksiyona girmektedir. Serbest radikaller ayrıca birbirleriyle ve sudaki çözünmüş oksijen ile reaksiyona girerek, mikrobiyal hücreler için ölümcül olan toksik oksijen türevleri ve diğer reaktif türleri oluşturabilirler (Mendonça ve Daraba, 2014). Etkin bir inaktivasyon için gerekli ışınlama dozu şu şekilde artmaktadır: böcekler < parazitler < küfler ve mayalar < vejetatif (spor oluşturmayan) bakteriler < sporlu bakteriler < virüsler (Calado ve diğ., 2014).

Işınlama uygulaması, patojen ve patojen olmayan mikroorganizmalar, böcekler ve parazitlerin inaktivasyonunda başarılı olması, kimyasal kalıntı bırakmaması, paketlenmiş gıdalara uygulanabilir olması, soğuk proses olması ve su tüketmeyen, az enerji harcayan çevre dostu bir metot olarak görülmesi gibi avantajları sebebiyle bir çok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır (Variyar, 1998; Calado ve diğ., 2014). Fakat ışınlamanın her türlü gıdaya uygulanamaması (süt ürünleri, şeftali gibi yumuşak meyveler vs.), diğer yöntemlere göre kurulum maliyetinin yüksek olması ve düşük tüketici kabulu yöntemin dezavantajlarındandır (Schweiggert ve diğ., 2007; Mendonça ve Daraba, 2014). Ayrıca 10 kGy üzerindeki dozlarda ışınlama uygulaması proteinlerde koagülasyona, moleküler kırılma ve aminoasitlerin bölünmesine sebep olabilmektedir, bu da gıda proteinlerinin fonksiyonel özeliklerinin zarar görmesine sebep olmaktadır. Proteinlerin peptit bağları ışınlamaya dirençliyken, sülfür ve hidrojen bağları kırılmakta ve özellikle et ürünlerinde istenmeyen kokuya sebep olmaktadır. Enzimler genellikle 10 kGy'e kadar ışınlamaya direnç göstermektedir. Işınlama neticesinde gıdalardaki yüksek moleküler ağırlıklı karbonhidrat polimerleri kırılabilmekte ve depolimerizasyon neticesinde bazı gıdalarda dokusal değişikikler olabilmektedir. Örneğin sebze meyvelerde pektin gibi hücre duvarı materyallerinin depolimerizasyonu ürünün dokusunun yumuşamasına sebep olmaktadır. Ayrıca ışınlama yağların otooksidasyonunu tetiklemekte ve acı, istenmeyen tadın artmasına sebep olmaktadır. Doymamış yağ içeriğinin artmasıyla bu etki artmaktadır. Vakum paketleme veya CO_2 ve N_2

ortamında modifiye atmosfer paketleme (MAP) ile otooksidasyon geciktirilebilmektedir. Yağların radyolitik bozulmasıyla peroksitler oluşabilmekte ve peroksitler yağların oksidasyonunu teşvik ederek E, C, K gibi antioksidan vitaminlerin gücünü azaltmaktadır (Mendonça ve Daraba, 2014).

Literatürde ışınlamanın baharat kalitesi üzerine etkisini araştıran bir çok çalışma bulunmaktadır. Gumus ve diğ. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, kekik örnekleri 20 ºC'de 1, 3 ve 5 kGy dozlarında ışınlanmış ve tüm dozların örneklerin toplam fenol miktarını ve antioksidan aktivitesini düşürdüğü görülmüştür. Ham papatya tozunun gama ışınları ve elektron demeti ile 10 ve 20 kGy dozlarında ışınlanmasının etkisini inceleyen bir çalışmada ise, gama ışınları ve elektron ışınları arasında bir fark olmadığı görülmüştür. 10 ve 20 kGy ışınlamanın duyusal özellikler, Ca, K ve Na konsantrasyonlarında önemli bir değişikliğe yol açmadığı fakat L* ve b* renk değerleri ile Mg konsantrasyonunu azalttığı görülmüştür. Örneklerin pH değeri iki doz uygulamasında da düşerken, viskozitenin sadece 20 kGy dozda arttığı gözlenmiştir (Al-Bachir, 2014). Viskozitenin artışının nişastanın depolimerizasyonu sebebiyle olabileceği düşünülmektedir. Daha önce yapılan bir çalışma ise 5, 10, 15 ve 20 kGy dozlarda gama ışınlamanın meyankökü örneklerinin viskozitesini düşürdüğü gözlemlenmiştir (Al-Bachir ve Lahham, 2003). Viskozite ölçümlerinin ışınlanmış baharatların belirlenmesinde kullanılabilecek bir metot olduğu düşünülmektedir (Al-Bachir, 2014).

Karabiber ile yapılan bir çalışmada 10 kGy düzeyindeki gama ışınlama uygulamasının karabiberin toplam askorbat düzeyinde önemli bir düşmeye sebep olduğu belirtilmiştir (Calucci ve diğ., 2003). Suhaj ve diğ., (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da 5 ile 30 kGy aralığındaki dozlar ile ışınlanan karabiber örneklerinin antioksidan aktivitesinin tüm dozlarda önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Başka bir çalışma da ise karabiberin esansiyel yağ içeriğinin 30 kGy doza kadar değişmediği rapor edilmiştir (Piggott ve Othman, 1993).

2.2.2 Alternatif olarak çalışılan yöntemler

Bu bölümde baharatların ticari dekontaminasyonunda kullanılan yöntemlere alternatif olarak araştırılan yöntemler ve bu yöntemlerin uygulamalarından bahsedilmiştir. Alternatif olarak çalışılan yöntemler mikrodalga, kızılötesi, yüksek basınç, soğuk plazma, darbeli elektrik alan, darbeli ışık, ozonlama ve ultraviyole

uygulamaları olarak sayılabilir (Akbas ve Ozdemir, 2008; Buckow ve diğ., 2014; Calvo ve Torres, 200; Dababneh, 2013; Erdoğdu ve Ekiz, 2011; Fine ve Gervais, 2004; Grabowski ve diğ., 2014; Keith ve diğ., 1997; Nicorescu ve diğ., 2013; Staack ve diğ., 2008). Tez kapsamında çalışılan ultraviyole uygulaması bir sonraki kısımda daha detaylı biçimde açıklanmıştır.

2.2.2.1 Mikrodalga ışın ve radyo frekansı uygulamaları

Mikrodalga (MW) ve radyo frekansı (RF) ısıtma uygulamaları dielektrik ısıtma olarak da adlandırılır. Dielektrik ısıtma, elektromanyetik spektrumun 300 kHz ve 300 GHz frekans aralığında bulunmaktadır. MW 300 MHz ile 300 GHz aralığında iken, RF ise 300 kHz ile 300 MHz aralığında yer alan elektromanyetik dalgalardır (Orsat ve Raghavan, 2001).

MW uygulamasında, gıdalar içerisinde bulunan su dielektrik ısıtmayı sağlayan başlıca bileşendir. Gıdalardaki su varlığında mikrodalga enerjisi ısı enerjisine dönüşmektedir. Su molekülleri bipolardır ve hızla değişen elektromanyetik alanda (saniyede milyar kez) dönerken birbirlerine sürtünürler. Bu sürtünmeden dolayı ısı açığa çıkar. Ayrıca elektriksel alanın etkisiyle iyonlarda meydana gelen çarpışma hareketi de ısı açığa çıkartır (Chandrasekaran ve diğ., 2013). Gıda uygulamalarında 915 ve 2450 MHz frekansların kullanımına izin verilmektedir. Genellikle 2450 MHz kullanılmaktadır çünkü 915 MHz kullanıldığında cep telefonları (900 MHz) ve bilgisayarlar ile karışabilmektedir (Sharma ve Prasad, 2006). MW uygulaması, gıda endüstrisinde tavlama, çözdürme, haşlama, kurutma, öğütme, enzim inaktivasyonu, pastörizasyon ve sterilizasyon amaçlarıyla kullanılmaktadır. Mikrodalga; homojen bir sıcaklık dağılımının güçlüğü, gıda tekstüründe hamurumsu yapı ve esmerleşme gibi dezavantajları olmasına rağmen, geleneksel yöntemlere göre daha hızlı olması ve kullanımının kolay olması gibi avantajları sebebiyle tercih edilmektedir. Çeşitli gıda sistemlerinde *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Campylobacter jejuni*, *Pediococcus* spp., *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* gibi bir çok mikroorganizma üzerine etkili olduğu görülmüştür (Dababneh, 2013). Son yıllarda baharatların mikrobiyal dekontaminasyonundaki potansiyelini araştıran çalışmalar yapılmaktadır.

RF uygulaması ise iki elektrot arasında alternatif bir akım oluşturularak yapılmaktadır. Ürün elektrotların arasına, onlara değmeyecek şekilde yerleştirilir.

Uygulanan frekansa göre elektrotlar sürekli negatif ve pozitif olarak yüklenir. Bu arada iki elektrot arasındaki ürünün yapısındaki polar moleküller elektrik alanın oluşturduğu bu değişime uymaya çalışırlar ve moleküllerin birbirleriyle sürtünmeleri sonucu ısı açığa çıkar. Endüstriyel, bilimsel ve tıbbi uygulamalarda 13,56, 27,12 ve 40,68 MHz frekansları kullanılmaktadır (Marra ve diğ., 2009). RF uygulamaları yeterli teknik bilginin bulunmaması sebebiyle sınırlıdır. Gıdaların dielektrik özelliklerinin RF uygulamalarında önem taşıdığı ve bu özelliklerin başta gıdanın nem içeriği olmak üzere gıdanın tuz içeriği, yoğunluğu, sıcaklığı kullanılan frekans gibi faktörlerden etkilendiği düşünülmektedir (Jeong ve Kang, 2014). Son yıllarda yapılan çalışmalar, RF teknolojisinin fıstık ezmesi, krakerler, toz biberler gibi düşük nem içerikli gıdalar için alternatif bir pastörizasyon yöntemi olabiliceğini göstermektedir (Jiao ve diğ., 2015).

Aydın (2001), 2450 MHz mikrodalga uygulamasının toz karabiber üzerindeki mikrobiyal inaktivasyon etkinliğini araştırmıştır. Bu amaçla doğal (%12,35 nem) ve nemlendirilmiş (%15 ve %17,5) karabiber örneklerine farklı sürelerde (50 ve 150 saniye) ve sürekli ya da kesikli (10 sn. uygulama, 5 sn. ara) sistemde mikrodalga işlemi uygulanmıştır. Örneklerin TMAB, aerob sporlu bakteri, *Enterobacteriaceae* ve küf-maya sayısı ile nem ve uçucu yağ oranlarına bakılmıştır. Nem, uçucu yağ ve küf-maya sayısında işlemlere bağlı önemli bir değişim gözlemlenmemiştir. TMAB, aerob sporlu bakteri ve *Enterobacteriaceae* sayısı ise kontrol grubunda sırasıyla 6,341, 5,698 ve 4,445 log kob/g iken, sadece %17,5 nem içeren örneklerde önemli derece de bir azalma görülmüş ve bu azalma sırasıyla 0,9, 0,55 ve 1,2 log kob/g olarak belirtilmiştir. Sürekli ve kesikli uygulamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

16 farklı baharat ile yapılan başka bir çalışmada ise ev tipi mikrodalga fırını kullanılarak kuru halde ve sıvı solüsyon (% 0,1'lik peptonlu su) içerisindeki örnekler farklı sürelerde (15, 30, 45 ve 60 sn) mikrodalga ile muamele edilmiştir. Çalışılan baharatların termofilik spor oluşturan bakteri yükü $4,8x10^2$-$1,2x10^3$ kob/g ve küf-maya yükü $1,04x10^3$-$2,2x10^4$ kob/g olarak belirlenmiştir. Her iki uygulamada da 30 sn.'de küf-maya sayısında 1-3 log kob/g, termofilik spor oluşturan bakteri sayısında 1-2 log kob/g azalma sağlanmıştır. Kuru halde ve sıvı solüsyonda mikrodalga uygulanan örneklerde ise önemli bir fark bulunmamıştır (Dababneh, 2013).

Kim ve diğ. (2012), 27,12 MHz frekansta RF ile ısıtmanın karabiber (bütün ve öğütülmüş) ve farklı boyutlardaki kırmızı bibere (0,71-1,19 mm) inoküle edilen *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli O157:H7* bakterilerini inaktive etmedeki etkinliğini araştırmışlardır. Başlangıç yükü 6-7 log kob/g olacak şekilde inoküle edilmiş karabiber ve kırmızıbiber örnekleri sırasıyla, 50 saniye ve 40 saniye işlem görmüştür. Bütün ve öğütülmüş karabiber örneklerinde 50 sn. RF uygulaması ile *S. typhimurium* sayısında sırasıyla 3,18 ve 4,29 log kob/g azalma sağlanırken; *E. coli* sayısında 2,80 ve 3,74 log kob/g azalma sağlanmıştır. Kırmızıbiber örneklerinde ise 40 sn. RF uygulaması ile *S. typhimurium* sayısında 3,38-5 log kob/g'dan fazla (tespit sınırının altında) bir azalma sağlanırken; *E. coli* sayısında 3,5-5 log kob/g'dan fazla (tespit sınırının altında) bir azalma sağlanmıştır.

Başka bir çalışmada ise farklı nem içeriklerine sahip kırmızıbiber (kuru bazda; %12,6, %15,2, %19,1 ve %23,3) ve karabiber (kuru bazda; %10,1, %17,2, %23,7 ve %30,5) örnekleri *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella enterica* serotip Typhimurium bakterileri ile inoküle edildikten sonra örneklere 27,12 MHz frekansta RF uygulanmıştır. Tüm karabiber örneklerinde başlangıç yükü 7 log kob/g olan iki bakteri de 60 sn. RF uygulamasıyla tespit sınırının altına inmiştir. Kırmızıbiber örneklerinde de 80 sn uygulama ile tüm örneklerde tespit sınırının altına düşülmüştür. Başlangıç nem seviyesinin artmasının uygulama süresini kısalttığı görülmüştür (Jeong ve Kang, 2014).

2.2.2.2 Kızılötesi (infrared) ışın uygulamaları

Kızılötesi (IR) ışınları, elektromanyetik spektrumda, görünür ışıkla mikrodalga arasındaki bölgededir. IR ışınlar 0,76 ile 1000 mm dalgaboyu arasındadır ve yakın (0,76-2 mm), orta (2-4mm) ve uzak (4-1000 mm) IR olarak 3 bölgeye ayrılmıştır (Staack ve diğ., 2008). Kısa dalga boyunda olması nedeniyle, IR ışınların gıdalara penetrasyonu zayıftır. Gıda bileşenleri ve mikroorganizmalar, özellikle uzak kızılötesi ışınları kolaylıkla absorbe edebilmektedir (Erdoğdu ve Ekiz, 2011).

IR uygulamasının, geleneksel yöntemlere göre kısa sürede ısıtma sağlaması, çevredeki havayı ısıtmadan ürüne doğrudan ısı nüfuzu, ürünün tat ve aroma bileşiklerini koruması gibi avantajları bulunmaktadır (Staack ve diğ., 2008; Erdoğdu ve Ekiz, 2013). IR teknolojisi, gıdalarda kurutma, dehidrasyon, çözdürme, haşlama, kızartma, pişirme vs. gibi amaçlarla kullanılmakta olup mikrobiyal inaktivasyon

amacıyla kullanımı da araştırılmaktadır. IR ışını gıdaya nüfuz ettiğinde bir moleküle çarpar ve molekülün titremesine ve dönmesine sebep olur. Molekül normal haline dönerken absorbe ettiği enerji ısı enerjisine dönüşür. IR ışınından en çok gıdada bulunan su etkilenirken, protein, yağ ve karbonhidratlar gibi diğer biopolimerlerde etkilenirler. Açığa çıkan ısı, mikroorganizmaların DNA, RNA, ribozom, hücre membranı ve proteinlerini tahrip edebilmektedir. Mikrobiyal inaktivasyon derecesi; IR kaynağının gücü, dalgaboyu, gıdanın tipi, kalınlığı, mikroorganizmanın çeşidi ve hangi fizyolojik evrede olduğu (üssel büyüme evresi, durgun evre gibi) gibi parametrelerden etkilenmektedir (Krishnamurthy ve diğ., 2008).

Bir çalışmada keklik otuna *Bacillus cereus* sporları inoküle edilmiş ve IR uygulamasının *B. cereus* sporlarını inaktive etmedeki etkinliği incelenmiştir. IR uygulaması; 90 ve 100 ºC'de, işlem süresi 2 ve 10 dk. olacak şekilde kapalı bir ünitede gerçekleştirilmiştir. En etkin azalma (5,6 log kob/g) 90 ºC'de 10 dk. IR uygulamasıyla sağlanmıştır. 100 ºC'de 10 dk. uygulaması ile ise 4,7 log kob/g azalma sağlanmıştır. 100 ºC'de daha az azalma olmasının sebebinin su aktivitesindeki azalmadan veya antimikrobiyal etki gösteren bileşiklerin kaybından olabileceği düşünülmektedir (Eliasson ve diğ., 2014).

Bingol ve diğ. (2011), *Pediococcus* spp. inoküle edilen çiğ badem örneklerini 100, 110 ve 120 ºC IR uyguladıktan sonra 70, 80 veya 90 ºC sıcaklıkla 60 dakikaya kadar farklı sürelerde bekletmiştir. 100, 110 ve 120 ºC IR uyguladıktan sonra 90 ºC sıcaklıkla 10-15 dk. bekleyen tüm örneklerde uygulama öncesi 8 kob/g olan *Pediococcus* populasyonunun 5 log kob/g'dan fazla azaldığı görülmüştür. 80 ºC sıcaklıkla ise 22 dakika ve üzeri bekletilen tüm örneklerde hedef değer olan 4 log kob/g'dan fazla azalma saptanmıştır. Tüm bütün badem örneklerinin L*, a* ve b* renk değerlerinde ise önemli bir azalma olmamıştır. Duyusal panelde de doku, görünüş, lezzet ve genel kalite açısından IR uygulanan örnekler ile kontrol örnekleri arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir.

Staack ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada başlangıç a_w'si 0,50 olan toz kırmızıbiberi *B. cereus* sporlarıyla inoküle etmiş (spor konsantrasyonu 7,48 log spor/g) ve örneğin a_w'si 0,80 ve 0,96 olacak şekilde nemlendirmiştir. Örneklere yakın (11 kW/m^2) ve orta (5 kW/m^2) IR ışınları ile muamele edilmiştir. Uygulama sonrasında, örneklerin doğal florasında ve *B. cereus* sporlarının inaktivasyonundaki etkinliği ile a_w'si ve rengindeki değişimler incelenmiştir. Yakın ve orta IR uygulamalarında örnek

yüzeylerinde kararmalar olsa da örneklerin genel renk ve a_w değerleri IR uygulamasından önemli ölçüde etkilenmemiştir. Mikrobiyal inaktivasyon için en önemli parametrenin a_w olduğu görülmüştür. a_w'si 0,5 ve 0,8 olan örneklerde yakın ve orta IR uygulamalarında da *B. cereus* sporlarında önemli bir azalma görülmemiştir (maksimum 1 log azalma). a_w'si 0,96 olan örneklerin dış kısımlarında da aynı şekilde küçük bir azalma görülmüştür. Fakat uygulama boyunca örnek yığınının iç kısımlarındaki a_w muhafaza edilirken, yüzeyde sahip olunan a_w'nin azaldığı ve bu sebeple 0,96 a_w'ye sahip örneklerin iç kısımlarında, orta ve yakın IR uygulamalarında sırasıyla 5 ve 6 log spor/g azalma tespit edilmiştir. Doğal florada ise 0,5 a_w'de önemli bir azalma olmazken, 0,8 a_w'de orta ve yakın IR uygulamalarında sırasıyla 0,7 ve 1,6 log kob/g azalma olmuştur. 0,96 a_w'ye sahip örneklerin ise mikrobiyal yükü tespit sınırının altına inmiştir.

2.2.2.3 Yüksek basınç uygulamaları

Bu başlık altında yüksek hidrostatik basınç (HHP) uygulaması ve yüksek basınçlı karbondioksit (HPCD) uygulaması anlatılmıştır.

İlk olarak 1899 yılında Bert Hide tarafından, sütün oda sıcaklığında saklanması için süte 1 saat 600 Mpa'da HPP uygulanmıştır (Patterson, 2005). Günümüzde Avrupa, Amerika ve Japonya gibi ülkelerde, HPP uygulaması ile işlem görmüş reçeller, meyve ve sebze suları, et ürünleri ve çorbalar gibi çeşitli ticari ürünler bulunmaktadır (Hogan ve diğ., 2005).

HHP uygulaması, ambalajlı veya ambalajsız gıdaların 100-1000 MPa arasında basınçlara maruz bırakılması ile gerçekleştirilmektedir. Gıdanın şekli, kütlesi ve bileşiminden bağımsız olarak uygulanır (Pereira ve Vicente, 2010). HPP sadece kovalent bağları (ionik, hidrofobik ve hidrojen bağları vb.) etkiler, birincil protein yapıları sağlam kalır fakat ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılarda değişiklikler olabilir. Bu da protein denatürasyonunu tetikler ve mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonuna sebep olur. Gıdaların reolojik özellliklerinde değişmeye de sebep olabilir. Fakat, aminoasitler, vitaminler, tat ve aroma bileşenleri küçük moleküllerdir ve genelde çok az ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılar içerirler. Bu sebeple gıdanın duyusal ve besinsel kalitesi uygulamadan çok etkilenmez (Pereira ve Vicente, 2010; Rendueles ve diğ., 2011).

HHP uygulamasının, bir çok mikroorganizma üzerinde etkili olması, termal yöntemlere göre gıdaların renk, lezzet ve besin öğeleri gibi kalite özelliklerini daha iyi koruması, enzimleri inaktive etmesi, küçük moleküllerin (vitamin, aminoasit, basit şekerler vb.) basınçtan etkilenmemesi, gıdaya homojen olarak dağılması, az enerji gereksinimi gibi avantajları bulunmaktadır (Hogan ve diğ., 2005; Considine ve diğ., 2008). Mikroorganizmalar üzerine etkisi; pH, a_w, sıcaklık, basınç ve uygulama süresi ile değişmektedir. Sıcaklık, basınç ve uygulama süresini arttırmak genellikle inaktive olan mikroorganizma sayısını arttırmaktadır. Asitli gıdalarda uygulamanın mikrobiyal inaktivasyon etkisi artmaktadır (Hogan ve diğ., 2005). Mikrobiyal inaktivasyon a_w'ye bağlıdır ve genelde 0,66 a_w'nin altında mikrobiyal azalma görülmemektedir. Bu sebeple bu yöntemin baharatlar için çok uygun bir metot olmadığı söylenebilir (Dababneh, 2013).

Butz ve diğ. (1994), HPP uygulamasının baharat ve baharat karışımları (paprika, biber, kişniş, tuz, şeker ve nişasta) üzerindeki mikrobiyal inaktivasyon etkisini araştırmışlardır. Çalışma neticesinde, mikrobiyal yükün (esas olarak aerobik ve anaerobik spor oluşturan mikroorganizmaların) azaltılmasının a_w ve sıcaklığa bağlı olduğu belirtilmiştir. Baharat karışımları ancak, 70 ˚C'de, minimum 0.91 a_w'de, 3 basınç döngüsü (bir döngü: 80 MPa'da 30 dk. ve ardından 350 MPa'da 30 dk.) uygulaması ile tamamen dekontamine edilebilmiştir. 0,29 ve 0,66 a_w'ye sahip örneklerde 40 ve 50 ˚C'de HPP uygulaması ile mikroorganizma yükünde azalma sağlanamamıştır. Bu düzeydeki su aktivitesinin sporları inaktive etmek için yeterli olmadığı bildirilmiştir. Önemli sayılabilecek düzeydeki spor inaktivasyonu ise 0,85 su aktivitesinde tespit edilebilmiştir. İşlem görmüş örnekler duyusal ve kimyasal değişiklikler açısından değerlendirilmiş ve uygulamanın bu özelliklere önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak HPP uygulamasının su içeriği yüksek baharat sosları için etkili bir dekontaminasyon yöntemi olabileceği belirtilmiştir.

Yüksek basınçlı karbondioksit (HPCD) uygulaması, termal yöntemlere alternatif olarak 1980'lerden sonra katı ve sıvı gıdaların mikrobiyal inaktivasyonunda kullanılmaya başlayan bir metottur. CO_2, yanıcı ve toksik olmaması, inert ve ucuz olması, üründe herhangi bir kalıntı bırakmaması, GRAS statüsünde olması, HHP uygulamasına göre çok daha düşük basınçlarda uygulanması ve yatırım maliyetinin daha düşük olması gibi sebeplerden dolayı tercih edilmektedir (Garcìa-Gonzalez ve diğ., 2007; Calvo ve Torres, 2010).

HPCD uygulamasında gıdaya, kesikli veya sürekli sistemde gaz veya sıvı haldeki CO_2 veya süper kritik CO_2 (Tc=31.1 ˚C, Pc=7.38 MPa üzerindeki CO_2) ile muamele edilir. Süperkritik koşullar altında, CO_2 gaz gibi katılara nüfuz eden ve sıvı gibi maddeleri çözen ilginç fiziksel özellikler sergilemekte ve bu özelliği inaktivasyon etkinliğini arttırmaktadır (Cappelletti ve diğ., 2015).

HPCD'nin mikroorganizma inaktivasyonu, farklı adımlarla olur. Bu adımlar arka arkaya değil, birbirleriyle eş zamanlı ve karmaşık olarak gerçekleşir. Bu adımlar; gaz formundaki CO_2'nin gıdanın sıvı fazında çözünmesi, hücre membranının modifikasyonu, hücre içi pH'nın düşmesi, pH'nın düşmesinden dolayı hücresel metabolizmanın inhibisyonu, enzim inaktivasyonu, moleküler HCO_3 ve CO_2'nin metabolizma üzerine direkt etkisi, hücre içi elektrolit dengesinin bozulması ve hücre için hayati bileşenlerin hücre ve hücre zarından uzaklaşması olarak sayılabilir. HPCD uygulamasının etkinliği; basınç, sıcaklık, CO_2'nin faz hali, karıştırma/çalkalama, gıdanın su içeriği, basıncın düşürülme hızı, mikroorganizmanın özellikleri, başlangıç mikroorganizma yükü, gıdanın içeriği, ortamın pH'sı, ortama ilave edilen maddeler ve basıncın düşürülme hızı gibi faktörlere bağlıdır. Yüksek basınç, CO_2'nin süperkritik koşullarda olması, çalkalama, yüksek a_w, düşük pH, düşük başlangıç mikrobiyal yükü gibi etmenler işlemin etkinliğini arttırmaktadır (Garcia-Gonzalez ve diğ., 2007). Baharatların düşük a_w'ye sahip olması, HPCD uygulamasının baharatların mikrobiyal dekontaminasyonunda kullanımını sınırlamaktadır.

Kırmızıbiberin mikrobiyal inaktivasyonunda HPDC uygulamasının etkinliğini araştıran bir araştırmada, örnekler farklı nem değerleri (nem; %5-35, a_w; 0,43-0,93), basınç (60-300 bar) ve sıcaklıkta (60-95 ˚C), 10-150 dakika arasında değişen uygulama sürelerinde muamele görmüştür. Su miktarı ve sıcaklığın uygulamanın etkinliğini etkileyen en önemli faktörler olduğu görülmüştür. Çalışma neticesinde ürünün nemi %25-30'u, sıcaklık 85-90 ˚C'yi geçmeden, 60-100 bar gibi düşük basınç düzeylerinde kırmızıbiberin kalitesini korunduğu görülmüştür. Bu koşullarda 35-40 dakika uygulama süresinin başlangıçta $1,5\times10^6$ kob/g olan TAMB sayısında yaklaşık 1,5 log azalma sağladığı görülmüştür (Calvo ve Torres, 2010).

2.2.2.4 Soğuk plazma uygulamaları

Plazma; atomlar, serbest radikaller, elektronlar, fotonlar, UV ışınları, pozitif ve negatif yüklü iyonlar ve uyarılmış veya uyarılmamış molekülllerin tamamını ya da

bir kısmını içeren, maddenin yüksek enerji verilmiş dördüncü halidir. Plazma üretmek için hava, oksijen, azot veya argon gibi bir gaz, direkt akım (yada dönüşümlü akım) ve dalgalar (mikrodalga yada radyo dalgası) kullanılarak yüksek frekanslı elektromanyetik (yada manyetik veya elektriksel) alana maruz bırakılır. Bu proses atmosferik basınçta, vakumla ya da yüksek basınçlarda yapılabilir (Grabowski ve diğ., 2014). Plazma uygulaması, soğuk plazma (düşük sıcaklıklarda) ve sıcak plazma (yüksek sıcaklıklarda) olarak ikiye ayrılabilir (Smeu ve Nicolau, 2014).

Plazma uygulamasının sterilizasyon metodu olarak ilk patenti 1968 yılında alınmış ve 1989 yılında oksijenden üretilmiş ilk plazma uygulaması yapılmıştır. 1990'lı yıllardan sonra plazmanın mikrobiyal inaktivasyon mekanizması araştırılmaya başlanmıştır fakat hala tam olarak anlaşılamamıştır (Stoica ve diğ., 2014). Mikrobiyal inaktivasyonun farklı yollarla olabileceği düşünülmektedir. Reaktif bileşenler hücre zarından geçip, yağ, protein ve nükleik asit gibi makromoleküllerlerle etkileşime girerek hücrede hasara neden olabilmektedir. Elektronlar, iyonlar ve serbest radikaller hücre membranında yüzey erezyonuna ve doku bozulmalarına neden olarak mikroorganizmaların inhibe olmasına neden olabilirler veya bu yolla reaktif bileşenlerin hücre içine girmesini kolaylaştırarak mikrobiyal inhibisyona katkıda bulunabilirler (Kim ve diğ., 2014). Ayrıca, UV de DNA modifikasyonlarına ve uygun olmayan hücre replikasyonlarına neden olabilir (Hertwig ve diğ, 2015). Atomik oksijen, ozon, hidroksil, nitrik oksit ve nitrojen dioksit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin hücre zarı ve aminoasitleri okside etmesi de mikrobiyal inhibisyon mekanizmasının önemli bir parçasıdır (Kim ve diğ., 2014).

Plazma uygulaması, kimyasal ve su kullanmayan, ürünle temas etmeyen, ürünün duyusal ve kalite özelliklerini minimum düzeyde etkileyen bir ısıl olmayan işlem olması sebebiyle gıda endüstrisinde meyve sebzelerde, hububatlar ve et ürünlerinde mikrobiyal inaktivasyon potansiyelini inceleyen çalışmalar mevcuttur (Niemira, 2012; Smeu ve Nicolau, 2014). Son yıllarda baharatlar üzerine etkisini inceleyen çalışmalar da yapılmıştır.

Toz karabiber ile yapılan bir çalışmada, örneklere 13,56 MHz radyo frekansında ve 300 Watt güçte üretilen düşük basınçta (0,3 mbar) soğuk plazma uygulanmıştır. Uygulamada; oksijen, nitrojen, hava ve argon gazları kullanılmıştır. Örneklere 15,

30, 45 ve 60 dakika soğuk plazma uygulanmış ve ardından örneklerin aerobik spor oluşturmayan, aerobik ve anaerobik spor oluşturan bakteri sayılarındaki azalma incelenmiştir. Örneklerin başlangıçta aerobik spor oluşturmayan ve aerobik spor oluşturan bakteri sayısının yaklaşık 5 log kob/g olduğu ve tüm gazlar için 30 dakikadan sonra bakteri sayısının önemli derecede azaldığı (1-2 log kob/g) görülmüştür. Anaerob spor oluşturan bakteri sayısı ise başlangıçta yaklaşık 5 log kob/g olarak tespit edilmiş ve tüm gazlar için 60 dakika uygulama sonrasında bakteri sayısında 0,5 log kob/g'dan daha az azalma olmuştur. Çalışma neticesinde, toz karabiber için düşük basınçta soğuk plazma uygulamasının çok uygun bir metot olmadığı ve atmosferik soğuk plazma uygulamasının daha iyi sonuçlar verebileceği belirtilmiştir (Grabowski ve diğ., 2014).

Hertwig ve diğ. (2015a) tarafından yapılan çalışma da ise *Salmonella enterica, Bacillus subtilis* sporları ve *Bacillus atrophaeus* sporları inoküle edilen bütün karabiber örneklerine iki farklı plazma uygulaması yapılmıştır. Bir uygulama radyo frekansı ile direkt plazma diğeri ise mikrodalga ile uzak plazma şeklinde uygulanmıştır. Gaz kaynağı olarak, direkt plazma uygulamasında argon, uzak plazma uygulamasında hava kullanılmıştır. Uzak plazma ile 30 dakika uygulama neticesinde başlangıç yükü yaklaşık 7 log kob/g olan örneklerin *S. enterica, B. subtilis* sporları ve *B. atrophaeus* sporlarında sırasıyla 4,1, 2,4 ve 2,8 log kob/g azalma sağlanmıştır. Direkt plazma uygulamasında ise çok daha düşük seviyelerde inaktivasyon sağlanmıştır. Her iki uygulamada da örneklerin renk, piperin ve uçucu yağ bileşiminde önemli bir değişme gözlenmemiştir. Hertwig ve diğ. (2015b) aynı uzak plazma sistemiyle 5, 15, 60 ve 90 dk uygulamanın tane karabiber, ufalanmış keklik otu ve toz kırmızıbiber örneklerinin doğal florası ve rengine olan etkisini incelemişlerdir. Başlangıçta tane karabiber, ufalanmış keklik otu ve toz kırmızıbiber örneklerinin TAMB sayısı sırasıyla 8,2, 5,3 ve 7,0 log kob/g olarak bulunmuştur. Çalışma neticesinde 60 dk. uygulama sonunda kırmızıbiber ve karabiber örneklerinin TAMB sayısında 3 log'un üstünde azalma sağlanmıştır. Keklik otunda ise 60 dk. uygulama sonunda en fazla 1,6 log azalma sağlanabilmiştir. 90 dk. uygulama ile TAMB sayısında elde edilen azalmada önemli bir değişiklik olmamıştır. Kırmızıbiber ve keklik otunun renk değerlerinde istatistiki olarak önemli değişimler gözlenmiştir.

Kim ve diğ. (2014), mikrodalga ile üretilen soğuk plazma uygulamasının toz kırmızıbiberin doğal florasına ve baharata inoküle edilen *A. flavus* ve *B. cereus* sporlarına etkisini incelemiştir. Ayrıca *B. cereus* sporlarının inhibisyonu amacıyla soğuk plazma sistemi ısı uygulaması ile kombine edilmiştir. Toz kırmızıbiberlere, nitrojen gazı kullanılan, 900 W güç ve 667 Pa basınç değerlerindeki plazma ile 20 dk. muamele edilmiştir. Uygulama sonrasında, örneklerin *A. flavus* yükü 2,5±0,3 log spor/g düzeyinde azalırken, TMAB yükünde yaklaşık 1 log kob/g kadar azalma sağlanmıştır. Tek başına soğuk plazma uygulamasının *B. cereus* sporlarının inaktivasyonu için etkili olmadığı görülmüştür. *B. cereus* sporlarında, helyum-oksijen gazı kullanılarak 900 W güçteki plazma ile 20 dakika muamelenin ardından 90^{o}C'de 30 dakika ısı uygulaması ile 3,4±0,7 log spor/g düzeyinde azalma sağlanabilmiştir.

2.2.2.5 Darbeli elektrik alan uygulamaları

Darbeli elektrik alan (PEF) uygulaması, elektrotlar arasına yerleştirilen gıda ürününe 1-10 μs arasında değişen sürelerde 10-80 kV/cm şiddetinde yüksek elektrik darbeleri ile yapılır (Pizzichemi, 2007; Buckow ve diğ., 2013). PEF uygulaması ile gıdaların tadında, renginde ve besin öğelerinde önemli bir değişiklik olmadan mikrobiyal inaktivasyon sağlanabilmektedir (Barbosa-Canovas ve diğ., 1999). PEF uygulaması; meyve ve sebze suları, çorbalar, süt ve sıvı yumurta gibi özellikle sıvı gıdaların pastörizasyonunda ısıl işlemlere alternatif olarak araştırılmaktadır.

PEF uygulamasının mikroorganizmaların inaktivasyonundaki etkisi tam olarak anlaşılamamakla birlikte, elektroporasyon ve elektropermeabilizasyon kombinasyonu şeklinde olduğu düşünülmektedir. Hücre zarının elektriksel alan tarafından uyarılması zar gözeneklerinde yerel kararsızlıklara neden olabilir (elektroporasyon). Elektroporasyonun sonucu olarak hücre zarının geçirgenliği artar ve uygulanan elektrik alana bağlı olarak hücrenin dönüşümlü ya da dönüşümsüz ölümüne sebep olur (Buckow ve diğ., 2014; Timmermans ve diğ., 2014). Proses parametreleri (elektrik alanın gücü, darbenin sayısı, şekli ve polaritesi, sıcaklık ve işlem süresi), mikroorganizma özellikleri (tipi, konsantrasyonu, büyüme evresi vs.) ve ürün özellikleri (pH, iletkenlik vs.) mikrobiyal inaktivasyonu etkilemektedir (Barbosa-Canovas ve diğ., 1999). Hava kabarcıkları oluşturan gıdalarda uygulama homojen

olmadığı için üründe güvenlik problemleri oluşur. Ayrıca büyük partikül içeren gıdalar ve yüksek iletkenlikteki gıdalar için uygun değildir (Buckow ve diğ., 2013).

Kuru ve katı gıdalara PEF uygulaması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Fesleğen, dere otu ve soğan tozu ile yapılan bir çalışmada PEF uygulamasının bu baharatların TAMB sayısını azaltmadaki etkinliği araştırılmıştır. Başlangıç TAMB sayıları 10^4-10^6 log kob/g aralığında değişen örneklere farklı güç ve sürelerde PEF uygulanmıştır. Fesleğen (10 kV/cm, 5 μs, 320 ms), dereotu (12 kV/cm, 10 μs, 320 ms) ve soğan tozu (25 kV/cm, 5 μs, 200 ms) örneklerinin hepsinin TAMB sayılarında yaklaşık 1 kog kob/g azalma olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada PEF uygulaması ile kuru gıdalarda sıvı gıdalar kadar etkin mikrobiyal inaktivasyon elde edilemediği görülmüştür (Keith ve diğ., 1997).

2.2.2.6 Darbeli ışık uygulamaları

Darbeli ışık (PL) uygulaması, 200-1100 nm dalgaboyu aralığında geniş spektrumlu yoğun ve kısa süreli (10^{-3}-10^2 ms) ışık darbelerinden oluşan bir yöntemdir. PL uygulamasında mikrobiyal inaktivasyonun fototermal ve/veya fotokimyasal mekanizmalar ile olduğu düşünülmektedir. Fotokimyasal inaktivasyonda özellikle spektrumun UVC (200-280 nm) kısmının önemli olduğu düşünülmektedir. UVC ışığının bakteriler üzerine öldürücü etkisi pirimidin dimerleri (özellikle timin dimerleri) oluşturması ile olmaktadır. Oluşan dimerler yeni DNA zinciri oluşumunu önler ve hücrenin çoğalmasını önleyerek (klonolojik ölüm) mikroorganizmaları inaktive eder. Bakteri sporlarında da 5-timinil-5,6-dihidrotimin ve siklobütan pirimidin dimerleri oluşumuna sebep olur. Ayrıca spektrumun infrared kısmından dolayı PL uygulamalarında açığa çıkan ısı da hücre zarı ve diğer yapılara fiziksel zarar vererek, fototermal inaktivasyonu sağlamaktadır (Ganan ve diğ., 2013; Gomez-López ve diğ., 2007).

PL uygulamasının, gıda kalitesi açısından UVC uygulamasından en önemli farkı, uygulama sırasında açığa çıkan ısıdır. Uzun uygulama süresinde artan ısı sebebiyle üründe kalite değişiklikleri olabilmektedir. PL uygulamasının bir diğer dezavantajı da ürüne penetrasyon yeteneğinin zayıf olmasıdır. UV ışığından daha iyi penetre edebilse de, gıdaların tüm kısımlarına ulaşmaya yeterli değildir. PL ışığı opak maddelere 10 mm'ye kadar penetre olabilmektedir, fakat enerji seviyesi giderek

azalmaktadır. Bu sebeple gıdalardaki uygulamaları yüzey dekontaminasyonu ile sınırlıdır (Keklik ve Krishnamurty, 2012).

Yapılan bir çalışmada PL uygulamasının buğday unu, karabiber ve cam boncuklarda *Saccharomyces cerevisiae* dekontaminasyonundaki etkinliği araştırılmıştır. 31,25 J/cm^2 dozunda 64 vurgu uygulanan buğday unu örneklerinde 0,7 log kob/g, karabiber örneklerinde ise 2,93 log kob/g azalma görülmüştür. Cam boncuklarda ise 58 J/cm^2 dozda 7 log kob/g azalma sağlanmıştır. Fakat karabiber ve buğday unu örneklerinde bu doza çıkılmadan renk ve lezette önemli değişimler olmuştur. Renkli toz gıda ürünlerinde PL uygulamasında termal etkinin, UVC etkisinin önüne geçtiği görülmüştür. Koyu renkli maddeler ışığı daha fazla absorbe ettiği için, karabiberde renk değişimi buğday unundan daha çabuk olmuştur (Fine ve Gervais, 2004).

Sharma ve Demirci (2003) *E. coli* O157:H7 inoküle edilen yonca tohumlarına farklı süre ve uzaklıkta PL uygulamışlardır. İnoküle edilmiş örnekler 1, 3, 5 ve 10 gr. (tabaka kalınlığı 1,02, 1,92, 3,61 ve 6,25 mm) olarak 5, 10, 30, 45, 60, 75 ve 90 sn. 8 cm uzaklıkta PL uygulaması ile muamele görmüştür. En uzun sürede (90 sn.) *E. coli* O157:H7 populasyonunun tamamının inaktivasyonu (4 log kob/g'dan fazla azalma) sağlanmıştır. Tabaka kalınlığı arttıkça *E. coli* O157:H7 populasyonundaki düşme azalmıştır. Lambaya olan uzaklığın etkisini ölçmek için ise 6,25 mm tabaka kalınlığındaki örnek 3, 5, 8 ve 13 cm uzaklıklarda uygulamaya maruz bırakılmıştır ve 0,07 ile 4,89 log kob/g arasında azalma sağlanmıştır. Elde edilen verilerden; lambaya uzaklık, tabaka kalınlığı ve uygulama süresinin bir fonksiyonu olarak bir ampirik model geliştirilmiş ve PL teknolojisinin yonca tohumlarındaki patojenlerin inaktivasyonunda umut verici bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

Nicorescu ve diğ. (2013), *B. subtilis* ile inoküle edilen farklı baharat örnekleri (kimyon, toz kırmızıbiber ve toz karabiber) ve bakteri süspansiyonunda PL uygulamasının inaktivasyon etkisini araştırmıştır. Bakteri süspansiyonlarına PL uygulaması, quartz bir hazne içerisinde 4 lamba konfigürasyonu, 0,6 Jcm^{-2}/flaş, 3000 V ve 1 Hz parametreleri kullanılarak 1 ile 10 arasında değişen darbeler ile yapılmıştır. *B. subtilis* sayısında tek darbe ile 8 log kob/g azalma sağlandığı görülmüştür. İnoküle baharat örneklerine ise plastik dairesel bir hazne içerisinde 3 lamba konfigürasyonu, 1 Jcm^{-2}/flaş, 3000 V ve 1 Hz parametreleri kullanılarak 10 darbe ile muamele edilmiştir. Karabiber ve kimyon örneklerinde 0,8 log kob/g azalma olurken, kırmızıbiber örneklerinde 1 log kob/g azalma tespit edilmiştir.

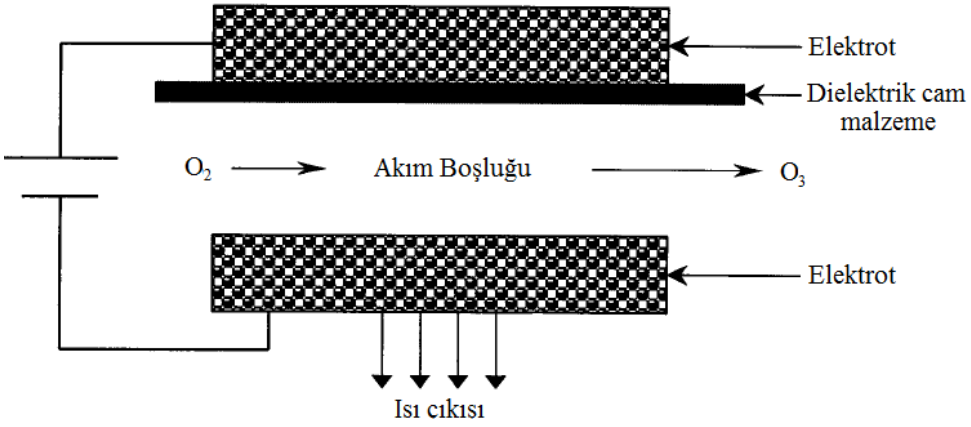
Ayrıca bakteri çeperlerinde ciddi hasarlar gözlemlenmiştir. Çalışma neticesinde, PL uygulamasının toz baharatların dekontaminasyonunda kullanım potansiyelinin olduğu ve baharatın her yüzeyinin ışığa maruz kalması ile uygulamanın etkisinin artacağı belirtilmiştir.

2.2.2.7 Ozonlama uygulamaları

Ozon (O_3) oksijenin üç atomlu formudur. Suların dezenfeksiyonunda, atık suların işlenmesinde, kuru gıdalar, meyve, sebze, et, balık ve tavuk ürünlerinin yüzey dekontaminasyonunda kullanılan etkin bir dezenfektandır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından GRAS statüsüne alınması ve gıda uygulamalarında antimikrobiyal ajan olarak kullanımının onaylanması ile ozon uygulamalarına olan ilgi artmıştır (Muthukumarappan ve diğ., 2000; Patil ve diğ., 2014).

Ozon, keskin koku ve güçlü oksitleyici özelliklere sahip mavimsi bir gazdır. Ozon ticari olarak UV ışınlama veya elektrik (korona) deşarj yöntemi metotlarıyla üretilmektedir. UV ışınlama metodunda, havada bulunan yüksek iletkenliğe sahip oksijenin, 185 nm'deki UV ışınlarına maruz kalmasıyla 0,03 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda ozon üretilmektedir (Kim ve diğ., 2003). Korono deşarj metodunda ise kuru hava veya oksijen, bir dielektrik malzeme (genellikle cam) tarafından ayrılan iki yüksek gerilim elektrotları arasından geçirilir (Şekil 2.2). Bu sistemde öncelikle yüksek voltajlı alternatif akım sebebiyle oksijen elektronları uyarılmakta ve oksijen molekülleri (O_2) birbirinden ayrılmaktadır. Daha sonra, ayrılmış oksijen atomları oksijen molekülleri ile birleşerek ozon molekülünü (O_3) oluşturmaktadır (Patil ve diğ., 2014). Ozon jenaratörüne besleme gazı olarak hava verildiğinde kütlece %1-3, saf oksijen gazı verilmesi halinde %6 verimle ozon elde edilebilmektedir (Muthukumarappan ve diğ., 2000). Ozon ayrıca kimyasal, termal, kemonükleer ve elektrolitik metotlar ile de üretilebilmektedir (Kim ve diğ., 2003). Ozon gazı kendiliğinden oksijen atomlarına dönüştüğü için saklanması mümkün değildir (Guzel-Seydim ve diğ., 2004).

Ozon; bakteri, küf, virüs, protozoa ile bakteri ve küf sporlarına karşı güçlü, geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajandır (Khadre ve diğ., 2001). Ozona karşı en hassas olan mikroorganizmanın bakteri vejetatif hücreleri, en dayanıklı olanın ise bakteri sporları olduğu bildirilmektedir (Kim ve diğ., 2003).



Şekil 2.2 : Korono deşarj ozon üretme sistemi (Patil ve diğ., 2014).

Ozonun antimikrobiyal etkisi lizis mekanizması ile olmaktadır. Antimikrobiyal etki için birincil hedef hücre duvarı ve dış membrandır. Ozon üç atomlu kararsız bir moleküldür ve üçüncü atom kolayca molekülden ayrılabilir. Serbest tek oksijen atomu kolayca diğer moleküller ile tepkimeye girer. Bu proses, tepkimeye giren ürünün yapısal bütünlüğünü bozan, yüksek ölçüde reaktif bir oksidant sistemi üretir. Hücresel bileşenlerdeki değişiklikler ve bozulmalar, oksidatif hasara ve mikroorganizmaların lizizine sebep olur. Benzer değişiklikler ozon ile temas eden inorganik materyallerde de olur (Muthukumarappan ve diğ., 2000; Patil ve diğ., 2014). Diğer dezenfektanlarla kıyaslandığında, ozonun temas süresi ve dozu oldukça düşüktür. Ozonun havada yarılanma süresi yaklaşık 12 saattir (Muthukumarappan ve diğ., 2000).

Ozonun antimikrobiyal aktivitesi; uygulanan ozon miktarı, ortamdaki geriye kalan ozon, uygulama süresi, çevresel faktörler (pH, sıcaklık, nem vs.) ve hücreyi çevreleyen organik madde miktarı gibi bazı faktörlerden etkilenmektedir. Nem arttıkça ozon gazının mikrobiyal inaktivasyon etkisi artmaktadır ve %90-95 nem de optimum olmaktadır. Sıcaklıktaki azalma sulu ortamlarda ozonun çözünürlüğünü ve stabilitesini arttırır. Sıcaklıkta meydana gelen artış ise kalıntı reaktivitesini artırır. Bu sebeple sıcaklığın ozonun çözünürlüğüne ve etkinliğine etkisi deneysel olarak değişebilir. Ozonun yüksek dozda uygulanması üründe besinsel ve duyusal kayıplara yol açabilmektedir. Yüksek yağ veya protein içerikli gıdalar ozon uygulaması için uygun değildir. Bu tür gıdalarda, organik bileşenler ozon için mikroorganizmalarla yarış halindedirler. Bu sebeple etkin inaktivasyon için yüksek dozda ozon uygulaması gerekmektedir. Yüksek doz ise lipid oksidasyonuna, aminoasit ve

esansiyel yağ içeriğinde azalmaya ve duyusal özelliklerde olumsuz etkiye sebep olabilmektedir (Kim ve diğ., 2003).

Yüksek reaktivitesi ve penetrasyon gücü, GRAS statüsünde olması, doğal olarak oksijene ayrışması ve kısa temas süresi gibi avantajları sebebiyle gıda endüstrisinde ozon uygulamalarının kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır (Chen ve diğ., 2012 ; Patil ve diğ., 2014). Bu avantajlarına rağmen yüksek dozda kullanımı ürünlerde kalite kayıplarına yol açabilmektedir. Ayrıca; ozona yüksek dozda, uzun süreli maruz kalmak sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Toksisite gıda tesislerinde en önemli kriterdir. İnsanlarda ozon öncelikle solunum yollarını etkiler. Ozon toksisitesi semptomları olarak; baş ağrısı, baş dönmesi, gözlerde ve boğazda yanma hissi, keskin bir tat, koku ve öksürük sayılabilir. Kronik toksisite semptomları olarak; baş ağrısı, halsizlik, hafıza kaybı, bronşit ve artan kas uyarılması sayılabilir (Guzel-Seydim ve diğ., 2004). ABD İş Sağlığı ve İş Güvenliği İdaresi (OSHA) tarafından tavsiye edilen ozona maruz kalma limitleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 : Ozon uygulamalarında maruz kalma limitleri (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

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

Literatürde ozonun baharatların dekontaminasyonundaki etkinliğini araştıran çalışmalar mevcuttur. *E. coli, B. cereus* ve *B. cereus* sporları inoküle edilen kırmızıbiberler ile yapılan bir çalışmada örneklere 20 °C'de %70 nemde ozon gazı ile muamele edilmiştir. Örneklere 360 dakika boyunca 1 ppm ozon gazı uygulandığında *E. coli* ve *B. cereus* sayısında sırasıyla 2 ve 1,5 log kob/g azalma sağlanmıştır. *B. cereus* sporlarında ise 7 ppm ozon gazı 360 dakika uygulandığında 1,5 log kob/g azalma sağlanmıştır (Akbas ve Ozdemir, 2008). *E. coli* inoküle edilmiş tane ve toz karabiber örneklerinde ise 360 dakika 0,1 ppm ozon gazı uygulamasıyla yaklaşık 7 log kob/g azalma saptanmıştır (Emer ve diğ., 2008). Torlak ve diğ., (2013) ise *Salmonella* serotiplerinden (*S. Typhimurium, S. Newport* ve *S. Montevideo)* oluşan karışım ile inoküle edilmiş keklik otuna 120 dakika boyunca 2,8 ve 5,3 ppm ozon gazı uygulamış ve 5,8 log kob/g azalma tespit etmiştir.

Tane karabiberin doğal florasına ozon uygulamasının etkisini araştıran bir çalışmada ise örneklere 0,2-15 ppm arası ozon gazı 60 dakika boyunca uygulanmış fakat TAMB sayısında önemli bir azalma tespit edilmemiştir (Özlük-Çılak ve Halkman, 2014). Altıparmak ve diğ., (2014) ise yaptıkları çalışmada 15 ve 20 ppm ozon gazını 60 dakikaya kadar tane karabiber örneklerine uygulamış ve TAMB sayısında 0,8-2 log kob/g; küf-maya sayısında ise 0,36-0,9 log kob/g arasında azalma görmüştür. Tane karabiber örnekleri 10 dakika boyunca 10 ve 15 ppm ozonlu suya daldırıldığında ise TAMB sayısında 0,8-1,14 log kob/g; küf-maya sayısında ise sadece 0,2 log kob/g azalma sağlanmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise keklik otu örneklerine 2,8 ve 5,3 ppm ozon gazı ile 120 dakikaya kadar muamele edilmiştir. 120 dakika boyunca 2,8 ppm ozon gazı uygulaması ile TAMB sayısında 2,7 log kob/g, küf-maya sayısında ise 1,8 log azalma görülmüştür. Keklik otuna 90 dakika 5,3 ppm ozon gazı uygulaması ise 3,2 log kob/g azalma sağlamıştır (Torlak ve diğ., 2013).

2.2.2.8 Kombine yöntemler

Yapılan çalışmalar alternatif dekontaminasyon yöntemlerinin bir çok yüksek mikrobiyal yükü olan baharat için yeterli olmadığını göstermiştir. Bu sebeple son yıllarda farklı yöntemlerin birlikte kullanımının baharatların mikrobiyal yüküne ve kalitesine etkilerini araştıran çalışmalar mevcuttur.

Kimyon tohumları ile yapılan bir çalışma da, uzak kızılötesi (FIR) ve UVC uygulamaları kombine olarak kullanılmıştır. Örneklere 300, 250 ve 200 ºC'de sırasıyla 1,57, 2,8, ve 4,8 dakika FIR uygulamasının ardından, 2 saat boyunca 10,5 mW/cm^2 şiddetinde UVC uygulanmıştır. Kombine uygulamalar ile başlangıçta 5,5 log kob/g olan TAMB sayısı 4 log kob/g'ın altına düşmüştür. Küf-maya sayısı ise başlangıçta 3 log kob/g iken uygulama sonrasında tespit limitinin altına düşmüştür. Örneklerin uçucu yağ miktarı ve renk değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. FIR uygulamasının ardından UVC uygulamasının ilave olarak yaklaşık 1 log kob/g azalma sağladığı görülmüştür (Erdoğdu ve Ekiz, 2011). Erdoğdu ve Ekiz (2013), tane karabiber örneklerinde de FIR ve UVC kombinasyonunun mikrobiyal yüke etkisini incelemiştir. Örneklere 300 ve 350 ºC'de sırasıyla 4,7 ve 3,5 dakika FIR uygulamasınının ardından, 2 saat boyunca 10,5 mW/cm^2 şiddetinde UVC uygulanmıştır. Başlangıçta 8,3 log kob/g olan TAMB sayısı FIR uygulamasının ardından 4 log kob/g'ın altına düşerken, küf-maya sayısı

başlangıçta 3 log kob/g iken uygulama sonrasında tespit limitinin altına düşmüştür. Örneklerin uçucu yağ miktarı ve renk değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. UVC uygulamasının karabiber örneklerinde FIR uygulamasına ek olarak önemli bir azalma sağlamadığı görülmüştür.

Ha ve Kang (2013), *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 inoküle edilen toz kırmızıbiberlerde (*Capsicum annuum* L.) yakın kızılötesi (NIR) ve UVC uygulamalarının tek tek ve kombinasyonlar halinde kullanımının mikrobiyal inaktivasyonuna ektisini araştırmıştır. Yapılan çalışmada 5 dakika NIR, UVC ve NIR-UVC uygulamalarının *S. Typhimurium* sayısını sırasıyla 0,03, 1,45 ve 3,34 log kob/g; *E. coli* O157:H7 sayısını ise sırasıyla 0,04, 1,42 ve 2,78 log kob/g azalttığı görülmüştür. Bu çalışmada NIR ve UVC uygulamalarının birlikte kullanımının inaktivasyonu önemli derecede arttırdığı ve sinerjistik etkisinin olduğu görülmüştür. Örneklerin renk değerlerinin, kapsaisin ve dihidrokapsaisin içeriğinin tüm uygulamalarda kontrole göre önemli derecede değişmediği görülmüştür.

S. typhimurium ve *E. coli* O157:H7 inoküle edilen toz kırmızıbiberlerde (*Capsicum annuum* L.) yapılan başka bir çalışmada ise UVC ile sıcaklık uygulamasının birlikte kullanımının sinerjistik etkisi araştırılmıştır. İnoküle kırmızıbiber örneklerine 20,4 ve 40,8 kJ/m^2 dozda UVC; 25, 35, 45, 55 ve 65 ºC'de uygulanmıştır. 40,8 kJ/m^2 dozda UVC'nin tek başına uygulanmasıyla *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 sayıları sırasıyla 0,47 ve 0,36 log kob/g azalırken; UVC uygulamasının 65 ºC sıcaklık ile birlikte uygulanmasıyla sırasıyla 3,06 ve 2,88 log kob/g azalma sağlanmıştır. UVC ile sıcaklık uygulamasının birlikte kullanımının sinerjistik etki gösterdiği ve sıcaklığın artmasıyla inaktivasyon etkisinin arttığı görülmüştür. Örneklerin renk değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Fakat nem, kapsaisin ve dihidrokapsaisin miktarları 65 ºC sıcaklık uygulamasıyla önemli derecede değiştiği görülmüştür (Cheon ve diğ., 2015).

Kekik, biberiye, karabiber ve kimyon örneklerine modifiye atmosferde paketleme (MAP) ve gama ışınlama uygulamalarının birlikte kullanımın etkisini araştıran bir çalışmada, örnekler hava ortamında ve %100 azot gazı ile paketlenmiş ve 7, 12 ve 17 kGy dozlarında ışınlanmıştır. Örneklerin TAMB, küf-maya sayısı, renk, uçucu yağ verimi ve uçucu yağ içeriğindeki değişimler izlenmiştir. Tüm örneklerde küf-maya sayısı 7 kGy dozda tespit sınırının altına düşmüştür. TAMB sayısı ise; kekik, biberiye ve kimyon örneklerinde 7 kGy dozda, karabiber örneklerinde ise 12 kGy

dozda tespit sınırının altına düşmüştür. Hava içeren paketlerdeki karabiber ve kimyon örneklerinde uçucu yağ veriminin, azot içeren örneklere göre daha az olduğu görülmüştür. Gama ışınlamanın genel olarak monoterpenleri azalttığı ve oksijenli bileşikleri arttırdığı görülmüş fakat bu etkinin MAP ile birlikte azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak baharatların oksijensiz ortamda ışınlanmasının kalite kayıplarını azalttığı belirtilmiştir (Kirkin ve diğ., 2014).

2.3 Ultraviyole (UV) Işınlama Teknolojisi

UV ışınlama teknolojisi, gıda proseslerinde termal yöntemlere alternatif olarak kullanılan bir prosestir. Gıda uygulamalarında mikrobiyal inaktivasyonun sağlanması için UV kullanıldığında herhangi bir atığın çıkmaması ve prosesin herhangi bir kimyasal madde kullanmayı gerektirmemesi UV prosesinin çevre dostu olmasını sağlamaktadır (Guerrero-Beltrán ve Barbosa-Cánovas, 2004). Ayrıca bu uygulama için 'ışınlama' terimi sıkça kullanılmaktadır fakat UV ışınları iyonize olmayan ışınım olduklarından bu uygulamanın "gamma ışınlama" ile ilgili olmadığının belirtilmesi gerekmektedir. Bu sebeple bazı yazarlar "UV ışıklandırma" ya da "UV aydınlatma" terimlerini tercih etmektedirler (Gómez-López ve diğ., 2012).

Son yıllarda mikrobiyal dekontaminasyon işleminde ultraviyole ışın kullanımına yönelik araştırmalar artmıştır. Düşük nüfuz etme kapasitesi sebebiyle UV ışığının kullanımı hava, su gibi saydam maddeler, yüksek oranda saydam sıvılar, katı gıda yüzeyleri ve gıda ambalajları ile sınırlıdır (Gómez-López ve diğ., 2012). UV ışınlama işlemi; içme ve atık sular, yüzme havuzu suyu, gıda ambalajları, ve çeşitli ortam atmosferlerinin (hava) sterilizasyonunda uygulanmaktadır. Ayrıca taze meyve-sebzeler ve yumurta gibi katı gıdalarda yüzey dezenfeksiyonu ve diğer amaçlar için, çeşitli sıvı gıdalarda (meyve suları, süt) pastörizasyon amacıyla kullanım potansiyeli araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Bintsis ve diğ., 2000; Koutchma ve diğ., 2009).

2.3.1 Ultraviyole C (UVC) ışınları

Işık, dalgaboyları formunda ilerleyen bir elektromanyetik radyasyondur (radyant enerjidir). Işık enerji akışı olarak düşünülebilir. Bu enerjinin miktarı ise ışığın dalgaboyu ve frekansına bağlıdır. Farklı dalgaboyu ve frekanstaki ışıkların yer aldığı spektruma "elektromanyetik spektrum" denilmektedir. İnsan gözü bu spektrumdaki

400 nm ile 700 nm dalgaboyu arasındaki ışıkları görebilir. Bu kısım "görünür ışık" diye adlandırılmıştır. UV ışınları elektromanyetik spektrumun görünür ışıktan daha kısa dalgaboylu (daha yüksek enerjili) kısmını oluşturur. UV ışınlarının dalgaboyu 100 ile 400 nm arasında değişmektedir. Bu aralıktaki UV ışınları kendi içinde de insan cildindeki değişiklikler ve bronzlaşmadan sorumlu uzun dalga boylu UV ışını (UVA), cilt yanıklarına neden olan ve cilt kanserine sebep olabilen orta dalga boylu UV ışını (UVB) ve bakteri, küf-maya, virüs, alg ve protozoaları inaktive edebilen germisidal etkili kısa dalgaboylu UV ışını (UVC) olmak üzere 3 alt gruba ayrılır. UVA ışını 315-400 nm, UVB ışını 280-315 nm ve UVC ışını ise 200-280 nm dalgaboyu arasındadır. Ayrıca 100-200 nm arasındaki UV ışınları ise tüm maddeler tarafından absorbe edilebildiğinden ve sadece vakum altında yayılabildiğinden "vakum UV" olarak ifade edilmektedir (Gómez-López ve diğ., 2012; López-Malo ve Palou, 2005).

2.3.2 UVC ışınının oluşum mekanizması ve ışın kaynakları

Elektronlar yüksek enerji durumundan (E2) düşük enerji durumuna (E1) geçiş yaptığında, atom ve iyonlar ışıktaki fotonları yayarlar. Her fotonun taşıdığı enerji 2.1 eşitliği ile gösterilmiştir.

$$E = E2 - E1 = hc/\lambda \qquad (2.\ 1)$$

Eşitlikte, h: Plank katsayısı (6,23 x 10^{-34} Js), c: ışık hızı (2,998 x 10^{8} ms^{-1}) ve λ: radyasyon dalgaboyudur (m).

Her bir atom veya iyonun kendine özgü enerji seviyesi vardır. Her element ışık spektrumunun belli bir kısmını yayar. Bazı elementlerde enerji seviyesi arasındaki fark, germisidal UV aralığındaki fotonların yayılmasını sağlar. Düşük enerji seviyesinden yüksek enerji seviyesine geçmek enerji gerektirir. Bu enerji, bir atomun belli bir dalgaboyundaki ışık fotonuyla veya diğer atom, iyon veya elektronlarla çarpışmasıyla türetilebilir. Atoma transfer edilen enerji atomun kinetik enerjisinde artışa, bu da elektronların daha yüksek enerji seviyesine yükselmesine veya bir elektronun atomdan ayrılmasına neden olur. Bir elektronun atomdan ayrılmasına "iyonizasyon" denir ve pozitif yüklü katyonlar, negatif yüklü serbest elektronların oluşumuna neden olur. Serbest elektron ve katyonun yeniden birleşmesi ışık yayılımına neden olabilir. Serbest elektron ve katyon çeşitli kinetik enerjiye sahip

oldukları için, yayılan ışığın dalgaboyu belli bir aralıkta degişebilir. Bu dalgaboyu atomun iyonizasyon enerjisine (E0) bağlı olup, aynı zamanda elektron ve katyonların sıcaklığına da bağlıdır (2.2).

$$\lambda_{max} = hc/E0 \quad (2.2)$$

Bir foton, radyant enerjinin en küçük ayrık birimi olarak düşünülebilir. Tek bir fotonun enerjisini ifade etmek için joule (J) yerine elektronvolt (eV) kullanılır. Elektronun 1V'luk potansiyel farktan geçerken kazandığı enerji 1 eV olarak tanımlanır ve $16x10^{-19}$ J değerindedir. Fotokimyasal amaçlar için genellikle foton enerjisi kilokalori/Einstein olarak ifade edilir. 1 Einstein, 1 mol fotona eşittir ($6,02x10^{23}$ foton). Bir Einstein'ın emilimi, absorblayan maddenin 1mol'ünü yükseltebilir (2.3).

$$E_E = h \times (c/\lambda) \times A \quad (2.3)$$

Eşitlikte, E_E: Enerji/Einstein ve A: Avagadro sayısıdır.

UV ışığı ve görünür ışık, iyonlaştırıcı radyasyonun aksine, diğer düşük enerji radyasyonlar gibi iyonlaştırmayan radyasyonlar olarak adlandırılır. X ışınları ve gama ışınları ise iyonlaştırıcı radyasyonlardır. Diğer iyonlaştırıcı radyasyon türleri, iyonlaştırıcı partiküllerdir (beta ışınları, alfa ışınları ve protonlar). İyonlaştırıcı radyasyon bir çok atom ve molekülü iyonlaştırıcı özelliğe sahipken; UV gibi iyonlaştırıcı olmayan radyasyon ise atom ve moleküllerin elektronik olarak uyarılmasına yol açar (Gómez-López ve diğ., 2012).

UV lambalarından yayılan ışıktan gaz deşarjları sorumludur. Gaz deşarjı, belli hacimdeki bir gaza yeterli yüksek voltaj uygulandığında oluşan uyarılmamış atomlar, uyarılmış atomlar, katyonlar ve serbest elektronların karışımıdır. Gaz deşarjını başlatmak için gerekli voltaj, genel olarak gazın iyonizasyon potansiyelinden yüksektir. Gaz deşarjında yayılan ışık, gaz deşarjının kompozisyonuna, uyarma, iyonlaşma ve kinetik enerjilerine bağlıdır. Belli bir voltaj uygulandığında gazdaki serbest elektron ve iyonlar iki elektrot arasında oluşan elektrik alanıyla hızlandırılır. Yeterli voltaj uygulandığında elektronlar, yüksek kinetik enerjiye ulaşırlar. Serbest elektronların atomlarla çarpışması sonucu enerji atomlara geçer ve enerji yeterliyse atomlar iyonlaşır. İyonizasyon ile artan elektron ve katyon sayısı, lamba akımında artışa ve lambadaki voltajın düşmesine yol açar. Elektrotlar ile çarpışan katyonlar

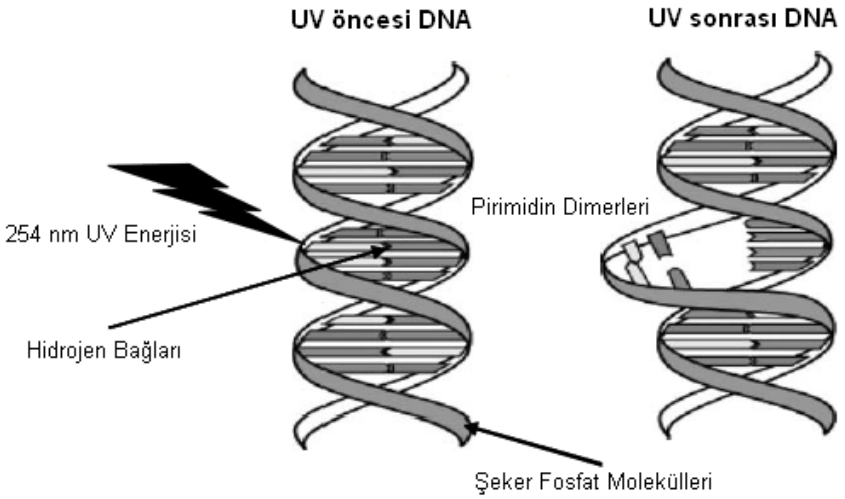
elektronların yayılmasına neden olur. Yeterli miktarda elektron yayılırsa, kendi kendine devam eden deşarj yani kor haline gelen deşarj oluşur. Akımdaki artışla her bir elektrotun daha fazla bölümü elektron yayar ve bu tüm elektrot kullanılıncaya kadar devam eder. Voltaj arttırılarak katyonlara daha fazla kinetik enerji sağlanır ve akım daha da yükselir. Yüksek enerjideki katyonların elektrotlarla çarpışması elektrotun sıcaklığını arttırır. Yeterli miktarda yüksek sıcaklıklarda elektrot elektron yaymaya başlar ve akımın daha da arttırılması voltaj gereksinimini azaltır. Bu proses "ark deşarjı" olarak adlandırılır. Gaz deşarjındaki voltaj akımla ters orantılı olduğu için gaz deşarjı negatif dirence sahip olup, değişkendir. Bu nedenle gaz deşarjıyla seri olarak bağlı bir balast kullanılarak, güç kaynağına pozitif direnç sağlanır (Gómez-López ve diğ., 2012).

Genellikle UV uygulamalarında düşük ve orta basınçlı civa lambalar kullanılmaktadır. Bu lambalar genellikle düşük maliyetleri, kalitesi ve yüksek performansları nedeniyle tercih edilmektedir. UV lambaları genel olarak düşük başınçlı (LP), düşük basınç-yüksek verim (LPHO) ve orta basınçlı (MP) civa lambaları olarak üç gruba ayrılır. Bu gruplandırma lamba çalışırken içindeki civanın buhar basıncına göre yapılmıştır. Buhar deşarj lambaları, iki tarafı sızdırmaz silika camından yapılmış UV ileten bir tüpten oluşmaktadır. Tüpün her iki ucunda da elektrot bulunmaktadır ve tüp civa ve inert bir gaz ile doldurulmaktadır. Genellikle en yaygın dolgu maddesi argondur (Koutchma, 2009).

LP ve MP lambalar genellikle civa içerirken, LPHO lambalar genellikle civalı karışım içerirler. Lambanın kırılması sebebiyle civaya maruz kalma bir sağlık sorunudur. Lambalar bakım sırasında ya da kullanım sırasında kırılabilir. LP lambalar 5-50 mg/lamba civa içerirken, MP lambalar 200-400 mg/lamba civa içerir. 150 mg civa içeren bir UV lambasının kırılması, 50 L'lik kesikli bir reaktörde 2,5 µg/L civa konsantrasyonu ile sonuçlanmıştır. ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), civa için maksimum kontaminant seviyesini 0,002 mg/L olarak belirlemiştir. Bu seviyenin üzerindeki konsantrasyonlara kısa süreli maruz kalmanın böbrek hasarına neden olduğu belirtilmiştir. Gıda işletmelerinde olası civa maruziyetleri endişesiyle, civa içermeyen yeni teknoloji lambaların geliştirilmesi teşvik edilmektedir (Koutchma, 2009).

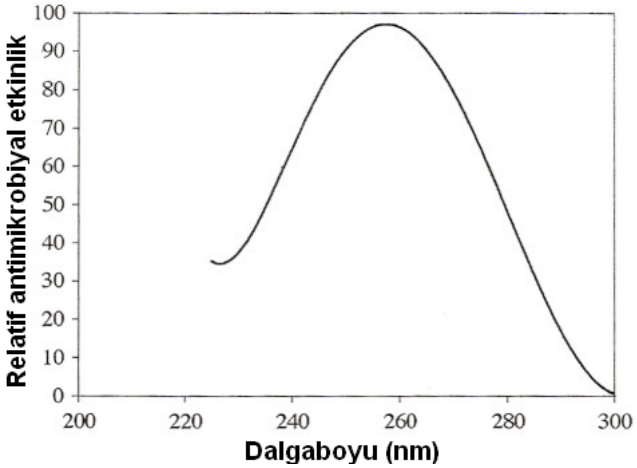
2.3.3 UVC ışınların mikrobiyal inaktivasyon mekanizması

Kısa dalgaboylu UV ışını (UVC) mikroorganizmaları tahrip edici etkiye sahiptir. Çoğu mikroorganizma 200 ile 310 nm dalga boyu arasındaki UV ışınını absorplamaktadır. Absorplanan UV ışını elektronların yer değiştirmesini sağlayarak mikroorganizmaların yaşamasını ve çoğalmasını sağlayan deoksiribonükleik asitte (DNA) bulunan bağları kırmaktadır. Timin (T) ve Sitozin (C), DNA'da bulunan önemli pirimidinlerdir. Mikroorganizmalar UVC ışınına maruz kaldıklarında, DNA zinciri üzerinde komşu pirimidin bazlarının birbirine bağlanmasından dolayı pirimidin dimerleri (T-T, T-C) oluşur (Şekil 2.2). Oluşan pirimidin dimerleri DNA'daki normal konfigürasyonu bozar. Bunun sonucunda, DNA transkripsiyonu ve translasyonu engellenerek replikasyon durur (Butz ve Tauscher, 2002; Koutchma ve diğ., 2009; Krishnamurthy ve diğ., 2009). Fakat bakteriler ve diğer organizmalar fotoliyaz adında bir enzime sahiptir ve bu enzim görünür ışık varlığında pirimidin dimerleri arasındaki bağı kırar ve DNA'daki hasarı onarabilir (Kowalski, 2010; López-Malo ve Palou, 2005).



Şekil 2.3 : UV ışınına maruz kalan DNA'nın yapısı (Koutchma ve diğ., 2009).

Mikroorganizmaların inaktivasyonunda en etkili dalgaboyunun 260 nm civarında olduğu bilinmektedir (Şekil 2.3). Çünkü pürin ve pirimidinler UV ışınını yaklaşık 260 nm dalga boyunda maksimum olarak absorbe ederler (Kowalski, 2010; López-Malo ve Palou, 2005). Bu sebeple UV dezenfeksiyonu için kullanılan cihazlar 254 nm dalgaboylu UV ışınları üreten özel UV lambaları ile donatılmaktadır.



Şekil 2.4 : UV ışınının mikroorganizmalar üzerine etkisinin dalga boyu ile değişimi (López-Malo ve Palou, 2005).

UV ışınının şiddetini ölçmek için genellikle radyometre, fotometre veya spektroradyometre cihazları kullanılır. UV ışınlarının şiddeti ve dozu 2.4 ve 2.5 denklemleri kullanılarak hesaplanır (Bintsis ve diğ., 2000).

$$UV\ Şiddeti\ \left(\frac{W}{m^2}\right) = Lambanın\ gücü\ (W)\ \times Yoğunluk\ faktörü\ (\frac{1}{m^2}) \qquad (2.4)$$

$$UV\ Dozu\ \left(\frac{J}{m^2}\right) = UV\ Şiddeti\ \left(\frac{W}{m^2}\right) \times Maruz\ kalma\ süresi\ (s) \qquad (2.5)$$

UVC ışığı ile mikrobiyal azalma, uzun süre düşük şiddet uygulayarak ya da kısa süreli yüksek şiddet uygulayarak elde edilebilir. Gerekli UV dozu son üründe istenilen etkiye ve uygulanan mikroorganizma çeşitine göre değişmektedir. UV ışığın etkisi mikroorganizmanın türü ve suşu, gelişme ortamı ve bulunduğu gıdanın kompozisyonu gibi birçok faktöre bağlıdır (Guerrero-Beltrán ve Barbosa-Cánovas, 2004).

2.3.4 UVC ışınının baharat dekontaminasyonunda kullanımı

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında UVC ışınlarının taze meyve, sebze ve yumurta gibi çeşitli gıda ürünlerinin yüzey dezenfeksiyonunda, çeşitli sıvı gıdaların (meyve suları, süt) pastörizasyonunda kullanım potansiyeli araştıran çalışmaların olduğu görülmektedir. Fakat UVC ışınlarının tek başına kullanımının baharat dekontaminasyonundaki etkinliğini araştıran herhangi bir çalışma olmadığı görülmektedir. Bunun sebebi UVC ışınının düşük penetrasyon gücünün istenilen seviyede mikrobiyal azalmayı sağlayamamasıdır. UVC uygulamasının diğer alternatif yeni teknolojiler ile birlikte baharat dekontaminasyonunda kullanımını

araştıran çalışmalar mevcuttur. FIR ve UVC uygulamalarının birlikte kullanımının kimyon ve karabiber baharatlarının doğal florasına etkisi (Erdoğdu ve Ekiz, 2011; Erdoğdu ve Ekiz, 2013), *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 inoküle edilen toz kırmızıbiberlerde NIR ve UVC uygulamalarının (Ha ve Kang, 2013) ve UVC ve sıcaklık uygulamalarının (Cheon ve diğ., 2015) birlikte kullanımının mikrobiyal inaktivasyona etkisi "Bölüm 2.2.2.8 Kombine yöntemler" kısmında detaylı olarak açıklanmıştır.

Bu tez çalışmasında, baharatların tüm yüzeylerinin etkin şekilde UVC ışınlarına maruz kalmasının sağlanması durumunda mikrobiyal dekontaminasyondaki kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Ayrıca ozon ve UVC uygulamalarının ard arda ya da aynı anda kullanımının katkı ya da sinerjistik etki gösterip göstermediği de araştırılmıştır.

2.3.5 UVC ile ilgili yasa ve yönetmelikler

Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından UVC ışınlarının 253,7 nm dalgaboyunda düşük basınçlı civa lambalar kullanılarak, belirlenmiş sınırlamalara uyulduğu sürece, gıda ürünlerinde yüzey dekontaminasyonunda, içme suyu sterilizasyonunda ve sıvı gıdalarda patojen ve diğer mikroorganizmaların sayısının azaltılmasında kullanılabileceği bildirilmiştir. Bu sınırlamalara göre gıda ürünlerininde yüzey dekontaminasyonunda kullanılabilmesi için lambaların ozon üretmemesi, yüksek yağ içeren gıdaların vakum ya da MAP atmosferde ışınlanması ve UV şiddetinin 0,1-0,2 W/ft^2 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (U. S. FDA, 2014). Dekontaminasyon için gerekli olan UV dozu; ürün çeşidine, ilk mikrobiyolojik yüke, sistemi tasarımına (akış hızı, lamba sayısı, süre vb.) ve daha bir çok faktöre bağlı olduğu için FDA uygulanacak minimum ve maksimum dozu belirlememiştir.

Avrupa Birliği (AB) ise UV ışığını ışınlama olarak kabul etmektedir. Işınlama prosesinin AB'de kullanımına dair yasalar tam olarak düzenlenmemiştir. Üye ülkeler hala hangi gıdaların ışınlanabileceği konusunu tartışmaktadır. Gıda ışınlanmasına ancak teknolojik bir ihtiyaç olduğunda, önerilen koşullar altında uygulandığında ve sağlık açısından hiç bir risk teşkil etmediğinde, tüketiciye yararı olduğunda ve iyi tarım ve üretim ya da sağlık ve hijyen uygulamalarının yerine kullanılmadığı sürece izin verilebilir (Koutchma ve diğ., 2009).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Baharatlar

Çalışmanın tamamında kullanılan toz karabiber (*Piper nigrum* L.) örnekleri ve ilk UVC sisteminde kullanılan kekik (*Thymus vulgaris* L.) örnekleri Bağdat Baharat (Ankara, Türkiye) firmasından 1 kg'lık paketler şeklinde alınmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında kullanılan kekik (*T. vulgaris* L.) ve tamamında kullanılan tane karabiber (*P. nigrum* L.) örnekleri ise Kadıoğlu Baharat (Mersin, Türkiye) firmasından 5 kg'lık çuval ambalajlar içerisinde temin edilmiştir. Doğal florasına uygulanacak dekontaminasyon işlemleri için ayrılan kekik ve karabiber örnekleri firmaların gönderdiği ambalajlar içerisinde oda koşullarında muhafaza edilmiştir. Bakteri inokülasyon çalışmalarında kullanılmak üzere ayrılan kekik ve tane karabiber örnekleri ise polietilen (PE) ambalajlara 100'er gram olacak şekilde tartılıp Gamma-Pak San. ve Tic. A.Ş.'ye (Çerkezköy/Tekirdağ, Türkiye) gönderilerek mikrobiyal yükleri sıfırlandıktan sonra oda koşullarında muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Bakteri suşu

Kekik ve tane karabibere bakteri inokülasyonu için *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

3.1.3 Besiyerleri

Mikrobiyolojik çalısmalarda kullanılan PCA (Plate Count Agar), DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar), Chromocult TBX Agar (Tryptone Bile X-glucuronide Agar), TSB (Tryptic Soy Broth), SMAC (Sorbitol MacConkey Agar), XLD (Xylose Lysine Deoxycholate Agar), MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar) besiyerleri, *Bacillus cereus* selektif agar katkısı, SMAC agar CT (Cefixim Tellurit) katkısı ve tamponlanmış peptonlu su (TPS) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından, pepton ise Oxoid (Basingstoke, Hampshire, İngiltere) firmasından temin edilmiştir.

3.1.4 Kimyasallar

Kimyasal çalışmalarda kullanılan izo-oktan, 2-propanol, metanol, 1-butanol, hidroklorik asit (HCl) ve sodyum fosfat (monobazik ve dibazik) Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, ABD) firmasından; tween 20, baryum klorür dihidrat, amonyum tiyosiyanat, demir (II) sülfat heptahidrat, kümen hidroperoksit, hekzanal, Folin–Ciocalteu reaktifi (FCR), sodyum karbonat (Na_2CO_3), gallik asit, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), BHT (3,5-di-tert-4- butilhidroksitoluen) ve L-askorbik asit ise Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından temin edilmiştir.

Potasyum ferrisiyanit ($K_3[Fe(CN)_6]$), sodyum dihidrojenfosfat ($NaH_2PO_4.2H_2O$) ve disodyum hidrojenfosfat ($Na_2HPO_4.2H_2O$) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından; trikloroasetik asit (TCA), askorbik asit, susuz sodyum sülfat (Na_2SO_4), demir klorür ($FeCl_3$) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolox) ise Sigma (St. Louis, MO, Almanya)'dan temin edilmiştir. Sodyum klorür ise Riedel-de Haen (Seelze, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Emülsiyon çalışmasında Mazola mısır yağı (ACH Gıda, Memphis, TN, ABD) kullanılmıştır.

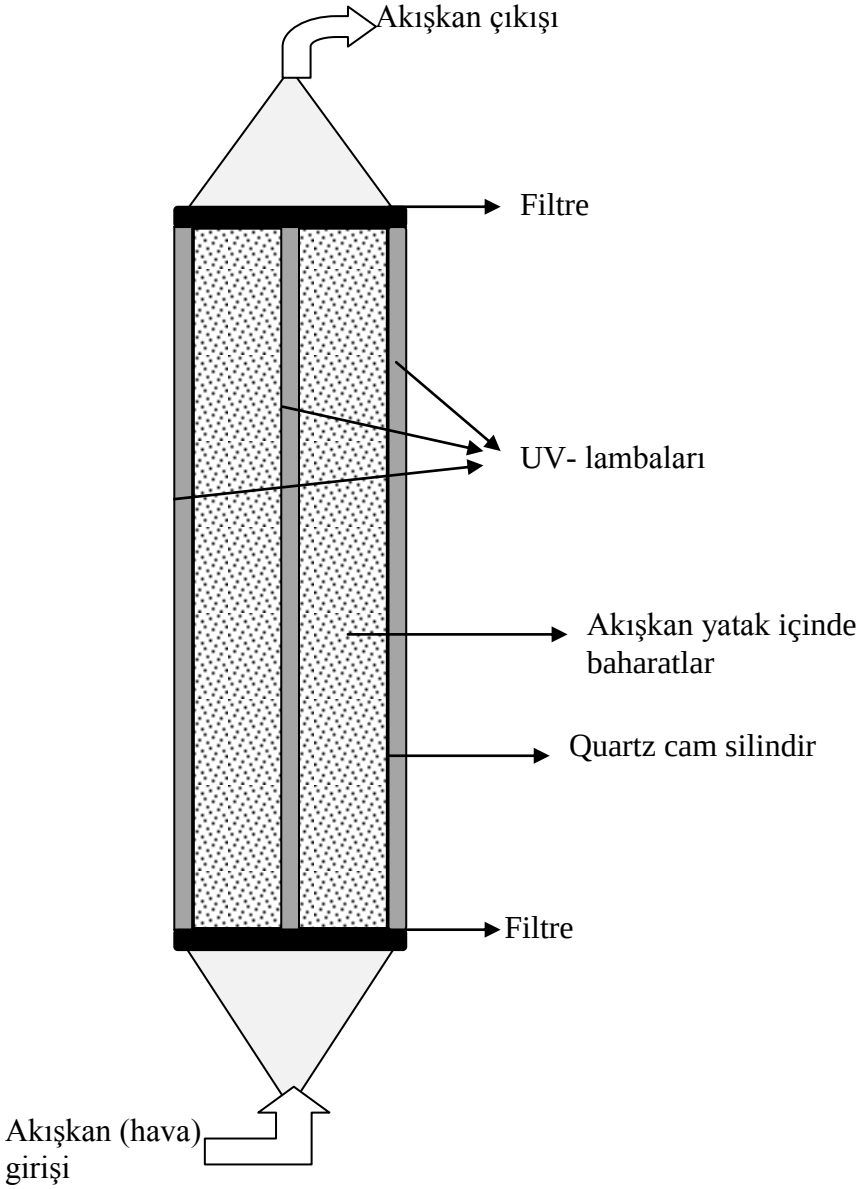
3.2 Metot

3.2.1 Akışkan yataklı UVC reaktör tasarımı, imalatı ve uygulamaları

3.2.1.1 UVC-1 reaktör sistemi (dört lambalı)

Bu çalışma kapsamında akışkan yataklı bir UVC reaktör tasarımı yapılması planlanmıştır. Sistemin şematik çizimi Şekil 3.1'de gösterilmektedir. Sistem tasarlanırken, akışkan yataklı kurutucunun (Model FT31, Armfield Ltd., Ringwood Hampshire, İngiltere) üzerine kuartz silindirik boru (100 cm x 5 cm) yerleştirilmiş ve etrafı paslanmaz çelik silindirik boru (95 cm x 9,75 cm) ile çevrelenmiştir. Paslanmaz çelik borunun üzerine, kuartz cam ile arasında 1 cm boşluk olacak şekilde, birbiri ile eşit mesafede 4 tane 254 nm dalgaboyunda çalışan UVC lamba (Ster-L-Ray Germicidal Lamp, Model GHO36T5L/4P, Atlantic Ultraviolet, Hauppauge, NY, ABD) yerleştirilmiştir. Her çalışmada 30 gr baharat örneği cam borunun içine dökülmüş ve borunun üzeri filtre ile kapatılmıştır. İşlem sonrası ürün steril filtre torbasında toplanmış ve steril poşetlere aktarılarak analizlere kadar oda sıcaklığında karanlık ortamda saklanmıştır. Baharatların maruz kaldığı UVC şiddeti bir radyometre (UVX-25, UVP Inc., CA, ABD) yardımı ile ölçülmüştür.

Bu sistemde kekik ve toz karabiber örnekleri ile çalışılmıştır. Örnekler sırasıyla 0, 16 ve 64 dakika UVC ışınına maruz bırakılmıştır. 0 dakika UVC uygulanan örnekler kontrol grubudur. Sistemde UVC uygulaması, 1. kademe hızda (1,80 m/s) 20 saniye 4. kademe hızda (2,03 m/s) 20 saniye olacak şekilde toplam 40 saniyelik döngüler şeklinde yapılmıştır.



Şekil 3.1 : Laboratuar ölçekli UVC sisteminin genel şematik gösterimi.

Tane karabiber örnekleri için akışkan yataklı kurutucunun gücü yeterli olmadığı için (maks. 3,65 m/s), tane karabiber ile yapılan çalışmalarda ve ozon ile yapılan kombinasyon çalışmalarında sistem akışkan (hava) girişini sağlayacak bir fana bağlanmıştır. Uygulama sırasında havanın etkisiyle örneklerin bir kısmının üst taraftaki filtreye yapışmasının, örneklerin UVC'ye maruz kalmasını

engelleyebileceği düşünülerek, akışkan çıkışına yerleştirilen başlıktaki açıklık manuel olarak 2 saniyede bir kapatılıp açılmıştır. Böylece akışkan yatak boyunca homojen örnek dağılımı da sağlanmıştır. Fanın, tane karabiberlerin en uygun akışını sağlayacak saniyedeki devir sayısı (hertz) 40 olarak belirlenmiştir (yaklaşık 8 m/sn hızda hava üflenmiştir). Akışkan yataklı UVC uygulaması boyunca örneklerin maruz kaldığı UVC şiddetinin belirlenmesi için kabinin farklı noktalarında yapılan ölçümlerin ortalaması alınmış ve bu değer 8 mW/cm^2 olarak belirlenmiştir.

3.2.1.2 UVC-2 reaktör sistemi (modifiye, sekiz lambalı)

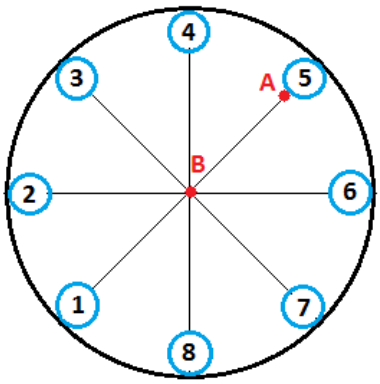
UVC-1 sistemi ile yapılan çalışmalar neticesinde sistemin dekontaminasyon seviyesinin yeterli olmadığı görülmüş ve sistemin gücünü arttırmak için bazı modifikasyonlar yapılmıştır. Öncelikle sisteme 4 UVC lambası (Ster-L-Ray Germisidal lamba, Model GHO36T5L/4P, Atlantic Ultraviolet, Hauppauge, NY, ABD) daha (birbiriyle eşit mesafede olacak şekilde) ilave edilmiştir. Paslanmaz kabinin içi alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Ayrıca yapılan radyometre ölçümlerinde UVC şiddetinin azaldığı görülen, filtreler ile UVC lambanın başlangıcı arasında kalan boşluklara (sistemin alt ve üstüne) ilave beyaz parçalar eklenmiştir (Şekil 3.2). Eklenen parçalar havanın hızını azalttığı için homojen dağılımın sağlanabildiği örnek ağırlığı 10 gr olarak belirlenmiştir. UVC uygulaması, her hızda (1., 2., 3., 4. ve 5. kademe; 1,80-2,25 m/s hız aralığında) 4 saniye toplam 20 saniye olacak şekilde 20 saniyelik döngüler şeklinde yapılmıştır.

Kekik ve toz karabiber örneklerine 0, 16, 32, 64 ve 128 dakika UVC ışını uygulanmıştır. 0 dakika UVC uygulanan örnekler kontrol grubudur. Mikrobiyal analiz yapılan çalışmalarda ayrıca havanın mikrobiyal yüke herhangi bir etkisi olup olmadığını da incelemek için en uzun süre UVC uygulanan örnek kadar (128 dakika) sadece hava ile işlem uygulanmış ve çizelgelerde “kontrol hava” olarak belirtilmiştir. Diğer örnekler ise belirtilen dakikalarda UVC ışınına maruz bırakılmıştır. Baharatların maksimum düzeyde UVC ışınına maruz kalması için sistem kesikli şekilde çalıştırılmış ve bu şekilde baharatların filtrelerin üzerinde toplanması engellenmiştir.

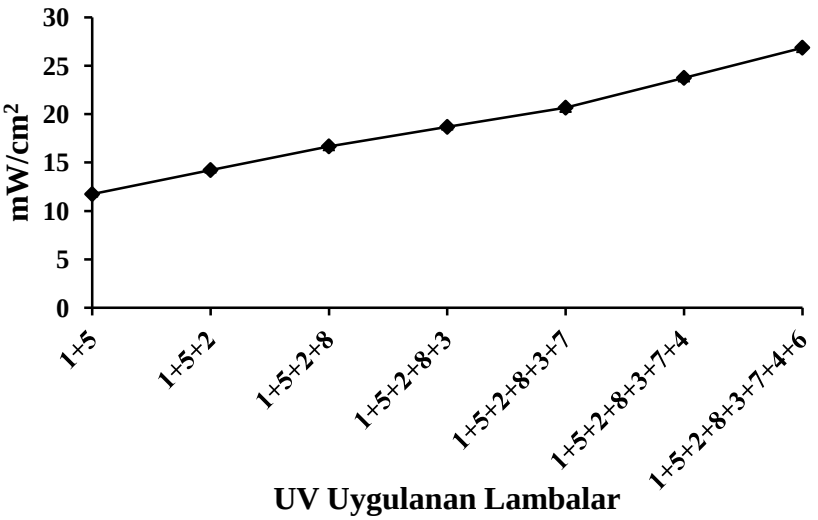


Şekil 3.2 : Akışkan yataklı UVC-2 sistemi.

Baharatların maruz kaldığı UVC şiddeti bir radyometre (UVX-25, UVP Inc., CA, USA) yardımı ile ölçülmüştür. Radyometre maksimum 20 mW/cm^2 şiddetinde ölçüm yapmaktadır. 8 lambanın hepsi yandığı anda sistemin UVC şiddetinin daha fazla olduğu ve radyometrenin okuyamadığı görülmüştür. Lambaların dizilimi Şekil 3.3'te gösterilmiştir. Sistemin şiddetini ölçmek için farklı ölçüm noktalarında yapılan ölçümler neticesinde Şekil 3.4 nolu grafik hazırlanmış ve sistemin tüm lambalar yandığı zamanki UVC şiddeti 26,87 mW/cm^2 olarak bulunmuştur. UVC cihazı içinde lambaların gücü ve ölçüm noktalarındaki radyometre ölçüm sonuçları detaylı olarak EK A bölümünde verilmiştir.



Şekil 3.3 : UVC cihazı içinde lambaların dizilimi ve ölçüm noktaları.



Şekil 3.4 : UVC uygulanan lamba sayısı ile UVC şiddetinin değişimi.

3.2.1.3 Ozonlama sistemi

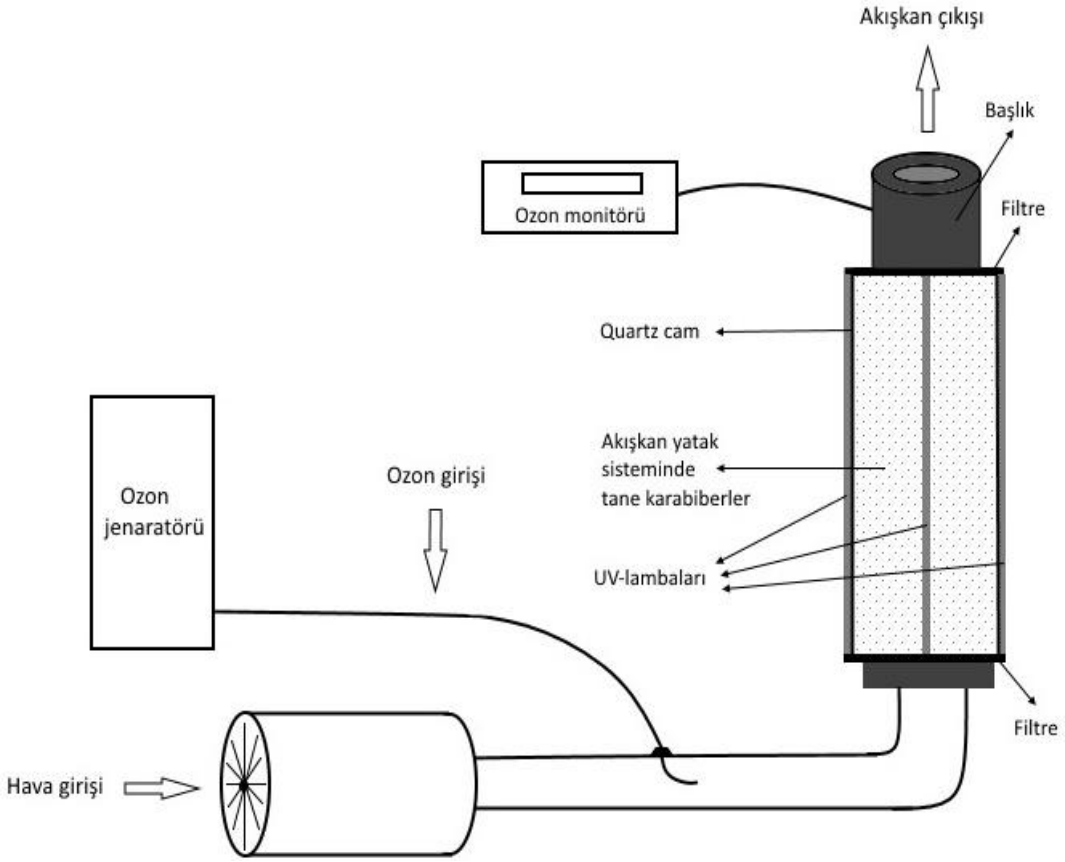
Ozonlama sistemi; ozon jeneratörü (Model No. H-50, HessMachines International, PA, ABD), ozon monitörü (Ozone Monitor, Model 106-M, 2B Technologies, Inc., CO, ABD) ve ozon imha ünitesi (Ozone Destruct Unit, ODS-3, Ozone Solutions, Inc., IA, ABD)'nden oluşmaktadır. Ozon jeneratörü oksijen ile beslenmektedir.

Ozonlama sistemi fan ile çalışan akışkan yataklı UVC sistemine entegre edilmiştir. Fanın üflediği havayı sisteme taşıyan boru (100 cm×10 cm)'nun orta kısmından açılan 6 mm'lik delikten ozon girişi yapılmıştır. Akışkan (hava) çıkışına yerleştirilen başlıkta açılan bir delikten ise ozon monitörüne bağlantı yapılarak ozon konsantrasyonu kontrol edilmiştir. Akışkan çıkışı, ozonla yapılacak çalışmalarda ozonun ortama verilmesini önlemek adına dirsek boru vasıtasıyla çeker ocağa bağlanmıştır. Sisteme verilen ozon, fanın üflediği hava ile seyreldiğinden ulaşılabilen en yüksek ozon konsantrasyonunun 15 ppm olduğu belirlenmiştir. Akışkan yataklı ozon uygulaması tane karabiber örneklerine 15 ppm konsantrasyonda 1 saat uygulanmıştır.

3.2.1.4 UVC ve ozon kombine sistemi

Kombine uygulamalar ozon sonrası UVC (1 saat 15 ppm ozon sonrası 1 saat 8 mW/cm^2 UVC) ve ozon ve UVC'nin eş zamanlı (toplamda 1 saat 15 ppm ozon ve 8 mW/cm^2 UVC) uygulanması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Sistem Şekil 3.5'te gösterilmiştir.

Akışkan yataklı sistemde 1 saat yapılan uygulamalar (ozon, UVC ve eş zamanlı ozon ve UVC uygulamaları) için, akışkan yataklı sistemde 1 saat boyunca hava üfletilen örnekler kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Ozon sonrası UVC uygulamasının kontrolü için ise örneklere 2 saat hava üfletilmiştir.

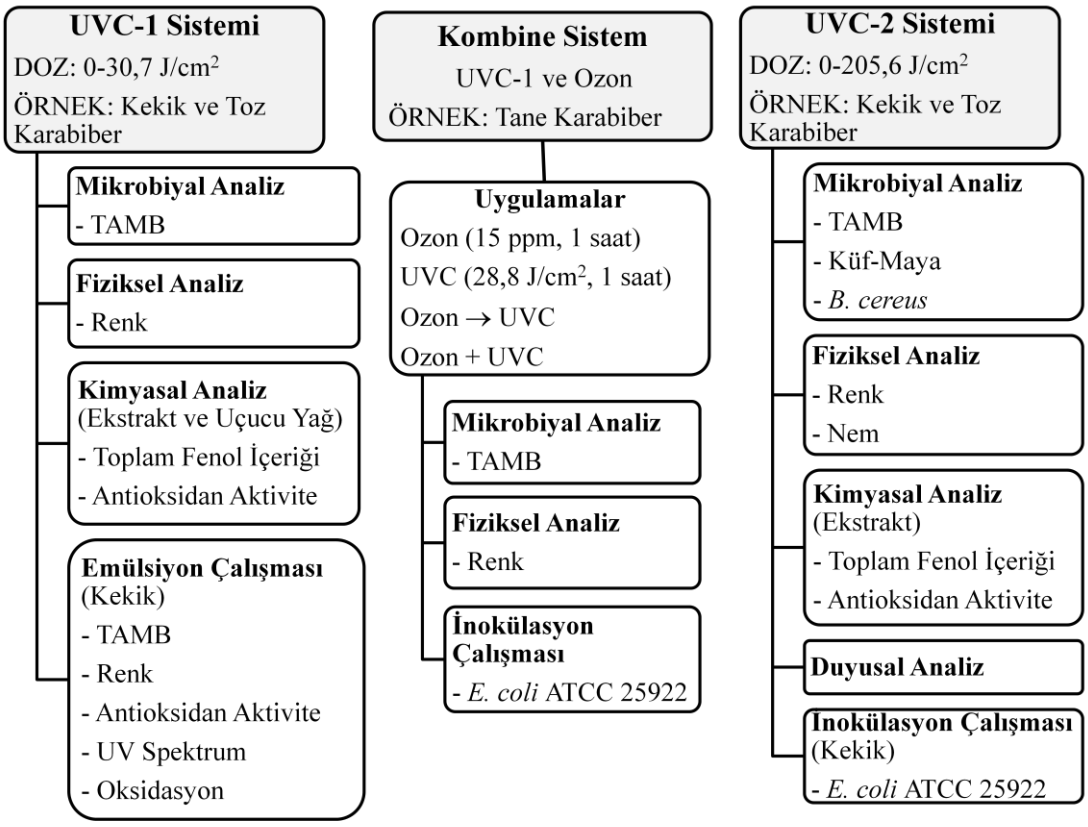


Şekil 3.5 : UVC ve ozon kombine sistemleri şematik çizimi.

3.2.1.5 Deneysel tasarım

UVC-1 sistemi ile yapılan çalışmalarda örneklere 3 doz (0, 7,7 ve 30,7 J/cm^2), UVC-2 sistemi ile yapılan çalışmalarda ise örneklere 5 doz (0, 25,7, 51,4, 102,8, 205,6 J/cm^2) UVC uygulanmıştır. Baharat örneklerine UVC ve/veya ozon uygulaması öncesinde yapılan ön işlemler Bölüm 3.2.2'de detaylı olarak anlatılmıştır.

UVC-1, UVC-2 ve UVC/ozon kombine sistemlerinde uygulanan deneysel plan Şekil 3.6'da şematik olarak kısaca özetlenmiştir. Tez çalışması kapsamındaki tüm deneyler 2 paralelli ve 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.



Şekil 3.6 : Tez kapsamında uygulanan deneysel plan.

3.2.2 Baharatlara uygulamalar öncesi yapılan işlemler

3.2.2.1 Toz karabiber örneklerinde fiziksel ayırma

Toz karabiber örnekleriyle yapılan çalışmalarda örneğin tane boyutlarının homojen olması ve akışkan yatakta homojen bir dağılımın elde edilebilmesi için uygulama öncesi karabiber örnekleri mekanik eleme cihazı (Octagon 200, Endecotts, İngiltere) ile elenmiştir. Eleme sonrası tane boyutu 212 µm ve üzeri olan örnekler uygulamalarda kullanılmıştır. Eleme öncesi ve sonrasındaki karabiber örnekleri Şekil 3.7 de gösterilmiştir.



Şekil 3.7 : Toz karabiber örnekleri a) firmadan gelen örnek b) 212 µm ve üzeri c) 212 µm'den daha ufak tane boyutu.

3.2.2.2 Baharat örneklerine bakteri inokülasyonu

Bakteri süspansiyonunun hazırlanması

4 ^{o}C'de PCA'da depolanan *E. coli* (ATCC 25922) stok kültüründen öze ile alınarak diğer bir PCA'ya pasaj yapılmış, 37 ^{o}C'de 24 saat inkübe edilerek taze kültür hazırlanmıştır. Hazırlanan taze kültürden öze ile alınarak TSB içeren tüpe geçilip, 37 ^{o}C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Tüp içerisindeki bakteri süspansiyonları 5000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra besiyeri kalıntılarının uzaklaştırılması için eşit hacimde TPS eklenerek ikinci kez santrifüj edilerek yine TPS ile süspanse edilmiştir. Bakteri süspansiyonunun konsantrasyonu McFarland standardı (bioMerieux, Durham, NC, ABD) yardımıyla kontrol edilerek gerekli durumlarda TPS ile seyreltme yapılarak bulanıklığı yaklaşık 10^{9} kob/ml değerine ayarlanmıştır.

Bakteri inokülasyonu

Analiz öncesi ışınlanmış tane karabiber örnekleri beher içerisine tartılmış, üzerine örnek: bakteri süspansiyonu oranı 1:1 olacak şekilde bakteri süspansiyonu eklenerek 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Kekik örneklerine ise örnek: bakteri süspansiyonu oranı 1:4 olacak şekilde bakteri süspansiyonu eklenerek 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Ara ara yapılan karıştırma işlemi ile inokülasyonun iyice homojen olması sağlanmıştır. Süre sonunda beher içerisindeki bakteri süspansiyonu steril bir bez yardımıyla süzülmüştür. İnoküle edilen örnekler üzeri açık steril bir kap içerisine tek kat olacak şekilde yerleştirilmiştir.

İnokülasyonun ardından steril kaba alınan örnekler, UVC ve ozonlama işlemleri uygulanmadan önce 25 ˚C'de %90 nisbi nemde 24 saat bekletildikten sonra, örneğin inokülasyon öncesi sahip olduğu su aktivitesine gelmesi için 30 ˚C'lik etüvde (%30 nisbi nemde) 24 saat daha bekletilmiş ve kuruması sağlanmıştır.

3.2.3 Mikrobiyolojik analizler

3.2.3.1 Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) analizi

Baharat örneklerindeki TAMB sayısı dökme plak metoduna göre belirlenmiştir (ICMSF, 1978). 10 gram örnek, 90 ml peptonlu su (0.1%) ile stomacher poşetinde karıştırılarak, stomacher (AESAP1068-Easymix, AES Chemunex, Combourg, Fransa) makinesinde orta hızda 2 dakika homojenize edilmiştir. Hazırlanan ilk dilüsyondan (10^{-1}) 1 mL steril pipet ile alınarak içerisinde 9 mL peptonlu su bulunan

dilüsyon sıvısına aktarılıp tüp karıştırıcıda karıştırılmış ve 10^{-2} dilüsyonu hazırlanmıştır. Bu işlem tekrar edilerek ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL inokulum alınarak steril petri kutularına aktarılmıştır. Paralel petriler için de aynı işlemler tekrarlanmıştır. Petrilere 15 mL PCA besiyeri dökülerek petriler yatay zeminde hareket ettirilerek besiyeri ile inokulumun karışması sağlanmıştır. Besiyerleri katılaştıktan sonra petriler ters çevrilerek 37 °C'de 48 saat inkübe edilmistir. İnkübasyon sonunda petrilerde oluşan tüm koloniler sayılmış ve sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.3.2 Küf-maya analizi

Baharat örneklerindeki küf maya sayısı yayma plak metoduna göre belirlenmiştir (ICMSF, 1978). 10 gram örnek, 90 ml peptonlu su (0.1%) ile stomacher poşetinde karıştırılarak, stomacher (AESAP1068-Easymix, AES Chemunex, Combourg, Fransa) makinesinde orta hızda 2 dakika homojenize edilmiştir. TAMB analizinde anlatıldığı şekilde ileri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Daha önceden petri kutularına 15 ml dökülüp soğutulmuş DRBC besiyerlerinin üzerine hazırlanan dilüsyonlardan 0,1'er mL inokulum ilave edilmiştir. Paralel petriler için de aynı işlemler tekrarlanmıştır. Steril drigalski çubuğu ile inokulumlar besiyeri üzerine yayılmıştır. Petriler düz şekilde 25 °C'de 3-5 gün inkübe edilmistir. İnkübasyon sonunda petrilerde oluşan koloniler sayılmış ve sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.3.3 *Bacillus cereus* analizi

B. cereus analizinde MYP besiyeri kullanılmıştır. 450 ml MYP besiyeri hazırlanıp steril edilmiş ve 45 ºC'ye soğutulduktan sonra üzerine 50 ml steril yumurta sarısı emülsiyonundan ilave edilmiştir. Daha sonra 1 şişe *B. cereus* selektif agar katkısı da ilave edilip iyice karıştırıldıktan sonra petri kutularına yaklaşık 15 ml dökülerek soğutulmuştur. Hazırlanmış dilüsyonlardan uygun dilüsyon seçilerek besiyeri üzerine 0,1 ml inokulum ilave edilmiştir. *B. cereus* sayısı az olan örneklerde ilk dilüsyondan 1 ml inokulum alınarak 4 petriye eşit olarak paylaştırılmıştır. İnokulumlar besiyerlerine steril drigalski çubuğu ile yayılmıştır. Petriler düz şekilde 30 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda *B. cereus* varlığında petriler sarı-portakal renginden pembeye doğru dönmektedir. Pembe petrilerde gelişen açık pembe etrafında beyaz presipitasyon halkası olan koloniler sayılmış ve sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.3.4 *Salmonella* spp. analizi

Salmonella analizinde Thin Agar Layer (TAL) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde petriye öncelikle 14 ml selektif, daha sonra üzerine 14 ml selektif olmayan besiyeri eklenip donduktan sonra yayma plak yöntemi ile ekim yapılır. Salmonella analizinde seçici besiyeri olarak XLD agar kullanılmıştır. Hazırlanan petrilere 10^{-1} dilüsyonlarından 0,1'er mL inokulum ilave edilmiştir. Deteksiyon limitinin düşürülmesi için 10^{-1} dilüsyonundan 0,5 ml'lik ekimler de yapılmıştır. Paralel petriler için de aynı işlemler tekrarlanmıştır. Steril drigalski çubuğu ile inokulumlar besiyeri üzerine yayılmıştır. Petriler düz şekilde 37 °C'de 24 saat inkübe edilmistir. İnkübasyon sonunda petrilerde gelişen yarı saydam petri ile aynı renkteki, bazen siyah merkezli koloniler *Salmonella spp.* olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.5 *Escherichia coli* analizi

E. coli analizinde TBX besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1'er mL inokulum alınarak steril petri kutularına aktarılmıştır. Paralel petriler için de aynı işlemler tekrarlanmıştır. Petrilere 15 mL TBX besiyeri dökülerek petriler yatay zeminde hareket ettirilerek besiyeri ile inokulumun karışması sağlanmıştır. Besiyerleri katılaştıktan sonra petriler ters çevrilerek 44 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilerde oluşan mavi-yeşil renkte koloniler sayılmış ve sonuçlar kob/g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.3.6 *Escherichia coli* O157:H7 analizi

E. coli O157:H7 analizinde SMAC besiyeri kullanılmıştır. Refakatçi floranın baskılanması için ise besiyeri CT katkısı ile desteklenmiştir. 500 ml SMAC besiyeri hazırlanıp steril edilmiş ve 45 ºC'ye soğutulduktan sonra üzerine 1 ml steril saf su ile karıştırılmış 1 şişe CT katkısı ilave edilmiştir. Daha sonra petri kutularına yaklaşık 15 ml dökülerek soğutulmuştur. Hazırlanan petrilere 10^{-1} dilüsyonlarından 0,1'er mL inokulum ilave edilmiştir. Deteksiyon limitinin düşürülmesi için 10^{-1} dilüsyonundan 0,5 ml'lik ekimler de yapılmıştır. İnokulumlar besiyerlerine steril drigalski çubuğu ile yayılmıştır. Petriler düz şekilde 37 °C'de 24 saat inkübe edilmistir. İnkübasyon sonunda petrilerde gelişen renksiz koloniler *E. coli* O157:H7 olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4 Uçucu yağların eldesi

Uçucu yağ ekstraksiyonunda klevenger hidrodistilasyon yöntemi kullanılmıştır (AOAC, 2000; Baydar ve diğ., 2004; Özcan ve Erkmen, 2001). Kurulan klevenger hidrodistilasyon sistemi Şekil 3.8'de gösterilmiştir. Deneyde 100 gr. baharat örneği ve 1600 ml saf su 2L'lik balon ısıtıcıya yerleştirilmiş, üzerine klevenger aparatı ve soğutucu eklenmiştir. Isıtıcı (MX120, Elektromag, Türkiye) 125 °C'ye ayarlanmış ve sistem 3 saat çalıştırılarak esansiyel yağın klevenger aparatında suyun üzerinde toplanması sağlanmıştır. Süre sonunda klevenger aparatının volumetrik kısmında biriken yağ bir vialde toplanmış ve üzerine susuz sodyum sülfat ilave edilerek kurutulmuştur. Sonrasında nitrojen altında vialin kapağı kapatılmış ve analizlere kadar -18 °C'de depolanmıştır.



Şekil 3.8 : Klevenger hidrodistilasyon sistemi.

3.2.5 Baharatlardan fenolik maddelerin ekstraksiyonu

Ekstraksiyon öncesi baharat örnekleri öğütücüde (PRG 259, Premier) 1 dakika öğütülmüştür. Daha sonra falkon tüplerine 1 gr. tartılmış ve üzerine 15 ml %80 metanol ilave edilmiştir. 30 saniye vortekslendikten sonra ultrasonik banyoda (Azakli, Türkiye) 1 saat bekletilmiştir. Su banyosundan alınan örnekler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş (Hettich Zentrifugen Universal 32R, Hettich Zentrifugen,

Tuttlingen, Almanya) ve supernatantlar toplanmıştır. Falkon tüplerine tekrar 10 ml %80 metanol ilave edilmiş ve aynı işlemler tekrarlanmıştır. İki işlem sonrası toplanan supernatantlar birleştirilerek analizlere kadar -18 ºC'de saklanmıştır.

3.2.6 Toplam fenol miktarı tayini

Baharat ekstraktları ve uçucu yağların toplam fenol tayini Folin Ciocalteau yöntemi (Singleton et al., 1999; Viuda-Martos ve diğ., 2010a) kullanılarak yapılmıştır. Deneyde kullanılacak konsantrasyonlar %80 metanol ile hazırlanmıştır. 300 µl örnek bir tüpte 2,5 ml 10 kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi ve 2 ml %7,5'luk Na_2CO_3 çözeltisi ile karıştırılmıştır. Tüpler vortekslenmiş ve parafilm ile kaplanarak 50 °C'lik su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra spektrofotometre (T80-UV/VIS, PG Instruments Leicestershire, İngiltere) ile 760 nm'de absorbans okunmuştur. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g örnek cinsinden ifade edilmiştir. Toplam fenolik madde tayini için kalibrasyon grafiği 0,01-0,2 mg/ml konsantrasyon aralığındaki gallik asit çözeltileri kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2.7 Toplam antioksidan kapasitesi

3.2.7.1 Serbest radikal yakalama aktivitesi (DPPH)

Baharat ekstraktlarının ve uçucu yağlarının DPPH radikalini yakalama yeteneği Viuda-Martos ve diğ. (2010b) tarafından yapılan metoda göre belirlenmiştir. Seyreltimleri %80 metanol ile yapılan örneklerden 50 µL alınmış ve 2 mL metanolde hazırlanmış $6x10^{-6}$ M DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan karışımlar vortekslendikten sonra 1 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. Absorbansdaki azalma spektrofotometre ile 517 nm'de ölçülmüştür. Spektrofotometrenin sıfırlanmasında metanol kullanılmış olup antioksidan içermeyen reaktif kontrol olarak kullanılmıştır. Kalibrasyon eğrisi 0,01–0.2 mg/mL konsantrasyonlarında Trolox standart çözeltileri kullanılarak elde edilmiş ve sonuçlar mg Trolox eşdeğeri/g örnek cinsinden hesaplanmıştır.

Ayrıca DPPH radikalinin absorbansını %50 azaltmak için gerekli baharat ekstraktı ve uçucu yağ miktarları (IC_{50}) grafik yardımıyla hesaplanmıştır (Jiménez-Escrig, 2009). DPPH radikalinin inhibisyon yüzdesi ise 3.1 nolu denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%I = [(A_B - A_S)/A_B] \times 100 \quad (3.1)$$

Burada %I DPPH inhibisyon yüzdesi, A_B kontrol örneğinin absorbansı (t = 0 saat) ve A_S örneğin reaksiyon sonundaki (t = 1 saat) absorbansıdır.

3.2.7.2 Demir iyonlarını indirgeme antioksidan kapasitesi (FRAP)

Baharat ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde FRAP metodu da kullanılmıştır (Viuda-Martos ve diğ. 2010b). Seyreltimleri %80 metanol ile yapılan örneklerden 1 mL alınarak 2,5 mL sodyum fosfat tampon çözeltisi (0,2 M, pH 6.6) ve 2,5 mL potasyum ferrisiyanid (%1) eklenmiştir. Karışım 50 ^{o}C'deki su banyosunda 20 dakika inkübe edildikten sonra üzerine 2,5 mL trikloroasetik asit (%10) eklenmiştir. Elde edilen bu karışımdan 2,5 mL alınarak 2,5 mL su ve 0,5 mL $FeCl_3$ ilave edilmiştir. Çözelti 30 dk bekletildikten sonra 700 nm'de absorbans ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi 0,01–0,4 mg/mL konsantrasyonlarında Trolox standart çözeltileri kullanılarak elde edilmiş ve sonuçlar mg Trolox eşdeğeri/g örnek cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.8 Antioksidan aktivitenin emülsiyon sisteminde incelenmesi

3.2.8.1 Kekik ekstraktlarının hazırlanması

Emülsiyonlarda kullanılacak ekstraktların hazırlanmasında da diğer analizlerde kullanılan ekstrakt hazırlama metodu kullanılmıştır (Metot 3.2.5). Fakat daha yüksek konsantrasyonda örnek gerektiği için miktarlar değiştirilmiştir. Örnekler laboratuar blenderı (Waring Commercial Blender 7010, Model 31BL91, New Hartford, CT, ABD) ile 1 dakika yüksek hızda öğütülmüştür. 0,5 gr. öğütülmüş örnek test tüpüne koyulup, üzerine 2 ml %80 metanol ilave edildikten sonra 30 saniye vortekslenmiştir. Bu işlemin ardından test tüpleri ultrasonik banyoda (Model B-2200R-1, Branson Cleaning Equipment, Shelton, CT, ABD) oda sıcaklığında 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra 3400 g'de 2 dakika santrifüj (Centrific TM Centrifuge, Fisher Scientific, Fairlawn, NJ, USA) ile berrak üst faz toplanmış ve deneylere kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.2.8.2 Toplam fenol miktarı tayini

Kekik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metoduna (Singleton ve diğ., 1999) göre yapılmıştır. Bu metoda göre 50 µL ekstrakt, 250 µL seyreltilmemiş Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılmıştır. 1 dakika sonra, 750 µL 20% (w/v) soydum karbonat çözeltisi eklenmiş, ardından saf su ile hacim 5 ml'ye tamamlanmıştır. Test tüpleri vortekslenmiş ve 2 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra 760 nm'de spektrofotometrede (Genesys 20, Thermo Spectronic, Waltham, MA, ABD) absorbans ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g örnek cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.8.3 DPPH tayini

Serbest radikal yakalama aktivitesinin bulunmasında Atoui ve diğ. (2005) tarafından kulanılan DPPH yöntemi kullanılmıştır. Kısaca, 1,95 ml metanolde hazırlanmış DPPH çözeltisi (6×10^{-5} M) 50 µL ekstrakt (stok çözeltinin 0,15-3 mmol GAE/L metanol konsantrasyonları) ile karıştırılmıştır. Ekstraktlar ile aynı konsantrasyonlardaki askorbik asit ve BHT referans olarak kullanılmıştır. Karışımlar 1 dakika karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlıkta 1 saat tutulmuştur. Daha sonra örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçülmüştür.

3.2.8.4 Emülsiyon hazırlama

Su içinde yağ (O/W) emülsiyonu 10 mM fosfat tampon çözeltisine (pH 7,0) %5 mısır yağı ilave edilerek hazırlanmıştır. Surfektan olarak Tween 20, surfektan/yağ oranı 1:10 olacak şekilde ilave edilmiştir. Tampon çözelti, Tween 20 ve mısır yağı içeren karışım bir behere koyularak, el tipi homojenizatör (M133/1281-0, Biospec Products, Bartlesville, İngiltere) ile 2 dakika yüksek hızda karıştırılmış ve ilk emulsiyon hazırlanmıştır. Daha sonra, bu emülsiyonun partikül boyutları bir mikrofiludizer (Microfluidics, Newton, MA, ABD) ile 10 kbar basınç altında 3 kez devirdaim yapılarak küçültülmüştür. Homojenizasyon sırasında homojenizasyon haznesi ve bobini buz ile kaplanarak sıcaklığın <25 °C olması sağlanmıştır.

Baharat ekstraktları 100 ml'lik beherlere koyularak nitrojen gazı altında metanol uçurulmuştur. Ardından hazırlanan emulsiyonlar beherlere eklenerek elektronik karıştırıcıda (Model 2008, Fisher Scientific, Raleigh, NC, ABD) 500 rpm'de 1 saat karıştırılmıştır.

Ekstraksiyon işleminden doğabilecek farklılıkları önlemek için tüm ekstraktlar (UVC'ye maruz kalma süresi 0,16 ve 64 dk) emulsiyonlara eşit fenolik konsantrasyonda (25 µg GAE/vial) eklenmiştir. Emulsiyon hazırlanırken kullanılan konsantrasyonlar Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. 1 ml emulsiyon 10 ml'lik GC viallerine koyularak PTFE/Silikon (Politetrafluoroetilen/Silikon) septalı alimunyum kapaklar ile kapatılmış ve analiz gününe kadar 55 °C'de karanlıkta saklanmıştır. Her deney gününde lipid hidroperoksitleri ve hekzanal oluşumunu gözlemlemek için 3 vial kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 : Emülsiyonlarda kullanılan toplam fenolik konsantrasyonlar.

Süre (dk)	UVC dozu (J/cm2)	Konsantrasyon (ppm)	GAE (mg /L emülsiyon)	GAE (mmol/L emülsiyon)
0	0	500	25	0,15
16	7,7	481	25	0,15
64	30,72	468	25	0,15
0	0	1000	50	0,30
16	7,7	960	50	0,30
64	30,72	935	50	0,30

3.2.8.5 Lipid hidroperoksitlerinin ölçümü

Emulsiyon örneklerindeki lipid hidroperoksit oluşumunun analizi için Shanta ve Decker (1994) tarafından kullanılan yöntem adapte edilmiştir. 0,3 ml emülsiyon örneği 1,5 ml isooktan/2-propanol çözeltisi (3:1 v/v) ile karıştırılarak vortekslenmiştir (10 saniye, 3 kez). Karışmış çözelti 3400 g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjlendikten sonra üst organik faz (0,2 ml ya da daha az, oksitlenme derecesine göre) 2,8 ml metanol/butanol çözeltisi (2:1, v/v) ile karıştırılarak, karışıma 15 µL 3,94 M amonyum tiyosiyanat ve 15 µL of ferrous demir çözeltisi eklenmiştir. Ferrous demir çözeltisi elde etmek için, her deney gününde eşit miktarda 0,132 M $BaCl_2$ (0,4 M HCl içinde) ve 0,144 M $FeSO_4$ karıştırılarak santrifüjlenmiş ve üst berrak faz alınmıştır. Karışım vortekslendikten sonra, 20 dakika inkübasyon sonrası 510 nm'de spektrofotometrede absorbans ölçülmüştür. Hidroperoksit konsantrasyonları, kumen hidroperoksit ile yapılan standart eğrisi ile hesaplanmıştır.

3.2.8.6 Hekzanal analizi

Hekzanal ölçümü Panya ve diğ. (2010) tarafından kullanılan metoda göre yapılmıştır. Çalışmada otoinjektörü (AOC-5000, Shimadzu, Tokyo, Japonya) olan bir gaz kromotografi cihazı (GC, Shimadzu GC-2014, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. GC vialleri ölçüm öncesi ısıtıcı bölmede 55°C'de 10 dakika ısıtılmıştır. Daha sonra viale 50/30 μm DVB/Carboxen/PDMS (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane) SPME (stable flex solid phase microextraction) fiber (Supelco, Bellefonte, PA, ABD) enjekte edilerek 2 dakika uçucuları absorbe etmiştir. Enjeksiyon split modda ve split mod 1:7 olacak şekilde yapılmıştır. Uçucular silika kapiler kolonda (30 m × 0.32 mm i.d. × 1 μm) (Equity-1, Supelco) 65 °C'de 10 dakikada ayrıştırılmıştır. 250 °C'de alevde iyonlaştırma dedektörü kullanılmıştır. Hekzanal konsantrasyonları hekzanal ile yapılan standart eğri kullanılarak pik alanlarından hesaplanmıştır.

3.2.8.7 UV spektrum taraması

UVC uygulamasının herhangi bir spektral değişikliğe sebep olup olmadığını anlamak için tüm ekstraktlar UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-2101PC, Kyoto, Japan) 225-450 nm arasında kullanılarak taranmıştır.

3.2.9 Nem/bağıl nem/su aktivitesi tayini

Baharat örneklerinin nem ölçümleri infrared nem tayin cihazı (IR35, Denver Instruments, Fisher Scientific, ABD) ile yapılmıştır. Ölçüm kabına 2 g. örnek tartılmış ve 106 ºC'de analiz yapılmıştır.

İnokülasyon çalışmasında ortamın bağıl nemi bir veri kaydedicisi (HOBO U12-013 Temp/RH/2 External Data Logger, Onset Computer Corporation, Bourne, MA, ABD) ile her 5 dakikada bir ölçüm alacak şekilde kaydedilmiş ve ortalama değer kullanılmıştır.

İnokülasyon çalışmasında örneklerin su aktivitesi (a_w) ise Lab master aw cihazı (Novasina, Lachen, İsviçre) ile belirlenmiştir. Örnekler ölçüm haznesine yerleştirildikten sonra 25 °C'de a_w değerleri ölçülmüştür. Kuru ve nemli örneklerin su aktivitesi değerlerinin belirlenmesi için ışınlanmış örneklere bakteri inokülasyonu yöntemi (Metod 3.2.2.2) sadece TPS kullanılarak uygulanmıştır. Tane karabiber örneklerine ölçüm öncesi öğütme işlemi uygulanmıştır.

3.2.10 Sıcaklık ölçümü

UVC uygulama sırasında örneklerin sıcaklığını belirli bir aralıkta tutabilmek için her uygulamada sıcaklık ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler UV işleminin hemen ardından, örnek cihazın içindeyken 50 cm mesafeden infrared termometre (Quicktemp 826-T4, Testo, Lenzkirch, Almanya) ile yapılmıştır.

3.2.11 Renk ölçümü

UVC ve/veya ozon uygulaması sonrası baharat örneklerindeki renk değişimleri bir kromometre (CR-400, Konica Minolta, Tokyo, Japan) ile 8 mm ölçüm başlığı kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler öncesinde cihaz, beyaz referans plaka (CR-A43, Konica Minolta, Tokyo, Japan) ile kalibre edilmiştir. Örnekler cam bir kaba yerleştirilmiş ve her örneğin üç farklı noktasından Hunter L*, a*, b* değerleri ölçülmüştür. L* ekseni, L*=100 için beyaz ve L*=0 için siyah arasındaki renkleri, a* ekseni, -a* için yeşil ile +a* kırmızı arasındaki renkleri ve b* ekseni ise -b* için mavi ile +b* için sarı arasındaki renkleri göstermektedir. Örneklerin toplam renk değişimi (ΔE) ise 3.2 nolu eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (3.2)$$

3.2.12 Duyusal analiz

Farklı dozlarda uygulanan UVC prosesinin kekik ve karabiber örneklerinin duyusal kalitesine etkisini incelemek amacı ile duyusal analiz yapılmıştır. Duyusal analizler panelistler birbirlerini görmeyecek şekilde birbirlerinden tahta panellerle ayrılmış standart duyusal analiz laboratuarında gerçekleştirilmiştir. Her paneliste kontrol ve farklı UVC dozlarına maruz kalmış olmak üzere üç rakamlı tesadüfi tablo kullanılarak seçilmiş sayılarla kodlanmış 5 örnek içeren 3 set verilmiştir. Panelistlerden sırasıyla bu üç seti karakteristik koku, renk yoğunluğu ve genel beğenilirlik açısından verilen skalaya (1: hiç beğenmedim, 5: ne beğendim ne beğenmedim, 9: çok beğendim) göre değerlendirmeleri istenmiştir. Panelistlerden kokuyu nötrlemesi için örnekler arasında türk kahvesi koklaması istenmiştir. Tüm panelistlere analiz öncesi testin formatı ve skalanın nasıl değerlendirileceği hakkında bilgi verilmiŞtir. Panelistlere sunulan formların örneği EK B'de gösterilmiştir.

3.2.13 İstatiksel analiz

Analizlerden elde edilen veriler SPSS (SPSS 21.0, Chicago, IL, ABD) istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA) ile analiz edilmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi ile örnekler arasındaki farklar $p<0,05$ önem aralığında değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 UVC Uygulamasının Mikrobiyolojik Kaliteye Etkisi

4.1.1 Kekik ve karabiber örneklerinin doğal mikroflorası

Tez çalışmasında kullanılan örnekleri firmadan herhangi bir dekontaminasyon işlemi görmeden alınmıştır. UV işlemi uygulanmadan önce deneylerde kullanılacak olan kekik ve karabiber örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Baharat örneklerinin başlangıç mikrobiyal yükleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 : Baharat örneklerinin başlangıç mikrobiyal yükü (log kob/g).

Mikroorganizma	Kekik	Toz karabiber
Toplam aerobik mezofilik bakteri	4,77±0,05	7,50±0,04
Toplam küf-maya	4,40±0,09	2,73±0,11
Bacillus cereus	2,06±0,06	3,72±0,04
Salmonella	Tespit edilmedi	Tespit edilmedi
Escherichia coli O157:H7	Tespit edilmedi	Tespit edilmedi

Baharatların elde edildiği bitkiler, pek çok mikroorganizma kaynağı olan toprak ve su ile temas halinde olduklarından doğal olarak değişen düzeylerde bakteri, maya ve küf ile kontamine olabilmektedirler (Gecan ve diğ., 1986). Baharatların hasat, işleme, depolama ve taşıma sırasında hijyen kurallarına uyulmaması; kurutma işlemlerinin uygun olmayan şartlarda yapılmasına bağlı olarak mikrobiyal yükleri fazla çıkabilmektedir.

Avrupa Birliği yasal düzenlemelerinde baharatlar ile ilgili herhangi bir mikrobiyolojik standart bulunmamaktadır. Genellikle baharatlarla ilgili düzenlemeler, mevzuat yerine endüstri kılavuzları şeklinde olmaktadır. Codex Alimentarius standartlarına göre baharatların patojen mikroorganizma seviyesinin sağlığı tehdit etmeyecek seviyelerde olması ve 25 g. üründe *Salmonella* bulundurmaması gerekmektedir (CA, 1995). Avrupa Birliğinin 2004/24/EC direktifinde *B. cereus* (hedef değer 10^3 kob/g, mutlak maksimum değer 10^4 kob/g), *C. perfringens* (hedef değer 10^2 kob/g, mutlak maksimum değer 10^3 kob/g), *E. coli* (hedef değer 10^1 kob/g, mutlak maksimum değer 10^2 kob/g), ve *Salmonella* spp. (25

g.'da bulunmayacak) için limitler bulunmaktadır (EC, 2004). Avrupa Baharat Birliği'nin (ESA) yayınlamış olduğu kılavuzunda ise küf-maya (hedef değer 10^5 kob/g, mutlak maksimum değer 10^6 kob/g), *E. coli* (hedef değer 10^2 kob/g, mutlak maksimum değer 10^3 kob/g) ve *Salmonella* spp. (25 g.'da bulunmayacak) için limitler bulunurken; 2011 ve 2015 yılında yapılan revizyonlarda bu limitler kaldırılmış ve yeni kılavuzda patojen mikroorganizma seviyesinin sağlığı tehdit etmeyecek seviyelerde olması gerektiği, diğer mikrobiyolojik şartların ise alıcı ve satıcı arasında kararlaştırılmasının uygun olduğu belirtilmiştir (Muggeridge ve Clay, 2001; ESA, 2015). Amerikada da Amerikan Baharat Ticaret Birliği (ASTA) baharat sektöründe önemli kuruluşlardandır. Bu birliğin baharatlarla ilgili genel kalite standartları olsa da, baharatlardaki mikroorganizmalar için spesifik limitler bulunmamaktadır (Pinkas ve diğ., 2009). Gıdalar için Mikrobiyolojik Spesifikasyonlar Uluslararası Komisyonu'na (ICMSF) göre ise TAMB için hedef değer 10^4 kob/g, mutlak maksimum değer 10^6 kob/g olarak belirlenmiştir. Küf-maya ve koliform için ise hedef değer 10^2 kob/g ve mutlak maksimum değer 10^4 kob/g iken; *E. coli* ve *C. perfringens* için hedef değer 10^2 kob/g ve mutlak maksimum değer 10^3 kob/g olarak belirtilmiştir (ICMSF, 2005). Türk Gıda Kodeksi'nde (TGK) ise 2011 yılında yapılan değişiklikten sonra, baharatlarda koagülaz pozitif stafilokoklar ve *B. cereus* için hedef değer 10^3 kob/g ve mutlak maksimum değer 10^4 kob/g olarak belirlenmiştir. *Salmonella*'nın ise 25 g. örnekte bulunmaması gerekmektedir (TGK, 2011). TGK mikrobiyolojik kriterler tebliğinde 2009 yılında yapılan revizyonla baharatlar için daha önce koyulmuş olan TAMB sayısı limiti (hedef değer 10^4 kob/g, mutlak maksimum değer 10^6 kob/g) ve 2011 yılındaki revizyonla da baharatlardaki küf-maya sayısı için olan limitler (hedef değer 10^4 kob/g, mutlak maksimum değer 10^5 kob/g) kaldırılmıştır.

Çizelge 4.1'de görülen değerler UVC-2 sisteminde kullanılan kekik ve toz karabiber numunelerinin başlangıç yükleridir. UVC-1 sisteminde kullanılan kekik örnekleri başka bir firmadan alınmıştır ve başlangıç TAMB sayısı 4,53 log kob/g olarak bulunmuştur. Çizelgedeki değerlere bakıldığında kekik örneklerinin *B. cereus* sayısının Avrupa Birliğinin 2004/24/EC direktifinde ve TGK'de *B. cereus* için belirtilen hedef değerin (10^3 kob/g) altında olduğu fakat karabiberin *B. cereus* sayısının hedef değerin üstünde olduğu görülmektedir. Kekik ve karabiber örneklerinin TAMB sayısı ise ICMSF'nin belirlediği hedef değerin (10^4 kob/g)

üzerinde bulunmuştur. Karabiber örneklerinin ve kekik örneklerinin küf-maya sayısı da ICMSF'ye göre hedef değer olan 10^2 kob/g'un üzerindedir. Yapılan çalışmalarda, UV ve UV+ozon uygulamalarının kekik ve karabiber örneklerinin TAMB, küf-maya ve *B. cereus* sayılarını azaltmadaki etkinliği araştırılmıştır.

4.1.2 UVC-1 sistemi uygulamalarının kekik ve karabiber örneklerinin doğal florasına etkisi

UVC-1 sistemi tez çalışması kapsamında ilk tasarlanan sistemdir. Bu sistemde kabindeki UV şiddeti 8 mW/cm^2 olarak ölçülmüştür. Sistemin dekontaminasyon potansiyelinin anlaşılması için sistem 16 ve 64 dakika çalıştırılarak kekik, toz ve tane karabiber örnekleri 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozlarında UVC ışınına maruz bırakılmıştır. UV uygulamasıyla baharat örneklerinin TAMB sayısındaki değişim Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik, toz ve tane karabiber örneklerinin TAMB sayısına (log kob/g) etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Baharatlar		
		Kekik	Toz karabiber	Tane karabiber
0	0	4,53±0,18^a	7,48±0,02^a	6,94±0,19^a
16	7,7	3,49±0,19^b	7,00±0,06^b	6,51±0,09^a
64	30,7	3,15±0,03^b	6,72±0,01^c	6,22±0,21^a

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Kekik örneklerinin başlangıç yükü 4,53 log kob/g olarak bulunmuştur. Örnekler 7,7 J/cm^2 dozda UVC ışınına maruz kaldıktan sonra TAMB sayısında 1,04 log kob/g azalma görülmüştür ($p<0,05$). 7,7 ve 30,7 J/cm^2 doz UVC uygulamasından sonra örneklerdeki TAMB sayısı sırasıyla 3,49 ve 3,15 log kob/g olarak bulunmuştur. Fakat 7,7 J/cm^2 doz UVC uygulaması ile karşılaştırıldığında 30,7 J/cm^2 doz UVC uygulamasının TAMB sayısını önemli derecede azaltmadığı görülmüştür ($p>0,05$). 16 dakikadan sonra azalmanın yavaşlaması gölgeleme hipotezi ile açıklanabilir. Bu hipoteze gore, UV ışınına maruz bırakılan ürünün üst tabakalarında mikroorganizmalar UV ışınının etkisi ile ölmekte, fakat sonrasında bu mikroorganizmalar alt tabakalardaki mikroorganizmalara UV ışınının ulaşmasını engellemekte onları gölgelemektedir. Bunun da belli bir süre sonra azalmanın yavaşlamasına sebep olduğu düşünülmektedir (Gómez-López ve diğ., 2007;

Nicorescu ve diğ., 2013). Ayrıca sistemdeki 4 lamba baharat tanelerinin her yüzeyinin UV ışınını görmesi için yeterli gelmemiş olabilir.

Toz ve tane karabiber örneklerinin ise başlangıç TAMB yükünün sırasıyla 7,48 ve 6,94 log kob/g olduğu görülmüştür. Her iki dozda da UVC uygulaması ile toz karabiber örneklerinin TAMB sayısında önemli azalma elde edilmiştir. 7,7 J/cm^2 doz UVC uygulamasından sonra başlangıç yükü 7,48 log kob/g olan toz karabiberin TAMB sayısı 7,00 log kob/g olurken; 30,7 J/cm^2 doz UVC uygulamasından sonra ise TAMB sayısı 6,72 log kob/g olarak bulunmuştur. Başlangıç yükü 6,94 log kob/g olan tane karabiberde 7,7 ve 30,7 J/cm^2 doz UVC uygulaması ile elde edilen TAMB sayıları ise sırasıyla 6,51 ve 6,22 log kob/g olarak saptanmıştır. Toz ve tane karabiberde UVC uygulaması ile elde edilen 0,76 ve 0,72 log kob/g azalma istenilen seviyede olmamıştır.

ICMSF (2005) spesifikasyonuna göre kekik örneklerinin TAMB sayısı 7,7 ve 30,7 J/cm^2 doz UVC uygulamasından sonra hedef değerin (10^4 kob/g) altına düşmüştür fakat karabiber örneklerinin TAMB sayısı her iki dozda UVC uygulamasından sonra da hedef değerin üzerinde kalmıştır. Karabiber en yüksek kontaminasyona maruz kalan baharatlardandır ve başlangıç yükünün yüksek olması sebebiyle TAMB sayısında istenilen seviye ulaşılamamıştır. Bu sebeple çalışmanın devamında UV sisteminin şiddetini arttırmaya yönelik modifikasyonlarla veya bu sistemi ozonla kombine ederek sistemin mikrobiyal dekontaminasyondaki potansiyeli arttırılmaya çalışılmıştır.

4.1.3 UVC-2 sistemi uygulamalarının kekik ve toz karabiber örneklerinin doğal florasına etkisi

UVC-1 sistemine bölüm 3.2.1.2'de ayrıntılı olarak anlatılan modifikasyonların yapılmasıyla elde edilen yeni sistemin (UVC-2) şiddeti 26,7 mW/cm^2 olarak ölçülmüştür. Bu sistemde 16, 32, 64 ve 128 dakika UVC uygulamasıyla elde edilen dozlar ve UVC uygulamasının kekik ve karabiber örneklerinin TAMB, küf-maya ve *B. cereus* yüklerinde sağladığı inaktivasyon düzeyleri Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te görülmektedir.

Akışkan yataklı sistemde verilen havanın örneklerin mikrobiyal yüküne etkisi olup olmadığını incelemek için öncelikle kekik ve karabiber örnekleri en uzun süre olan 128 dakika boyunca sadece hava ile proses edilmiştir. Bu örnekler Çizelge 4.3 ve

4.4'te "Kontrol hava" olarak belirtilmiştir. Fakat filtreden geçen havanın istatistiki olarak mikrobiyal yüke herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Çizelge 4.3 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin doğal mikroflorasına (log kob/g) etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	TAMB	Küf-Maya	*B. cereus*
Kontrol	0	4,77±0,05^a	4,40±0,09^a	2,06±0,06^a
Kontrol hava	0	4,75±0,05^a	4,37±0,11^a	2,04±0,08^a
16	25,7	4,35±0,07^b	3,54±0,19^b	1,98±0,03^{ab}
32	51,4	4,03±0,18^{bc}	3,26±0,39^{bc}	1,90±0,03^{ab}
64	102,8	3,67±0,47^c	3,12±0,06^c	1,83±0,11^{bc}
128	205,6	2,98±0,21^d	3,08±0,31^c	1,75±0,14^c

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Akışkan yataklı UVC uygulamasında kekik örneklerine uygulanan tüm dozlarda TAMB sayısının kontrol örneklerinden istatistiki olarak önemli derecede farklı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Kekik örneklerine 25,7 J/cm^2 dozda UVC ışını uygulandıktan sonra örneklerin TAMB sayısında 0,40 log kob/g azalma elde edilmiş ve TAMB sayısı 4,35 log kob/g'a düşmüştür. 51,4 ve 102,8 J/cm^2 dozda UVC uygulamasından sonra ise kekik örneklerindeki TAMB sayısında sırasıyla 0,72 ve 1,08 log kob/g azalma olmuş ve TAMB sayısı 4,03 ve 3,67 log kob/g olmuştur. 102,8 J/cm^2 ve üzeri dozda UVC uygulamasından sonra ICMSF'ye göre kekik örneklerinin TAMB sayısı hedef değerin (10^4 kob/g) altına düşmüştür (ICMSF, 2005). Kekik örneklerine en çok 205,6 J/cm^2 dozda UVC ışını uygulanmış ve bu uygulamayla kekik örneklerinin TAMB yükünde sağlanan maksimum inaktivasyon düzeyi 1,77 log kob/g olarak bulunmuştur.

Kekik örneklerinin başlangıç küf-maya sayısı 4,37 log kob/g olarak bulunmuştur. Bu değer ICMSF'ye göre hedef değerin (10^2 kob/g) üzerindedir. Uygulanan tüm UVC dozlarında bu değerin altına düşülememiştir. 25,7 J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla kekik örneklerinin küf-maya sayısında 0,83 log kob/g azalma sağlanmış ve örneklerin küf-maya sayısı 3,54 log kob/g olarak bulunmuştur. Fakat 25,7 J/cm^2 dozda elde edilen hızlı azalmanın dozun arttırılmasıyla devam etmediği görülmüştür. Kekik örneklerinin küf-maya sayısında maksimum azalma 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla elde edilmiştir. Başlangıçta 4,37 log kob/g olan küf-maya sayısında 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla 1,29 log kob/g azalma sağlanmış ve örneklerin küf-maya sayısı 3,08 log kob/g olmuştur.

TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde baharatlar için *B. cereus* sayısında hedef değer 10^3 kob/g olarak belirtilmiştir (TGK, 2011). Çalışmada kullanılan kekik örneklerinin başlangıç *B. cereus* sayısının TGK'ya uygun olduğu saptanmıştır. Kekik örneklerinin başlangıç *B. cereus* sayısında 102,8 J/cm^2 dozda UVC uygulamasına kadar istatistiki olarak önemli bir azalma tespit edilememiştir. 102,8 ve 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulandığında ise kekik örneklerinin başlangıçta 2,04 log kob/g olarak bulunan *B. cereus* sayısında 0,21 ve 0,29 log kob/g azalma sağlanarak *B. cereus* sayısı 1,83 ve 1,75 log kob/g'a düşmüştür. *B. cereus* fakültatif aerobik, sporlu bir bakteridir. Olumsuz koşullara ve dezenfeksiyon işlemlerine oldukça dayanıklı olduğu bilinmektedir. Bu sebeple, UVC uygulaması ile istenilen seviyede bir azalma elde edilememiş olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.4 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) toz karabiberin doğal mikroflorasına (log kob/g) etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	TAMB	Küf-Maya	*B. cereus*
Kontrol	0	7,50±0,04^a	2,73±0,11^a	3,72±0,04^a
Kontrol hava	0	7,47±0,08^a	2,75±0,12^a	3,72±0,02^a
16	25,7	7,03±0,07^b	2,17±0,03^b	3,50±0,11^b
32	51,4	6,79±0,11^c	1,99±0,13^b	3,36±0,08^{bc}
64	102,8	6,63±0,14^{cd}	1,91±0,10^b	3,24±0,09^{cd}
128	205,6	6,47±0,15^d	1,59±0,26^c	3,21±0,12^d

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Karabiber örneklerinin başlangıç TAMB sayısı 7,47 log kob/g olarak bulunmuştur ve uygulanan tüm UVC dozlarında TAMB sayısında önemli bir azalma saptanmıştır ($p<0,05$). Karabiber örnekleri 25,7 J/cm^2 dozda UVC ışınına maruz kaldıktan sonra TAMB sayısında 0,44 log kob/g azalma elde edilerek, örneklerin TAMB sayısı 7,03 log kob/g olmuştur. 51,4 ve 102,8 J/cm^2 dozda UVC uygulamasından sonra ise örneklerin TAMB yükündeki azalma sırasıyla 0,68 ve 0,84 log kob/g olmuş ve TAMB sayıları sırasıyla 6,79 ve 6,63 log kob/g olarak bulunmuştur. UVC dozunun artmasıyla karabiber örneklerinin TAMB sayısında elde edilen azalma artmış ($p<0,05$) ve 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulandığında TAMB sayısında 1,00 log azalma sağlanarak TAMB sayısı 6,47 log kob/g'a kadar düşmüştür. Fakat elde edilen 1,00 log kob/g azalma istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) olsa da toz karabiber için istenilen dekontaminasyon seviyesine ulaşılamamıştır. ICMSF'ye göre TAMB sayısı için hedef değer 10^4 kob/g'dır (ICMSF, 2005).

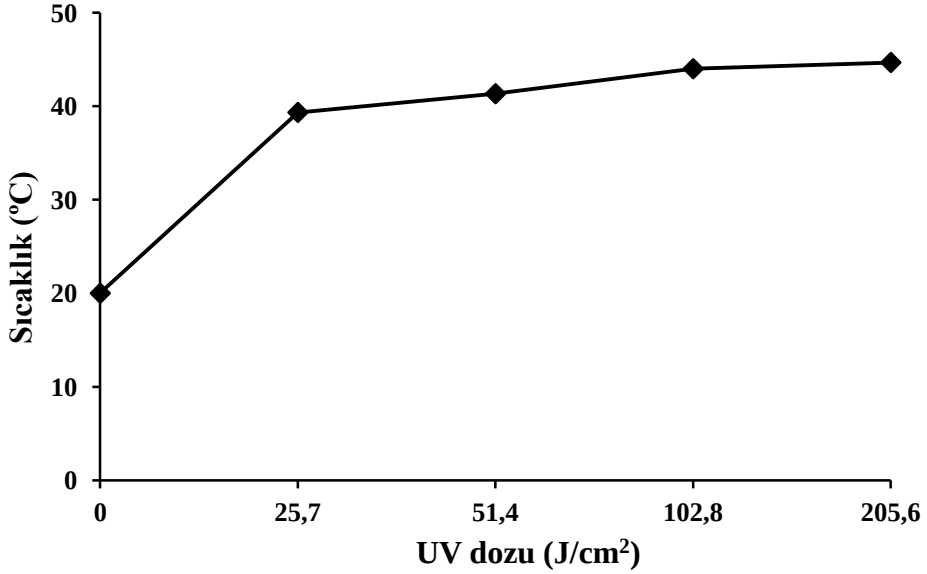
Karabiber örneklerinin küf-maya sayısı ise başlangıçta 2,73 log kob/g olarak tespit edilmiştir. 25,7 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile karabiber örneklerinin küf-maya sayısı 0,58 log kob/g azalarak 2,17 log kob/g'a düşmüştür ($p<0,05$). Fakat sonrasında dozun 102,8 J/cm^2'ye kadar arttırılması ile küf-maya sayısında istatistiki olarak önemli bir azalma tespit edilmemiştir ($p>0,05$). 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile ise karabiber örneklerinin küf-maya sayısında 1,16 log kob/g azalma sağlanmış ve küf-maya sayısı 1,59 log kob/g olarak saptanmıştır. 51,4 J/cm^2 ve üzeri dozdaki tüm UVC uygulamalarında karabiber örnelerinin küf-maya sayısı ICMSF'ye göre hedef değer olan 10^2 kob/g'ın altına düşmüştür.

Karabiber örneklerinin başlangıç *B. cereus* seviyesi 3,72 log kob/g olarak bulunmuştur. Karabiberin TAMB sayısı gibi *B. cereus* sayısı da genellikle diğer baharatlardan yüksek seviyelerde olmaktadır (Tainter ve Grenis, 2001). Bu çalışmada da karabiberin örneklerinin *B. cereus* sayısı kekik örneklerine göre yüksek bulunmuştur. Karabiber örneklerinde *B. cereus* için elde edilen azalma TAMB ve küf-maya sayısına göre daha düşük seviyelerdedir. TGK'da baharatlarda *B. cereus* için hedef değer 10^3 kob/g olarak belirlenmiştir (TGK, 2011). Karabiber örneklerinin başlangıç *B. cereus* sayısı hedef değerin üzerinde çıkmıştır. *B. cereus* UVC uygulamasına direnç göstermiştir. 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile karabiberdeki *B. cereus* sayısı 0,51 log kob/g azalarak 3,21 log kob/g'a inmiştir. UVC uygulaması ile *B. cereus* sayısında istatistiki olarak önemli bir azalma sağlansa da($p>0,05$) çalışılan dozlar hedef değer olan 3 log kob/g'a ulaşmak için yeterli olmamıştır.

Literatürde UVC uygulamasının baharatların mikrobiyal dekontaminasyonunda kullanımını araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Hidaka ve Kubota (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, hububat tanelerinin mikrobiyal dekontaminasyonu amacıyla UVC ışınlarının kullanıldığı bir ekipman tasarlanmıştır. Hububat taneleri konveyör bant üzerinde, 254 nm dalga boyu ve 9,7 mW/cm^2 dozda UVC ışınlarına maruz bırakılıp sistem içinde sürekli sirküle edilerek konveyör banttan geçirilmiştir. Bu sistem kullanılarak bakteri ve küflerde 1 log kob/g inaktivasyon için gerekli sürenin sırasıyla 6,3 ve 5,6 saat olduğu tespit edilmiştir. Bu da bakteriler ve küfler için sırasıyla 220 ve 206 J/cm^2 doz UVC uygulamasına denk gelmektedir. Bu çalışmanın sonuçları, elde ettiğimiz veriler ile benzemektedir. Bizim çalışmamızda

sistemin UV şiddeti arttırılarak bu dozu elde etmek için gerekli süre 2 saate düşürülmüştür.

Kimyon tohumları ile yapılan bir çalışmada ise örneklere 10,5 mW/cm^2 şiddetindeki UVC ışınları ile 1 saat muamele edilmesinin (37,8 J/cm^2) TAMB yükünde 0,6 log kob/g azalma sağladığı bildirilmiştir. Süreyi arttırmanın ise TAMB sayısında önemli bir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir (Erdoğdu ve Ekiz, 2011). Belli bir seviyeden sonra azalmanın durmasının sebebinin sistem tasarımından ileri geldiği düşünülebilir. Bizim çalışmamızda baharat tanelerinin sabit durmayıp, akışkan yatak sayesinde sistem içinde sürekli hareket halinde olması sağlanmıştır. Bu şekilde baharat tanelerinin her yüzeyinin UVC ışınına maruz kalması sağlanarak daha fazla azalma sağlanmış olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kullandığımız sistemin şiddeti daha yüksek (26,7 mW/cm^2) olacak şekilde tasarlanmış ve daha yüksek dozda (205,6 J/cm^2) UVC uygulanmıştır. Bu şekilde kekik ve karabiber örneklerinin TAMB sayılarında sırasıyla 1,77 ve 1,00 log kob/g azalma sağlanmıştır. İki çalışmada kullanılan baharatların farklı olması ve dolayısıyla baharat tanelerinin boyut ve yüzey şekillerinin farklı olması da uygulamaların sonucunu etkilemiş olabilir.



Şekil 4.1 : UVC uygulamaları sırasında sıcaklığın doz ile değişimi.

Yaptığımız çalışmada, UVC uygulamalarında sıcaklığın prosesi etkilememesi için sıcaklık sürekli kontrol edilmiştir ve doz artışı ile sıcaklık değişimi Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Bir fan yardımıyla sistemin sıcaklık artışı engellenmiş ve sıcaklığın yaklaşık 40 ºC civarında kalması sağlanmıştır. Literatürde *E.coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* inoküle edilen kırmızı biberlerin mikrobiyal inaktivasyonunda 2 farklı

dozda UVC uygulaması (2 ve 4 J/cm^2) ve 4 farklı sıcaklık uygulaması (35, 45, 55 ve 65 ºC) ayrı ayrı ve kombine edilerek kullanılmıştır. 35 ve 45 ºC sıcaklık ile UVC uygulaması kombine edildiğinde inaktivasyonda istatistiki olarak önemli bir farka sebep olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). 55 ve 65 ºC'de sıcaklık ve UVC uygulaması kombinasyonunun ise sinerjistik etkisinin olduğu saptanmıştır. Fakat sıcaklık 65 ºC'ye çıktığında kırmızıbiberlerin kapsaisinoit içeriği ve nem değerlerinde istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Cheon ve diğ., 2015). Bu çalışmada da görüldüğü gibi UVC uygulamalarında ürünün kalitesini korumak için çok yüksek sıcaklıklara çıkılmaması gerekmektedir.

4.1.4 UVC ve ozon kombine sistemlerinin karabiber örneklerinin doğal florasına etkisi

UVC-1 sisteminin etkinliğini arttırmak için yapılan diğer bir çalışmada ise bu sistem ozon sistemi ile birleştirilmiştir. Ozon ve UVC sistemleri tane karabiberin mikrobiyal dekontaminasyonunda tek başına, arka arkaya ya da aynı anda uygulanmıştır ve iki sistemin katkı veya sinerjistik etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Yapılan ön denemelerde 15 ppm'den düşük ozon konsantrasyonları için TAMB sayısında önemli bir düşme görülmediğinden ve tasarlanan sistemde daha yüksek ozon konsantrasyonlarına çıkılamadığından bu konsantrasyonun kullanılmasına karar verilmiştir. Akışkan yataklı sistem manuel çalıştırıldığı için toplam çalışma süresi iki saat olarak ayarlanmıştır. Tek başına ozon ve UVC uygulamaları 1 saat yapılmış, ozon ve UVC'nin arka arkaya kullanımı ile ise sistem maksimum 2 saat çalıştırılmıştır. Uygulamaların tane karabiberin TMAB yükünü azaltmadaki etkinliği Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 : UVC ve ozon uygulamalarının tane karabiberin TMAB yükü (log kob/g) üzerine etkisi.

Uygulama yöntemi	Uygulama	TAMB	Azalma
Kontrol*	2 saat hava	$6,97\pm0,07^{a}$	-
Ozon (15 ppm)	1 saat	$6,56\pm0,17^{b}$	$0,41\pm0,17^{a}$
UVC (28,8 J/cm^2)	1 saat	$6,20\pm0,19^{c}$	$0,77\pm0,19^{b}$
Ozon→UVC	1 saat UVC, 1 saat ozon	$6,23\pm0,13^{c}$	$0,74\pm0,13^{b}$
Ozon+UVC	1 saat UVC ve ozon birlikte	$6,31\pm0,02^{c}$	$0,66\pm0,02^{ab}$

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi tane karabiberin TAMB yükünde en fazla azalma 1 saat UVC uygulamasıyla sağlanmıştır. Kontrol örneğinde 6,97 log kob/g olan TAMB

sayısı, 1 saat UVC uygulamasıyla 0,77 log kob/g azalmış ve 6,20 log kob/g olarak bulunmuştur ($p<0,05$). 1 saat ozon uygulamasıyla ise tane karabiberin TAMB sayısı 0,41 log kob/g azalarak 6,56 log kob/g olmuştur ($p<0,05$). Ozon ve UVC uygulamasının aynı anda 1 saat ya da arka arkaya toplam 2 saat kombine uygulamasının tane karabiberin TAMB sayısını azaltmada istatistiki olarak önemli olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Sonuç olarak, ozon ve UVC sistemlerini kombine etmenin inaktivasyon düzeyinde önemli bir değişiklik sağlamadığı, tane karabiberin TAMB sayısını azaltmada herhangi bir ilave katkı etkisinin olmadığı görülmüştür.

Dhillon ve diğ., (2010) akışkan yataklı sistem kullanılarak ozon uygulamasının durum buğdayının TAMB ve küf-maya yükünü azaltmadaki etkinliğini araştırmıştır. Başlangıç TAMB ve küf-maya sayısı sırasıyla 5,4 ve 4,9 log kob/g olan %9,7 nem içeren 400 g. buğdaya 6 ppm ozon ile 14 dakika boyunca akışkan yataklı sistemde muamele edilmiştir. Çalışma neticesinde ozon uygulaması ile buğdayın TMAB ve küf-maya yükünde önemli düzeyde bir azalma sağlanamadığı bildirilmiştir ($p>0,05$). Aynı sistemle yapılan başka bir çalışmada da nemi %16,5 olacak şekilde nemlendirilmiş kara buğdaya hemen veya kapalı bir kapta 1 gece bekletildikten sonra ozon gazı ile muamele edilmiştir. Bu çalışma neticesinde de kara buğday örneklerinin TMAB ve küf-maya yükünde önemli düzeyde bir azalma sağlanamadığı bildirilmiştir ($p>0,05$). Daha sonra kara buğdayın yüzeyine elektron mikroskobuyla bakılmış ve yüzeyinin pürüzlü olduğu ve çatlaklar bulunduğu görülmüştür. Ozonun yarılanma ömrünün kısa olduğu için bu çatlaklardaki mikroorganizmalara ulaşamadığı ve bu gölgeleme etkisinden dolayı ozon gazı uygulamasında istenilen sonucun elde edilemediği düşünülmüştür (Dhillon ve diğ., 2012).

Tane karabiberin doğal florasına ozon uygulamasının etkisini araştıran bir çalışmada ise örneklere 0,2-15 ppm arası ozon gazı 60 dakika boyunca uygulanmış fakat TAMB sayısında önemli bir azalma tespit edilmemiştir (Özlük-Çılak ve Halkman, 2014). Altıparmak ve diğ., (2014) ise yaptıkları çalışmada 15 ve 20 ppm ozon gazını 60 dakikaya kadar tane karabiber örneklerine uygulamış ve TAMB sayısında 0,8-2 log kob/g; küf-maya sayısında ise 0,36-0,9 log kob/g arasında azalma saptamıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise keklik otu örneklerine 2,8 ve 5,3 ppm ozon gazı ile 120 dakikaya kadar muamele edilmiştir. 120 dakika boyunca 2,8 ppm ozon gazı uygulaması ile TAMB sayısında 2,7 log kob/g, küf-maya sayısında ise 1,8 log

azalma görülmüştür. Keklik otuna 90 dakika 5,3 ppm ozon gazı uygulaması ise 3,2 log kob/g azalma sağlamıştır (Torlak ve diğ., 2013).

Yaptığımız çalışmada da 15 ppm konsantrasyonunda ozon tek başına 1 saat uygulandığında karabiberin TAMB sayısında 0,41 log kob/g azalma elde edilmiştir. Ozun uygulamasını UVC uygulaması ile birleştirince, ozonun hasar verdiği hücrelerin UVC tarafından inaktive edilebileceği ve bu kombinasyonun sinerjistik etkisinin olabileceği düşünüldüyse de istenilen düzeyde inaktivasyon sağlanamamıştır.

4.1.5 *E. coli* inoküle edilmiş kekik ve karabiber örneklerinde mikrobiyal inaktivasyon

4.1.5.1 *E. coli* inokülasyonunda nispi nemin etkisi

Literatüre bakıldığında inokülasyon çalışmalarında farklı kültür hazırlama yöntemleri ve inokülasyon teknikleri kullanıldığı görülmektedir. Bu farklılıklar sonuçların kıyaslanmasını güçleştirmektedir. Fakat farklı boyut, şekil ve morfolojideki örnekler için tek bir yöntemin uygulanması da mümkün olmamaktadır.

İnokülasyon solüsyonunu hazırlamada kullanılan taşıyıcı madde mikroorganizmanın ürün yüzeyine tutunma yeteneğini etkilemektedir. Bir çok farklı taşıyıcı madde kullanılmakla birlikte en çok kullanılanlar %0,1 pepton ve potasyum fosfat tampon çözeltisidir. Fakat bu çözeltilerle de patojenlerin gerçekte ürüne kontamine olduğu organik doğa koşulları tam olarak sağlanamamaktadır (Beuchat ve diğ., 2003). Başlıca kontaminasyon kaynakları olarak toz, aerosoller, yağmur suyu, sulama suyu, kanalizasyon, toprak, dışkı, çürümüş bitki materyali, temas yüzeyleri ve hasat zamanı çalışan işçiler sayılabilir (Beuchat, 1996).

İnokülasyon için genellikle kullanılan üç yöntem olduğu görülmektedir; daldırma, püskürtme ve damlatma (Singh ve diğ., 2002). Bu yöntemlerden hangisinin kullanıldığı ve sonrasında uygulanan kurutma yöntemi dezenfeksiyon için kullanılacak yöntemin etkinliğini değiştirebilen önemli basamaklardır. İnokülasyon sonrası kurutma yapılmaması ya da yeterli süre yapılmaması mikroorganizmaların ürüne yapışmamasına sebep olmakta bu da kullanılan dezenfeksiyon yönteminin daha etkin görünmesine sebep olmaktadır (Lang ve diğ., 2004a).

Langh ve diğ. (2004b) yaptıkları çalışmalarda *Escherichia coli O157:H7, Salmonella* veya *Listeria monocytogenes*'in 5 türünün karışımını domatese 3 farklı teknikle de inoküle etmişler ve arkasından 1 ya da 24 saat 22 ºC'de kurutma işlemine maruz bırakmışlardır. Çalışmalar neticesinde domates örneklerinde *E.coli* ve *Salmonella* için daldırma yöntemiyle damlatma ve püskürtme yöntemine göre önemli derecede yüksek populasyonlar elde edilmiştir. Damlatma ve püskürtme yöntemleri arasında ise önemli bir fark bulunmamıştır. *L. monocytogenes* için ise en yüksek populasyonun sağlandığı yöntem sırasıyla daldırma>damlatma>püskürtme şeklinde olmuştur. Tüm patojenler için de 1 saat kurutma sonrası elde edilen populasyon 24 saat kurutmaya göre önemli derecede yüksek çıkmıştır.

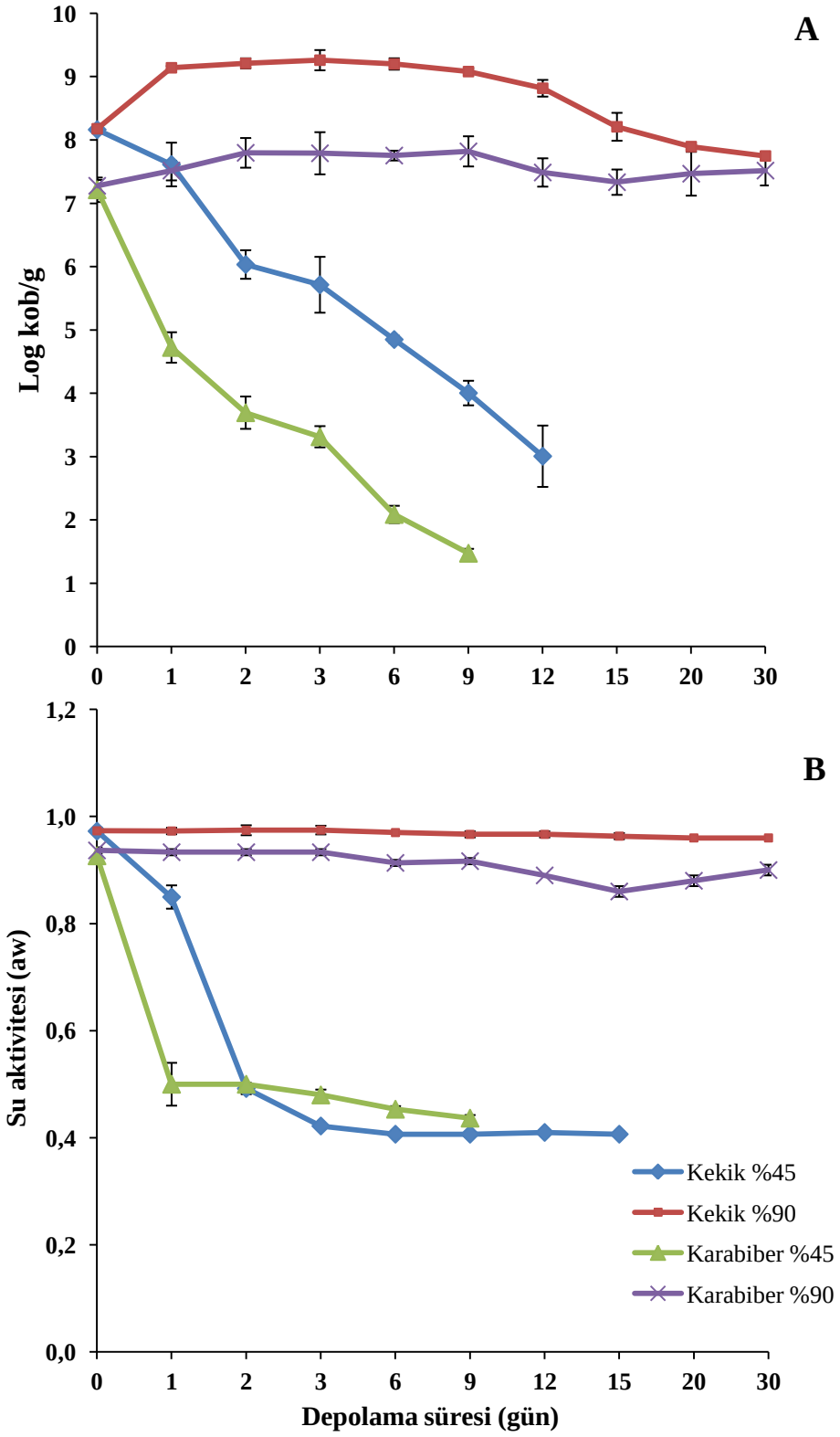
Bu sonuçlar göstermektedir ki inokülasyon metodu ve kurutma zamanı patojenlerin sayısını etkilemektedir. Ayrıca farklı patojenler ve farklı ürünler için de sonuçlar değişmektedir. Langh ve diğ. (2004a) başka bir çalışmasında marul ve maydanoz için aynı inokülasyon işlemlerini uyguladıktan sonra 22 ºC'de 2 saat ve 4 ºC'de 22 saat kurutma uyguladıktan sonra kurutma zamanının etkisinin bir önceki domates çalışmasındakinden daha az olduğunu bulmuştur. Bu etki kurutma periyodunun farklılığından ya da ürünlerin yüzey morfolojisinden kaynaklanıyor olabilir.

Alfalfa tohumları ile yapılan çalışmalarda da *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri daldırma yöntemi ile inoküle edilmiştir ve inokülasyon sonrası yapılan ön denemeler sonucunda örnekler için uygun kurutma şartlarının 72 saat 22 ºC'de çeker ocakta kurutulduktan sonra 5 ºC'de 1 hafta bekletmek olduğu bulunmuştur. Bu şekilde bakteri populasyonlarını stabilize edilerek stresli hücre sayısının azaltılması sağlanmıştır (Scouten ve Beuchat, 2002; Beuchat ve Scouten, 2002).

Bu çalışmaların sonuçlarından da görüldüğü gibi inokülasyon çalışmalarında kullanılan mikroorganizma ve ürünün özellikleri dikkate alınarak sıcaklık, nispi nem ve kurutma zamanı gibi faktörlerin etkisini değerlendirmek gerekmektedir (Beuchat ve diğ., 2003).

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda baharatlara *E.coli* inokülasyonunda daldırma yöntemi ile inokülasyon yapılmıştır. UV ve/veya ozonlama prosesleri öncesinde *E. coli*'nin kekik ve karabiber örneklerinde stabil hale gelmesi için uygun koşullar araştırılmıştır. Öncelikle *E. coli* inokülasyonu sonrası kekik ve karabiber örneklerine nispi nemin etkisi araştırılmıştır. Farklı nisbi nem (%45-%90)

değerlerinde 25 ˚C'de depolanan inoküle kekik ve karabiberlerin *E. coli* yükleri ve sahip oldukları su aktivitesi değerleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 : İnokülasyon yapılmış kekik ve tane karabiber örneklerinde nisbi nem ve depolama süresiyle a) *E. coli* sayısının logaritmik değişimi b) su aktivitesinin değişimi.

Bu grafiklerden görüldüğü gibi 25 ˚C'de düşük (%45) nispi nemde *E. coli* sayısı sürekli düşmekte ve stabil hale gelmemektedir. Yüksek (%90) nispi nemde ise *E. coli* sayısı 30 gün depolama boyunca aynı seviye de kalmaktadır. Örneklerin su aktiviteleri de bu sonuçlarla paralellik göstermektedir. Yüksek nemde *E. coli* sayısı sabit kalsa da örnekler kurumadığından bu şekilde ürünlere prosese uygulamak gerçeği yansıtmayacağı düşünülmüş ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar neticesinde karabiber ve kekik örneklerine yapılacak kurutma işlemi tasarlanmıştır.

E. coli sayısının 25 ˚C'de bile hızla düşmesi bakterilerin ortama adaptasyon sağlayamamış olmasındandır. Baharatlarda doğal olarak bulunan bakterilerin sıcağa ve diğer uygulamalara daha dayanıklı olmasının sebebinin oluşturdukları biyofilmler olabilir. Bakteri tarafından salgılanan ekzopolisakkaritlerin oluşturduğu kapsül tabaka bir yüzeye yapışarak matriks tabaka oluşturur. Bu tabaka bitki, meyve ve sebze yüzeylerinde bakteri, maya ve küflerin birbirlerine ve yüzeye tutunmasını ve koloni oluşturmasını sağlar (Beuchat, 2002). Bu sayede mikroorganizmalar çevresel koşullara daha dirençli olmaktadırlar.

İnokülasyon sonrası kekik ve karabiber örneklerine uygulanan işlemler Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Öncelikle baharatlar yüksek nemde 24 saat bekletilerek bakterinin ortama adaptasyonu sağlanmıştır. Daha sonra %30 nisbi nemde 24 saat kurutularak baharatlar ilk su aktivitesi ve nem değerlerine ulaşmıştır. Bu işlem basamakları ile inoküle edilen bakterinin yükünde çok hızlı bir düşüş olmadan bakterinin stabil hale gelmesi amaçlanmıştır.

Çizelge 4.6 : Kekik ve tane karabiber örneklerinin *E. coli* (ATCC 25922) inokülasyonu sırasında su aktivitesi, nem ve *E. coli* yükünün değişimi.

		Baharat özellikleri	**İnokülasyon günü**	**%90 RH, 25ºC sıcaklıkta 24 saat bekletme sonrası**	**%30 RH, 30ºC sıcaklıkta 24 saat kurutma sonrası**
Kekik	a_w	0,49±0,02	0,97±0,01	0,96±0,01	0,53±0,02
	% Nem	11,00±0,87	78,20±0,92	79,67±0,37	12,35±0,74
	E. coli yükü	-	8,01±0,13	8,83±0,14	7,96±0,23
Karabiber	a_w	0,54±0,01	0,94±0,01	0,93±0,01	0,53±0,02
	% Nem	3,42±0,13	16,41±0,87	18,02±1,63	3,40±0,12
	E. coli yükü	-	7,16±0,12	7,54±0,16	6,82±0,14

4.1.5.2 UVC-2 sisteminin *E. coli* inaktivasyonuna etkisi

E. coli inokülasyonunun ardından kekik örneklerine farklı dozlarda UVC uygulaması yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Uygulanan tüm UVC dozlarının *E. coli* sayısını önemli derecede azalttığı görülmüştür ($p<0,05$). Uygulanan UVC dozu arttıkça *E. coli* inaktivasyon seviyesi artmıştır. 205,6 J/cm^2 doz UVC uygulamasıyla kekik örneklerinin *E. coli* sayısında 2,61 log kob/g azalma sağlanmış ve başlangıçta 7,03 log kob/g olan *E. coli* yükü UVC uygulamasından sonra 4,42 log kob/g seviyesine düşmüştür.

Çizelge 4.7 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik örneklerine inoküle edilen *E. coli* yükü (log kob/g) üzerine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Log kob/g
Kontrol	0	7,03±0,10^a
16	25,7	6,54±0,11^b
32	51,4	6,13±0,27^c
64	102,8	5,63±0,20^d
128	205,6	4,42±0,22^e

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Baharatlarda *E. coli* inaktivasyonu amacıyla akışkan yataklı sistemde UVC uygulamasının kullanıldığı benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Cheon ve diğ. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 inoküle edilen toz kırmızıbiberlere (*Capsicum annuum* L.) sabit sistemde UVC uygulamasının inaktivasyon etkisi araştırılmıştır. İnokülasyon bir beher içindeki 25 g. kırmızıbibere 1 ml bakteri kültürü ilave edilerek 5 dakika karıştırılıp, çeker ocakta 22 ºC'de örnekler 1 saat kurutularak gerçekleştirilmiştir. İnoküle kırmızıbiber örneklerine 20,4 ve 40,8 kJ/m^2 dozda UVC uygulanmıştır. 20,4 kJ/m^2 UVC uygulamasıyla *S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 sayıları sırasıyla 0,29 ve 0,22 log kob/g azalırken; 40,8 kJ/m^2 dozda UVC uygulamasıyla sırasıyla 0,47 ve 0,36 log kob/g azalma olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada sabit UVC sisteminde ve bizim çalışmamızdakinden daha düşük UVC dozlarında çalışılmıştır. Ayrıca inokülasyon yöntemindeki farklılıklar ve farklı bakteriler ile çalışılmış olduğundan sonuçları karşılaştırmak anlamlı olmamaktadır.

Literatürde taze meyve-sebze ve et ürünleri gibi katı gıdalar ile katı yüzeylere inokülasyon yoluyla yapılan çalışmalar mevcuttur. Kim ve diğ. (2002) yaptıkları çalışmada 500 μW/cm^2 şiddetinde 3 dk. UVC uygulaması (0,6 kJ/m^2) ile *E. coli* O157:H7 inoküle edilen paslanmaz çelik yüzeyde tam inaktivasyon sağlamıştır.

Derili veya derisiz tavuk etine inoküle edilen *E. coli* O157:H7 bakterilerinde de 500 μW/cm^2 şiddetinde 3 dk UVC uygulaması (0,6 kJ/m^2) ile 0,36 ile 1,28 log kob/g arasında azalma sağlanmıştır. Lyon ve diğ. (2007), *L. monocytogenes* inoküle edilmiş tavuk göğüs filetosuna 1,000 μW/cm^2 şiddette 5 dakika UVC uygulamış (0,3 J/cm^2) ve sonrasında örnekleri 4 ˚C'de 24 saat depolamıştır ve örneklerin *L. monocytogenes* yükünde yaklaşık 2 log azalma tespit etmiştir. Başka bir çalışmada da *L. monocytogenes, C. jejuni* ve *S. enterica*'nın Typhimurium serotipiyle, bakteri yükü 6-7 log kob/g olacak şekilde inoküle edilen tavuk göğüs etine 5 kJ/m^2 dozundaki (0,5 J/cm^2) UVC uygulanmıştır. UVC uygulaması sonrasında *C. jejuni, L. monocytogenes* ve *S. typhimurium* populasyonunda sırasıyla 1,26, 1,29 ve 1,19 log kob/g azalma sağlanmıştır (Chun ve diğ. 2010). Başka bir çalışmada da *C. jejuni* inoküle edilen tavuk göğsü etinde 32,9 mJ/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla 0,7 log kob/g azalma tespit edilmiştir (Isohanni ve Lyhs**,** 2009). Yaun ve diğ. (2004), *Salmonella* veya *E. coli* O157:H7 inoküle edilen kırmızı elma, marul yaprağı ve domates yüzeylerine UVC'nin etkinliğini araştırmıştır. 24 mW/cm^2 şiddetindeki UVC uygulaması ile *E. coli* ile inoküle edilen kırmızı elmaların bakteri yükünde 3,3 log kob/g; *Salmonella* ile inoküle edilen domateslerin bakteri yükünde ise 2,19 log kob/g azalma sağlanmıştır. *Salmonella* spp. ve *E. coli* ile inoküle edilen marul yapraklarında da sırasıyla 2,65 ve 2,79 log kob/g düzeyinde azalma bulunmuştur.

Paslanmaz çelik veya tavuk göğsü gibi katı gıdaların yüzeylerinde yapılan inokülasyon çalışmalarında daha düşük UVC dozlarında daha etkili sonuçlar alınmıştır. Bunun nedeninin bu yüzeyler ile baharatların yüzey özelliklerinin birbirinden oldukça farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. UVC ışınları düz zeminlerdeki mikroorganizmalara daha kolay ulaşabilmektedir. Fakat pürüzlü, porlara sahip yüzeylerde UVC ışınları ulaşamamakta ve inaktivasyon istenilen düzeylerde olmamaktadır (Guerrero-Beltrán ve Barbosa-Cánovas, 2004).

Sıvı gıdalarda UVC uygulamasının inaktivasyon etkinliğini araştıran çalışmalar da bulunmaktadır. Hindistan cevizi sütüne inoküle edilen *E. coli* ve *S. typhimurium* bakterilerinin UVC uygulamasıyla inaktivasyonunu araştıran bir çalışmada 30,33 mL/s debide 30 dakika (1,026 kJ/m^2) UVC uygulamasıyla *E.coli* ve *S. typhimurium* yüklerinde 4,1 log kob/ml azalma sağlanmıştır (Ochoa-Velasco ve diğ., 2014). UVC uygulamasının, peptonlu su içerisindeki *E. coli, Listeria innocua* ve *S. cerevisiae* populasyonu üzerindeki inaktivasyon etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada 1,2

kJ/m^2 dozda UVC uygulaması ile *E. coli* ve *L. innocua* populasyonunda sırasıyla 7,2 ve 4,6 log azalma sağlanırken; 0,7 kJ/m^2 dozda uygulama ile *S. cerevisiae* populasyonunda 7,1 log azalma tespit edilmiştir. 3,3 kJ/m^2 dozda uygulama ile ise *E. coli* ve *L. innocua* populasyonunda sırasıyla 8,5 ve 7,2 log azalma sağlanmıştır (Schenk ve diğ., 2011). Peptonlu su ile yapılan başka bir çalışmada ise UVC uygulamasının *L.monocytoge*nes, *E. coli O157:H7,* ve *S. typhimurium* inaktivasyonu açısından etkinliğini değerlendirilmiştir. 250 veya 500 µW/cm^2 şiddetindeki 2 dk. uygulama (0,3 veya 0,6 kJ/cm^2) ile peptonlu su içerisindeki tüm patojenler yaklaşık 5 log düzeyinde inaktive edilirken, 3 dk. uygulama ile *L. monocytoge*nes ve *E. coli O157:H7* yüklerinde sırasıyla 8,39 ve 8,64 log düzeyinde azalma sağlanarak tamamen inaktive edilmiştir (Kim ve diğ., 2002). Yapılan çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, UVC uygulamasının sıvılarda çok daha etkin olduğu görülmektedir. Bunun sebebi UVC'nin su gibi şeffaf sıvılardan geçebilmesi ve hedef mikroorganizmalara ulaşabilmesidir. UVC'nin etkinliği sıvının türüne, sıvının UVC ışınını emme kapasitesine ve içindeki asılı madde miktarına göre değişebilir. Sıvının içinde bulunan katı maddelerin artması UVC ışınının penetrasyon şiddetini azaltır ve daha az mikroorganizmanın UVC ışınını görmesine sebep olur (Guerrero-Beltrán ve Barbosa-Cánovas, 2004).

4.1.5.3 UVC ve ozon kombine sistemlerinin *E. coli* inaktivasyonuna etkisi

Literatürde çeşitli kimyasal uygulamalar (ozon, hidrojen peroksit, klor ve klor bazlı kimyasallar vs.) ile UVC ışını uygulamalarının birlikte kullanılmalarının UVC ışınların mikrobiyal inaktivasyon etkinliğinin arttığını belirten bazı çalışmalar mevcuttur. UVC ışınları bu kimyasal uygulamalar ile kombine edildiğinde antimikrobiyal aktivite üzerine sinerjist etki gösterdikleri belirlenmiştir (Hadjok ve diğ., 2008; Jung ve diğ., 2008).

Bu çalışmada da *E. coli* inküle edilen tane karabiberdeki inaktivasyon etkinliğini araştırmak için, ozon ve UVC sistemleri tek başına, arka arkaya ya da aynı anda uygulanmıştır ve iki sistemin katkı veya sinerjistik etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Tane karabibere uygulanan akışkan yataklı UVC, ozon ve UVC/ozon kombine uygulamalarının *E. coli* inaktivasyonuna etkisi Çizelge 4.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8 : UVC ve ozon uygulamalarının tane karabibere inoküle edilen *E. coli* (log kob/g) yüküne etkisi.

Uygulama yöntemi	Uygulama	*E. coli*	Azalma
Kontrol	2 saat hava	$6,35\pm0,04^{a}$	-
Ozon (15 ppm)	1 saat	$5,53\pm0,09^{b}$	$0,82\pm0,09^{a}$
UVC (28,8 J/cm^2)	1 saat	$5,52\pm0,34^{b}$	$0,83\pm0,34^{a}$
Ozon→UVC	1 saat UVC 1 saat ozon	$4,68\pm0,22^{c}$	$1,67\pm0,22^{b}$
Ozon+UVC	1 saat UVC ve ozon birlikte	$4,97\pm0,14^{c}$	$1,38\pm0,14^{b}$

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Tek başına 1 saat ozon ya da UVC uygulamaları *E. coli* yükünde eşit seviyede inaktivasyon sağlamıştır. Hem 1 saat UVC uygulaması hem de 1 saat ozon uygulaması tane karabiber örneklerinin *E. coli* yükünü kontrol örneğine göre önemli derecede azaltmıştır ($p<0,05$). Aynı anda 1 saat ozon ve UVC uygulandığında inaktivasyon önemli derecede artmış ve *E. coli* yükünde 1,38 log kob/g azalma sağlanmıştır ($p<0,05$). Tane karabiberin *E. coli* yükünde en fazla inaktivasyon ise ozon uygulamasından sonra UVC uygulaması şeklinde yapılan kombine uygulama ile sağlanmıştır. Ozon uygulamasından sonra UVC uygulaması ile tane karabiberin *E. coli* yükünde 1,67 log kob/g azalma sağlanmış ve başlangıçta 6,35 log kob/g olan *E. coli* yükü 4,97 log kob/g olarak saptanmıştır ($p<0,05$). Bu sonuçlara bakarak UVC ve ozon uygulamalarının birlikte kullanımın, tek tek yapılan uygulamalarla kıyasladığında *E. coli* inaktivasyonunda ilave katkı etki sağladığı görülmüştür.

Kim ve Hung (2012) tarafından yapılan bir çalışmada ozonlu su ile UVC uygulamasının birlikte kullanımının sinerjistik etkisi araştırılmıştır. Ozon ve UVC uygulamalarının tek tek ve kombinasyon halinde kullanılmasınının çiçeği ve dış katmanına *E. coli* O157:H7 inoküle edilen yaban mersini üzerine etkisi araştırılmıştır. Yaban mersinlerine 4000 ppm ozonlu suda 1 dakika ya da 7,95 mW/cm^2 şiddetinde UVC ile 2 dakika (0,954 J/cm^2) boyunca muamele edilmiştir. Ardından ozon ve UVC uygulamalarının sinerjistik etkisini araştırmak için önce ozon sonra UVC ya da önce UVC sonra ozon olacak şekilde kombinasyonlarının etkisini incelenmiştir. Yaban mersininin çiçeği ve dış yüzeyinin başlangıç *E. coli* O157:H7 yükleri 6,38 ve 6,11 log kob/g larak bulunmuştur. Yabanmersininin çiçeği ve dış yüzeyinin *E. coli* O157:H7 yükleri tek başına ozon uygulamasıyla sırasıyla 5,36 ve 4,47 log kob/g'a; tek başına UVC uygulamasıyla ise 4,42 ve 2,02 log kob/g'a düşmüştür. Ozon uygulamasının ardından UVC uygulamasıyla inaktivasyon artmış ve *E. coli* O157:H7 yükleri sırasıyla 3,33 ve 2,58 log kob/g olarak buşunmuştur.

UVC uygulamasının ardından ozon uygulandığında ise *E. coli* O157:H7 yükleri sırasıyla 4,02 ve 2,15 log kob/g olmuştur. Bu verilerden görüldüğü üzere yaban mersininin dış yüzeyi için ozon ve UVC kombinasyonunun katkı ya da sinerjistik etkisi görülmemiştir. Fakat yabanmersini çiçeğinde ozon uygulamasından sonra UVC uygulaması yapıldığında *E. coli* O157:H7 inaktivasyonunda katkı etki sağlanmış ve *E. coli* O157:H7 yükü önemli derecede azalmıştır. Fakat UVC uygulamasından sonra ozon uygulanmasının *E. coli* O157:H7 inaktivasyonunda herhangi bir katkı ya da sinerjistik etkisi görülmemiştir.

Başka bir çalışmada da kümes hayvanları soğutma suyuna kontrolün yükü 7,8 log kob/g olacak şekilde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş ve örnekler ozon, UVC ve arka arkaya ozon ve UVC uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Örneklere 1000 ppm konsantrasyonda ozon gazı ile muamele edildiğinde *E. coli* O157:H7 yükünde 0,7 log kob/g; 117 mW/cm^2 şiddetinde UVC ışını 2 dk. (14 J/ cm^2) uygulandığında ise 2,1 log kob/g azalma görülmüştür. Ozon gazı uygulanmış örneklere aynı şartlarda UVC uygulandığında ise *E. coli* O157:H7 yükünde 2,5 log kob/g azalma bulunmuştur. İki uygulamanın arka arkaya kullanımı *E. coli* O157:H7 yükündeki azalmada artış sağlasa da, UVC dozunun arttırılması bu etkiyi arttırmamıştır. Ozon gazının bu çalışmada beklenildiği kadar etkin olmamasının sebebinin yıkama suyunda bulunan organik ve çözünmüş madde içeriğinin fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çözünmüş organik maddeler ile bakteri hücreleri arasındaki rekabet sebebiyle bakteri hücreleri ozon gazının etkilerinden korunmaktadır (Ngadi ve diğ., 2004).

4.2 UVC Uygulamasının Kimyasal Kaliteye Etkisi

Baharatlara uygulanan mikrobiyal dekontaminasyon yöntemi ile ürünün mikrobiyal yükünde maksimum oranda azalma sağlanırken, aynı zamanda ürünün kimyasal, fiziksel ve duyusal kalite özelliklerinin de mümkün olduğunca korunması ve kayıpları minimum düzeyde tutmak hedeflenmelidir. Bu bölümde UVC-1 ve UVC-2 sistemlerinde yapılan uygulamalarla kekik ve toz karabiber örneklerinin ekstrakları ve uçucu yağlarının toplam fenol ve antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

4.2.1 UVC-1 sistemi uygulamalarının toplam fenol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi

Genellikle gıdalara lezzet kazandırmak amacıyla sıkça kullandığımız baharatlar aynı zamanda doğal antioksidan maddelerdir. Lamiaceae familyasına ait olan kekik içerdiği terpenik bileşenler (mono-,di-,triterpenler), flavonoid ve fenolik asitler nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Kähkönen ve diğ., 1999; Wojdyło ve diğ., 2007). Karabiber de içerdiği flavonoidler, alkoloidler, lignanlar, aromatik bileşikler ve fenolik aminler gibi antioksidan özellik gösteren bileşikler sebebiyle doğal antioksidan olarak kullanılabilir (Suhaj, 2006). Karabiberin uçucu yağı ve oleoresinlerinin güçlü hidrojen verme yeteneği, metal şelatlama ve serbest radikal yakalama etkinliği bulunmaktadır (Kapoor ve diğ., 2009).

Bu bölümde UVC-1 sisteminde uygulanan UVC dozlarının kekik ve toz karabiber örneklerinin ekstraktları ve esansiyel yağlarının antioksidan aktivitelerinde değişime sebep olup olmadığı araştırılmıştır. Kekik ve toz karabiber ekstraktlarının ve esansiyel yağlarının UVC dozuna bağlı olarak antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.9 ve 4.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiberin toplam antioksidan kapasitesine etkisi.

Baharat	Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	mg TE/g
Kekik	0	0	77,26±2,04
	16	7,7	76,67±3,73
	64	30,7	76,59±1,62
Toz Karabiber	0	0	5,09±0,02
	16	7,7	5,08±0,03
	64	30,7	5,06±0,01

Aynı sütunda gösterilen ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır (p>0,05).

UVC-1 sistemi ile 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozda UVC ışınına maruz kalan kekik ve karabiber örneklerinin antioksidan kapasiteleri DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Başlangıçta kekik ve karabiber örneklerinin antioksidan kapasitesi sırasıyla 77,26 ve 5,09 mg TE/g olarak bulunmuştur ve 30,7 J/cm^2 doza kadar UVC uygulamasının kekik ve karabiberin antioksidan kapasitesinde istatistiki olarak önemli bir değişime neden olmadığı görülmüştür (p>0,05).

Literatürde UVC ışınlarının herhangi bir baharatın antioksidan kapasitesine etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Gama ışınlamanın baharatlar üzerine etkisini

araştıran çalışmaların sonuçları ise farklılıklar göstermektedir. Gumus ve diğ. (2011) yaptıkları çalışmada 1,2-5,1 kGy doz aralığında gama ışınlama uygulanan kekik örneklerinin metanol ekstraktlarının toplam fenol miktarı ve DPPH radikali yakalama aktivitesinde düşmeye sebep olduğunu bulmuşlardır. Kekik örneklerine 10 kGy dozda gama ışınlamanın etkisini araştıran iki farklı çalışmada ise kontrol grubu ve ışınlanmış örneklerin metanol ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite açısından önemli bir fark olmadığını tespit etmiştir (Brandstetter ve diğ., 2009; Nagy ve diğ., 2011). Karabiber ile yapılan çalışmalarda 10 ve 30 kGy dozlarda gama ışınlama uygulanan örneklerinin metanol ekstraktlarının toplam fenol miktarı ve DPPH radikalini yakalama kapasitesinde düşme görülmüştür (Polovka ve Suhaj, 2013). Başka bir çalışmada da 5-30 kGy arası dozlarda ışınlama uygulanan karabiber örneklerinin DPPH yakalama aktivitelerinde önemli bir düşme eğilimi görülmüştür (Suhaj ve diğ., 2006). Pérez ve diğ., (2007) 30 kGy dozda gama ışınları uygulanan biberiye örneklerinin antioksidan kapasitesindeki değişimi farklı çözgenler kullanarak ölçmüştür. Metanol kullanılarak hazırlanan biberiye ekstraktlarında kontrol grubu ile ışınlanmış örneklerin antioksidan aktivitesi aynı çıkarken, su ve etanol kullanılarak hazırlanan ışınlanmış örneklerin antioksidan kapasitesinin arttığı görülmüştür. Bunun sebebinin gama ışınlama ile meydana gelen yüksek antioksidan kapasiteye sahip yeni bileşiklerin su ve etanolde daha iyi çözünmesi olabileceği belirtilmiştir.

Bazı baharatların uçucu yağları da içerdiği bileşenlerden dolayı farmakolojide, gıda sanayiinde, kozmetik ve parfümeride kullanılmaktadır. Günümüzde bazı bitkilerin uçucu yağları FDA tarafından GRAS olarak sınıflandırılmıştır. Kekik (*Thymus vulgaris*) ve karabiber (*Piper nigrum*) de bu listededir. Bu sebeple bu baharatların esansiyel yağların alternatif antioksidan olarak kullanımı ile ilgili çalışmalara son yıllarda hız verilmiştir. Bu çalışmada 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulamasının kekik ve karabiber uçucu yağlarının toplam antioksidan kapasitesine etkisi incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.10'da gösterilmiştir.

UVC uygulamasının kekik uçucu yağının toplam antioksidan kapasitesinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Fakat 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulanmış karabiber uçucu yağının toplam antioksidan kapasitesinin kontrol grubundan istatistiki olarak önemli oranda azaldığı saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.10 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiber uçucu yağlarının toplam antioksidan kapasitesine etkisi.

Uçucu yağ	Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	mg TE/g
Kekik	0	0	35,00±1,24^a
	16	7,7	34,47±0,77^a
	64	30,7	34,27±1,32^a
Toz Karabiber	0	0	1,28±0,06^a
	16	7,7	1,21±0,04^{ab}
	64	30,7	1,16±0,05^b

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (p<0,05).

Ayrıca UVC uygulamasının kekik ve karabiberlerin ekstraktları ve uçucu yağlarının IC_{50} değerlerine etkisi incelenmiş ve Çizelge 4.11 ve 4.12'de gösterilmiştir. Kekik örneklerinin IC_{50} değeri karabiber örneklerinden düşük çıkmıştır, bu kekiğin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda da kekiğin karabiberden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Dorman ve diğ., 2000). Kekik ve karabiber ekstraktlarının IC_{50} değeri sırasıyla 2,2 ve 22,2 g/L olarak bulunmuş ve her baharat kendi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IC_{50} değerlerinin UVC uygulamasından etkilenmediği görülmüştür (p>0,05).

Çizelge 4.11 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiberin IC_{50} değerine etkisi.

Baharat	Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Konsantrasyon					IC_{50}
			50 g/L	20 g/L	10 g/L	5 g/L	1 g/L	
Kekik	0	0	-	94,3±0,2^a	94,2±0,2^a	94,0±0,2^a	30,5±0,7^a	2,0±0,0 ^{a}
	16	7,7	-	93,8±0,1^b	93,5±0,2^b	93,3±0,3^b	30,3±1,3^a	2,0±0,1 ^{a}
	64	30,7	-	94,0±0,1^b	93,8±0,1^b	93,7±0,2^a	30,3±0,6^a	2,0±0,1 ^{a}
Toz Karabiber	0	0	91,4±0,3^a	53,3±3,0^a	32,3±0,7^a	16,7±0,9^a	-	22,2±0,2 ^{a}
	16	7,7	91,4±0,5^a	54,7±1,1^a	29,9±0,2^a	15,5±1,1^a	-	22,5±0,3 ^{a}
	64	30,7	90,9±0,2^a	52,1±1,3^a	30,7±1,8^a	15,5±1,3^a	-	22,9±0,4 ^{a}

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır (p<0,05).

Kekik ve karabiber uçucu yağlarının IC_{50} değerlerine bakıldığında, UVC uygulamasının kekik uçucu yağının IC_{50} değerlerinde önemli bir değişme olmadığı (p>0,05) fakat karabiber uçucu yağının IC_{50} değerinin 30,7 dozda UVC uygulamasıyla istatistiki olarak önemli oranda azaldığı saptanmıştır (p<0,05).

Karabiber uçucu yağının antioksidan aktivitesi içerdiği monoterpenler (δ-3-karen, β-pinen, γ-terpineol, limonen) ve siskiterpenlerden (β-karyofilin, β-selinen ve valensen) kaynaklanmaktadır (Dorman ve diğ., 2000; Shadi ve Ambigaipalan, 2015).

Yapılan çalışmalarda gama ışınlamanın karabiber uçucu yağındaki monoterpen ve seskiterpenlerde azalmaya; oksijenli bileşiklerde ise artmaya neden olduğu görülmüştür. Işınlamanın aromatik halkalı terpenlerde oksidasyon yada hidroksilasyona sebep olarak, bu bileşiklerin çift bağları ve fonksiyonel gruplarını yapısal olarak değiştirerek yeni bileşikler oluşmasına sebep olduğu düşünülebilir (Emam ve diğ., 1995; Farag Zaied ve diğ., 1996; Kirkin ve diğ., 2014). Bu teori UVC uygulama için de geçerli olabilir. Fakat literatürde UVC uygulamanın karabiberin uçucu yağının yapısında meydana getirdiği değişiklikleri inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

Çizelge 4.12 : UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) kekik ve toz karabiber uçucu yağlarının IC_{50} değerine etkisi.

Uçucu yağ	Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Konsantrasyon				IC_{50}
			50 g/L	20 g/L	10 g/L	5 g/L	
Kekik	0	0	92,4±0,3^a	84,5±0,3^a	71,4±0,8^a	56,1±2,0^a	3,0±0,3^a
	16	7,7	92,1±0,2^a	82,9±0,4^b	71,4±0,4^a	55,2±1,2^a	3,1±0,2^a
	64	30,7	90,8±0,4^b	82,4±0,2^b	70,3±2,6^a	54,9±2,1^a	3,2±0,6^a
Toz Karabiber	0	0	19.9±1,0^a	17,9±0,8^a	16,7±0,8^a	15,7±0,8^a	375,0±24,2^a
	16	7,7	18,8±0,7^{ab}	16,9±0,4^{ab}	16,2±0,6^{ab}	15,1±0,2^{ab}	433,5±56,1^{ab}
	64	30,7	18,0±0,8^b	16,4±0,7^b	15,9±0,9^b	14,8±1,0^b	514,4±63,8^b

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Çizelge 4.10 ve 4.12'de elde edilen sonuçlar UVC uygulamasından sonra karabiberin uçucu yağı elde edilerek analiz edilmiştir. Karabiberin uçucu yağının 30,7 kJ/cm^2 dozda UVC uygulamasından sonra antioksidan kapasitesinde ve IC_{50} değerinde kontrole göre önemli ölçüde farklılıklar görülmüştür ($p<0,05$). Bu sebeple bir de karabiberin uçucu yağı elde edildikten sonra örneklere 7,7 ve 30,7 kJ/cm^2 dozda UVC ışını uygulanmış ve antioksidan aktivitesinde olan değişimler incelenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.13'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.13 : Toz karabiber uçucu yağına UVC uygulamasının (0-30,7 J/cm^2) toplam antioksidan kapasitesiye etkisi.

Uçucu yağ	Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	mg TE/g
Toz karabiber	0	0	1,46±0,02^a
	16	7,7	1,38±0,03^b
	64	30,7	1,34±0,02^b

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p< 0,05$).

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi karabiber uçucu yağı 7,7 ve 30,7 kJ/cm^2 dozda UVC ışınına maruz kaldığında antioksidan aktivititesinde küçük fakat istatistiki olarak önemli derecede bir azalma meydana gelmiştir ($p<0,05$). Bu sonuçlara göre karabiber uçucu yağının UV ışınlarına karşı hassas olduğu görülmüştür. Antioksidan aktivitedeki azalmanın sebebi, karabiber uçucu yağında bulunan bileşiklerin UVC ışınlarına maruz kaldığında yapısal değişikliğe uğrayıp yeni bileşikler oluşturması olabilir.

4.2.2 UVC-2 sistemi uygulamalarının toplam fenol ve antioksidan aktivite üzerine etkisi

Sistemin şiddetini arttırmak için yapılan modifikasyonlardan sonra UV kabininin örnek kapasitesi 25 g.'dan 10 g.'a düşmüştür. Uçucu yağ elde edebilecek kadar örnek toplanamadığı için, bu bölüme yapılan çalışmalarda sadece kekik ve karabiber örneklerinin ekstraktları kullanılmıştır. Kekik ve karabiberin toplam fenol içeriği Folin Ciocalteau yöntemi ile toplam antioksidan aktivitesi ise DPPH ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir. UVC uygulamasıyla kekiğin toplam fenol içeriği ve toplam antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.14'te görülmektedir.

Çizelge 4.14 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin toplam fenol içeriği (TP) ve toplam antioksidan kapasitesine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	TP (mg GAE/g)	DPPH (mg TE/g)	FRAP (mg TE/g)
Kontrol hava	0	79,81±0,87	121,69±1,61	181,18±7,19
16	25,7	79,64±0,79	121,52±1,33	179,94±5,42
32	51,4	79,40±2,09	121,02±0,50	180,56±3,99
64	102,8	78,41±0,27	119,85±0,58	180,56±1,90
128	205,6	77,12±3,09	120,19±0,58	180,98±3,53

Aynı sütunda gösterilen ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Literatürdeki çalışmalara paralel olarak kekiğin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu görülmüştür. Kekiğin yüksek antioksidan aktivitesine, kekikte başlıca bulunan bileşikler olan timol ve karvakrol adlı fenolik monoterpenlerin neden olduğu bilinmektedir (Yanishlieva ve diğ., 1999). Çizelge 4.14'te görüldüğü gibi, uygulanan tüm UVC dozlarında kekiğin hem toplam fenol içeriğinde hem de antioksidan kapasitesinde önemli bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol grubu kekik örneklerinin IC_{50} değeri ise 0,32 olarak bulunmuştur. Farklı dozlarda UVC uygulamalarının kekiğin IC_{50} değerine etkisi Çizelge 4.15'te verilmiştir. Çizelge 4.15'te görüldüğü gibi tüm UVC uygulamaları kekik örneklerinin IC_{50} değerinde önemli bir değişime sebep olmamıştır ($p>0,05$). BHT ve askorbik asit referans antioksidan olarak kullanılmış ve IC_{50} değerleri en az 4 konsantrasyon kullanılarak hesaplanmıştır. BHT ve askorbik asit ile kıyaslandığında kekiğin de yüksek antioksidan kapasiye sahip olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar literatürde belirtilen sonuçlarla paralellik göstermektedir (Viuda-Martos ve diğ., 2010a).

Çizelge 4.15 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin IC_{50} değerine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Konsantrasyon				IC_{50}
		10 g/L	5 g/L	1 g/L	0,1 g/L	
Kontrol hava	0	94,3±1,1^a	91,9±2,0^a	53,2±0,7^a	41,0±1,2^a	0,32±0,03^a
16	25,7	94,2±0,9a	92,2±1,2^b	53,2±0,6^a	40,9±0,6^a	0,32±0,02^a
32	51,4	94,4±0,3a	92,9±0,1^b	52,9±0,2^a	41,1±1,0^a	0,33±0,01^a
64	102,8	94,9±0,7a	93,0±0,2^{ab}	52,4±0,3^a	40,8±0,5^a	0,34±0,01^a
128	205,6	94,0±0,1a	92,6±0,0^b	52,6±0,3^a	41,0±2,2^a	0,34±0,04^a
BHT*	-	-	-	83,5±0,3^b	43,3±0,6^b	0,14±0,01^b
Askorbik asit*	-	-	-	93,7±0,4^c	56,0±1,0^c	0,05±0,01^c

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).
*Hesaplamalarda kullanılan daha düşük konsantrasyonlar tabloda gösterilmemiştir.

UVC uygulanmış ve uygulanmamış karabiber örneklerinin toplam fenol içeriği ve antioksidan kapasitesindeki değişimler Çizelge 4.16'da gösterilmiştir. Karabiberin hem toplam fenol içeriği hem de antioksidan kapasitesi kekik örneklerine göre düşük çıkmıştır. Kontrol grubunda toplam fenol içeriği 12,44 mg GAE/g; antioksidan aktivitesi DPPH ve FRAP yöntemleriyle sırasıyla 5,32 ve 6,25 mg TE/g olarak bulunmuştur. 0-205,6 J/cm^2 doz aralığında UVC uygulamasıyla bu değerlerde istatistiki olarak önemli bir azalma görülmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.16 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) karabiberin toplam fenol içeriği (TP) ve toplam antioksidan kapasitesine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	TP (mg GAE/g)	DPPH (mg TE/g)	FRAP (mg TE/g)
Kontrol hava	0	12,44±0,14	5,32±0,04	6,25±0,43
16	25,7	12,41±0,13	5,32±0,03	6,13±0,51
32	51,4	12,37±0,33	5,31±0,01	5,92±0,35
64	102,8	12,22±0,04	5,32±0,04	6,02±0,81
128	205,6	12,01±0,49	5,32±0,01	5,53±0,57

Aynı sütunda gösterilen ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.17'de karabiber örneklerinin farklı dozlarda UVC ışınlarına maruz kaldıktan sonra IC_{50} değerlerindeki değişim gösterilmektedir. Kontrol grubunun IC_{50} değeri 13,0 olarak bulunmuştur. Karabiberin IC_{50} değerinin kekikten yüksek çıkması, karabiberin kekiğe göre daha düşük antoksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. BHT ve askorbik asit referans olarak kullanılmıştır. Karabiber örneklerine uygulanan tüm UVC dozları karabiber örneklerinin IC_{50} değerlerinde istatiksel olarak önemli bir değişikliğe neden olmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.17 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) karabiberin IC_{50} değerine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Konsantrasyon				IC_{50}
		20 g/L	10 g/L	5 g/L	1 g/L	
Kontrol hava	0	74,5±2,4^a	39,3±1,1^a	23,2±2,2^a	5,1±0,2^a	13,0±0,2^a
16	25,7	74,3±0,6^a	39,2±2,6^a	22,9±0,3^a	5,1±0,5^a	13,1±0,2^a
32	51,4	74,0±2,5^a	39,1±0,7^a	22,6±1,6^a	5,1±0,3^a	13,1±0,2^a
64	102,8	74,0±1,8^a	39,2±1,4^a	22,7±3,2^a	5,0±0,5^a	13,1±0,5^a
128	205,6	74,0±2,1^a	38,7±0,8^a	22,1±2,4^a	4,9±0,6^a	13,2±0,4^a
BHT*	-	-	-	-	83,5±0,3^b	0,14±0,01^b
Askorbik asit*	-	-	-	-	93,7±0,4^c	0,05±0,01^c

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).
*Hesaplamalarda kullanılan daha düşük konsantrasyonlar tabloda gösterilmemiştir.

4.2.3 UVC uygulanmış kekik örneklerin antioksidan aktivitesinin emülsiyon sisteminde incelenmesi

Yağ içeren bir çok gıda ürünü su içinde yağ (O/W) emülsiyonu formundadır. Bu gıdaların özellikle yüksek oranda doymamış yağ içerenleri oksidatif bozulmalara karşı çok hassastır. Lipid oksidasyonu gıdalarda besinsel kayıplara ve istenmeyen tat, renk ve toksik bileşiklerin oluşumuna sebep olmaktadır. Bu sebeple gıda üreticileri lipid oksidasyonunu önlemenin ya da geciktirmenin yollarını aramaktadır (Waraho ve diğ., 2011).

Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gıdalarda lipid oksidasyonunu önlemek için 50 yıldan fazla zamandır kullanılan sentetik antioksidanlardır. Fakat son yıllarda sentetik antioksidanların toksisite ve güvenliği ile ilgili meydana çıkan kaygılardan dolayı doğal antioksidanlara olan eğilim artmıştır (McClements ve Decker, 2000). Bir çok araştırmacı farklı bitki ve baharatların yağ sistemlerindeki antioksidan özelliklerini araştırmıştır. Özellikle Labiatae ailesinden biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve adaçayının (*Salvia officinalis* L.) oksidasyonu önlediği birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Lu ve Foo, 2001; Madsen ve Bertelsen, 1995; Pizzale ve diğ., 2002). Labiatae ailesinden

kekiğin de yağ ve O/W emülsiyonlarında antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir (Abdalla ve Roozen, 1999; Takemasa ve Hirasa, 1998).

Bu bölümde 7,7 ve 30,7 kJ/cm^2 dozda UVC uygulanmış kekik örneklerinin O/W emülsiyonlarındaki oksidasyonu geciktirme potansiyeli ve UVC uygulamasının emülsiyonlarda kullanılan kekik örneklerinin antioksidan aktivitesine etkisi olup olmadığı incelenmiştir.

4.2.3.1 Emülsiyonlarda kullanılan kekik ekstraktların antioksidan aktivitesi

Kekiğin metanol ekstraktları için bulunan IC_{50} değerleri Çizelge 4.18'te gösterilmiştir. Bu çalışmada ekstraksiyon prosesinden doğabilecek farklılıkları engellemek amacıyla metanolik ekstraktların fenolik miktarları esas alınarak çalışılmıştır. Kullanılan konsantrasyonlar yaklaşık 10, 5, 1 ve 0,5 g kekik/L metanoldür. UVC uygulamasının IC_{50} değerlerine önemli bir etkisi bulunmamıştır ($p>0,05$). Referans antioksidan olarak BHT ve askorbik asit kullanılmıştır. Referans antioksidanlarla kıyaslandığında kekiğin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.18 : Emülsiyonlarda kullanılan kekik örneklerinin DPPH radikalinin yakalama (% inhibisyon) ve IC_{50} değerleri.

	UV dozu (J/cm^2)	% inhibisyon*				IC_{50}
		3mmol/L	1,5 mmol/L	0,3 mmol/L	0,15 mmol/L	
Kontrol hava	0	92,4±0,4^a	59,1±0,7^a	13,0±0,2^a	6,1±0,7^a	1,5±0,0^a
16	7,7	91,7±0,5^a	58,0±1,3^{ab}	12,0±0,6^b	5,9±0,4^a	1,5±0,0^a
32	30,7	91,9±0,5^a	57,6±0,5^b	12,0±0,2^b	5,8±0,2^a	1,5±0,0^a
BHT	-	86,1±0,4^b	65,7±0,1^c	19,0±0,5^c	9,1±0,3^b	1,4±0,0^b
Askorbik asit	-	93,8±0,2^c	92,2±0,3^d	26,6±0,5^d	12,7±0,5^c	0,7±0,0^c

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).
* Örnekler mmol GAE/L methanol cinsinden ifade edilmiştir.

4.2.3.2 Renk ve UV spektrumu sonuçları

Emülsiyonda kullanılacak kekik örneklerinin rengi UVC uygulaması sonrası kromometre ile ölçülmüştür ve L*, a* ve b* değerleri Çizelge 4.19'da gösterilmiştir. Kekik örneklerinin L* ve b* değerleri sırasıyla 54,4 ve 21,2 olarak bulunmuş ve UVC uygulaması sonrasında istatistiki olarak önemli bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$). Çizelge 4.19'da görüldüğü üzere a* değeri en hassas parametredir. a* değerinde UVC uygulaması sonrası küçük ama istatiksel olarak

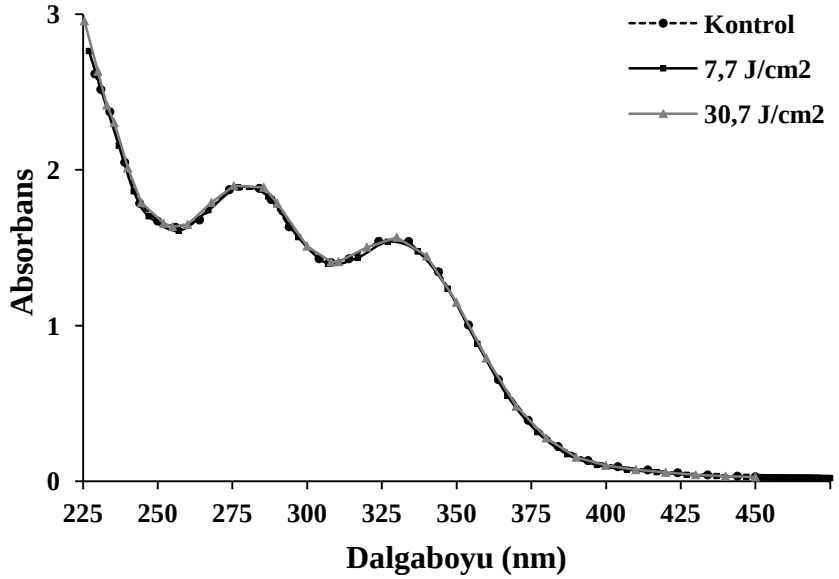
önemli ($p<0,05$) bir düşüş meydana gelmiştir. Bu da kekiğin yeşil renginde bir azalma olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.19 : Emülsiyonlarda kullanılan kekik örneklerinin renk değerlerinin UVC uygulamasıyla değişimi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	L*	a*	b*
Kontrol hava	0	54,4±1,4^a	0,5±0,3^a	21,2±0,4^a
16	7,7	54,9±1,0^a	0,6±0,3^b	21,5±0,7^a
64	30,7	55,0±1,6^a	0,9±0,2^c	21,1±0,8^a

Farklı küçük harflerle (a, b) gösterilen sütun değerleri birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Kekik örneklerinin fenolik kompozisyonuna UVC uygulamasının etkisinin olup olmadığının anlaşılması için ayrıca örneklerin UV absorbsiyonu ölçülmüştür. UV tarama sonuçları Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3 : Kekik ekstraktlarının UV tarama (225-450 nm) sonuçları.

Fenoller genellikle UV ışığını 240 ile 280 nm arasında absorblarlar. Fakat *p*-kumarik asit, gallik asit, vb. gibi fenolik asitlerin maksimum UV absorbansı (λmax) 370 nm'ye kadar çıkabilir. Örneğin kekikte bulunan kafeik asitin λ_{max} değeri 326 nm'dir. Zeković ve diğ. (2000) ise kekikte bulunan başlıca bileşikler olan timol ve karvakrol için λ_{max} değerini 276 nm olarak bulmuştur. Bu çalımalara benzer olarak bizim konrol ve UVC uygulanmış kekik örneklerimiz de 280 ve 330 nm'de 2 pik vermiştir (Şekil 4.3). UV tarama sonuçlarına göre kontrol ve UVC uygulanmış örnekler arasında herhangi bir fark görülmemiş, UVC uygulaması kekik ekstraktlarının pik absorbansı ya da şeklinde bir değişikliğe yol açmamıştır.

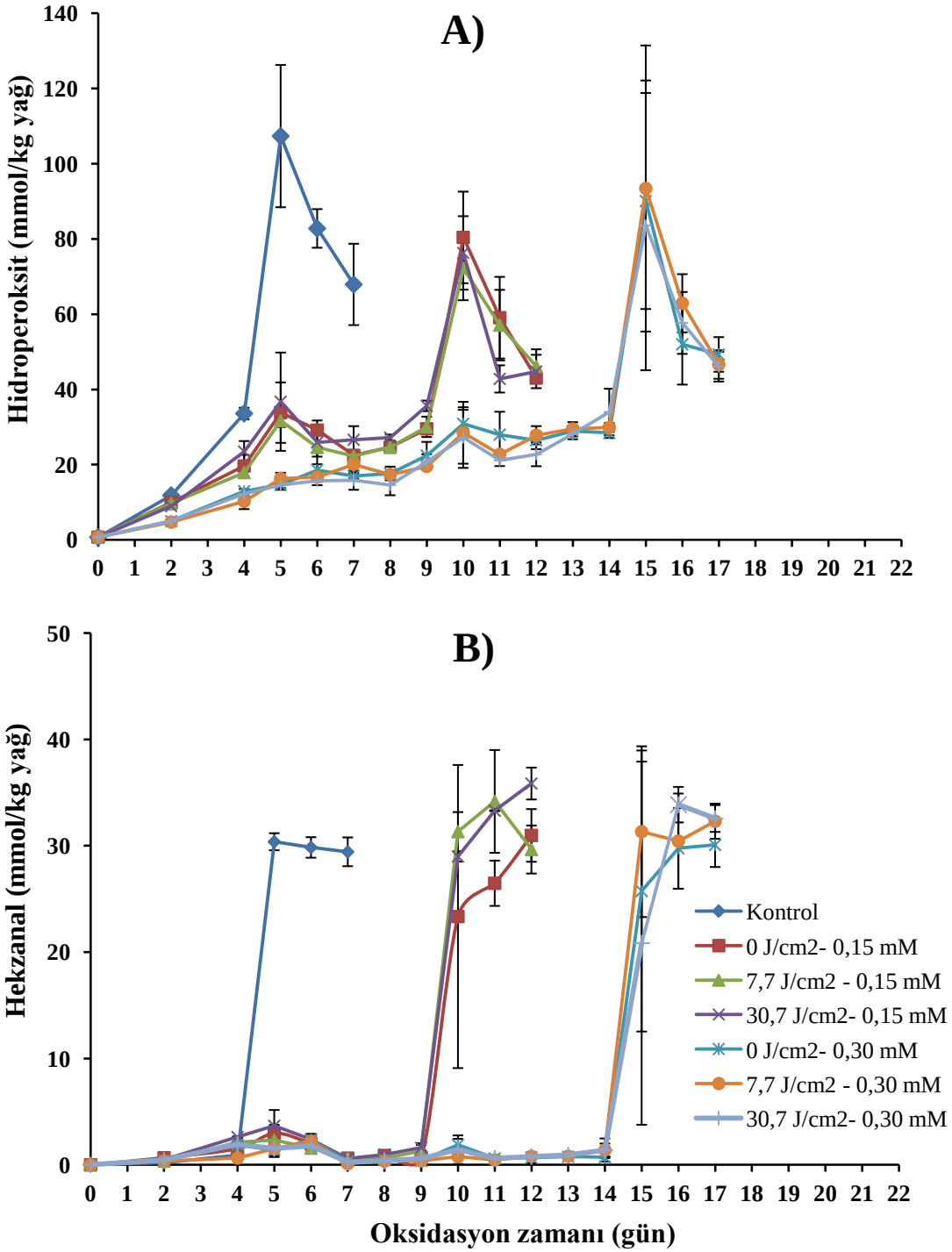
4.2.3.3 UVC uygulamasının emülsiyonlarda oksidasyona etkisi

Lipid oksidasyonu gıda kalite kaybı açısından önemli bir parametredir. Lipid hidroperoksitleri oksidasyonun ilk aşamasında açığa çıkan ilk ürünlerdir. Hidroperoksitlerin parçalanmasıyla ikincil oksidasyon ürünleri ortaya çıkar. İkincil ürünler uçucu ve uçucu olmayan ürünlerden oluşan bir karışımdır. Hekzanal ise mısır yağında yüksek miktarda bulunan ω-6 yağ asitleri tarafından üretilen ikincil oksidasyon ürünüdür. Kekik ekstraktlarının mısır yağı-su emülsiyonlarındaki antioksidan etkisini araştırmak için 55 °C'de depolanan emülsiyonlardaki hidroperoksit ve hekzanal oluşumları izlenmiştir (Şekil 4.4). Ekstrakt ilave edilmemiş emulsiyon ise kontrol olarak kullanılmıştır.

Kontrol örneğinde lipid oksidasyonu çok hızlı şekilde gerçekleşmiş, lag fazı 4 gün olarak bulunmuştur. 0,15 μmol GAE/ml kekik ekstraktı ilavesi lag fazı 4 günden 9 güne çıkartmıştır ($p<0,05$). 0,3 μmol GAE/ml ekstrakt ilave ise lag fazını 14 güne kadar çıkartmıştır ($p<0,05$). UVC ışını uygulanan ve uygulanmayan örneklerin oksidasyon hızları arasında ise önemli bir fark bulunmamıştır ($p<0,05$). Bu çalışma neticesinde kekik ekstraktlarının bu konsantrasyonlarda (UVC uygulanmış ya da uygulanmamış) O/W emulsiyonlarında lipid oksidasyonunu önlemede etkili olduğu görülmüştür.

Literatüre bakıldığında, kekiğin yağda ve O/W emulsiyonlarında antioksidan etkisini araştıran bazı çalışmalar görülmektedir. Beddows ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada 85–105 °C'de ısıtma sırasında ayçiçeği yağındaki α-tokoferolü korumak için kekik ekstraktı ilave edilmiş ve 2000 mg ekstrakt/kg yağ konsantrasyonunun ransiditeyi geciktirdiği ve α-tokoferolü koruduğu görülmüştür. Ayrıca α-tokoferolün korunmasının bitki ekstraktı ile doğrudan ilişkili olduğu ve 100 mg ekstrakt/kg yağ konsantrasyonunun bile etkili olduğu gözlemlenmiştir. Başka bir çalışmada da aseton içindeki kekik ekstraktının 60 °C'deki ayçiçek yağı ve ayçiçek yağının %20 O/W emülsiyonundaki antioksidan aktivitesi çalışılmıştır. Antioksidan aktivite birincil (hidroksiperoksit) ve ikincil (hekzanal ve pentanal) oksidasyon ürünlerine bakılarak belirlenmiştir. Çalışma neticesinde 600 ve 1200 ppm kekik ekstraktının 25 gün oksidasyon periyodu boyunca hekzanal ve pentanal oluşumunu engellediği görülmüştür (Abdalla ve Roozen, 1999). Bizim çalışmamızın sonuçları da bu çalışmalarla paralel olarak O/W emulsiyonlarında kekik ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlara göre kekik ekstraktları

lipid oksidasyonunu geciktirmek için doğal antioksidan olarak kullanılabilir. Fakat baharat ekstraktlarının antioksidan özellik gösteren ya da göstermeyen bir çok bileşenden oluştuğu ve etkinliğinin içeriğindeki bileşiklerin miktarına göre değişeceği dikkate alınmalıdır.



Şekil 4.4 : %5 mısır yağı-su emülsiyonuna UVC uygulanmış ve uygulanmamış 0,15 ve 0,30 mM (mmol GAE/L emülsiyon) kekik ekstraktı ilavesinin a) lipid hidroperoksit ve b) hekzanal değerlerine etkisi.

4.3 UVC Uygulamasının Fiziksel/Duyusal Kaliteye Etkisi

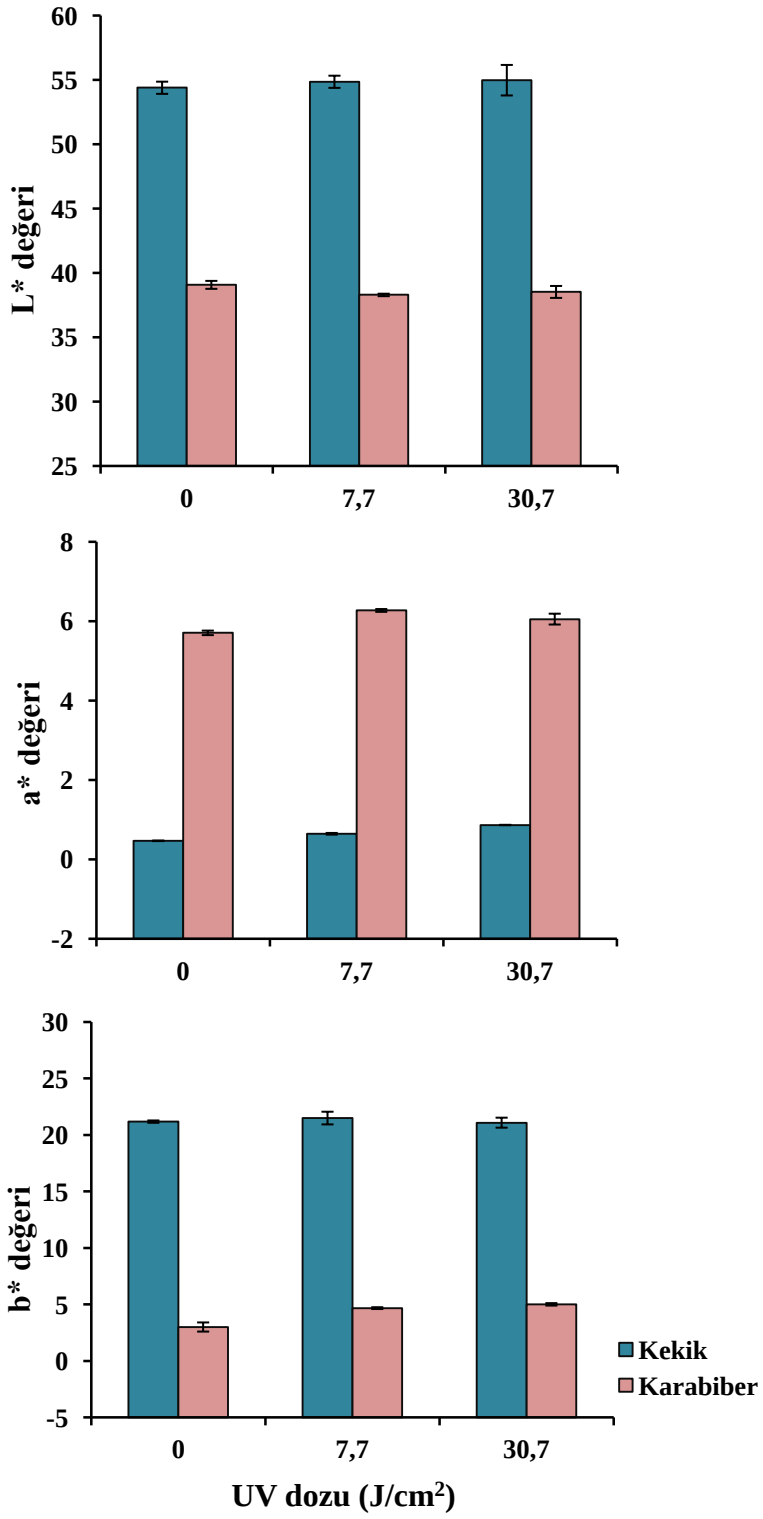
Baharatlara UVC uygulamasında birincil amaç ürünün mikrobiyal yükünde maksimum oranda azalma sağlanması olmakla birlikte bu sırada baharatın fiziksel ve duyusal kalite parametrelerinin de mümkün olduğunca korunması hedeflenmektedir. Bu bölümde UVC-1 ve UVC-2 sistemlerinde yapılan uygulamalarla kekik, toz karabiber ve tane karabiber örneklerinin renk, nem ve duyusal özelliklerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

4.3.1 UVC-1 sistemi uygulamalarının renk değerleri üzerine etkisi

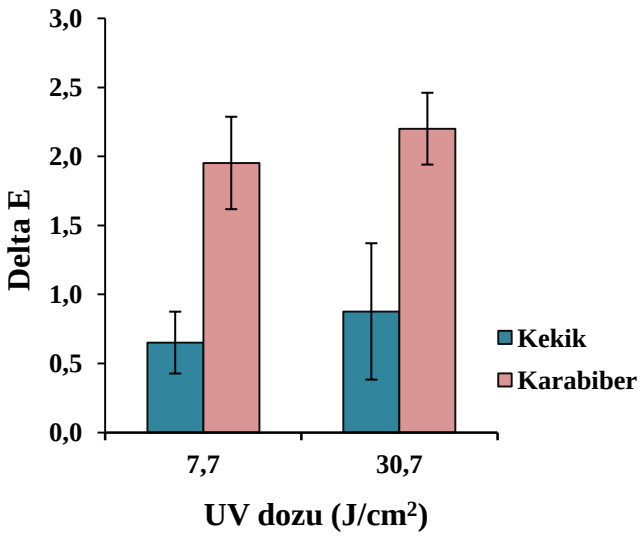
Renk, bir çok gıda ürününde tüketici tercihlerini etkileyen en önemli kalite parametrelerindendir. Baharatlara uygulanacak dekontaminasyon işlemlerinde de rengin mümkün olduğunca korunması hedeflenmektedir. UVC-1 sisteminde 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulamasının kekik ve karabiber örneklerinin rengine etkisi kromometre ile ölçülmüştür ve örneklerin L*, a* ve b* değerlerindeki değişim Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Kekik ve karabiber kontrol örneklerinin L* değerleri sırasıyla 54,40 ve 39,08 olarak bulunmuştur ve 30,7 J/cm^2 doza kadar UVC uygulaması ile L* değerlerinde istatistiki olarak önemli bir değişim gözlemlenmemiştir ($p>0,05$). Kekik örneklerinin b* değerleri başlangıçta 21,18 olup UVC uygulamasından etkilenmemiştir. Karabiber örneklerinde ise başlangıçta 3,00 olan b* değeri 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulamalarıyla 4,67 ve 5,00 değerlerine yükselmiştir ($p<0,05$). Kekik ve karabiber örneklerinin a* değerleri başlangıçta sırasıyla 0,47 ve 5,71 olarak bulunmuştur. 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulaması sonrası hem kekik hem karabiber örneklerinin a* değerinde istatiksel olarak önemli bir artış meydana gelmiştir ($p<0,05$). Kekik örneklerinin a* değerindeki artış kekiğin yeşil renginde bir azalma olduğunu göstermektedir (Soysal, 2005).

Ayrıca örneklerin toplam renk değişimi ΔE (Delta E) hesaplanmış ve sonuçlar Şekil 4.6'da gösterilmiştir. ΔE değerinin 0-1 aralığında olması gözle görülmez fark, 1-2 aralığında olması sadece eğitimli gözle görülebilecek derecede küçük bir fark ve 2-3,5 aralığında olması eğitimsiz gözle görülebilecek orta derecede bir renk farkı olduğunu belirtmektedir. 3,5-5 aralığı bariz bir renk farkı olduğunu ve 6'dan büyük değerler ise çok bariz renk farkı olduğunu belirtmektedir (Virtanen ve diğ., 2014). Kekik örneklerinin ΔE değeri her iki doz UVC uygulamasında da 1 değerinden düşük çıkmıştır (0,65-0,88). Bu değerler kekik örneklerindeki renk değişiminin gözle

görülecek bir fark olmadığını göstermektedir. Karabiber örneklerinin ΔE değeri ise 7,7 ve 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulamalarından sonra sırasıyla 1,95 ve 2,20 olarak bulunmuştur. Karabiberdeki renk değişiminin de sadece eğitimli gözle ayırt edilebilecek seviyede olduğu görülmüştür.



Şekil 4.5 : UVC-1 sistemi uygulamalarının kekik ve karabiberin renk değerlerine etkisi.



Şekil 4.6 : UVC-1 sistemi uygulamalarının kekik ve karabiberin toplam renk değişimine etkisi.

4.3.2 UVC-2 sistemi uygulamalarının renk değerleri üzerine etkisi

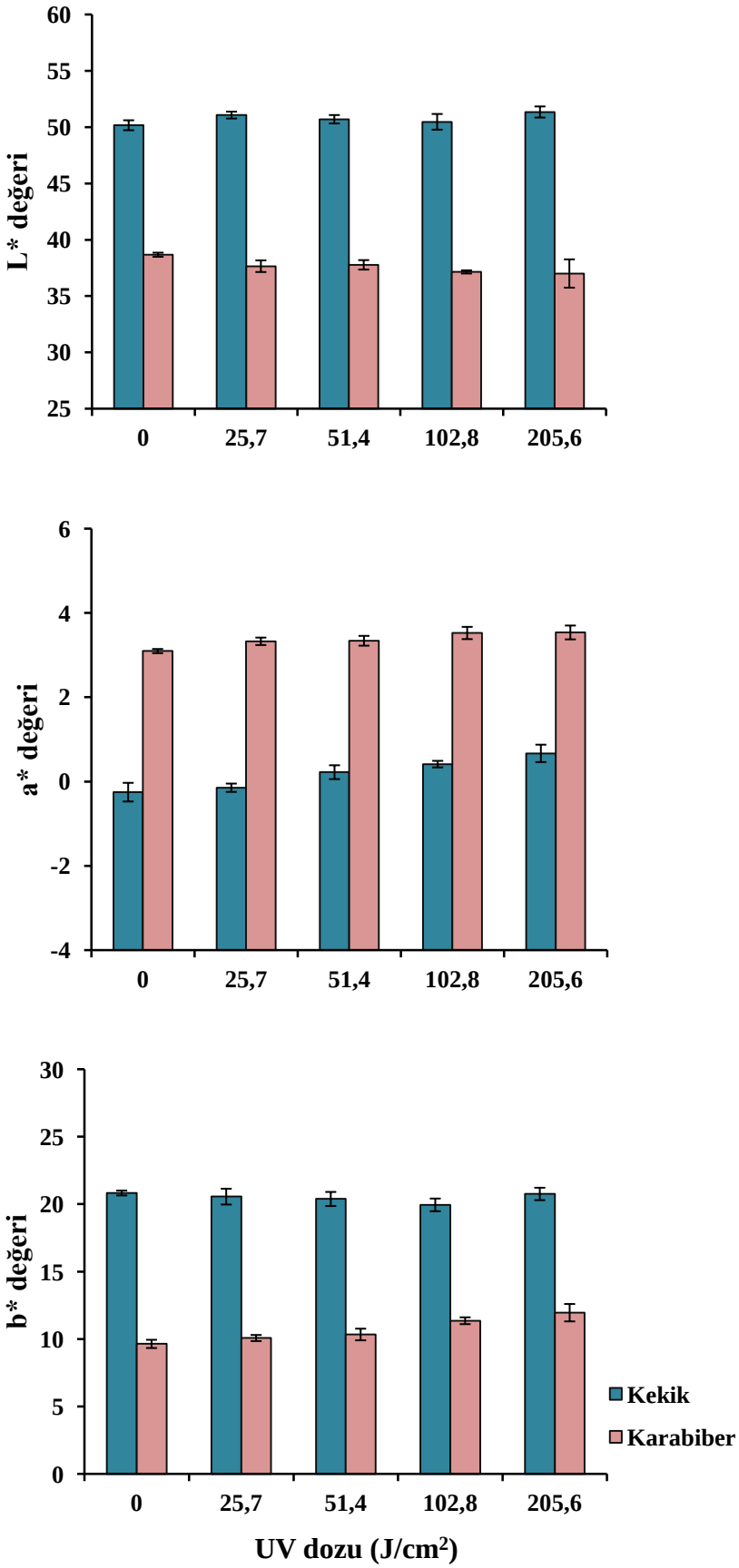
UVC-2 sisteminde UVC-1 sistemine göre daha yüksek dozda UVC uygulamalarının kekik ve karabiber örneklerinin L***,** a* ve b* değerlerine etkisi incelenmiş ve bu değerlerde meydana gelen değişimler Şekil 4.7'de gösterilmiştir. İşlem görmemiş kekik ve karabiber örneklerinin L***** değeri sırasıyla 50,17 ve 38,67 olarak bulunmuştur. Kekik örneklerinin L***** değerinde 205,6 J/cm^2 doz UVC uygulaması ile istatistiki olarak önemli bir artış, karabiber örneklerinde ise 102,8 J/cm^2 ve üzeri dozda UVC uygulaması ile istatistiki olarak önemli bir düşme gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Uygulanan tüm dozlarda UVC ışınlarının kekik örneklerinin b* değeri üzerinde herhangi bir değişime neden olmadığı belirlenirken ($p>0,05$), örneklerin sahip olduğu a* değerinde UVC dozundaki artışa paralel olarak artış olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Karabiber örneklerinin ise b* değerinde 102,8 J/cm^2 ve üzeri dozda UVC uygulamasıyla, a* değerinde ise 25,7 J/cm^2 ve üzeri dozda UVC uygulamasıyla artış meydana gelmiştir.

Kekik ve karabiber örneklerinin UVC uygulaması sonucu sahip oldukları ΔE değerleri Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Kekik örneklerinin 25,7 J/cm^2 doz UVC uygulamasından sonra ΔE değeri 1,19 olarak bulunurken, en yüksek doz olan 205,6 J/cm^2 UVC uygulamasıyla ΔE değeri 1,56'ya çıkmıştır. Bu değerlerden kekik örneklerindeki toplam renk değişiminin az olduğu görülmektedir. Karabiber örneklerinin ΔE değeri ise 25,7 J/cm^2 doz uygulamasından sonra 1,15 iken, 205,6 J/cm^2 doz uygulamasından sonra 3,06 olarak bulunmuştur. Karabiber örneklerindeki

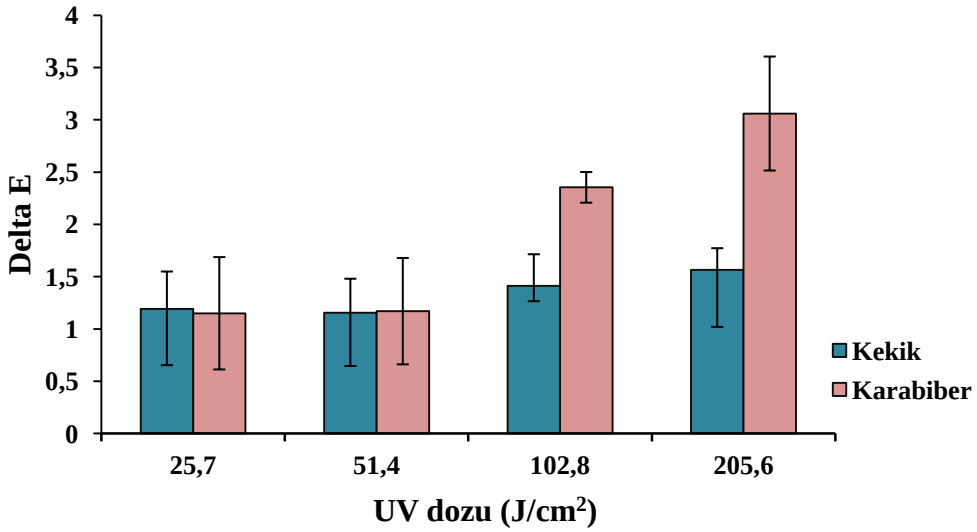
renk değişimi kekik örneklerinden daha fazla olmuştur. Fine ve Gervais (2007) tarafından yapılan bir çalışma da toz karabiber örneklerine 0,97 J/cm^2 dozda atılımlı UV ışığı uygulamasıyla ΔE değeri 3,0 bulunurken, 31,12 J/cm^2 dozda atılımlı UV ışığı uygulamasıyla ΔE değerinin 8,5'a yükseldiği görülmüştür. İstenilen dekontaminasyon seviyesine çıkılamadan toplam renk değerlerindeki bu hızlı değişimin oksidasyon ile birlikte yüksek ısı sebebiyle olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada termal etkinin UV ışığının etkisinden daha baskın olduğu düşünülmüştür. Yaptığımız çalışmada sadece UVC ışını kullanılmış ve daha yüksek dozlara çıkıldığında da örneklerdeki renk değişiminin kabul edilebilir seviye de kaldığı görülmüştür.

Literatürde UVC uygulamasının baharatların renk değerleri üzerine etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Toz kırmızıbiber ile yapılan bir çalışmada 40,8 kJ/m^2 dozda UVC uygulamasının kırmızıbiber örneklerinin L*, a* ve b* değerlerinde önemli bir değişime neden olmadığı gözlemlenmiştir (Cheon ve diğ., 2015). Kimyon tohumlarının dekontaminasyonda 200, 250 ve 300 ºC'de sırasıyla 4,8, 2,8 ve 1,57 dk. FIR uygulamasının tek başına ya da ardından 75,6 J/cm^2 dozunda UVC uygulaması ile kullanımının etkisini araştıran bir çalışmada bu uygulamaların kimyon örneklerinin L* ve b* değerlerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı fakat a* değerinde azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir. FIR uygulaması ile UVC uygulaması kombine edildiğinde tek başına FIR uygulamasına göre aynı sıcaklıkta gerekli olan FIR uygulama süreleri azaldığından, FIR ve UVC kombinasyonu ile ürünün renginin daha iyi korunduğu belirtilmiştir (Erdoğdu ve Ekiz, 2011).

Tavuk göğsü ile yapılan çalışmalarda ise 5 kJ/m^2 doza kadar UVC uygulamasının örneklerin L*, a* ve b* değerlerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı belirtilmiştir (Lyon ve diğ., 2007; Chun ve diğ., 2010). Kaya ve diğ. (2015) limon-kavun suyu karışımının renk değerleri üzerine UVC ve ısı uygulamasının etkisini incelenmiştir. 2,46 J/ml dozda UVC uygulamasının limon-kavun suyu karışımının L*, a* ve b* değerlerini 72 ºC'de 71 sn. ısı uygulamasından daha iyi koruduğu görülmüştür. UVC uygulanmış örneklerin ΔE değeri 0,63 bulunmuş ve duyusal analizde kontrol örnekleri ile arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.7 : UVC-2 sistemi uygulamalarının kekik ve karabiberin renk değerlerine etkisi.



Şekil 4.8 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik ve karabiber örneklerinin toplam renk değişimine etkisi.

4.3.3 UVC ve ozon kombine sistemi uygulamalarının renk değerleri üzerine etkisi

Karabiber taneleri siyah, parlak bir renge sahiptir. Dekontaminasyon işlemleri sırasında renk kaybı olmaması tüketici kabulü açısından oldukça önemlidir. UVC ve ozon uygulamaları ile karabiber tanelerinin L*, a*, b* ve toplam renk değerlerinde meydana gelen değişim Çizelge 4.20'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.20 : UVC ve ozon uygulamalarının tane karabiberin L*, a*, b* ve ΔE değerlerine etkisi.

Uygulama yöntemi	L*	a*	b*	ΔE
Kontrol	37,94±0,22	1,76±0,09	1,74±0,55	-
Ozon (15 ppm)	39,02±0,65	1,89±0,33	2,43±0,67	1,49±1,02
UVC (28,8 J/cm^2)	38,33±0,70	1,59±0,42	1,44±0,42	0,98±0,68
Ozon→UVC	37,91±0,59	1,86±0,38	1,60±0,38	0,85±0,32
Ozon+UVC	38,63±0,71	2,09±0,29	2,23±1,18	1,35±1,33

Aynı sütunda gösterilen ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır (p>0,05).

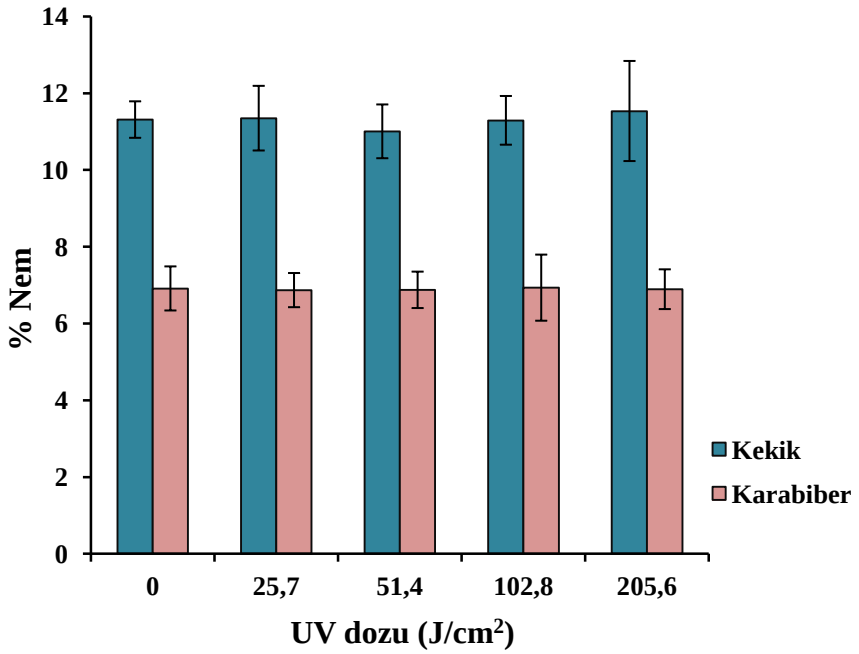
Başlangıçta karabiber tanelerinin L*, a* ve b* değerleri sırasıyla 37,96, 1,76 ve 1,74 olarak ölçülmüştür. Ozon ve UVC uygulamalarının tek tek ya da birlikte kullanımının karabiberin renk değerlerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı görülmüştür (p>0,05). Ozon uygulamasının L*, a* ve b* değerlerinde UVC uygulamasına göre daha fazla artışa sebep olduğu görülmüştür (p>0,05). L*, a* ve b* değerlerindeki artış karabiberde renk solması olduğunu ifade etmektedir fakat bu çalışmada karabiberdeki renk solması uygulanan tüm yöntemlerde önemli düzeyde bulunmamıştır (p>0,05). Toplam renk değerlerine bakıldığında da tek başına ozon

uygulamasının en yüksek değeri (1,49) aldığı fakat bunun diğer yöntemlerle kıyaslandığında önemli olmadığı görülmektedir ($p>0,05$). Uygulanan koşullarda karabiber tanelerindeki renk değişiminin tüketicinin ayırt edebileceği seviyede olmadığı düşünülmektedir. Literatürdeki çalışmalarda da ozon uygulamasının ürünün rengine etkisinin, ozonun konsantrasyonu, uygulama yapılan ürün, uygulama şekli vb. özelliklere göre farklılık gösterdiği görülmektedir. Antep fıstığı ile yapılan bir çalışmada 5 ppm ozon gazı 420 dk. uygulandığında antep fıstığının L*, a* ve b* değerlerinde önemli bir değişim olmadığı, 7 ve 9 ppm ozon gazı 140 dk. uygulandığında ise L* değerinde ufak fakat istatistiki olarak önemli bir artış olduğu rapor edilmiştir. Duyusal analizde ise panelistler tarafından bu fark tespit edilememiştir. Öğütülmüş antep fıstıklarının ise ozon gazı uygulamasına karşı daha hassas oldukları, renk ve duyusal kalitelerinin 5 ppm ve üzeri uygulamalardan etkilendiği belirtilmiştir (Akbaş ve Ozdemir, 2006). Pul biber örneklerine 0,1-9 ppm arası ozon gazı uygulandığında ise 5 ppm ve üzeri ozon uygulamasının pul biber örneklerinin görünüm ve duyusal özelliklerinde önemli değişikliğe sebep olduğu görülmüştür. Öğütülmüş baharatlarda yüksek ozon konsantrasyonlarının (>9 ppm) ve uzun uygulama sürelerinin (>6 s.) ürünlerin organoleptik özelliklerini negatif yönde etkilediği belirtilmiştir (Akbaş ve Ozdemir, 2008). Torlak ve diğ. (2013) ise kekik örneklerine 2,8 ppm'de 120 dk. ozon gazı uyguladığında duyusal analizde kekik örneklerinin görünümünde önemli bir değişim tespit edilmezken, 5,3 ppm konsantrasyonda ozon gazı 120 dk. uygulandığında panelistler kekik örneklerine istatistiki olarak önemli derecede düşük puanlar vermiştir. Baharatlardaki ozon uygulaması kaynaklı renk bozulmasının sebebi konjuge çift bağların kırılması sebebiyle kromoforların oksidatif olarak parçalanması olarak açıklanabilir.

4.3.4 UVC-2 sistemi uygulamalarının nem değerleri üzerine etkisi

Baharatlar için önemli bir kalite kriteri de nem içeriğidir. Baharatta küf-maya gelişiminin önlenmesi için baharatın nem miktarının limit değerlerin üstüne çıkmaması gerekmektedir. Kekik için maksimum nem değeri TGK ve ASTA'da %10, ESA'da ise %12 olarak belirtilmiştir. Karabiber için ise TGK, ASTA ve ESA'da maksimum nem değeri %12'dir (ESA, 2015; Tainter and Grenis, 2001; TGK, 2011).

Aynı zamanda depolama veya dekontaminasyon işlemleri sırasında oluşabilecek ekstra nem kayıpları ise maliyet açısından önemli bir kriter olabilmektedir. Çalışmamızda kullanılan kekik ve toz karabiber örneklerinin başlangıç nemi sırasıyla %11,31 ve %6,91 olarak bulunmuştur. Kekik ve karabiber örneklerinin maksimum 205,6 J/cm^2 doza kadar farklı dozlarda UVC uygulamalarından sonraki nem değerleri Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Her iki baharat için de UVC uygulamasının hiç bir dozunun nem değerlerinde istatistiki olarak önemli bir değişikliğe sebep olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Cheon ve diğ. (2015) yaptıkları çalışmada toz kırmızıbiber örneklerine 25, 55 ve 65 ºC'de 40,8 kj/m^2 dozda UVC ışını uygulamışlardır. Başlangıçta %11,40 neme sahip olan kırmızıbiber örneklerinin nem değerlerinin 25 ve 55 ºC'de UVC ışınlama ile değişmediği, 65 ºC'de UVC ışını uygulandığında ise nem değerinin %9,36'ya düştüğü tespit edilmiştir ($p<0,05$). Çalışmamızda yüksek sıcaklıklara çıkılmamış olması örneklerin nem değerinin korunmasını sağlamıştır. Erdoğdu ve Ekiz (2011) tarafından yapılan çalışmada da kimyon tohumu örneklerine FIR ve UVC kombine uygulamasının kimyonun nem değerlerini sadece FIR uygulamasından daha iyi koruduğu belirtilmiştir. Çünkü UVC ile FIR kombine edildiğinde daha düşük FIR sıcaklıklarında aynı dekontaminasyon seviyeleri sağlanabilmektedir.



Şekil 4.9 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekik ve karabiber örneklerinin nem değerlerine etkisi.

4.4.5 UVC-2 sistemi uygulamalarının duyusal kaliteye etkisi

Diğer pek çok gıda ürünü gibi baharatlarında koku ve renk gibi duyusal kalite özellikleri tüketici tercihlerini en fazla etkileyen kalite parametresini oluşturmaktadır. Farklı dozlarda uygulanan UVC uygulamasının kekik ve karabiber örneklerinin duyusal kalitesine etkisini incelemek amacı ile duyusal analiz yapılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.21 ve 4.22'de gösterilmiştir. Panelistler farklı UVC dozlarına maruz kalmış örnekleri koku, renk ve genel beğenilirlik açısından incelemiş ve örnekleri verilen skalaya (1: çok zayıf, 9: çok yoğun) göre değerlendirmiştir. Ayrıca duyusal analizde kullanılan UVC uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) kekik ve karabiber örneklerinin görünümleri Şekil 4.10'da görülmektedir.

Çizelge 4.21 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) kekiğin duyusal özelliklerine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Koku	Renk	Genel beğenilirlik
Kontrol hava	0	6,58±0,36	6,92±0,19	7,17±0,29
16	25,7	6,33±0,36	6,88±0,33	6,92±0,56
32	51,4	6,21±0,14	6,88±0,33	6,88±0,38
64	102,8	6,25±0,33	6,83±0,14	6,96±0,19
128	205,6	6,29±0,40	6,71±0,38	6,92±0,26

Aynı sütunda gösterilen ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır (p>0,05).

Çizelge 4.22 : UVC uygulamasının (0-205,6 J/cm^2) karabiberin duyusal özelliklerine etkisi.

Süre (dk)	UV dozu (J/cm^2)	Koku	Renk	Genel beğenilirlik
Kontrol hava	0	6,05±0,08	7,10±0,08	6,76±0,08
16	25,7	6,10±0,30	7,00±0,14	6,76±0,33
32	51,4	5,90±0,08	7,05±0,16	6,67±0,16
64	102,8	5,90±0,16	7,00±0,14	6,67±0,22
128	205,6	5,86±0,25	6,90±0,22	6,62±0,08

Aynı sütunda gösterilen ortalamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır (p>0,05).

Duyusal analiz sonuçlarına göre, kekik örneklerin en yüksek koku, renk ve genel beğenilirlik değerleri kontrol grubunda görülmüş ve sırasıyla 6,58, 6,92 ve 7,17 olarak hesaplanmıştır. UVC uygulanmış örneklerin de kontrol grubuna yakın değerlerde olduğu görülmüş ve aralarında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Karabiber örneklerinde ise kontrol grubu koku, renk ve genel beğenilirlik açısından sırasıyla 6,05, 7,10 ve 6,76 puanlarını almıştır. Karabiber

örneklerinde de UVC uygulanmış örnekler ile kontrol grubu arasında önemli bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Hem karabiber hem de kekik örneklerinde kromometre ile yapılan ölçümlerde tespit edilen renk değişimleri, panelistler tarafından duyusal analiz sırasında farkedilmemiş ve UVC uygulanan örnekler ile kontrol örnekleri renk açısından aynı puanları almıştır. Bu sonuçlar kekik ve karabiber örneklerindeki renk değişiminin gözle ayırt edilemeyecek düzeyde olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.10 : Farklı dozlarda UVC uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) kekik ve karabiber örneklerinin görünümü.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Baharatlar elde edildiği bitkilerin toprak ve su ile temasta olması, nemli ve sıcak iklimlerde özensiz ve hijyenik olmayan koşullarda üretilmesi, hasat ve hasat sonrası üretim aşamalarında hijyen kurallarına yeterince dikkat edilmemesi gibi sebeplerle mikroorganizmalarla yüksek oranda kontamine olabilmekte ve insan sağlığını tehlikeye sokabilmektedir. Bu sebeple baharatlara, üretiminin son aşamasında uygun yöntemlerle, yeterli seviyede mikrobiyal dekontaminasyon işlemi uygulanmalıdır. Bu çalışmada, UVC ışınlama uygulamasının kekik ve karabiberin mikrobiyal dekontaminasyonunda ticari yöntemlere alternatif olarak kullanım potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tasarlanan ilk UVC sisteminde kekik, toz ve tane karabiber baharatları en yüksek 30,7 J/cm^2 dozda UVC ışınına maruz bırakılmıştır. Kekik, toz ve tane karabiber örneklerinin başlangıç TAMB sayısı sırasıyla 4,53, 7,48 ve 6,94 log kob/g olarak bulunmuştur. Sistemin 64 dakika çalıştırılmasıyla elde edilen 30,7 J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla kekik, toz ve tane karabiber örneklerinin TAMB sayısındaki azalma sırasıyla 1,38, 0,76 ve 0,72 log kob/g olmuştur. Bu azalmanın özellikle karabiber gibi başlangıç yükü oldukça yüksek seviyelerde (10^6-10^8 kob/g) olan baharatlar için yeterli olmadığı görülmüştür. Dozu arttırmanın inaktivasyon seviyesini arttırabileceği düşünülerek, süreyi çok fazla arttırmadan daha fazla doz elde edebilmek için sistemin şiddetini arttırmaya yönelik modifikasyonlar yapılmıştır.

Kekik ve toz karabiber örnekleri, UV şiddeti 26,7 mW/cm^2 olacak şekilde tasarlanan ikinci sistemin 16, 32, 64 ve 128 dakika çalıştırılmasıyla elde edilen 25,7, 51,4, 102,8 ve 205,6 J/cm^2 dozlarında UVC ışınlarına maruz bırakılmıştır. Doz arttıkça inaktivasyon seviyesinin arttığı görülmüştür. 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile kekik örneklerinin TAMB, küf-maya ve *B. cereus* yüklerindeki azalma sırasıyla 1,77, 1,29 ve 0,29 log kob/g olarak bulunmuştur. Toz karabiber örneklerinde 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulaması ile TAMB, küf-maya ve *B. cereus* yüklerinde elde edilen azalma ise sırasıyla 1,00, 1,16 ve 0,51 log kob/g olmuştur. Inaktivasyonun sınırlı düzeyde olması UVC ışınlarının çok düşük nüfuz etme gücüne sahip olması ile

açıklanabilir. Akışkan yataklı sistemde baharatların tüm yüzeyleri UVC ışınına maruz kalsa da UVC ışını üst katmandaki mikroorganizmaları inaktive etmekte fakat alt katmanlara erişememektedir. Ayrıca üst katmandaki mikroorganizmaların UVC ışınlarının alt katmanlara ulaşmasını engellemiş olabileceği düşünülmektedir.

E. coli inokülasyon çalışmalarında, başlangıç *E. coli* yükü 7,03 log kob/g olan kekik örneklerine farklı dozlarda (0-205,6 J/cm^2) UVC uygulanmış ve en fazla azalma 205,6 J/cm^2 dozda UVC uygulamasıyla 2,61 log kob/g olarak tespit edilmiştir. İnoküle *E. coli* yükündeki azalma seviyesinin doğal florada (TAMB, küf-maya ve *B. cereus*) sağlanan azalmadan daha fazla olduğu görülmüştür. Bunun sebebinin, doğal florada bulunan mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilmler olabileceği düşünülmektedir. Biyofilmler, kendi ürettikleri hücredışı polimerik maddelerin (EPS) oluşturduğu matris içinde yaşayan mikroorganizma topluluğudur. Biyofilm tabakası bakteri, maya ve küflerin bitki yüzeylerinde güçlü bir şekilde tutunmasını ve koloni oluşturmasını sağlar ve bu sayede mikroorganizmalar çevresel koşullara daha dirençli olurlar. İnokülasyon çalışmalarında mikroorganizmaların yapılan ön işlemler ile ortama kısmen adaptasyonu sağlanmış olsa da mikroorganizmaların henüz biyofilm oluşturmamış olması inaktivasyon seviyesinin daha fazla olmasına sebep olabilir. Ayrıca, *E. coli* gibi gram (-) bakterilerin UVC ışınlarına *Bacillus*, *Clostridium* cinsi gibi gram (+) bakterilerden daha hassas olması inaktivasyon düzeyinin daha fazla olmasını sağlamış olabilir.

Çalışmanın devamında, UVC ve ozon sistemleri kombine edilmiştir. Akışkan yataklı ortamın baharatlar ile ozon gazı arasındaki teması arttıracağı düşünülmüştür. Ayrıca UVC ve ozon sistemleri kombine edildiğinde, ozonun hasar verdiği hücrelerin UVC tarafından inaktive edilebileceği ve bu kombinasyonun sinerjistik etki göstererek mikrobiyal dekontaminasyonda avantaj sağlayabileceği düşünülmüştür. Sonuçlara bakıldığında ise, *E. coli* inoküle edilen örneklerde iki sistemin arka arkaya ya da eş zamanlı kullanımının inaktivasyon düzeyine katkı etki sağladığı görülürken, TAMB sayısını azaltmada herhangi bir katkı ya da sinerjistik etkisinin olmadığı görülmüştür.

Ayrıca, UVC uygulamasının kekik ve karabiber örneklerin kimyasal, fiziksel ve duyusal kalitesinde (örneğin nemi, rengi, antioksidan özellikleri ve duyusal özellikleri) meydana getirdiği değişiklikler araştırılmıştır. Uygulanan tüm UVC dozlarında (0-205,6 J/cm^2) kekik ve karabiber örneklerinin kalitesinde önemli değişimler olmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, UVC uygulamaları ile kekik ve karabiber örneklerinin kimyasal, fiziksel ve duyusal özelliklerinde önemli değişiklikler olmadan; TAMB, küf-maya ve *B. cereus* düzeylerinde önemli ölçüde azalmalar olduğu görülmüştür. Ayrıca, UVC uygulamasının *E. coli* inaktivasyonunda da etkili olduğu görülmüştür. Başlangıç mikrobiyal yükü çok yüksek olmayan baharatların dekontaminasyonunda mevcut tasarlanan sistemin kullanım potansiyeli olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen dekontaminasyon seviyeleri, kullanılan sistemin tasarımında yapılacak farklı modifikasyonlar ile arttırılabilir. Sistemdeki parçaların boyutları, hava hızı, örnek miktarı gibi bir çok etken değiştirilerek daha etkin inaktivasyon seviyeleri elde edilebilir. Kullanılan sistem baharatların homojen bir şekilde askıda kalabilmesi için manuel olarak, kısa döngüler şeklinde çalıştırılmıştır. Sistemin otomatik olarak çalıştırılabilir hale getirilmesi durumunda UVC uygulama süreleri uzatılabilir ve daha yüksek UVC dozlarının da baharatların mikrobiyal dekontaminasyonuna etkisi incelenebilir. Ayrıca, UVC uygulamasının diğer dekontaminasyon yöntemleri ile kombine edildiğinde baharatların kalitesinin daha iyi korunmasına yardım ederek, baharat örneklerin mikrobiyal yükünün azaltılmasında kullanım potansiyelinin olabileceği düşünülmektedir. UVC sisteminin diğer alternatif yöntemler ile kullanımının baharatların dekontaminasyonundaki etkinliği de ileriye yönelik çalışmalar ile araştırılabilir.

KAYNAKLAR

Abdalla, A. E., & Roozen, J. P. (1999). Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*, *64*, 323–329.

Akbas, M. Y., & Ozdemir, M. (2008). Effect of gaseous ozone on microbial inactivation and sensory of flaked red peppers. *International Journal of Food Science & Technology*, *43*(9), 1657-1662.

Akbas, M. Y., & Ozdemir, M. (2006). Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *86*(13), 2099-2104.

Al-Bachir, M., & Lahham, G. (2003). The effect of gamma irradiation on the microbial load, mineral concentration and sensory characteristics of licorice (*Glycyrrhiza glabra*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *83*, 70-75.

Al-Bachir, M. (2014). Effect of gamma ray and elektron beam irradiation on the physicochemical and sensorial properties of (*Matricaria chamomilla* L.). *Innovative Romanian Food Biotechnology*, *15*, 31-39.

Altıparmak, E., Temizkan, R., & Demirel-Zorba, N. N. (2014). The effect of ozone application on microbial load of plack pepper. *2nd International Congress on Food Technology.* Kuşadası, Turkey.

AOAC. (2000). Volatile oil in spices. AOAC Offical Method 962.17, 17th edition. AOAC International.

Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, *89*, 27–36.

Atungulu, G. G., Pan, Z., Dermirci, A., & Ngadi, M. O. (2012). Microbial decontamination of nuts and spices. In A. Demirci, & M. O. Ngadi (Eds.), *Microbial Decontamination in the Food Industry: Novel Methods and Applications* (pp. 125-162), Philadelphia: Woodhead Publishing.

Aydın, A. (2001). *Toz karabiberde mikrodalga yöntemi ile mikrobiyel dekontaminasyon üzerine bir çalışma* (Doktora tezi). İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Barbosa-Canovas, G. V., Pothakamury, U. R., Gongora-Nieto, M. M., & Swanson, B. G. (1999). Fundamentals of high intensity pulsed electricial fields. In *Preservation of foods with Pulsed Electric Fields* (pp.1-17). San Diego: Academic Press.

Bagdatlıoglu, N., & Orman, S. (2010). The effect of steam sterilization on antioxidant activities of sage, oregano and basil. *Italian Journal of Food Science, 22*(3), 343-346.

Baydar, H., Sağdiç, O., Özkan, G., & Karadoğan, T. (2004). Antibacterial actvity and composition of essential oils from *Origanum, Thymbra* and *Satureja* speices with commercial importance in Turkey. *Food Control, 15*, 169-172.

Beddows, C. G., Jagait, C., & Kelly, M. J. (2000). Preservation of α-tocopherol in sunflower oil by herbs and spices. *International Journal of Food Sciences and Nutrition, 51*, 327–339.

Beuchat, L. R. (1996). Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *Journal of Food Protection, 59*,204-216.

Beuchat, L. R. (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection, 4*(4), 413-423.

Beuchat, L. R., & Scouten, A. J. (2002). Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology, 92*(3), 382-395.

Beuchat, L. R., Farber, J. N., Garrett, E. H., Harris, L. J., Parish, M. E., Suslow, T. V., & Busta, F. F. (2003). Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2*, 174-178.

Bingol, G., Yang, J., Brandl, M. T., Pan, Z., Wang, H., & McHugh, T. H. (2011). Infrared pasteurization of raw almonds. *Journal of Food Engineering, 104*(3), 387-393.

Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Robinson, R. (2000). Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry:a critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 80*, 637–645.

Brandstetter, S., Berthold, C., Isnardy, B., Solar, S., & Elmadfa, I. (2009). Impact of gamma-irradiation on the antioxidative properties of sage, thyme, and oregano. *Food and Chemical Toxicology, 47*(9), 2230-2235.

Buckow, R., Ng, S., & Toepfl, S. (2013). Pulsed electric field processing of orange juice: a review on microbial, enzymatic, nutritional, and sensory quality and stability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12*(5), 455-467.

Buckow, R., Chandry, P. S., Ng, S. Y., McAuley, C. M., & Swanson, B. G. (2014). Opportunities and challenges in pulsed electric field processing of dairy products. *International Dairy Journal, 34*(2), 199-212.

Butz, P., Heinisch, O., & Tauscher, B. (1994). Hydrostatic high pressure applied to food sterilization III: application to spices and spice mixtures. *International Journal of High Pressure Research, 12*(4-6), 239-243.

Butz P., & Tauscher B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, *35*, 279–284.

CA. (1995). *Codex Alimentarius International Food Standards Code of Hygienic Practice for Spices and Dried Aromatic Plants* (CAC/RCP 42-1995). Retrieved from http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards.

Calado, T., Venâncio, A., & Abrunhosa, L. (2014). Irradiation for mold and mycotoxin control: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *13*(5), 1049-1061.

Calín-Sánchez, Á., Figiel, A., Lech, K., Szumny, A., & Carbonell-Barrachina Á. A. (2013). Effects of drying methods on the composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil. *Drying Technology*, *31*, 224–235.

Calucci, L., Pinzino, C., Zandomeneghi, M., Capocchi, A., Ghiringhelli, S. V., Saviozzi, F., Tozzi, S., & Galleschi, L. (2003). Effects of gamma-irradiation on the free radical and antioxidant contents in nine aromatic herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(4), 927–934.

Calvo, L., & Torres, E. (2010). Microbial inactivation of paprika using high-pressure CO_2. *Journal of Supercritical Fluids*, *52*(1), 134-141.

Cappelletti, M., Ferrentino, G., Endrizzi, I., Aprea, E., Betta, E., Corollaro, M. L., Charles, M., Gasperi, F., & Spilimbergo, S. (2015). High pressure carbon dioxide pasteurization of coconut water: a sport drink with high nutritional and sensory quality. *Journal of Food Engineering*, *145*, 73-81.

Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., & Basak, T. (2013). Microwave food processing: A review. *Food Research International*, *52*(1), 243-261.

Chen, J. H., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W. S., & Yuk, H. G. (2012). Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*,*11*(2), 119-132.

Cheon, H. L., Shin, J. Y., Park, K. H., Chung, M. S., & Kang, D. H. (2015). Inactivation of foodborne pathogens in powdered red pepper (*Capsicum annuum* L.) using combined UV-C irradiation and mild heat treatment. *Food Control*, *50*, 441-445.

Chun, H. H., Kim, J. Y., Lee, B. D., Yu, D. J., & Song, K. B. (2010). Effect of UV-C irradiation on the inactivation of inoculated pathogens and quality of chicken breasts during storage. *Food Control*, *21*(3), 276-280.

Coggins, P. C., 2001. Spices and flavourings for meat and meat products. In Y. H. Hui, W. Kit, R. W. Rogers, & O.A. Young (Eds.), *Meat Science and Aplications* (pp. 372-401). New York: Marcel Dekker.

Considine, K. M., Kelly, A. L., Fitzgerald, G. F., Hill, C., & Sleator, R. D. (2008). High-pressure processing: Effects on microbial food safety and food quality. *FEMS Microbiology Letters*, *281*(1), 1-9.

Çatal, H., & İbanoğlu, Ş. (2010). Gıdaların Ozonlanması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, *5*(3), 47-55.

Dababneh, B. F. (2013). An innovative microwave process for microbial decontamination of spices and herbs. *African Journal of Microbiology Research, 7*(8), 636-645.

Dhillon, B., Wiesenborn, D., Dhillon, H., & Wolf-Hall, C. (2010). Development and evaluation of a fluidized bed system for wheat grain disinfection. *Journal of Food Science, 75*(6), 372-378.

Dhillon, B., Wiesenborn, D., Sidhu, H., & Wolf-Hall, C. (2012). Improved microbial quality of buckwheat using antimicrobial solutions in a fluidized bed. *Journal of Food Science, 77*(4), 98-103.

Díaz-Maroto, M. C., Perez-Coello, M. S., Vinas, M. A. G., & Cabezudo, M. D. (2003). Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*, 1265-1269.

Diehl, J. F. (2002). Food irradiation: past, present and future. *Radiation Physics and Chemistry, 63*(3), 211-215.

Dorman, H. D., Surai, P., & Deans, S. G. (2000). In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. *Journal of Essential Oil Research*, *12*(2), 241-248.

EC. (2004). European Commission Recommendation of 19 December 2003 Concerning a Coordinated Programme for the Official Control of Food Stuffs for 2004 (2004/24/EC). *Official Journal of European Union, 6*, 29–37.

Eliasson, L., Libander, P., Lövenklev, M., Isaksson, S., & Ahrné, L. (2014). Infrared decontamination of oregano: effects on *Bacillus cereus* spores, water activity, color, and volatile compounds. *Journal of Food Science*, *79*(12), 2447-2455.

Emam, O. A., Farag, S. A., & Aziz, N. H. (1995). Comparative effects of gamma and microwave irradiation on the quality of black pepper. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, *201*(6), 557-561.

Emer, Z., Akbas, M. Y., & Ozdemir, M. (2008). Bactericidal activity of ozone against *Escherichia coli* in whole and ground black peppers. *Journal of Food Protection, 71*(5), 914-917.

Erdoğdu, S. B., & Ekiz, H. İ. (2011). Effect of ultraviolet and far infrared radiation on microbial decontamination and quality of cumin seeds. *Journal of Food Science, 76*(5), 284-292.

Erdoğdu, S. B., & Ekiz, H. İ. (2013). Far infrared and ultraviolet radiation as a combined method for surface pasteurization of black pepper seeds. *Journal of Food Engineering*, *116*(2), 310-314.

ESA. (2015). *European Spice Association Quality Minima Document.* Retrieved from http://www.esa-spices.org/index-esa.html/publications-esa

Farkas, J., & Mohácsi-Farkas, C. (2011). History and future of food irradiation. *Trends in Food Science & Technology*, *22*(2), 121-126.

Farkas, J., & Mohácsi-Farkas, C. (2014). Safety of food and beverages: spices and seasonings, In Y. Motarjemi, G. Moy, & E. Todd (Eds.), *Encyclopedia of Food Safety* (pp. 324-330), San Diego: Academic Press.

Fine, F., & Gervais, P. (2004). Efficiency of pulsed UV light for microbial decontamination of food powders. *Journal of Food Protection, 67*(4), 787-792.

Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology, 8*(9), 623-633.

Fowles J, Mitchell J, & McGrath H. (2001). Assessment of cancer risk from ethylene oxide residues in spices imported into New Zealand. *Food and Chemical Toxicology, 39(*11), 1055–1062.

Ganan, M., Hierro, E., Hospital, X. F., Barroso, E., & Fernández, M. (2013). Use of pulsed light to increase the safety of ready-to-eat cured meat products. *Food Control*, *32*(2), 512-517.

Garbowska, M., Berthold-Pluta, A., & Stasiak-Różańska, L. (2015). Microbiological quality of selected spices and herbs including the presence of *Cronobacter* spp. *Food Microbiology, 49*, 1-5.

Garcia-Gonzalez, L., Geeraerd, A. H., Spilimbergo, S., Elst, K., Van Ginneken, L., Debevere, J., Van Impe, J. F., & Devlieghere, F. (2007). High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future. *International Journal of Food Microbiology, 117*(1), 1-28.

Gecan, J.S., Bandler, R., Glaze, L. E., & Atkinson, J.C. (1986). Microanalytical quality of ground and unground marjoram, sage and thyme, ground allspice, black pepper and paprika. *Journal of Food Protection, 49*(3): 216-221.

Gezgin, Z., & Güneş, G. (2003). Gıdaların gama ışınları ile muhafazası, *Gıda*. Aralık, 82-87.

Gómez-López, V. M., Ragaert, P., Debevere, J., & Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science & Technology*, *18*(9), 464-473.

Gómez-López, V. M., Koutchma, T. and Linden, K. (2012). Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods. In P. Cullen, B. K. Tiwari, & V. P. Valdramidis (Eds), *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods* (pp. 185-223). New York: Elsevier.

Grabowski, M., Strzelczak, A., & Dąbrowski, W. (2014). Low pressure cold plasma as an alternative method for black pepper sterilization. *Journal of Life Sciences, 8*, 931-939.

Guerrero-Beltrán, J.A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International*, *10*(3), 137-147.

Gumus, T., Albayrak, S., Sagdic, O., & Arici, M. (2011). Effect of gamma irradiation on total phenolic contents and antioxidant activities of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris*, and *Thymbra spicata* from Turkey. *International Journal of Food Properties, 14*(4), 830-839.

Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K., & Seydim, A. C. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*, *37*(4), 453-460.

Ha, J. W., & Kang, D. H. (2013). Simultaneous near-infrared radiant heating and UV radiation for inactivating *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in powdered red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(21), 6568-6575.

Hadjok, C., Mittal, G. S., & Warriner, K. (2008). Inactivation of human pathogens and spoilage bacteria on the surface and internalized within fresh produce by using a combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide. *Journal of Applied Microbiology*, *104*(4), 1014-1024.

Hashem, M., & Alamri, S. (2010). Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin-producing fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *17*(2), 167-175.

Hertwig, C., Reineke, K., Ehlbeck, J., Knorr, D., & Schlüter, O. (2015a). Decontamination of whole black pepper using different cold atmospheric pressure plasma applications. *Food Control*, *55*, 221-229.

Hertwig, C., Reineke, K., Ehlbeck, J., Erdoğdu, B., Rauh, C., & Schlüter, O. (2015b). Impact of remote plasma treatment on natural microbial load and quality parameters of selected herbs and spices. *Journal of Food Engineering*, http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.12.017

Hidaka, Y., & Kubota, K. (2006). Study on the sterilization of grain surface using UV radiation. *Japan Agricultural Research Quarterly*, *40*(2), 157-161.

Hirasa, K., & Takemasa, M. (1998). *Spice Science and Technology*. New York: Markel Dekker.

Hogan, E., Kelly, A. L., & Sun, D. W. (2005). High pressure processing of foods: an overview. In D. Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing* (pp. 3-32). San Diego: Elsevier Academic Press.

ICMSF. (1978). International commission for microbiological specifications for foods. Microorganisms in foods. 1. Their significance and methods of enumeration. In ICMSF (Ed.), *Microorganisms in Foods* (2nd ed.). Toronto, Canada: University of Toronto Press.

ICMSF. (2005). Spices, herbs, and vegetable seasonings. In: ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) (Ed.), *Microorganisms in Foods, Microbial Ecology of Food Commodities* (pp. 360-372). London: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Isohanni, P. M. I., & Lyhs, U. (2009). Use of ultraviolet irradiation to reduce *Campylobacter jejuni* on broiler meat. *Poultry Science*, *88*(3), 661-668.

Jeong, S. G., & Kang, D. H. (2014). Influence of moisture content on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in powdered red and black pepper spices by radio-frequency heating. *International Journal of Food Microbiology*, *176*, 15-22.

Jiao, S., Deng, Y., Zhong, Y., Wang, D., & Zhao, Y. (2015). Investigation of radio frequency heating uniformity of wheat kernels by using the developed computer simulation model. *Food Research International*, *71*, 41-49.

Jiménez-Escrig, A. (2009). The antioxidant value of vegetable food. In V. C. Bellinghouse (Ed.), *Food Processing: Methods, Techniques and Trends* (pp. 575-581). New York: Nova Science Publishers.

Jung, Y. J., Oh, B. S., & Kang, J. W. (2008). Synergistic effect of sequential or combined use of ozone and UV radiation for the disinfection of *Bacillus subtilis* spores. *Water Research*, *42*(6), 1613-1621.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(10), 3954-3962.

Kapoor, I. P. S., Singh, B., Singh, G., De Heluani, C. S., De Lampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2009). Chemistry and in vitro antioxidant activity of volatile oil and oleoresins of black pepper (*Piper nigrum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(12), 5358-5364.

Kaya, Z., Yıldız, S., & Ünlütürk, S. (2015). Effect of UV-C irradiation and heat treatment on the shelf life stability of a lemon–melon juice blend: multivariate statistical approach. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *29*, 230-239.

Keith, W. D., Harris, L. J., Hudson, L., & Griffiths, M. W. (1997). Pulsed electric fields as a processing alternative for microbial reduction in spice. *Food Research International*, *30*(3), 185-191.

Keklik, N. M., & Krishnamurty, K. 2012. Microbial decontamination of food by ultraviolet (UV) and pulsed UV light. In A. Demirci, & M. O. Ngadi, (Eds.), *Microbial Decontamination in the Food Industry: Novel Methods and Applications* (pp. 344-365). Philadelphia: Woodhead publishing.

Khadre, M. A., Yousef, A. E., & Kim, J. G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of Food Science Chicago*, *66*(9), 1242-1253.

Kirkin, C., Mitrevski, B., Gunes, G., & Marriott, P. J. (2014). Combined effects of gamma-irradiation and modified atmosphere packaging on quality of some spices. *Food Chemistry*, *154*, 255-261.

Kim, C., & Hung, Y. C. (2012). Inactivation of *E. coli* O157: H7 on blueberries by electrolyzed water, ultraviolet light, and ozone. *Journal of Food Science*,*77*(4), 206-211.

Kim, J. E., Lee, D. U., & Min, S. C. (2014). Microbial decontamination of red pepper powder by cold plasma. *Food Microbiology*, *38*, 128-136.

Kim, J. G., Yousef, A. E., & Khadre, M. A. (2003). Ozone and its current and future application in the food industry. *Advances in Food and Nutrition Research*,*45*, 167-218.

Kim, S. Y., Sagong, H. G., Choi, S. H., Ryu, S., & Kang, D. H. (2012). Radio-frequency heating to inactivate *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia coli* O157: H7 on black and red pepper spice. *International Journal of Food Microbiology*, *153*(1), 171-175.

Kim, T., Silva, J. L., & Chen, T. C. (2002). Effects of UV irradiation on selected pathogens in peptone water and on stainless steel and chicken meat. *Journal of Food Protection*, *65*(7), 1142-1145.

Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, *2*(2), 138-155.

Koutchma, T. N., Forney, L. J., & Moraru, C. I. (2009). *Ultraviolet Light in Food Technology*. Boca Raton: CRC Press.

Kowalski, W. (2010). UVGI disinfection theory. In *Ultraviolet Germicidal Irradiation Handbook* (pp.17-47). New York: Springer Science & Business Media.

Krishnamurthy, K., Khurana, H. K., Soojin, J., Irudayaraj, J., & Demirci, A. (2008). Infrared heating in food processing: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *7*(1), 2-13.

Krishnamurthy, K., Irudayaraj, J., Demirci, A., & Yang, W. (2009). UV pasteurisation of food materials. In S. Jun, & J. M. Irudayaraj (Eds.), *Food Processing Operations Modelling: Design and Analysis* (pp. 281-299). Boca Raton: CRC Press.

Kurzeja, E., Stec, M., Ramos, P., Pilawa, B., & Pawłowska-Góral, K. (2012). The influence of sterilization on free radical generation, discoloration and the antioxidant properties of certain spice herbs. *Italian Journal of Food Science*, *24*, 254-262.

Lacroix, M, Marcotte, M., & Ramaswamy, H. S. (2003). Irradiation of fruits, vegetables, nuts and spices. In A. Chakraverty, A. S. Mujumdar, & H. S. Ramaswamyn (Eds), *Handbook of Postharvest Technology Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices* (pp. 623–652). New York: CRC Press.

Lang, M. M., Harris, L. J., & Beuchat, L. R. (2004a). Survival and recovery of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce and parsley as affected by method of inoculation, time between inoculation and analysis, and treatment with chlorinated water. *Journal of Food Protection*, *67*(6),1092-1103.

Lang, M. M., Harris, L. J., & Beuchat, L. R. (2004b). Evaluation of inoculation method and inoculum drying time for their effects on survival and efficiency of recovery of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* inoculated on the surface of tomatoes. *Journal of Food Protection*, *67*(4), 732-741.

Li, Y. L., Craker, L. E., & Potter, T. (1996). Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). *Acta Horticulturae*, *426*, 419–426.

Lilie, M., Hein, S., Wilhelm, B., & Nueller, U. (2007). Decontamination of Spices by combining mechanical and thermal effects: an alternative approach for quality retention. *International Journal of Food Science and Technology*, *24*, 190-193.

López-Malo, A., & Palou, E. (2005). Ultraviolet light and food preservation. In G. V. Barbosa-Canovas, M. S. Tapia, & M. P. Cano (Eds.), *Novel Food Processing Technologies* (pp. 405-421). Boca Raton: CRC Press.

Lu, Y., & Foo, L. Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, *75*, 197–202.

Lyon, S. A., Fletcher, D. L., & Berrang, M. E. (2007). Germicidal ultraviolet light to lower numbers of *Listeria monocytogenes* on broiler breast fillets. *Poultry Science*, *86*(5), 964-967.

Madsen, H. L., & Bertelsen, G. (1995). Spices as antioxidants. *Trends in Food Science Technology*, *6*, 271–277.

Marra, F., Zhang, L., & Lyng, J. G. (2009). Radio frequency treatment of foods: Review of recent advances. *Journal of Food Engineering*, *91*(4), 497-508.

McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science*, *65*, 1270‑1282.

Meghwal, M., & Goswami, T. K. (2013). *Piper nigrum* and piperine: an update. *Phytotherapy Research*, *27*(8), 1121-1130.

Mendonça, A. F., & Daraba, A. (2014). Non-thermal processing: irradiation. In C. A. Batt, & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed., pp. 954-961), San Diego: Academic Press.

Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In E. Stahl-Biskup, & F. Saez (Eds.), *Thyme: The genus Thymus* (pp. 1–44). London: Taylor Francis.

Muggeridge, M., & Clay, M. (2001). Quality specifications for herbs and spices. In: V. K. Peter, (Ed.), *Handbook of Herbs and Spices*. (pp. 13–22). Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.

Muthukumarappan, K., Halaweish, F., & Naidu, A. S. (2000). Ozone. In A. S. Naidu (Ed.), *Natural Food Antimicrobial Systems* (pp. 783-800). Boca Raton: CRC Press.

Nagy, T. O., Solar, S., Sontag, G., & Koenig, J. (2011). Identification of phenolic components in dried spices and influence of irradiation. Food chemistry, 128(2), 530-534.

Narayanan, C. S. (2000). Chemistry of black pepper. In P.N. Ravindran (Ed.) *Black Pepper: Piper nigrum* (pp. 143-162). Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

Ngadi, M., Jun, X., Smith, J., & Raghavan, G. S. V. (2004). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in poultry chiller water using combined ultraviolet light, pulsed electric field and ozone treatments. *International Journal of Poultry Science*, 3(11), 733-737.

Nicorescu, I., Nguyen, B., Moreau-Ferret, M., Agoulon, A., Chevalier, S., & Orange, N. (2013). Pulsed light inactivation of *Bacillus subtilis* vegetative cells in suspensions and spices. *Food Control*, *31*(1), 151-157.

Niemira, B. A. (2012). Cold plasma reduction of Salmonella and *Escherichia coli* O157: H7 on almonds using ambient pressure gases. *Journal of Food Science*, *77*(3), 171-175.

Nisha, P., Singhal, R. S., & Pandit, A. B. (2009). The degradation kinetics of flavor in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Food Engineering*, *92*(1), 44-49.

Ochoa-Velasco, C. E., Cruz-González, M., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2014). Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *26*, 199-204.

Orsat, V., & Raghavan, G. V. (2001). Radio-Frequency Processing. In D. Sun (Ed.), *Introduction to Food Engineering* (pp. 445-464). San Diego: Elsevier Academic Press.

Özcan, M., & Erkmen, O. (2001). Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. *European Food Research and Technology*, *212*(6), 658-660.

Özlük-Çılak, G., & Halkman, A. K. (2014). The effect of ozone on microbial load of black pepper corn. *2nd International Congress on Food Technology.* Kuşadası, Turkey.

Panya, A., Laguerre, M., Lecomte, J., Villeneuve, P., Weiss, J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2010). Effects of chitosan and rosmarinate esters on the physical and oxidative stability of liposomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 5679–5684.

Parveen, S., Das, S., Begum, A., Sultana, N., Hoque, M. M., & Ahmad, I. (2014). Microbiological quality assessment of three selected spices in Bangladesh. *International Food Research Journal*, *21*(4), 1327-1330.

Patil, S., Cullen, P. J., & Bourke, P. (2014). Ozone: A novel Microbial inactivation process. In I. S. Boziaris (Ed.), Novel *Food Preservation and Microbial Assessment Techniques* (pp. 126-154). Boca Raton: CRC Press.

Patterson, M. F. (2005). Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of applied microbiology*, *98*(6), 1400-1409.

Pereira, R. N., & Vicente, A. A. (2010). Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. *Food Research International*, *43*(7), 1936-1943.

Peter, K. V., & Babu, K. N., (2004). Introduction to herbs and spices: medicinal uses and sustainable production. In K. V. Peter (Ed.) *Handbook of Herbs and Spices* (pp. 1-15). Cambridge: Woodhead Publishing.

Pérez, M. B., Calderón, N. L., & Croci, C. A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry*, *104*(2), 585-592.

Piggott, J. R., & Othman, Z. (1993). Effect of irradiation on volatile oils of black pepper. *Food Chemistry*, *46*(2), 115–119.

Pinkas J. M., Battista, K., & Morille-Hinds, T. (2009). Microbiological spoilage of spices, nuts, cocoa, and coffee . In W. H. Sperber, & M. P. Doyle (Eds.), Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages (pp.325-350). New York: Springer Science & Business Media.

Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Uberegger, E., & Conte, L. S. (2002). Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*, 1645–1652.

Pizzichemi, M. (2007). Application of pulsed electric fields to food treatment. *Nuclear Physics B-Proceedings Supplements*, *172*, 314-316.

Polovka, M., & Suhaj, M. (2010). The effect of irradiation and heat treatment on composition and antioxidant properties of culinary herbs and spices: a review. *Food Reviews International*, *26*(2), 138-161.

Polovka, M., & Suhaj, M. (2013). Classification and prediction of γ-irradiation of ten commercial herbs and spices by multivariate evaluation of properties of their extracts. *Journal of Food and Nutrition Research*, *52*(1), 45-60.

Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., & Prieto, M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: a review. *LWT-Food Science and Technology*, *44*(5), 1251-1260.

Rico, C.W., Kim, G.-R., Ahn, J.-J., Kim, H.-K., Furuta, M., & Kwon, J. H. (2010). The comparative effect of steaming and irradiation on the physicochemical andmicrobiological properties of dried red pepper (*Capsicum annum* L.). *Food Chemistry*, *119*, 1012–1016.

Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 2866–2887.

Sadanandan, A. K. (2000). Agronomy and nutrition of black pepper. In P.N. Ravindran (Ed.) *Black Pepper: Piper nigrum* (pp. 167-231). Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

Schenk, M., Raffellini, S., Guerrero, S., Blanco, G.A., & Alzamora, S.M. (2011). Inactivation of *Escherichia coli, Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* by UV-C light: Study of cell injury by flow cytometry. *Food Science and Technology*, *44*, 191-198.

Schwarz, K., & Ernst, H. (1996). Evaluation of antioxidative constituents from thyme. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *70*, 217–223.

Schweiggert, U., Carle, R., & Schieber, A. (2007). Conventional and alternative processes for spice production: a review. *Trends in Food Science Technology*, *18*, 260–268.

Scouten, A. J., & Beuchat, L. R. (2002). Combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology*, *92*(4), 668-674.

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects: a review. *Journal of Functional Foods*, doi:10.1016/j.jff.2015.06.018

Shantha N. C., & Decker E. A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77, 421–424.

Sharma, R. R., & Demirci, A. (2003). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with pulsed ultraviolet light and response surface modeling. *Journal of Food Science*, *68*, 1448–1453.

Sharma, G. P., & Prasad, S. (2006). Specific energy consumption in microwave drying of garlic cloves. *Energy*, *31*(12), 1921-1926.

Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K., & Stroshine, R. L. (2002). Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Food Microbiology*, *19*(2), 183-193.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In L. Packer (Ed.), *Oxidants and Antioxidants, Part A, Methods in Enzymology* (vol. 299, pp. 152–178). New York: Academic Press.

Smeu, I., & Nicolau, A. I. (2014). Enhancement of food safety: antimicrobial effectiveness of cold plasma treatments. *AUDJG – Food Technology*, *38*(1), 9-10.

Soysal, Y. (2005). Mathematical modeling and evaluation of microwave drying kinetics of mint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Applied Sciences*, *5*(7), 1266-1274.

Srey, S., Jahid, I. K., & Ha, S. D. (2013). Biofilm formation in food industries: a food safety concern. *Food Control*, *31*(2), 572-585.

Staack, N., Ahrne, L., Borch, E., & Knorr, D. (2008). Effect of infrared heating on quality and microbial decontamination in paprika powder. *Journal of Food Engineering*, *86*(1), 17-24.

Stoica, M., Alexe, P., & Mihalcea, L. (2014). Atmospheric cold plasma as new strategy for foods processing: An overview. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, *15*, 1-8.

Sun, S., Anderson, N. M., & Keller, S. (2014). Atmospheric pressure plasma treatment of black peppercorns inoculated with *Salmonella* and held under controlled storage. *Journal of Food Science*, *79*(12), 2441-2446.

Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*(6), 531-537.

Suhaj, M., Rácová, J., Polovka, M., & Brezová, V. (2006). Effect of γ-irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Food Chemistry*, *97*(4), 696-704.

Tainter, D. R., & Grenis, A. T. (2001). *Spices and Seasonings* (2nd ed.). New York: John Wiley and Sons.

Takemasa, M., & Hirasa, K. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of spices. In M. Takemasa & K. Hirasa (Eds.), *Spice Science and Technology* (pp. 163–200). New York: Marcel Decker Inc.

Tateo, F., & Bononi, M. (2006). Determination of ethylene chlorohydrin as marker of spices fumigation with ethylene oxide. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*(1), 83-87.

TGK. (2011). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, *T. C. Resmi Gazete, 28157*, 29 Aralık 2011.

Timmermans, R. A. H., Groot, M. N., Nederhoff, A. L., van Boekel, M. A. J. S., Matser, A. M., & Mastwijk, H. C. (2014). Pulsed electric field processing of different fruit juices: Impact of pH and temperature on inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, *173*, 105-111.

Torlak, E., Sert, D., & Ulca, P. (2013). Efficacy of gaseous ozone against *Salmonella* and microbial population on dried oregano. *International Journal of Food Microbiology*, *165*(3), 276-280.

Uhl, S. R. (2000). Handbook of spices, seasonings, and flavorings. Lancaster: Technomic Publishing.

U.S. FDA. (2014). *Ultraviolet Radiation for the Processing and Treatment of Food* (21CFR179.39). Retrieved from http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=179.39

Variyar, P. S. (1998). Effect of gamma irradiation on the phenolic acids of some Indian spices. *International Journal of Food Science and Technology*, *33*(6), 533-537.

Van Doren, J. M., Neil, K. P., Parish, M., Gieraltowski, L., Gould, L. H., & Gombas, K. L. (2013). Foodborne illness outbreaks from microbial contaminants in spices, 1973–2010. *Food Microbiology*, *36*(2), 456-464.

Venskutonis, P. R. (2002). Harvesting and post-harvest handling in the genus Thymus. In E. Stahl-Biskup, & F. Saez (Eds.), *Thyme: The genus Thymus* (pp. 197-223). London: Taylor Francis.

Virtanen, H., Vehmas, K., Erho, T., & Smolander, M. (2014). Flexographic printing of trametes versicolor laccase for indicator applications. *Packaging Technology and Science*, 27(10), 819-830.

Viuda-Martos, M., Navajas, Y. R., Zapata, E. S., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010a). Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*, *25*, 13-19.

Viuda-Martos, M., El Gendy, A. E., Sendra, E., Fernández-López, J., Abd El Razik, K. A., Omer, E. A., & Pérez-Alvarez, J. A. (2010b). Chemical composition and antioxidant and anti-Listeria activities of essential oils obtained from some egyptian plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(16), 9063-9070.

Waraho, T., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2011). Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. *Trends in Food Science Technology*, *22*, 3–13.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, *105*(3), 940-949.

Yanishlieva-Maslarova, N. V., & Heinonen, I. M. (2001). Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. In J. Pokorný, N. Yanishlieva, & M. Gordon (Eds.), *Antioxidants in Food: Practical Applications* (pp. 210-263). Boca Raton: CRC Press.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., & Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol andcarvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, *64*, 59–66.

Yaun, B. R., Sumner, S. S., Eifert, J. D., & Marcy, J. E. (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology*, *90*(1), 1-8.**Yılmaz, H., & Şanlıer, N**. (2014). Baharat ışınlama, *Gıda*, *39*(2): 111-118.

Zachariah, T. J. (2000). On farm processing of black pepper. In P.N. Ravindran (Ed.) *Black Pepper: Piper nigrum* (pp. 345-365). Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

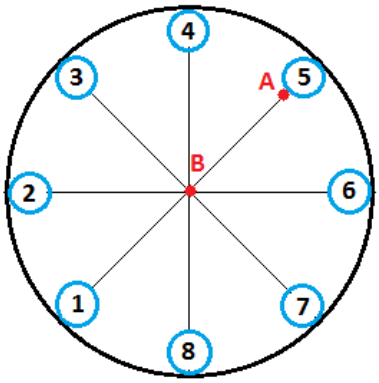
Zaied, S. E. A., Aziz, N. H., & Ali, A. M. (1996). Comparing effects of washing, thermal treatments and gamma irradiation on quality of spieces. *Food/Nahrung*,*40*(1), 32-36.

Zeković, Z., Lepojeviíc, Ž., & Vujić, D. (2000). Supercritical extraction of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Chromatographia*, *51*(3-4), 175-179.

EKLER

EK A: Radyometre Ölçüm Sonuçları
EK B: Duyusal Analiz Formu

EK A: Radyometre Ölçüm Sonuçları

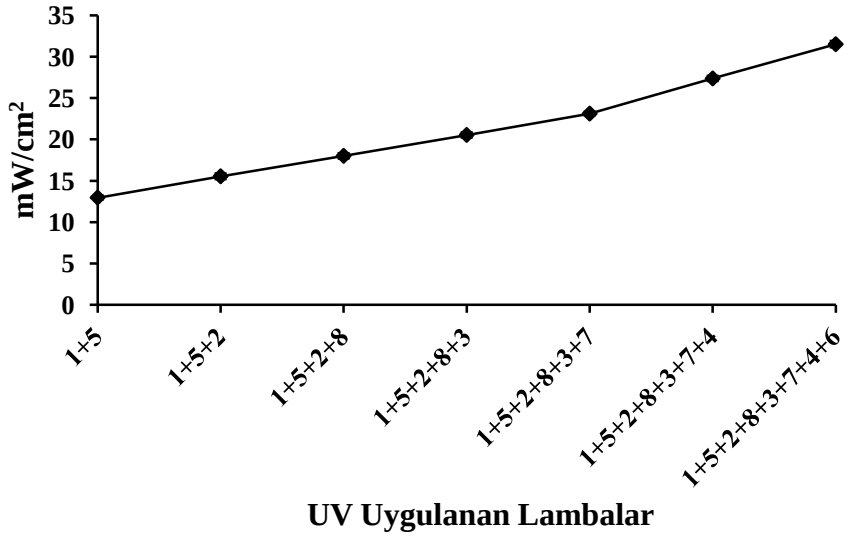


Şekil A.1 : UVC lambaların dizilimi ve radyometre ölçüm noktaları.

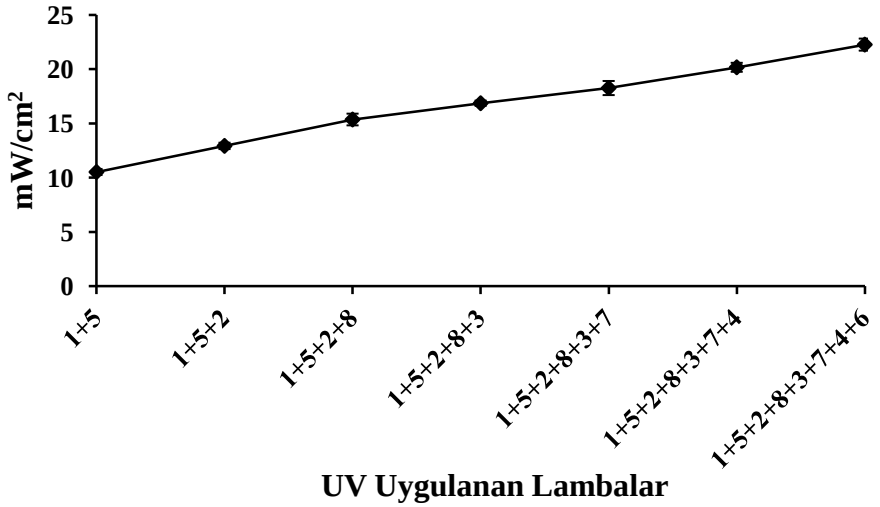
Çizelge A.1 : UV lambaların şiddeti.

Lamba numarası*	UV şiddeti (mW/cm^2)
1	10,62±0,17
2	9,52±0,04
3	9,86±0,05
4	9,62±0,13
5	10,51±0,10
6	9,87±0,04
7	10,84±0,22
8	11,12±0,09

*Lambaların dizilimi Şekil A.1'de gösterilmiştir.



Şekil A.2 : UV uygulanan lamba sayısı ile A noktasındaki UV şiddetinin değişimi.



Şekil A.3 : UV uygulanan lamba sayısı ile B noktasındaki UV şiddetinin değişimi.

Çizelge A.2 : UV lambaların farklı kombinasyonlar şeklinde uygulanması ile A* noktasında ölçülen UV şiddetleri.

Lamba numarası	UV şiddeti (mW/cm^2)
1+5	12,95±0,29
3+7	5,03±0,16
4+6	8,25±0,10
2+8	5,01±0,18
4+5+6	18,73±0,15
1+2+8	7,34±0,20
2+3+4	9,16±0,26
6+7+8	9,10±0,23
1+5+2	15,52±0,38
1+5+8	15,42±0,26
1+5+2+8	17,99±0,35
1+5+2+3	18,05±0,38
1+5+8+7	17,89±0,24
1+5+2+3+4	22,30±0,46
1+5+8+7+6	22,03±0,30
1+5+2+8+3	20,52±0,34
1+5+2+8+3+7	23,10±0,25
1+5+2+8+3+7+4	27,35±0,34
1+5+2+8+3+7+4+6	31,49±0,42

*UVC cihazı içinde A ölçüm noktasının yeri Şekil A.1'de gösterilmiştir.

Çizelge A.3 : UV lambaların farklı kombinasyonlar şeklinde uygulanması ile B* noktasında ölçülen UV şiddetleri.

Lamba numarası	UV şiddeti (mW/cm^2)
5+6	11,64±0,20
2+6	5,05±0,08
1+5	10,52±0,28
1+2	4,01±0,08
4+7	3,31±0,25
3+8	4,51±0,26
4+5	11,46±0,14
1+2+5	12,92±0,29
1+2+3+8	7,30±0,12
1+2+5+8	15,35±0,54
4+5+6+7	17,88±0,11
1+2+5+6	15,02±0,13
1+3+5+7	13,60±0,22
1+3+5+7+6	15,70±0,17
1+3+5+8+3	16,85±0,24
1+3+5+7+6+8	18,72±0,25
1+2+5+8+3+7	18,25±0,65
1+2+5+8+3+7+4	20,16±0,41
1+2+5+8+3+7+4+6	22,25±0,55

*UVC cihazı içinde B ölçüm noktasının yeri Şekil A.1'de gösterilmiştir.

EK B: Duyusal Analiz Formu

Ad-Soyad:
Tarih:

DUYUSAL ANALİZ

Size sunulmuş kekik/karabiber örneklerini sırayla karakteristik koku, renk yoğunluğu, ve genel beğeni açısından skala yardımıyla değerlendiriniz.

Koku:

Skala: 1. Çok zayıf (koku kaybı fazla), 9: Çok yoğun (koku kaybı yok)

Örnek no								
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9

Renk yoğunluğu:

Skala: 1: Çok zayıf (renk kaybı fazla), 9: Çok güçlü (renk kaybı yok)

Örnek no								
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9

Genel Beğeni:

Skala: 1: Hiç beğenmedim, 5: Ne beğendim ne beğenmedim, 9: Çok beğendim

Örnek no								
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9
.....	☐1	☐2	☐3	☐4	☐5	☐6	☐7	☐8	☐9

Yorumlar:

Şekil B.1 : Duyusal analiz formu.

ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad : Esra DOĞU BAYKUT

Doğum Tarihi ve Yeri : İstanbul, 02.05.1984

E-posta : dogue@itu.edu.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2006, İTÜ, Gıda Mühendisliği
- **Yükseklisans** : 2009, İTÜ, Gıda Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2008-2015 yılları arasında İTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak çalıştı.
- Ekim 2012-Temmuz 2013 tarihleri arasında Amerika'daki Massachusetts Üniversitesi Amherst Gıda Bilimi bölümünde misafir araştırmacı olarak çalıştı.
- Burslar:
    - İTÜ Araştırma Görevlileri Yurt Dışı Destekleme Programı Bursu
    - TÜBİTAK Yurtiçi Doktora Eğitim Bursu
    - TÜBİTAK Yurtiçi Yüksek Lisans Eğitim Bursu

DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR VE SUNUMLAR:

- **Dogu-Baykut, E.**, Gunes, G., & Decker, E. A. (2014). Impact of shortwave ultraviolet (UV-C) radiation on the antioxidant activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, *157*, 167-173.
- **Dogu-Baykut, E.**, Gunes, G., & Decker, E. A. (2013). Changes in antioxidant activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) after treatment with shortwave ultraviolet (UV-C) radiation. 11th Euro Fed Lipid Congress, 27-30 October, 2013, Antalya, Turkey.

- **Dogu-Baykut, E.**, Ayvaz, N., & Gunes, G. (2014). Tane ve toz karabiberin (*Piper nigrum* L.) mikrobiyal dekontaminasyonunda akışkan yataklı UV sisteminin kullanım potansiyeli. Gıda Mühendisliği 5. Ögrenci Kongresi, 24-25 Nisan, 2014, Bolu, Türkiye.

DİĞER YAYINLAR VE SUNUMLAR:

- Turhan, S. S., **Dogu-Baykut, E.,** Kittipongpittaya, K., McClements D. J., & Decker, E. A. (2014). Increased antioxidant efficacy of tocopherols by surfactant solubilization in oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62*(43), 10561–10566.
- **Dogu-Baykut, E.**, & Gunes, G. (2014). Quality of ready-to-cook marinated chicken drumsticks as affected by modified atmosphere packaging during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation, 38*, 615-624.
- **Dogu-Baykut, E.**, Gunes, G., & Decker, E. A. (2014). The Influence of surfactant concentration on the partitioning and antioxidant activity of α-tocopherol in stripped soybean oil-in-water emulsions. 12th Euro Fed Lipid Congress, 14-17 September, 2014, Montpellier, France.
- Gunes, G., & **Dogu, E.**, (2011). Green leafy vegetables: spinach and lettuce. In N. Sinha, Y. H. Hui, E. Ö. Evranuz, M. Siddiq, & J. Ahmed (Eds). *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing* (pp. 705-716). Wiley-Black Well Publishing.
- **Dogu, E.**, & Gunes, G. (2011). Use of modified atmosphere packaging in ready meals and ready-to-cook meat products, International Food Congress: Novel Approaches in Food Industry NAFI, 26-29 May, 2011, Çeşme, İzmir, Turkey.
- **Dogu, E.**, & Gunes, G. (2010). Modified atmosphere packaging improves microbial, oxidative and sensory qualities of marinated chicken drumsticks. IFT Annual Meeting & Food Expo, 17-20 July, 2010, Chicago, IL, USA.
- **Dogu, E.**, & Gunes, G. (2009). Marine edilmiş tavuk etinin modifiye atmosferde ambalajlama ile muhafazası, Ambalaj 2009 Sempozyumu, 13 November, 2009, Alsancak, Izmir, Türkiye. (En iyi poster 3.lük ödülü)
- **Dogu, E.**, & Gunes, G. (2009). Preservation of marinated chicken drumsticks with modified atmosphere packaging. SAFE Consortium 2nd International Congress on Food Safety, 27-29 April, 2009, Girona, Spain.
- **Dogu, E.**, & Gunes, G. (2008). Antimicrobial and antioxidant properties of some spices commonly used in marinating chicken. First European Food Congress, 4-9 November, 2008, Ljubljana, Slovenia.