ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OZON, KLOR VE HİDROJEN PEROKSİT UYGULAMALARININ PAZIDA KLOROFİL MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Özlem SEVİLGEN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2009

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OZON, KLOR VE HİDROJEN PEROKSİT UYGULAMALARININ PAZIDA KLOROFİL MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Özlem SEVİLGEN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin tüketimi gelişmiş ülkelerde sürekli artış göstermektedir. Bu teknikte ürünlerin raf ömrü, çeşitli yıkama uygulamaları ile uzatılmaktadır. Klor meyve ve sebzelerin sterilizasyonunda yaygın olarak kullanılan başlıca dezenfektandır. Ancak klor uygulaması sonucunda ürün yüzeyinde ve yıkama suyunda toksik bileşiklerin oluşumu söz konusudur. Bu nedenle klora alternatif oluşturabilen daha güvenli ve daha etkili dezenfektanlar üzerinde çalışılmaktadır. Bu alternatif dezenfektanların ikisi hidrojen peroksit ve ozondur.

Bu çalışmada taze doğranmış pazılarda klor, ozon ve hidrojen peroksidin klorofil parçalanması üzerine etkileri 2 haftalık depolama süresince değerlendirilmiştir. Bu amaçla taze doğranmış pazı yaprakları farklı konsantrasyonlardaki klor (50, 100 ve 200 ppm), ozonlu su (10 ve 20 g/saat) ve hidrojen peroksit (%5, 10 ve 15) ile 15 dakika boyunca yıkanmıştır. Yapılan uygulamaların klorofil miktarı üzerine etkileri 15 gün boyunca belirli aralıklarla (0, 5, 10 ve 15. günler) izlenmiştir.

Ulaşılan bulgular incelendiğinde kontrol dahil tüm örneklerde depolama süresi boyunca, uygulanan dezenfektan dozunun artmasıyla, klorofil a ve klorofil b miktarlarında meydana gelen azalmalar da artış göstermektedir. Klorofil a'nın klorofil b'ye kıyasla dezenfektanlara ve depolamaya karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Klorofil a'nın yüksek duyarlılığı nedeniyle, tüm yıkama uygulamalarında, 15 günlük depolama sonucunda klorofil a'nın 1/3'ü ve klorofil b'nin ise 1/4'ü parçalanmaktadır. Klorofil a ve klorofil b miktarında meydana gelen azalma üzerinde 20 g/saat ozon uygulamasının diğer dezenfektan uygulamalarına kıyasla daha etkili olduğu belirlenmiştir. Denenen konsantrasyonlarda klorofil a ve klorofil b parçalanması açısından hidrojen peroksidin klora iyi bir alternatif oluşturduğu ve farklılığın oldukça az (%1-5 arası) olduğu görülmüştür. Ozon uygulaması ise, düşük dozlarda ve kısa depolama sürelerinde klora oldukça iyi bir alternatif olarak görülmektedir.

Temmuz 2009, 75 sayfa

Anahtar Kelimeler: Ozon, klor, hidrojen peroksit, klorofil, pazı

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF OZONE, CHLORINE AND HYDROGEN PEROXİDE TREATMENTS ON CHLOROPHYLL CONTENT IN CHARD

Özlem SEVİLGEN

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

Supervisor: Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU

The consumption of minimally processed fruits and vegetables has been increasing constantly in developed countries. Shelf-life of these products can be extended with various washing treatments. Chlorine is the basic disinfectant commonly used to sanitize fruits and vegetables. However, chlorination may result in formation of carcinogenic compounds on product surface and wash water. For that reason, there is much interest in developing safer and more effective sanitizers. Ozone and hydrogen peroxide appear as potential alternatives to chlorine.

In this study the effects of chlorine, ozone and hydrogen peroxide were evaluated on chlorophyll degradation during 2 weeks storage period in fresh-cut chard leaves. The leaves were washed for 15 minutes using different concentration of chlorine (50, 100 and 200 ppm), ozone (10 and 20 g/hour) and hydrogen peroxide (5, 10 and 15%) solutions. The effects of these washing treatments on chlorophyll content were compared over 15 days of storage (days of 0., 5., 10. and 15.).

Increased sanitizer concentration yielded in decreased chlorophyll content compared to control samples throughout the storage. Chlorophyll a is found more sensitive to sanitizers and storage than chlorophyll b. One-third of chlorophyll a and one-fourth of chlorophyll b were degraded at the end of storage period, in all treatments, because of higher sensitivity of chlorophyll a. No detrimental effects on chlorophylls were observed for any treatments except ozone applications at high doses (20 g/h). Hydrogen peroxide caused a quite limited (%1-5) difference on retained chlorophylls, has showed promise for chlorine substituting. At low doses and for limited storage periods ozone treatments seem a good alternative to chlorine.

July 2009, 75 pages

Key Words: Ozone, chlorine, hydrogen peroxide, chlorophyll, chard

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren ve her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi), bilimsel çalışmaların yanında her aşamada bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Grv. Hakan KARACA'ya ve her ihtiyacım olduğunda yanımda olan Arş. Grv Evrim Burcu UNCU'ya, yardım ve destekleri için Arş. Grv. Ferda SARI'ya, katkılarından dolayı Arş. Grv. Emre BAKKALBAŞI'na, bana burs imkanı sağlayan TÜBİTAK' a ve tüm hayatım boyunca beni destekleyen ve çalışmalarım süresince her zaman yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, "Ozon, klor ve hidrojen peroksit uygulamalarının pazıda klorofil miktarı üzerine etkileri" başlıklı ve 2008-0745-001-HPD No'lu BAP projesi ile desteklenmiştir.

Özlem SEVİLGEN
Ankara, Temmuz 2009

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **viii**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **3**
2.1 Gıda Endüstrisinde Klor Uygulamaları **11**
2.2 Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları **16**
2.3 Gıda Endüstrisinde Hidrojen Peroksit Uygulamaları **23**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **31**
3.1 Materyal **31**
3.2 Yöntem **31**
3.2.1 Yıkama çözeltilerinin hazırlanması **31**
3.2.2 Yıkama işlemi **31**
3.2.3 Standart pigment çözeltilerinin hazırlanması **33**
3.2.3.1 Standart klorofil a ve klorofl b çözeltilerinin hazırlanması **33**
3.2.3.2 Standart feofitin a ve feofitin b çözeltilerinin hazırlanması **33**
3.3 Analiz Yöntemi **34**
3.3.1 Nem miktarı tayini **34**
3.3.2 Klorofil miktarındaki değişimin HPLC yöntemi ile belirlenmesi **34**
3.3.2.1 Ekstraksiyon **34**
3.3.2.2 Tanımlama ve hesaplama **35**
3.3.3 İstatistik analiz **41**
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA **42**
4.1 Klor ile Gerçekleştirilen Yıkama Uygulamasının Sonuçları **42**
4.2 Ozon ile Gerçekleştirilen Yıkama Uygulamasının Sonuçları **46**
4.3 Hidrojen Peroksit ile Gerçekleştirilen Yıkama Uygulamasının Sonuçları **50**
5. SONUÇ **58**

KAYNAKLAR 60
ÖZGEÇMİŞ 75

SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

WHO	Dünya Sağlık Örgütü
GRAS	Genel Olarak Güvenilir Gıda Katkısı
FAO	Gıda-Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipokloröz asit
$CaOCl_2$	Kalsiyum hipoklorit
NaClO	Sodyum hipoklorit
a_w	Su aktivitesi
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Klorofilin kimyasal yapısı 7
Şekil 2.2 Hipokloritin molekül yapısı 12
Şekil 2.3 Sodyum hipokloritin elde edilme formülü 13
Şekil 2.4 Sodyum hipokloritin molekül yapısı 13
Şekil 2.5 Ozon molekülünün oluşumu 17
Şekil 2.6 Corona Deşarj Metodu ile ozon elde edilişi 18
Şekil 2.7 Hidrojen peroksidin molekül yapısı 25
Şekil 2.8 Hidrojen peroksidin parçalanması 30
Şekil 3.1 Yıkama işleminde uygulanan işlem basamakları 32
Şekil 3.2 Klorofillerin ve feofitinlerin standart eğrileri 36
Şekil 3.3 İşlem uygulanmayan (kontrol) örneklere ait kromatogram 37
Şekil 3.4 %15'lik hidrojen peroksit uygulanan örneklere ait kromatogram 38
Şekil 3.5 200 ppm klor uygulanan örneklere ait kromatogram 39
Şekil 3.6 20 g/saat ozon uygulanan örneklere ait kromatogram 40
Şekil 4.1 Farklı klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil a miktarında meydana gelen değişimler 44
Şekil 4.2 Farklı klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil b miktarında meydana gelen değişimler 46
Şekil 4.3 Farklı ozon çözeltileri ile yıkana örneklerde depolama süresince klorofil a miktarında meydana gelen değişimler 48
Şekil 4.4 Farklı ozon çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil b miktarında meydana gelen değişimler 50
Şekil 4.5 Farklı hidrojen peroksit çzöeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil a miktarında meydana gelen değişimler 52
Şekil 4.6 Farklı hidrojen peroksit çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil b miktarında meydana gelen değişimler 54
Şekil 4.7 15 günlük depolama süresince klorofil a miktarında oluşan azalma 55
Şekil 4.8 15 günlük depolama süresince klorofil b miktarında oluşan azalma 56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Bazı sebze ve meyvelerin klorofil dağılımı..... 9
Çizelge 2.2 Çeşitli oksidantlar ve bunların oksidasyon potansiyelleri.. 24
Çizelge 3.1 HPLC çalışma koşulu 35
Çizelge 4.1 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımından yapılan varyans analizi sonuçları.. 42
Çizelge 4.2 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi 43
Çizelge 4.3 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımından yapılan varyans analizi sonuçları. 44
Çizelge 4.4 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin klorofil b miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....45
Çizelge 4.5 Farklı depolama sürelerinin klor ile muamele edilen örneklerdeki klorofil b miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....45
Çizelge 4.6 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımından yapılan varyans analizi sonuçları.....47
Çizelge 4.7 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin klorofil a miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....47
Çizelge 4.8 Farklı depolama sürelerinin ozon ile muamele edilen örneklerdeki klorofil a miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....47
Çizelge 4.9 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımından yapılan varyans analizi sonuçları..... 49
Çizelge 4.10 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin klorofil b miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....49

Çizelge 4.11 Farklı depolama sürelerinin ozon ile muamele edilen örneklerdeki klorofil b miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....49
Çizelge 4.12 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımından yapılan varyans analizi sonuçları.....51
Çizelge 4.13 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....51
Çizelge 4.14 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımından yapılan varyans analizi sonuçları.....53
Çizelge 4.15 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin klorofil b miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu KarşılaştırmaTesti.....53
Çizelge 4.16 Farklı depolama sürelerinin hidrojen peroksit ile muamele edilen örneklerdeki klorofil b miktarındaki (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi.....54

1. GİRİŞ

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler hasat sonrasında temizleme, kesme veya dilimleme, yıkama, kurutma ve ambalajlama gibi basit işlemlere tabi tutulmaktadır (King *et al*. 1991, Guidi *et al*. 2007). Taze doğranmış meyve ve sebzeler minimal işlenmiş gıdalardandır ve bunlar çoğu zaman hiçbir işlem yapılmaksızın veya pişirilip tüketilebilmektedir (Watada and Ling 1999). Minimal işlem görmüş gıdalar, kullanım kolaylığı ve meyve ve sebze tüketiminin sağlık için çok önemli olduğunun ortaya çıkması nedeniyle her geçen gün tüketicinin ilgisini daha fazla çekmektedir.

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin en önemli dezavantajı raf ömrünün herhangi bir işlem görmemiş meyve ve sebzelere kıyasla çok daha kısa olmasıdır (Barriga *et al*. 1991). Bunun nedeni dokunun hasar görmesidir. Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerde raf ömrünü uzatabilmek için depolama öncesi çeşitli çözeltilere daldırma ve yıkama teknikleri üzerinde pek çok çalışma yapılmaktadır (Reyes 1996, Simons and Sanguasri 1997). Dezenfeksiyon maddeleri çoğunlukla yıkama suyuna mikrobiyal popülasyonu azaltmak ve çapraz kontaminasyonu önlemek için ilave edilmektedir (Martinez-Sanchez *et al.* 2006). Bu amaçla ozon, klor ve hidrojen peroksit üzerinde çok durulmaktadır. Bunlardan klor uzun yıllardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda sanayinde klora alternatif daha güvenli ve daha etkili dezenfektanların arayışına girilmiştir. Bunlardan biri olan ozon gazının en önemli avantajı artık bırakmamasıdır (Skog and Chu 2001, Grass *et al*. 2003). Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin raf ömrünün uzatılmasında, hidrojen peroksitten de giderek artan düzeyde yararlanılmaktadır (Velioğlu 2001).

Bu maddeler oksidan özelliktedir ve gıdanın yapısında yer alan pigmentler gibi bazı bileşikler üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Tüketiciler açısından, bir gıda maddesinin görünüşü ve kalitesinin değerlendirilmesinde en önemli kriter o gıda maddesinin rengidir. Tüketiciler hemen her gıda maddesi için gıdanın kendine has rengini istemektedirler (Çakmakçı ve Çelik 2000, Tijkens *et al*. 2001). Klorofilin yeşil yapraklı

sebzelerde en önemli pigment olduğu ve proses sırasındaki kimyasal ve fiziksel değişikliklere karşı oldukça hassas olduğu kanıtlanmıştır (Boekel 1999, Teng and Chen 1999).

Bu araştırmanın amacı; meyve ve sebze endüstrisinde halen yaygın olarak kullanılan klorlu ve gelecekte yaygınlaşma potansiyeli olan ozonlu ve hidrojen peroksitli suyla yıkama işleminin, başlangıçtaki ve iki haftalık bir depolama süresi sonundaki doğranmış pazılardaki klorofil degradasyonu üzerine etkilerinin incelenmesi ve dezenfektanların bu açıdan kıyaslanmasıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünyada tüketimi sürekli olarak artan gıdaların başında meyve ve sebzeler gelmektedir. Bunun nedeni vücudumuzun ihtiyaç duyduğu vitamin ve minerallerin önemli miktarının, günlük diyetimizde tükettiğimiz meyve ve sebzelerden sağlanmasıdır. Özellikle yapraklı sebzeler β-karoten, askorbik asit, mineral madde ve lif açısından zengin bir kaynaktır (Agüero *et al*. 2005). Şüphesiz bu ilgi ve talep artışının bir başka nedeni de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda-Tarım Örgütü (FAO) gibi kuruluşların kanser ve kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılması için mümkün olduğunca doğal haldeki meyve ve sebze tüketiminin artırımını önermesidir (Allende *et al*. 2006). Bu nedenle günümüzde minimal işlem görmüş gıdalara duyulan talep sürekli artmaktadır (Velioğlu 2001). Minimal işlem görmüş gıdalar kullanım kolaylığı, sağlıklılık ve istenilen duyusal özellikler gibi faktörlerin kombinasyonuna bağlı olarak ekonomik bakımdan büyük önem taşımaktadır (Ragaert *et al*. 2007).

Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler hasattan hemen sonra temizleme, kesme veya dilimleme, yıkama, kurutma ve ambalajlama gibi basit işlemlere tabi tutulmaktadır (King *et al*. 1991, Guidi *et al*. 2007). Taze doğranmış meyve ve sebzeler minimal işlenmiş gıdalardandır ve bunlar çoğu zaman hiçbir işlem yapılmaksızın veya pişirilip tüketilebilmektedir (Watada and Ling 1999). Minimal işlem görmüş gıdalar, kullanım kolaylığı ve meyve ve sebze tüketiminin sağlık için çok önemli olduğunun ortaya çıkması nedeniyle her geçen gün tüketicinin ilgisini daha fazla çekmektedir. Örneğin İngiltere'de talebi en çok artan 3 ürün hazır salatalar, hazır meyveler ve hazır sebzelerdir (Weaver 1999).

Marcy (1985), Brocklehurst (1987), Bomar (1988), King and Bolin (1989) ve Lack *et al*. (1996) tarafından belirtildiğine göre, gıda tüketimindeki alışkanlıklar gıda sağlama olanakları, iş hayatı ve tüketicilerin talepleri gibi çeşitli faktörlerin etkisiyle değişmiştir. Büyük mutfaklarda ve yemek fabrikalarında yarı hazır ürünler gelişmiş ülkelerde yıllardan beri kullanılmakta, diğer yandan küçük işletmelerde de hazırlanıp tüketime

sunulmaktadır. Bu ürünlerin başında taze sebze salataları; özellikle marul, domates, hıyar, havuç, lahana gelmektedir (Arıcı *vd*. 2003). Gıda maddeleri üretiminin evlerden endüstri alanına kaymasıyla, gıdalardan insanlara geçen klasik enfeksiyonlar da önemini kaybetmektedir. Buna karşılık *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria*, *Yersinia* ve *Campylobacter* gibi patojen mikroorganizmalar gıdaların üretiminde tekniğe uygun yapılmayan dezenfeksiyon işlemleri sonucunda gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır. (Beuchat 1996, Ackers *et al*. 1998, De Roever 1998). Nitekim 2006 yılında taze doğranmış ıspanaklardaki *Escherichia coli*, 3 kişinin ölümüne ve yaklaşık 200 kişinin hastalanmasına neden olmuş ve ülke çapında tüm taze ıspanaklar raflardan toplatılmıştır (Hitti 2007).

Gıda zehirlenmeleri toplum sağlığını ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. Sağlıktaki olumsuz etkileri nedeniyle çalışamamazlık ya da verimsiz çalışabilme gibi işgücü kayıpları ve sağlık harcamaları ekonomik kayıpları oluştururken, gıda zehirlenmeleri ölüme de neden olabilmektedir. Birçok gıda zehirlenmesi gıda içerisinde bakterilerin salgıladıkları toksinlerden ileri gelmektedir. Meyve ve sebze sektöründe de gerek hammaddenin mikrobiyal yükü, gerekse üretim ve/veya üretim sonrası çeşitli yollarla ürüne bulaşan mikroorganizmalar, önemli sorunlar oluşturmaktadır (Karaca 2006). Bu mikroorganizmalarla gıdanın kontaminasyonu üretim, hasat, ambalajlama, işleme, dağıtım veya pazarlama gibi insan ya da hayvan dışkısına maruz kalınabilecek herhangi bir aşamada gerçekleşebilir (Sapers 2001).

Tüketime hazır gıdalar genellikle ambalajlanmadan önce kabuk soyma, dilimleme, parçalama vb işlemlere tabi tutulmaktadır (Barry-Ryan and O'Beirne 1998). Özellikle parçalama işlemi, minimal işlem görmüş gıdaların bozulmasından sorumlu esas faktördür (Degl'Innocenti *et al*. 2007). Çünkü bu gıdalar tabiatları itibariyle yüksek mikrobiyal yüke sahip olup parçalama işlemi ile mikroorganizmaların saldırısına karşı hassas bir hale gelmektedir (Arıcı *vd*. 2003, Ragaert *et al*. 2007). Hildebrandt *et al*. (1989), Kramer (1992) ve Lack *et al*. (1996) tarafından belirtildiğine göre, sebzelerin tüketime hazır hale gelmesi sırasında doğranması veya rendelenmesi mevcut

mikroorganizma gelişmesini teşvik edeceği gibi, doğrama veya diğer hazırlama işlemleri sırasında da ayrıca bazı mikroorganizmalar ile kontamine olması söz konusu olmaktadır (Arıcı *vd*. 2003).

Gıdalarla insanlara geçen hastalıkların önlenmesi, gıdalarda mikrobiyolojik bozulmaların geciktirilmesi veya tamamen engellenmesi ve gıdalardaki toksik maddelerin giderilmesi için çeşitli muhafaza yöntemleri kullanılmaktadır (Sapers 2001). Minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerde hasattan sonraki dönemde ürün kayıplarına neden olan fizyolojik ve patolojik hastalıkların kontrolü için, depolama öncesi yıkama suyuna mikrobiyal popülasyonu azaltmak amacıyla çeşitli dezenfektanların ilave edilmesi sıklıkla uygulanan bir yöntemdir (Kasım ve Kasım 2007). Yapılan çalışmalar geleneksel yıkama uygulamalarının mikrobiyal popülasyonu azaltmada yetersiz kaldığını göstermektedir. Çünkü geleneksel yıkama uygulamaları esas olarak gıdadan mikroorganizmaları değil; kir, toprak vb pislikleri uzaklaştırmak için geliştirilmiştir (Sapers 2001). Geleneksel yıkama uygulamalarının yanında kimyasal maddelerle muamele de günümüzde sıklıkla başvurulan gıda koruma yöntemlerindendir.

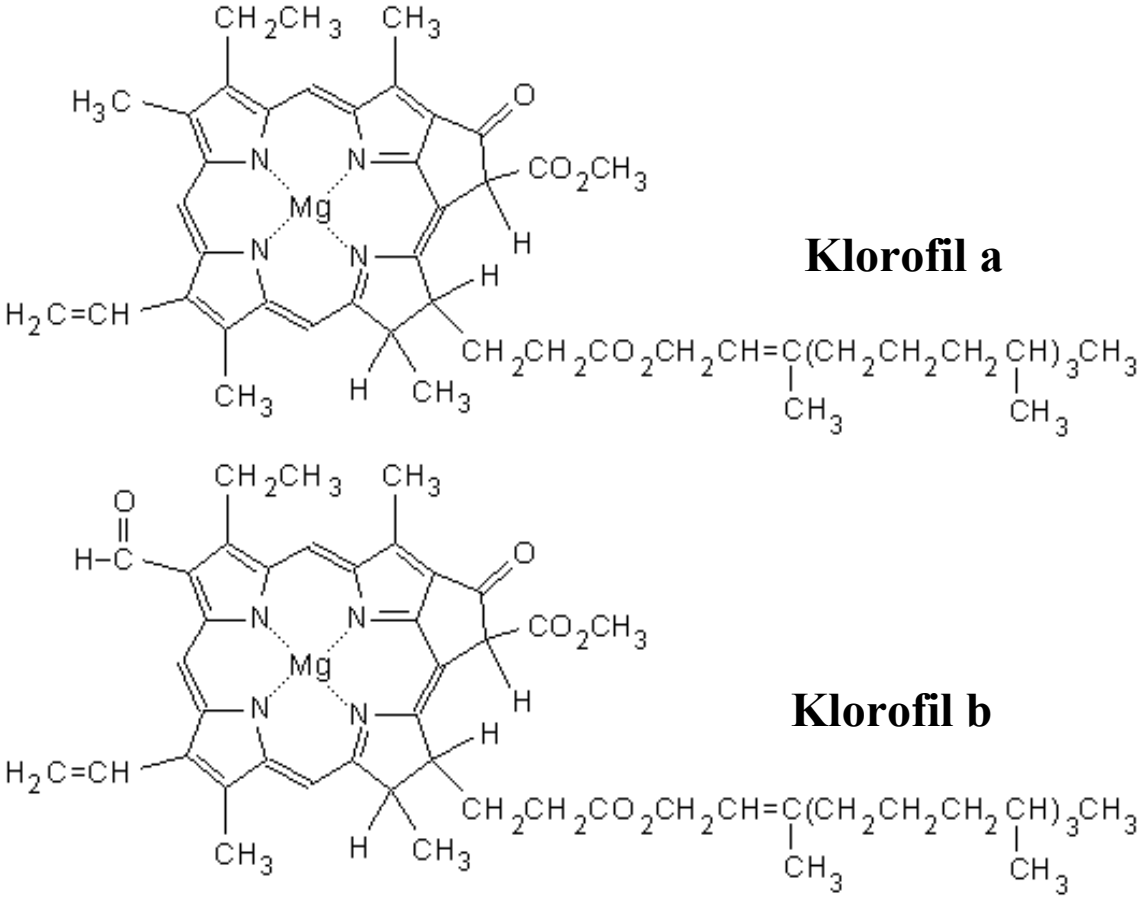
Günümüzde klor başta olmak üzere gıda sanayinde birçok dezenfektan kullanılmaktadır. Ancak kullanılan bu dezenfektanların meyve ve sebzeler üzerindeki bazı mikroorganizmaları gidermede sınırlı etkiye sahip olmaları, çeşitli toksik bileşikler oluşturmaları ve çevreye zararlı etkileri nedeniyle söz konusu dezenfektanların (klor, metil bromit vb) yerine geçebilecek etkin ve güvenilir uygulamaların arayışına girilmiştir. Bu amaçla kullanılan ozon ve hidrojen peroksit gıdalarda bulunabilecek birçok mikroorganizma türüne karşı etkili dezenfektanlardır. Ancak kullanılan bu dezenfektanların yüksek oksidasyon kapasiteleri mikroorganizma inaktivasyonu için olumlu bir özellikken; klorofil gibi renk maddeleri için olumsuz bir durum oluşturabilir (Liew and Prange 1994, Martinez-Sanchez *et al*. 2006).

Bir gıda maddesinin rengi, tüketici açısından o gıda maddesinin görünüşü ve kalitesinin değerlendirilmesinde ilk ve esas ölçüsüdür (Özçelik 1995). Çünkü tüketiciler gıda

maddelerini öncelikle renklerine göre algılamakta ve hemen her gıda maddesi için gıdanın kendine has rengini istemektedirler (Tönük ve Seçkin 1980, Cemeroğlu ve Acar 1986, Çakmakçı ve Çelik 2000, Tijskens *et al*. 2001). Meyve ve sebzelerin rengi, farklı nitelikteki renk maddelerinden kaynaklanmaktadır. Meyve ve sebzelerde yeşil rengi "klorofil" grubu renk maddeleri vermektedir (Schwartz and Von Elbe 1983, Cemeroğlu *vd.* 2001). Bu yüzden yeşil renkli sebzelerin renginden sorumlu olan klorofil pigmentleri bu tür gıdaların son kalite özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir paya sahiptir (Teng and Chen 1999, Tan *et al*. 2000, Tijskens *et al*. 2001).

Klorofiller, yüksek bitkilerin, alglerin ve bazı fotosentetik bakterilerin fotosentezinde görev alan ve onlara yeşil renklerini veren porfirin yapısında pigmentlerdir (Hari *et al*. 1994, Özçelik 1995). Botanikte ve kimyada bitkilerde bulunan yeşil renk maddesi olarak tanımlanan bu madde bazı mineraller eşliğinde güneş ışınlarının etkisiyle sap ve yaprak hücrelerinin kloroplast adı verilen organelinde oluşmaktadır (Tönük ve Seçkin 1980, Khalyfa *et al*. 1992). Klorofil grubu renk maddelerinin kimyası üzerindeki çalışmalar çok eskiye dayanmaktadır. 1782 yılında Seneber bitkilerdeki yeşil pigment üzerine çalışmıştır. İlk defa 1918 yılında da Pellether ve Caventoa tarafından bu maddeye klorofil adı verilmiştir (Rothemund 1954).

Kimyasal olarak methin köprüleri ile bir araya gelmiş 4 pirol halkasından meydana gelen porfin bileşiğinden türemiş Mg kompleks tuzu olan klorofilin yapısında 10 tane konjuge bağ bulunmaktadır. Bu bağlar klorofile kromofor özellik kazandırmakta ve görünür bölgede ışık absorplamasını sağlayarak yeşil renk vermektedir (White *et al*. 1963, Hendry 1996, Minguez-Mosquera *et al*. 2002) Klorofilin yapısındaki fitol grubu klorofile lipofilik özellik kazandırmakta ve klorofilin lipoprotein yapıdaki kloroplast membranına bağlanmasını sağlamaktadır. Ayrıca yapıdaki porfirin halka ise proteinlerle kovalent olmayan bağlar kurmasını sağlamaktır (Minguez-Mosquera *et al*. 2002).



Şekil 2.1 Klorofilin kimyasal yapısı

Klorofilin a, b, c, d ve e olmak üzere 5 formu bulunmaktadır (Von Elbe and Schwartz 1996). Bunlardan klorofil a ve klorofil b yeşil sebzelerin renginden sorumlu başlıca pigmentler olup, meyve ve sebzelerde yaklaşık 3:1-4:1 (klorofil a:klorofil b) oranında bulunmaktadır (Schwartz and Von Elbe 1983, Hoff and Amesz 1991, Cemeroğlu *vd*. 2001, Gökmen *et al*. 2002). Klorofil a ve klorofil b arasındaki farklılık, 7 numaralı karbon atomunda klorofil a'nın metil grubu (CH_3), klorofil b'nin ise formil grubu (CH) içermesinden kaynaklanmaktadır (Minguez-Mosquera *et al*. 2002). Yapıdaki bu küçük farklılık nedeniyle, klorofil a ve klorofil b farklı dalga boylarındaki ışığı absorbe etmekte ve bunun sonucunda da her iki klorofil formu farklı yeşil tonlarda algılanmaktadır. Klorofil a'nın klorofil b'ye oranının hemen hemen sabit olmasına rağmen, meyve ve sebzelerde bulunan toplam klorofil miktarı, meyve ve sebzenin çeşidine, yetiştirildiği toprağın türüne, yetişme koşullarına ve olgunluk derecesine göre

değişmektedir (Schwartz and Von Elbe 1983, Hoff and Amesz 1991, Cemeroğlu *vd*. 2001).

Klorofil, sebzeler için başlıca kalite kriterlerinden olan yeşil renkten sorumlu en önemli pigment olup (Teng and Chen 1999, Tan *et al*. 2000, Tijskens *et al*. 2001) sebzelerin işlenmesi sırasında kimyasal ve fiziksel değişikliklere karşı oldukça hassastır ve kolayca parçalanmaktadır (Boekel 1999, Gökmen *et al*. 2002). Sağlam bir hücrede gerek klorofil ve gerekse de klorofillaz enzimi ve asitler birbirinden farklı organellerde bulunduğundan daha önce birbirleri ile temas etmemekte ve bu nedenle olumsuz bir reaksiyon gerçekleşmemektedir (Eder 2000). Klorofiller, kloroplast içinde kararlı bir yapıya sahiptir, ancak kloroplast herhangi bir nedenden dolayı zarar gördüğünde oldukça kararsız hale dönüşmektedir. Isı, ışık, sıcaklık, su aktivitesi (a_w), oksijen, enzimler, pH ve bazı metal iyonlarının önemli rol oynadığı bu dönüşüm sonrasında klorofil çeşitli türevlerine dönüşerek kendine has rengini kaybetmektedir (Von Elbe and Schwartz 1996, Chen and Lui 1998, Takamiya *et al*. 2000, Thron *et al*. 2001, Funamoto *et al*. 2002, Minguez-Mosquera *et al*. 2002, Kırca *et al*. 2006).

Klorofilin yapısında chelat modifikasyonu, fitol grubunun de-esterifikasyonu, izosiklik halka reaksiyonları ve porfirin halka oksidasyonları olmak üzere başlıca 4 değişim meydana gelmektedir. Bu değişimlerden biri olan Chelat modifikasyonunda klorofilin yapısında bulunan Mg^{+2} iyonu iki tane H^{+} iyonuyla yer değiştirmektedir. Feofitinizasyon denilen bu dönüşüm sonucunda klorofilin kromofor özelliği ve rengi değişmektedir. Feofitinizasyon sonucunda mavi yeşil renkli klorofil a'dan, gri renkli feofitin a, sarı yeşil renkli klorofil b'den ise, kahverengi renkli feofitin b oluşmaktadır (Minguez-Mosquera *et al*. 2002, Kırca *et al*. 2006).

Gıdanın işlenmesi sırasında çoğu kez doğal pigmentlerin yapısal karakterleri ve bunun soncunda da son ürünün rengi değişmektedir. Bundan dolayı gıdalarda doğal olarak bulunan pigmentlerin bozulma mekanizmalarını göstermek amacıyla birçok sayıda çalışma yürütülmüştür (Kırca *et al*. 2006). Sebzelerin işlenmesi sırasında kimyasal ve

fiziksel değişikliklere karşı oldukça hassas olan klorofil güneş ışığından etkilenerek hasat öncesinde bile kolaylıkla parçalanabilmektedir (Özçelik 1995). Yaprak ıspanakların +4°C'da karanlıkta ve ışıkta depolanmaları halinde zamana bağlı olarak klorofil kaybına ilişkin yapılan bir araştırmada klorofil a ve klorofil b kaybının ışık ortamda daha fazla olduğu saptanmıştır (Cemeroğlu *vd* 2001). Klorofil ısı etkisiyle de kolaylıkla parçalanarak merkezindeki Mg atomu ayrılmakta ve feofitin oluşmaktadır (Schwartz *et al*. 1981, Schwartz and Von Elbe 1983).

Çizelge 2.1 Bazı sebze ve meyvelerin klorofil dağılımı (Eder 2000)

	Klorofil (mg/kg)		
MEYVE-SEBZE	a	b	a/b
Sebze			
Lahana (yeşil)	1898	406	4,7
Maydanoz	890	288	3,1
Ispanak	946	202	4,7
Bezelye	106	22	4,8
Taze Fasulye	76	35	2,2
Biber	64	24	2,7
Lahana (beyaz)	8	2	4
Meyve			
Mandalina (Dancy, Yeşil)	24	52	0,5
Armut (Trevoux, yeşil, kabukta)	31	13	2,4
Kivi (Bruno)	17	8	2,1
Üzüm (Reisling)	11	4	2,8
Elma (Golden Delicious, kabukta)	70	38	1,8
Çilek (Tenira, yeşil)	5	1	5

Klorofil ısı etkisiyle olduğu gibi asidik koşullarda da kolaylıkla feofitine dönüşebilmektedir. Kearshley and Katsaboxakis (1980) yaptıkları çalışmada 2.2-8 pH aralığında 96 saat için klorofil stabilitesini incelemişlerdir. Depolamanın başlangıcında

renk stabilitesinin pH 8'de en fazla olduğu belirlenmiştir. Yeşil bitkilerde renk stabilitesinde sıcaklığın etkisi pH'ya bağımlı olarak değişmektedir. Klorofil degradasyonunun pH 5'in altındayken 0°C'da dahi hızlı olduğu ancak pH 6'nın üzerinde 0°C'da klorofilin kısmen daha dayanıklı oldukları görülmüştür (Nakabayashi 1986).

Klorofil parçalanmasında ısı, ışık ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerin yanında a_w değeri de önemli rol oynamaktadır. Klorofil parçalanması yüksek a_w değerlerinde kimyasal reaksiyonlar için gerekli suyun varlığı nedeniyle, düşük a_w değerlerinde ise serbest radikaller ve lipid oksidasyonu nedeniyle gerçekleşmektedir (Lajolo and Marquez 1982).

Lajolo and Marquez (1982) tarafından yapılan bir çalışmada a_w, sıcaklık ve pH'nın klorofil parçalanması üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, klorofil parçalanmasında en önemli basamak olan feofitin oluşumunun çok düşük a_w değerlerinde bile pH'ya çok duyarlı olduğu, çok yüksek a_w değerlerinde reaksiyonun takip edilemeyecek kadar hızlı gerçekleştiği, bunun yanında sabit a_w değerlerinde sıcaklığın, düşük sıcaklıklarda ise nem miktarının artmasıyla reaksiyon hızının arttığı belirlenmiştir. Klorofilin parçalanması sıcaklık, pH ve ışık dışında oksijen ve karbondioksit konsantrasyonu, etilen düzeyindeki artış gibi birçok faktör tarafından da etkilenmektedir (Almela *et al*. 2000, Moreira *et al*. 2003).

Gıdalarda yeşil renk kaybının kaliteyi olumsuz yönde etkilemesine karşın son yıllarda yapılan çalışmalarda klorofil ve türevlerinin antimutajenik, antikarsinojenik ve tümörisidal aktivite gibi sağlığı teşvik edici fonksiyonlar gösterdiği de belirtilmiştir (Yoshikawa *et al*. 1996, Chernomorsky *et al*. 1999, Ma and Dolphin 1999, Higashi-Okai *et al*. 2000, Morita *et al*. 2001). Yoshikawa *et al*. (1996) yaptıkları bir çalışmada patlıcandan elde ettikleri feofitin ve feoforbitlerin, Negishi *et al*. (1997) ise ıspanaktan elde ettikleri klorofil ekstraktının antimutajenik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise klorofilin, β-karoten, A vitamini, C vitamini ve E vitamininin

antimutajen etkileri kıyaslanmıştır. Çalışma sonucunda klorofilin ve β-karotenin bütün mutajenlerin genetoksisitelerini engelledikleri saptanmıştır (Cabrera 2000).

Tüketiciler tarafından talep edilen, gıdaların besinsel ve duyusal özelliklerinin korunması için geliştirilen tekniklerden (Rico *et al*. 2006) olan çeşitli çözeltilere daldırma ve yıkama teknikleri üzerinde pek çok çalışma yapılmaktadır (Reyes 1996, Simons and Sanguasri 1997). Farklı yıkama ve dezenfeksiyon uygulamaları gıdanın duyusal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Allende *et al*. 2006). Meyve ve sebzelerin karakteristik yeşil renklerinden sorumlu olan klorofil, feoforbid ve feofitin gibi gri-kahverenkli istenmeyen bileşiklere parçalanabilmektedir (Almela *et al*. 2000).

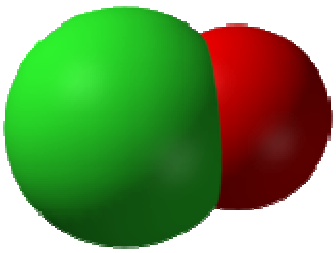
Günümüzde klor başta olmak üzere gıda sanayinde birçok dezenfektan kullanılmaktadır. Ancak kullanılan bu dezenfektanların meyve ve sebzeler üzerindeki bazı mikroorganizmaları gidermede sınırlı etkiye sahip olmaları, çeşitli toksik bileşikler oluşturmaları ve çevreye zararlı etkileri nedeniyle söz konusu dezenfektanların (klor, metil bromit vb) yerine geçebilecek etkin ve güvenilir uygulamaların arayışına girilmiştir. Üzerinde araştırma yapılan konulardan bazıları da hidrojen peroksit ve ozon uygulamasıdır.

2.1 Gıda Endüstrisinde Klor Uygulamaları

1810 yılında bugünkü ismi Humphry Davy tarafından verilen klor ilk olarak 1774 yılında İsveçli kimyager Carl Wilhelm Scheele tarafından keşfedilmiştir (Anonim 2009a). Keskin kokulu yeşilimsi sarı renkli, tahriş edici ve zehirleyici bir gaz olan klor, flor, brom, iyot ve astatla halojenler grubunu oluşturmaktadır. Halojenlerin son yörüngelerinde yedi elektron vardır ve diğer maddelerden sekizinci bir elektron alma eğilimi gösterirler. Mangan dioksit, sodyum klorür ve sülfürik asidin tepkimeye girmesi sonucunda klor açığa çıkmaktadır. Sanayide ise klor, mutfak tuzunun (sodyum klorür) elektrolizi yoluyla üretilir ve yan ürün olarak hidrojen gazı ve sodyum hidroksit açığa çıkmaktadır (Anonim 2009b)

Amerika Birleşik Devletleri'nde klorun su dezenfeksiyonunda kullanımına 1896 yılında başlanmış, 1920'li yıllarda ise sıvı klor su dezenfeksiyonunda diğer klor formlarının yerini almıştır. Ülkemizde ise ilk olarak 1932 yılında İstanbul'da Terkos içme ve kullanma suyu tesislerinin Kağıthane'deki arıtma istasyonunda kireç kaymağı ile klorlama başlamış ve 1940 yılından sonra Türkiye çapında klorlama yaygınlaşmıştır. 1960'lı yıllarda ise başta gelişmiş ülkeler olmak üzere dünya genelinde klorla su dezenfeksiyonu yaygın hale gelmiştir (Anonim 2009c).

Klorlamada kullanılan başlıca klor bileşikleri gaz klor, sodyum hipoklorit (NaClO), kalsiyum hipoklorit ($CaOCl_2$) ve kireç kaymağıdır. Klor gazı; yeşilimsi sarı, korozif ve zehirli bir gazdır. Basınçlı tüplerde sıvı olarak saklanmaktadır. Klorlama uygulamasında, büyük tesislerde en yaygın şekilde gaz klor kullanılmaktadır (Anonim 2009d). Hipokloritler klorlu dezenfektanların en eski, en çok kullanılan, en ucuz, kolay sağlanan ve hızlı etki eden şekilleri olup sıvı (sodyum hipoklorit) ve katı (kalsiyum hipoklorit) halde bulunmaktadırlar.

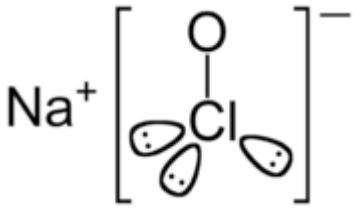


Şekil 2.2 Hipokloritin molekül yapısı

Hipokloritlerin geniş bir etki spektrumları vardır (bakterisit, fungusit, virüsit, sporosit) (Özbakkaloğlu 2003). Sodyum hipoklorit; sodyum hidroksit çözeltisinden klor gazı geçirilerek elde edilmektedir. Sodyum hipoklorit çözeltileri dayanıklı değildir ve inhibitörlerle korunmaktadır (Anonim 2009d). Oda koşullarındaki klor ve sabunlardaki sodyum hidroksit ile üretilen sodyum hipokloritin elde edilme formülü Şekil 2.3'deki gibidir (Anonim 2009e).

$$2\ NaOH + Cl_2 \longrightarrow NaCl + NaClO + H_2O$$

Şekil 2.3 Sodyum hipokloritin elde edilme formülü



Şekil 2.4 Sodyum hipokloritin molekül yapısı

Yüksek oksidasyon potansiyeline sahip olan Sodyum hipokloritin etkisi sıcaklık ve pH'ya bağlı olarak değişmektedir (Anonim 2009f). Sodyum hipoklorit küçük arıtma uygulamalarında kullanılmaktadır. Kalsiyum hipoklorit; aynı zamanda yüksek test hipoklorit (HTH) olarak da adlandırılmaktadır. Oldukça kararlıdır. Sodyum hipoklorit gibi küçük çaplı uygulamalarda kullanılmaktadır. Kireç kaymağı ise kireç içerisinden klor gazı geçirilerek elde edilmektedir. Kullanımı küçük arıtma tesisleri ve sürekli yapılmayan dezenfeksiyon işlemleridir (Anonim 2009d).

Aktif klor bileşiklerinin öldürücü etkisi bu bileşiklerin su ile hidrolizi sonucunda hipokloröz asit (HOCl) oluşumuna dayanmaktadır. Bu asit hücreye girdikten sonra oksidasyona ve N-halojen bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır. Klor bileşiklerinin antimikrobiyal etkileri protein sentezini bozmaları; nükleik asitler, pürin ve pirimidinler ile oluşturdukları reaksiyonlar, anahtar enzimleri tahrip etmeleri sonucunda metabolizmadaki sentezlenme bozuklukları, DNA yapısını tahrip etmeleri, kromozomal bozukluklar şeklinde ortaya çıkmaktadır (Anonim 2009g).

Meyve ve sebzeler yetiştirme ve hasat süresince toprak, böcek, hayvan veya insanla temas halindedir (Shewfelt 1987). Yüzeyi bu kontaminantlara maruz kalan gıda,

işletmeye 10^4-10^6 mikroorganizma/g gibi yüksek oranda mikrobiyal yüke sahip olarak ulaşmaktadır (Brackett 1992, Beuchat 1995). Ürün güvenliğinin sağlanması ve ürün kalitesinin korunması gıda endüstrisi için temel amaçtır. Bu amaçla minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerde raf ömrünü uzatabilmek için, depolama öncesi ürünün çeşitli dezenfektanlarla muamele edilmesi sıklıkla uygulanan bir yöntemdir (Kim *et al*. 1999). Ancak uygulanan bazı yöntemlerin; patojenik ve fekal mikroorganizmaların, mikroorganizmaların spor formlarının ve virüslerin inaktivasyonunda yetersiz kalmaları, toksik bileşikler oluşturmaları ve çevreye zarar vermeleri gibi bazı olumsuzlukları zaman zaman gündeme gelebilmektedir (Beltran *et al*. 2005, Velioğlu ve Karaca 2008).

Gıda endüstrisinde çok sık kullanılan kimyasallardan biri olan klorun kullanımı sonucunda trihalometanlar (THM), haloasetik asitler (HAA) ve ketoasitler gibi mutajenik ve kanserojenik olarak bilinen toksik yan ürünlerin oluştuğu bildirilmiştir (Wei *et al*. 1985, Kim *et al*. 1999, Dalvi *et al*. 2000, Richardson *et al*. 2000). Söz konusu toksik maddeler, klorun suda ve gıdayla temas ettiği yüzeylerde organik maddelerle reaksiyona girmesi sonucunda oluşmaktadırlar. Bu nedenle; Almanya, Hollanda, İsviçre ve Belçika başta olmak üzere birçok ülkede klor bazlı dezenfektanların kullanımının sınırlandırılması düşünülmektedir (Baur *et al*. 2005, Beltran *et al*. 2005).

Ayrıca yıkama uygulamalarında kullanılan klorun patojenik ve diğer mikroorganizma popülasyonunu azalttığı ancak ortadan kaldıramadığı bildirilmiştir (Beuchat and Ryu 1997). Yapılan çalışmalar sonucunda *Salmonella*, *Proteus* ve *Pseudomonas* gibi mikroorganizmaların klor uygulamasına karşı diğer mikroorganizmalara kıyasla daha dayanıklı oldukları belirlenmiştir (Madden 1992, Yıldız 1994). Klor kullanımı sonucunda doğal mikroflorada yaklaşık 2 log birimlik bir azalma sağlanmaktadır (Ukuku *et al.* 2001). Ancak bu azalma mikrobiyolojik güvenlik için yeterli değildir. Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA (Food and Drug Administration) tarafından meyve, sebze ve bunların ticari taze sularındaki mikrobiyal popülasyonda 5 log CFU/g azalma sağlanması önerilmektedir (Sapers *et al*. 2000, Venkitanarayanan *et al* 2002).

50 ila 200 ppm düzeyinde klor içeren yıkama çözeltileri minimal işlem görmüş meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Page *et al*. 1976, Beuchat *et al*. 1998, Wei *et al*. 1999, Baur *et al*. 2004a). Klor ile gerçekleştirilen yıkama uygulamaları ile gıdadan kir, toprak vb pislikleri uzaklaştırılmakta ve mikrobiyal popülasyon azalmaktadır (Madden 1992). Baker (1926) ve Trueman (1971) tarafından belirtildiğine göre, klor da hidrojen peroksit ve ozon gibi güçlü bir oksidanttır ve mikroorganizmaların proteinleri ile hızlı bir şekilde reaksiyona girmekte ve böylece mikrobiyal hücrenin enzim metabolizmasını engellemektedir (Ukuku *et al.* 2001).

Mikrobiyal inaktivasyonda kullanılan klorun etkinliği pH, sıcaklık, gıda ile temas süresi, gıda/su oranı, ortamdaki organik madde varlığı ve iyon konsantrasyonu gibi çeşitli çevre koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Zhang and Farber 1996, Baur *et al*. 2004b, Beuchat *et al*. 2004,). Takeuchi and Frank (2001) yaptıkları bir çalışmada genel olarak klor uygulamasının pH 6.5 ile 7.50 arasında gerçekleştirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Delaquis *et al.* (1999) doğranmış marulları 4°C ve 47°C'daki 100 ppm klorlu su ile 3 dakika boyunca yıkamışlardır. Bu çalışma sonucunda mikrobiyal popülasyonun azalmasında 47°C'daki 100 ppm klorlu suyun daha etkili olduğu ve sıcaklık ile klor arasında sinerjetik bir etkinin olduğu belirlenmiştir.

Sapers *et al*. (1999a) yaptıkları bir çalışmada *Escherichia coli* ile inoküle edilen elmalar 200 ppm klorlu su ve çeşitli dezenfektanlar kullanılarak farklı sıcaklıklarda yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Yapılan analizler sonucunda 50°C'daki %5'lik hidrojen peroksit ve asidik yüzey aktif madde içeren uygulamaların *Escherichia coli* popülasyonunda en fazla azalmayı sağladığı (yaklaşık 3-4 log CFU) belirlenmiştir. 50°C'daki ticari formülasyonlar *Escherichia coli* popülasyonunda 2.5 log birimlik azalma sağlarken, 200 ppm klorlu suyla yıkama sonucunda 2 log birimlik azalma sağlanmıştır.

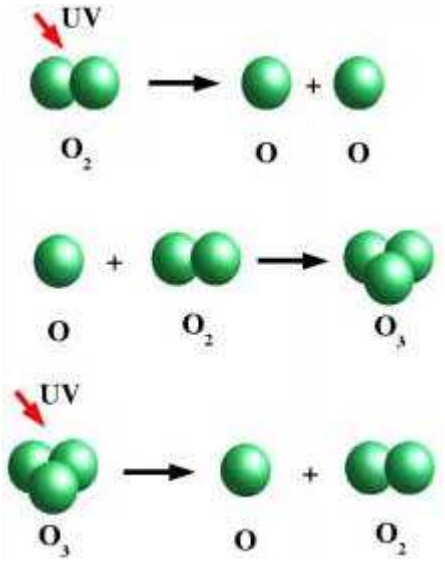
Baur *et al*. (2004b) musluk suyu, klorlu ve ozonlu su gibi farklı yıkama uygulamalarının etkilerini karşılaştırmak için bir çalışma yapmışlardır. 50°C'daki musluk suyu ile 4°C'daki 200 ppm klorlu suyun mikroorganizma popülasyonu üzerinde aynı etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar en etkili uygulamanın ön yıkama ile birlikte 50°C'daki 200 ppm klorlu su kullanımı olduğunu belirtmişlerdir.

Martinez-Sanchez *et al*. (2006) yaptıkları çalışmada farklı dezenfektanlar ile yıkamanın roka yapraklarındaki klorofil a ve klorofil b miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır. Roka yaprakları ozonlu ve klorlu su ile yıkanmış ve farklı depolama teknikleri kullanılarak 15 gün süresince depolanmıştır. Depolama sırasında klorofil a ve klorofil b miktarında azalma olduğu ancak bu azalmada dezenfektanlar arasında önemli farklılıkların olmadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgu ile Wang *et al*. (2004) tarafından kişniş ile gerçekleştirilen çalışma benzerlik göstermektedir.

Sapers and Jones (2006) tarafından *Escherichia coli* ve *Salmonella* ile inoküle edilmiş domateslerde yapılan bir çalışmada 200 ppm klorlu su, %1 ve %5 hidrojen peroksit ile farklı sıcaklık ve sürelerde yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar her iki mikroorganizma üzerinde en etkili yıkama uygulamasının 60°C'daki %5'lik hidrojen peroksidin olduğunu göstermektedir.

2.2 Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları

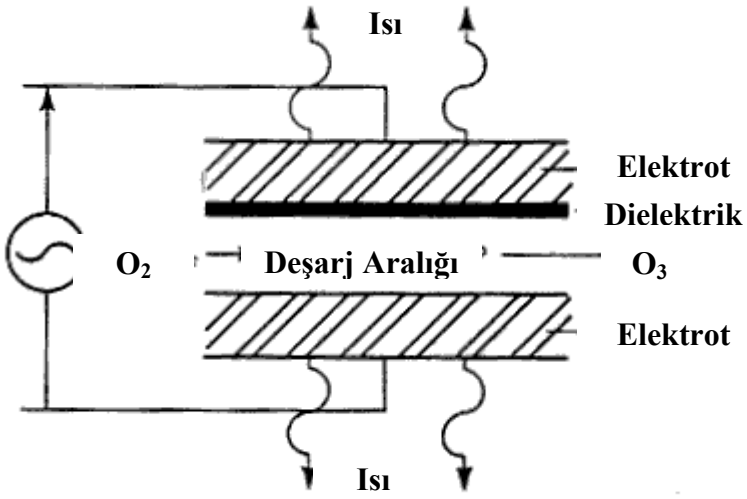
Oda sıcaklığında renksiz, keskin kokulu bir gaz olan ozon (O_3); havadaki oksijen molekülünün (O_2) yüksek bir enerji etkisi ile atomlarına ayrışması ve bu kararsız atomların bir başka oksijen molekülü ile hızla birleşmesi sonucu Şekil 2.5'deki gibi oluşmaktadır (Karaca 2006, Anonim 2008a). Doğadaki yüksek enerji, güneşten gelen UV ışınlardan veya yağmurlu havalarda çakan şimşeklerden kaynaklanmaktadır (Suslow 2004). Özellikle fırtınalardan sonra taze hava kokusu diye içimize çektiğimiz havada bu hissi yaratan, yıldırımlar sırasında yükselmiş olan ozon konsantrasyonudur (Anık 2007).



Şekil 2.5 Ozon molekülünün oluşumu

Ozon, havadaki oksijenin yüksek iletkenliğe sahip UV lambanın 185 nm'de yayınladığı radyasyona maruz bırakılmasıyla 0,03 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda üretilmektedir (Kim *et al*. 1999). Endüstriyel ozon gazı üretimi ise yine doğadaki oluşum prensibiyle daha çok "Corona Deşarj Metodu" denen ve Şekil 2.6'da çalışma ilkesi şematize edilmiş metotla gerçekleştirilmektedir.

Corona Deşarj metodu ile yüksek konsantrasyon ve miktarda ozon üretimi, kuvvetli bir elektriksel alandan oksijence zengin bir gaz geçirilerek gerçekleştirilmektedir. Yoğun enerji nedeniyle bazı oksijen molekülleri parçalanmakta ve oluşan kararsız oksijen atomları derhal diğer oksijen molekülleriyle birleşerek üç oksijen atomlu ozon molekülünü oluşturmaktadır (Anık 2007). Deşarj aralığına besleme gazı olarak hava verildiğinde kütlece %1-3, saf oksijen gazı verilmesi halinde %6 verimle ozon elde edilebilmektedir (Guzel-Seydim *et al*. 2004). Corona Deşarj metodu ile çok daha yüksek miktarlarda ozon üretimi mümkündür. Aynı zamanda diğer ozon üretim yöntemlerine göre daha ekonomiktir (Anık 2007).



Şekil 2.6 Corona Deşarj Metodu ile ozon elde edilişi

Sulu çözeltilerinde oldukça kararsız bir yapı gösterirken, havada ise nispeten daha kararlı olan ozon, çok hızlı bir şekilde kendiliğinden parçalanarak oksijen molekülüne dönüşmektedir (Kuşçu ve Pazır 2004, Karaca 2006). Ozonun depolanamaması özelliğinden dolayı endüstriyel ozon gazı üretimi uygulanacağı yerde, kapalı sistemlerde ve çeşitli özelliklerdeki ozon jeneratörleri ile gerçekleştirilmektedir. Bu jeneratörler sadece elektrik gücüyle çalışmaktadır. Bunlardan başka kimyasal, termal, kemonükleer ve elektrolitik metotlarla da ozon elde edilebilmektedir (Mc Kenzie *et al*. 1997, Kim *et al*. 1999).

Flor gazından sonra ikinci güçlü oksitleyici gaz olan ve oksijen dışında başka bir kalıntı oluşturmayan ozon, 2.07 mV'luk oksidasyon potansiyeline sahipken; hidrojen peroksit (H_2O_2), klor dioksit (ClO_2), hipokloroz asit (HOCl) ve klorun (Cl_2) oksidasyon potansiyelleri sırasıyla 1.8, 1.57, 1.49 ve 1.4 mV'tur. Görüldüğü gibi ozonun oksidasyon potansiyeli diğer oksidan ajanların potansiyellerinden oldukça yüksektir (Anonim 2008b).

Gerek mikrobiyal inaktivasyonda, gerekse mikotoksin ve pestisit gibi kimyasal kalıntıların giderilmesinde kullanılan ozonun etkinliği çeşitli fizyolojik özelliklere bağlı olarak değişmektedir. Örneğin mikroorganizmaların ozona karşı olan duyarlılıkları ortamın sıcaklığına, nemine ve pH değerine göre değişmektedir (Kim *et al*. 1999). Sulu ortamda düşük sıcaklıkta ozonun çözünürlüğü arttığından etkinliği de artmaktadır. Bu durumun aksine ortam sıcaklığındaki artış da ozonun parçalanmasını hızlandırmaktadır. Yine sulu ortamda pH değerindeki azalma ozon kararlılığını ve bu sayede de etkinliğini artırmaktadır (Kuşçu ve Pazır 2004). Graham (1997) yaptığı bir çalışmada sulu ortamın pH değerinin 10 civarında olması sonucunda ozonun ani olarak parçalandığını belirtmektedir. Ozonun etkinliğini arttıran bir diğer faktör ise ortamın bağıl neminde meydan gelen artıştır (Kuşçu ve Pazır 2004). Ortamda yüksek nem olduğunda ozon konsantrasyonu 0,1 mg/L'nin biraz altında dahi olsa mikroorganizma inaktivasyonu gerçekleşmektedir (Kim *et al*. 1999).

Bu faktörlere ilaveten ozonun dezenfeksiyon gücü üzerine etki eden diğer bir faktör ise ortamın ozon talebidir. Ozon, herhangi bir seçicilik göstermeksizin, flor hariç, bulunduğu ortamdaki tüm maddelerle tepkimeye girmektedir. Flor ile reaksiyona girmemesinin nedeni ise florun oksidasyon potansiyelinin ozonun oksidasyon potansiyelinden yüksek tek element olmasıdır. İşte ozonun bu özelliği sonucunda "ortamın ozon talebi" ve "kalıntı ozon" gibi kavramlar ortaya çıkmıştır (Kim *et al*. 2003, Anık 2007). Kalıntı ozon; gıdaya ozon uygulamasının ardından ortamda belirlenebilen ozon konsantrasyonudur (Kim *et al*. 1999). Başka bir ifade ile suya ilave edilen ozon miktarından, suyun tükettiği ozon miktarı çıkarıldığında bulunan ozon miktarıdır (Anık 2007). Ozonun oksidasyon etkinliği uygulanan ozon dozundan çok, ortamda mevcut kalıntı ozon miktarına bağlıdır. Kalıntı ozon miktarı, uygulama koşullarında ozonun stabilitesine ve ozon talebi bulunan maddelerin ortamdaki yoğunluğuna bağlı olarak değişmektedir. Ozon uygulanan ortamdaki organik ve inorganik maddelerin artması ile ozonun etkinliğini belirleyen oksidasyon gücünün bir kısmının bu bileşikleri okside etmek üzere harcanacağı belirtilmektedir (Kim *et al*. 1999).

Gıda sanayinde tüketicilerin giderek artan talebi üzerine son ürüne daha taze, daha güvenli bir nitelik kazandıran, minimum düzeyde işleme tabi tutulmuş gıda işleme teknolojileri uygulanmaya başlanmıştır (Khadre *et al*. 2001, Ünal *et al* 2001). Bazı kimyasal maddelerin sanitasyonda kullanılmaları sonucunda açığa çıkan çeşitli yan ürünlerin sağlık açısından zararlı olmaları nedeniyle kullanımları sınırlandırılmış veya tamamen yasaklanmıştır (Kim *et al*. 1999, Ünal *et al*. 2001, Khadre and Yousef 2002). Ozon ise güçlü bir dezenfektan olmasının yanında, gıda sanayinde kullanımı sonucunda toksik yan ürünlerin oluşumuna neden olmamakta ve belirli bir süre sonra kendiliğinden parçalandığından ortamda kalıntı bırakmamaktadır (Restaino *et al*. 1995, Kim *et al*. 1999, Cemeroğlu *vd*. 2001). Ayrıca Avrupa'da uzun yıllardan beri kullanılan ve ABD'nde 1997 yılında GRAS (Generally Recognized as Safe-Genel Olarak Güvenilir Gıda Katkısı) statüsüne alınan ozona bilim adamlarının ve gıda üreticilerinin ilgisi giderek artmaktadır (Graham 1997, Kim *et al*. 1999, Moore *et al*. 2000, Manousaridis *et al*. 2005). 2000 yılının Ağustos ayında FDA, Amerika'da gıdaların işlenmesinde ve depolanarak muhafaza edilmesinde ozonun su ve gaz fazı şeklinde doğrudan kullanımına izin vermiştir (Khadre *et al*. 2001). Buna karşın Avrupa'nın birçok ülkesinde, İskandinav ülkelerinde, Japonya'da ve bazı diğer ülkelerde ozonun su, hava, peynir, et ve meyvelerin dezenfeksiyonunda kullanımına belli kurallar çerçevesinde izin verilmiştir. Özellikle meyve ve sebzelerin yüzey dezenfeksiyonu amacıyla ozon kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Cemeroğlu *vd*. 2001).

Gıda endüstrisinde ürün güvenliğinin sağlanması ve kalitesinin korunması amacıyla birçok uygulama alanı bulunan ozon özellikle içme suyunun dezenfeksiyonunda (Munter *et al*. 1998), tavuk (Sheldon and Brown 1986), karides (Chen *et al*. 1992) ve meyve ve sebzelerin (Badiani *et al*. 1996, Kim and Yousef 1998, Achen and Yousef 1999, Cemeroğlu *vd*. 2001) korunmasında kullanılmaktadır.

Ozonun gıda ile muamele edilmesi ya depo atmosferine gaz halde ozon verilmesi ya da gıdaların ozonlu suyla yıkanması şeklinde gerçekleştirilmektedir. Gıda sanayinde gaz ve su fazında uygulama alanı bulunan ozonun mikroorganizmalar, mikotoksinler ve pestisitler üzerine olan etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Ozon,

mikroorganizmaları, hücresel bileşenlerini ileri derecede oksidasyona uğratarak etkisiz hale getirmektedir. Hedef mikroorganizmanın ozonla inaktif hale getirilmesinde iki mekanizma gerçekleşmektedir. Birinci mekanizmada protein, peptid ve enzimlerin aminoasit ve sülfidril grupları okside olmakta ve kısa peptitler oluşmaktadır. İkinci mekanizmada ise, çoklu doymamış yağ asitleri, asit peroksitlerine okside olmaktadır (Guzel-Seydim *et al*. 2004). Hücre zarındaki çift bağlı doymamış lipitler etkilenmekte, gram negatif bakterilerdeki lipoprotein ve lipopolisakkarit tabakaları etkilenerek hücre zarı geçirgenliği değişmektedir (Khadre *et al*. 2001). Ozon, herhangi bir seçicilik göstermeksizin hücre içi proteinlerini okside ederek hızlı hücre ölümlerine neden olmaktadır. Ayrıca nükleik asitlerin zarar görmesinden dolayı da hücre ölümleri gerçekleşmektedir (Guzel-Seydim *et al*. 2004).

Barth *et al* (1995) yaptıkları çalışmada 0,1-0,3 ppm ozon gazı atmosferinde 2°C'da 12 gün süresince depolanan böğürtlenlerde herhangi bir hasar, kalitede azalma ve yüzeyde fungal bir gelişmenin olmadığını belirtmektedirler. Ayrıca böğürtlenlerin depolanmasında başlangıçtaki renge en yakın değeri 0,3 ppm ozon uygulamasıyla elde etmişlerdir. Böğürtlen ve çilek gibi yıkama sonrası kalite özelliklerinde duyusal kaybın gözlemlendiği hassas meyvelerde ozon uygulaması, ozonlu suyla yıkama yerine genelde ozon gazı atmosferinde muhafaza etme şeklinde uygulanmaktadır. Böylece duyusal niteliklerde kayıpların önlenmesi amaçlanmaktadır (Kuşçu ve Pazır 2004).

Kim *et al*. (1999) doğranmış marulların mezofilik ve psikrofilik bakterilerle inoküle edilmesinden sonra 5 dakika 1,3 mM ozon konsantrasyonuna sahip su ile yıkanması sonucu mezofilik bakterilerde 3,9 log birimlik, psikrofilik bakterilerde 4,6 log birimlik azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Kim (1998) tarafından yapılan bir çalışmada ise parçalanmış marullarda sonication, karıştırma, stomaching ve bubbling gibi farklı mekanik uygulamalar ile ozonlama işlemi gerçekleştirilmiştir. En etkin ozonlama yöntemi olarak "bubbling" belirlenmiştir. %4,9 v/v, 0,5 L/dk ozon bubbling uygulamasının mikrobiyal yükü 5 dakikada 1,5-1,9 log indirgediği saptanmıştır. Ozonun maruldaki mikroorganizmalara etkin bir şekilde ulaşması için bubbling ve yüksek hızda karıştırma önerilmiştir.

Skog and Chu (2001) tarafından brokoli ve salatalıklarda yapılan bir çalışmada 0,04 ppm ozon atmosferinde 3°C'da 17-21 gün depolama yapılmıştır. Brokolilerde gerçekleşen olumsuz renk değişimi (yeşilden sarıya dönüşüm) ve floret açılması ozonlanmış örneklerde kontrol örneklerine göre daha düşük seviyede görülmüştür. Görünüş, sertlik ve çürümeye dayanıklılık bakımından ozonlanmış salatalık örnekleri kontrol örneklerine göre daha üstün bulunmuştur.

Beltran *et al*. (2005) tarafından doğranmış marullarda 4°C'da 3 farklı konsantrasyonda ozon içeren suya (10, 20 ve 10/UV-C ile aktive edilmiş) daldırılarak yıkama ve sonrasında hava veya modifiye atmosfer tekniğiyle paketleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem yüksek oksidasyon aktivitesine rağmen marulların solunum aktivitesini arttırmamıştır. Bununla birlikte ozonlu su marulların başlangıçtaki görsel özelliklerinin korunmasında ve depolamada kahverengileşmenin önlenmesinde rol oynamıştır.

Ozon uygulaması sonucunda brokoli (Lewis *et al*. 1996) ve şeftalilerde (Badiani *et al*. 1996) renk açılması gözlenmiştir. Sakaki and Kondo (1981) yaptıkları bir çalışmada ıspanak yapraklarında ozon uygulaması sonucunda klorofil ve karotenoid parçalanmasının oluştuğunu bildirmişlerdir. Ayrıca brokoli, şeftali ve ıspanak gibi sebzelerde ozon uygulamasının yüzeyde renk açılmasına neden olduğu tespit edilmiştir (Henry *et al*. 2000).

Ozon uygulanan ürünlerin kalite özelliklerinde gıdanın kimyasal bileşimine, uygulanan ozon dozuna ve uygulama şekli ile süresi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak olumlu ya da olumsuz değişimler söz konusu olabilmektedir (Karaca 2006). Örneğin aşırı ozon kullanımı gıdaların renk ve tadında olumsuzluklara sebep olabilmektedir (Kuşçu ve Pazır 2004). Bazı araştırmalarda aroma kayıplarının olduğu, bazılarında da kontrol örneğinde olmayan yeni bileşenlerin oluştuğu tespit edilmiştir.

2.3 Gıda Endüstrisinde Hidrojen Peroksit Uygulamaları

İlk olarak 1818'de Louis Jacques Thénard tarafından baryum peroksit ve nitrik asidin reaksiyonu sonucu elde edilen hidrojen peroksidin (H_2O_2), su molekülü (H_2O) ve oksijen atomundan (O) oluşan basit bir formülü vardır. Renksiz, şeffaf, kokusuz, yanıcı bir sıvı olan hidrojen peroksit zayıf asidik özellik göstermektedir. Hidrojen peroksidin fiziksel özellikleri, suyun fiziksel özelliklerine benzemektedir. Su ile aynı viskoziteye sahip olan hidrojen peroksidin yoğunluğu, suyun yoğunluğundan daha fazladır. Ayrıca hidrojen bağları oluşumu sudan daha kuvvetlidir. Suya kıyasla çok daha az elektriksel iletkenlik gösteren hidrojen peroksit her oranda su ile karışabilirken, soğuk su ile birbirine karışmamaktadır.

Ticari olarak %30, 35 ve 50'lik (w/w) konsantrasyonlar halinde bulunan hidrojen peroksit bilinen en kuvvetli oksidantlardan birisidir. Çizelge 2.2'de görüldüğü gibi hidrojen peroksidin oksidasyon potansiyeli diğer birçok oksidan ajanın oksidasyon potansiyelinden daha yüksektir. Örneğin oksidasyon potansiyeli 1.8 mV olan hidrojen peroksit, meyve ve sebzelerin yüzey sterilizasyonunda yaygın olarak kullanılan klordan daha güçlü bir oksidanttır.

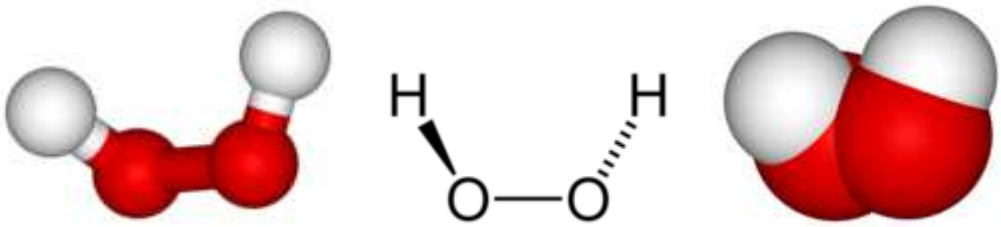
Antimikrobiyal niteliği 100 yıldan beri bilinen hidrojen peroksit tıbbi alet ve ekipmanların dezenfeksiyonu amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Özkan ve Kırca 2001). Hidrojen peroksidin gıdalarda uygulanması ise oldukça yenidir. FDA, hidrojen peroksidi GRAS statüsünde kabul etmekte ve gıdalarda sadece antimikrobiyal madde olarak değil (Fallik *et al*. 1994, Sapers and Simmons 1998), ayrıca ağartma maddesi, oksidant ve redüktant madde olarak da kullanılmasına izin vermektedir (Code of federal regulations 2000a). Örneğin hidrojen peroksit gıda endüstrisinin nişasta işleme ve peynir üretimi gibi alanlarında antimikrobiyal madde olarak kullanılmaktadır (Demirbüker *et al*. 2005).

Çizelge 2.2 Çeşitli oksidantlar ve bunların oksidasyon potansiyelleri (Anonymous 2000a)

Oksidant	Oksidasyon potansiyeli (mV)
Flor	3.0
Hidroksi radikal	2.8
Ozon	2.1
Hidrojen peroksit	1.8
Potasyum permanganat	1.7
Klor oksit	1.5
Klor	1.4

Amerika Birleşik Devletleri'nde, Şubat 1981'de hidrojen peroksidin ambalaj sterilantı olarak kullanılmasına FDA tarafından izin verilmiştir (Nelson 1993). Bu tarihten itibaren hidrojen peroksit, aseptik dolumda ambalaj materyali olarak kullanılan laminant karton kutuların plastik yüzeylerinin (Tillotson 1984, Von Bockelman and Von Bockelman 1986, Wang and Toledo 1986, Mitchell 1988, Özkan *et al*. 2000) ve aseptik dolum ünitelerinin sterilizasyonunda (Toledo 1986, Cemeroğlu 1990) yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Genelde, hidrojen peroksidin en az %30 konsantrasyonundaki çözeltisinin, 80-90ºC sıcaklıkta ve 3-4 sn süreyle ambalajın tüm yüzeyi ile temas etmesi halinde mikroorganizma sayısının en az 4 desimal azaldığı kabul edilmektedir (Cemeroğlu 1990). Bunların dışında hidrojen peroksit, dezenfektan olarak endüstriyel atık sularının ve kontamine olmuş yeraltı sularının arıtılmasında ve içme suları ile havuz sularının dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır (Fallik *et al*. 1994, De *et al*. 1999). Ayrıca ülkemizde hidrojen peroksit, kuru kayısılardan kükürt dioksitin uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Özkan and Cemeroğlu (2002) aşırı derecede sülfitlenmiş kuru kayısılardan sülfitlerin uzaklaştırılmasına yönelik bir çalışma yapmışlardır. Hidrojen peroksit uygulaması sonucunda daha açık, parlak, daha sarı ve daha az kırmızı kuru kayısılar elde edilmiştir. Rengin açılmasının karotenoid pigmentlerinin, özellikle β-karotenin, parçalanmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Deneysel formülü Şekil 2.7'de şematize edilen hidrojen peroksit, peroksitler sınıfının en basit üyesidir. İki oksijen atomunun bu şekilde gruplaşması ile peroksit grubu oluşmaktadır. Peroksit grubunun en önemli özelliği, çeşitli reaksiyonlar sonucu, oksijen atomlarından birisinin rahatlıkla diğer moleküllere veya gruplara aktarılabilmesidir. Bu olaya aktifleşme (oksitleşme) ve aktarılan oksijene de aktif oksijen denmektedir. Belirli enzimler, çeşitli kirlilikler, bazı ağır metaller (demir, bakır, mangan, nikel ve krom) ve tuzları ile UV ışınları sonucunda aktifleştirilen hidrojen peroksit hızlı bir şekilde parçalanmaktadır (Anonim 2008c).



Şekil 2.7 Hidrojen peroksidin molekül yapısı

Hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkisinin, parçalandığı zaman oluşturduğu bu serbest radikallerden kaynaklandığı belirtilmektedir (Von Bockelmann and Von Bockelmann 1986, Shin *et al*. 1994, De *et al*. 1999). Aktifleşme olayında birçok aktif oksijen serbest kalmaktadır. Bu aktif oksijenler çeşitli reaksiyonlar sonucu hidro radikaller, peroksit radikaller gibi aktif oksijen bağlantıları oluşturmaktadır. Aktif oksijen bağlantılarından en etkili olanlar yüklenmemiş olan radikallerdir (Anonim 2008c). Radikal oluşumu; demir, bakır ve mangan gibi metaller ya da 400 nm altındaki UV ışınlaması ile katalize edilmektedir (Stevenson and Shafer 1983, Von Bockelmann and Von Bockelmann 1986). Bu radikaller negatif yüklü olan mikrobik hücre yüzeyini delerek hücre içine girmekte ve hücre içindeki DNA ile lipit, protein ve karbonhidrat gibi hücre bileşenlerine zarar vererek dezenfektan etkisini göstermektedir. Oluşan serbest radikallerin, özellikle de *OH radikalinin, mikroorganizmaların nükleik asit ve proteinlerini parçalamak suretiyle onları etkisiz hale getirdiği düşünülmektedir (Stevenson and Shafer 1983, Shin *et al*. 1994). Hidrojen peroksit herhangi bir seçicilik göstermeksizin her türlü biyolojik membranı geçebilme özelliğine sahiptir (Başer 2002).

Hidrojen peroksidin antimikrobiyal etkisi; sıcaklık, konsantrasyon, ultrasonik dalgalar, ultraviyole radyasyon, ortamın pH değeri ve iyon yükü ile yakından ilişkilidir (Stevenson and Shafer 1983, Wang and Toledo 1986, Von Bockelmann and Von Bockelmann 1986, Cemeroğlu 1990, Forney *et al*. 1991, Shin *et al*. 1994). Bu etki, asit ortamda nötral ya da alkali ortamlara göre daha fazladır (Shin *et al*. 1994). Hidrojen peroksit uzun süredir bakteriyosit ve sporisit ajan olarak kullanılmaktadır. Ancak kullanım düzeyi ve koşulları hidrojen peroksidin etkili bir sporisit olarak kullanımını engellemektedir. Örneğin düşük konsantrasyondaki hidrojen peroksidin bakteriyosit etkisi söz konusuyken, sporisit etkisi son derece sınırlıdır Ancak konsantrasyondaki artış ile hidrojen peroksidin sporisit etkisi artmaktadır (Stevenson and Shafer 1983). Bunun dışında oda sıcaklığındaki hidrojen peroksit etkin bir sporisit değildir (Stevenson and Shafer 1983, Von Bockelmann and Von Bockelmann 1986). Ancak sıcaklık yükseldikçe, hidrojen peroksidin hem bakteriyosit hem de sporisit etkisi artmaktadır. Ayrıca inorganik tuzlar, özellikle bakır tuzları, hidrojen peroksidin bakteriyosit etkisini arttırmaktadır (Stevenson and Shafer 1983).

Son yıllarda üreticiler, düzenleyici kurumlar ve tüketiciler meyve ve sebzelerin özellikle mikrobiyolojik güvenliği ile oldukça ilgilenmektedirler. Çünkü günümüzde gıda kaynaklı hastalıklar sıkça karşılaşılan sorunlardan biri haline gelmiştir. Üretici ve tüketicilerin büyük bir kısmı, meyve ve sebzelere uygulanan yıkama ve sanitasyon uygulamalarının mikrobiyal yükü azalttığını kabul etmektedir (Sapers 2001).

Son zamanlarda meyve ve sebzelerin yüzey sterilizasyonunda klor yerine, çözelti veya buhar fazında hidrojen peroksit kullanılması önerilmektedir. Taze olarak tüketilmeyecek olan meyve ve sebzelerin yıkama suyunda 59 ppm'i geçmeyecek şekilde hidrojen peroksit bulunmasına ve bunun asetik asitle beraber kullanılmasına FDA tarafından izin verilmektedir (Code of federal regulations 2000b). Gıda sanayinde birçok alanda olduğu gibi meyve ve sebzelerin mikrobiyal yükünün azaltılması, pestisit ve mikotoksin gibi toksik maddelerinin giderilmesi, raf ömrü kısa gıdaların daha dayanıklı hale getirilmesi gibi konularda hidrojen peroksit ile gerçekleştirilmiş birçok çalışma bulunmaktadır. Meyve ve sebzelere hidrojen peroksidin uygulanması belirli konsantrasyonlardaki

hidrojen peroksitli suyla bu ürünlerin yıkanması veya hidrojen peroksidin buhar fazına maruz bırakılmaları şeklinde gerçekleştirilmektedir.

Son 20 yıldan beri hidrojen peroksidin buhar halinde uygulamasının tıbbi malzemelerin ve paslanmaz çelik yüzeylerin (Klapes and Vesley 1990), meyve ve sebzelerin (Forney *et al*. 1991, Simmons *et al*. 1997, Sapers and Simmons 1998) ve ambalaj materyallerinin (Von Bockelmann and Von Bockelmann 1986, Wang and Toledo 1986) sterilizasyonunda kullanılabileceği belirtilmektedir. Buhar uygulamasında önce, %30-35'lik hidrojen peroksit çözeltisi uygulanmak istenen sıcaklığa ısıtılmakta ve daha sonra aynı sıcaklığa ısıtılmış hava bu sıcak hidrojen peroksit çözeltisinden geçirilmektedir (Wang and Toledo 1986). Böylece hava, bulunduğu sıcaklıkta hidrojen peroksit ve suyla doyurulmaktadır. Meyve ve sebzeler, oluşan hidrojen peroksit buharı ile temas ettirilmektedir. Meyve ve sebzelerin yüzey sterilizasyonunda sıvı hidrojen peroksit yerine buhar uygulama yöntemi, bu materyallerdeki kuru madde kayıplarını önemli ölçüde azaltmaktadır (Forney *et al*. 1991). Ayrıca buhar fazındaki hidrojen peroksit tüm yüzeyle kolaylıkla temas edebilmekte ve böylece etkisini tam olarak gösterebilmektedir. Buna karşın sıvı hidrojen peroksidin etkisinin ise tüm yüzeyle kaplanabilmesine bağlı olduğu bildirilmektedir (Cemeroğlu 1990). Wang and Toledo (1986) tarafından hidrojen peroksidin buhar fazının sadece yüzeyde absorplandığını; buna karşın, sıvı hidrojen peroksidin ise ince bir tabaka oluşturarak gıdaların derinliklerine kadar sızabildiğini ve bu durumun da daha sonra hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasını güçleştirdiği bildirilmektedir.

Hidrojen peroksidin gaz haldeki uygulamaları hasat öncesi üzümde (Forney *et al*. 1991), kavunda (Aharoni *et al*. 1994) ve diğer ürünlerde meydana gelen çürümelerin kontrolünde ve kuru eriklerin dezenfeksiyonunda (Simmons *et al*. 1997) denenmiştir. Forney *et al*. (1991) tarafından yapılan bir çalışmada 40ºC'da gaz fazındaki hidrojen peroksit 10 dakika boyunca iki çeşit üzüme uygulanmış ve *Botrytis cinera* sporlarında önemli ölçüde azalma sağlanmıştır. İşlem sonucunda üzümlerin renginde bir değişiklik olmamış ve raf ömrü artmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda su ile hazırlanan hidrojen peroksit solüsyonlarının mantarların yıkanmasında etkili olduğu (Sapers *et al*. 2001a),

minimal işlem görmüş kavunların raf ömrünü uzatabileceği (Sapers *et al*. 2001b) ve *Escherichia coli* içeren elmaların dekontaminasyonunu sağlayabileceği (Sapers *et al*. 1999a, Sapers *et al*. 2000) gösterilmiştir.

Lin *et al*. (2002) ise yaptıkları bir çalışmada hidrojen peroksidin tek başına ve laktik asit ile kombinasyonlarının kullanımı ile marul yapraklarındaki *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteriditis ve *Listeria monocytogenes* popülasyonlarında sağladıkları azalmayı incelemişlerdir. Laktik asit ve hidrojen peroksidin birlikte uygulandığı yıkama işlemlerinde *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* Enteriditis popülasyonlarında 4 log birimlik azalma sağlanırken, *Listeria monocytogenes* popülasyonunda 3 log birimlik azalma sağlanmıştır. 50^0C'daki %2'lik hidrojen peroksidin 60-90 saniye uygulanması hem patojenik mikroorganizma popülasyonu hem de duyusal özellikler açısından en etkili sonuç veren yıkama işlemi olarak belirlenmiştir.

McWatters *et al*. (2002a) tarafından yapılan bir çalışmada 50^0C'daki %2'lik hidrojen peroksidin 60 saniye uygulanması ile doğranmış marul yapraklarındaki mikrobiyal popülasyonda sağlanan azalma incelenmiştir. Mikrobiyolojik değerlendirme (aerobik ve anaerobik mikroorganizma) depolamanın 2., 7. ve 15. günlerinde gerçekleştirilmiştir. Değerlendirme sonuçları gıdanın tüketim için güvenli olduğunu işaret etmektedir. 15 gün sonunda hidrojen peroksit uygulanmış örneklerin, duyusal özellikler açısından, kontrol örneklerine kıyasla daha üstün olduğu belirlenmiştir.

Ukuku (2006) dezenfektan ve sıcak su uygulamalarının bir çeşit kavun olan kantalop yüzeyindeki mikrobiyal popülasyon üzerine etkilerini belirlemek üzere bir çalışma yapmıştır. Yapılan çalışmada 200 ppm klor, 96°C'daki sıcak su ve %2.5'lik hidrojen perokside 2 dakika maruz bırakılan kantalopların doğal mikrofloralarındaki azalma incelemiştir. Sıcak su ile yapılan uygulamadan sonra kantalop yüzeyindeki mikrobiyal popülasyonda 4.9 log birimlik azalma sağlanırken, hidrojen peroksit ve klor uygulaması sonucunda yüzeydeki mikrobiyal popülasyonda yaklaşık 2.6 log birimlik azalma sağlamıştır.

Kullanılan hidrojen peroksit çözeltisinin konsantrasyon ve sıcaklığı ile uygulama süresine bağlı olarak, özellikle %3'ün altındaki (Fallik *et al*. 1994) konsantrasyonlarda kalıntı bırakmadığı ve birçok meyve ve sebzenin renk ve tekstürünü olumsuz yönde etkilemediği ortaya konmuştur (Sapers and Simmons 1998, Sapers *et al*. 1999b). Hidrojen peroksit ambalaj sterilizasyonunda kullanıldıktan sonra kalıntı hidrojen peroksit ambalaj materyalinden uzaklaştırılmaktadır. FDA tarafından belirtilen hidrojen peroksit kalıntı miktarı 0.5 ppm'dir. Eğer ambalaj materyalindeki kalıntı hidrojen peroksit miktarı FDA'nın belirttiği limiti aşarsa meyve sularında antosiyanin ve askorbik asit parçalanmasına neden olmaktadır (Özkan 2002). Kuvvetli bir oksidant bileşik olan hidrojen peroksidin, askorbik asit (Johnson and Toledo 1975) ve antosiyaninlerin degradasyonuna neden olduğu (Sondheimer and Kertesz 1952, Simmons *et al*. 1997, Sapers and Simmons 1998, Özkan *et al*. 2000) gösterilmiştir. Bunun dışında, kolaylıkla okside olabilen karotenoidler ve bazı vitaminler üzerine olumsuz etkisinin olabileceğine de kuşku yoktur.

Hidrojen peroksidin antosiyaninler üzerine olumsuz etkisi, çilek sularında (Sondheimer and Kertesz 1952), vişne sularında (Özkan *et al*. 2000), ahududu ve çileklerde (Sapers and Simmons 1998) ve kuru eriklerde (Simmons *et al*. 1997) ortaya konmuştur. Ahududu ve çileklerin yüzey sterilizasyonunda kullanılan hidrojen peroksidin, meyvelerin renklerini ağarttığı; yani antosiyaninleri parçaladığı ve bu parçalanmanın da hidrojen peroksit konsantrasyonu ve işlem süresi ile doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (Sapers and Simmons 1998). Ayrıca, bu meyvelerin düşük miktarda katalaz enzimi içermeleri nedeniyle hidrojen peroksidin parçalanmadığı ve sonuçta bu meyvelerde fazla miktarda kalıntı hidrojen peroksit bulunduğu saptanmıştır. Simmons *et al*. (1997), 20 dakikanın üzerinde hidrojen peroksit buharına tutulan kuru eriklerin renklerinin ağardığını; yani antosiyaninlerin parçalandığını ve ayrıca yüzeyde pulcuklar oluştuğunu göstermişlerdir. Mantarlarda ise, yüzey sterilizasyonunda kullanılan hidrojen peroksit buharın böyle bir olumsuz etkiyi gösterebilmesi için 46-60 dakikalık uzun süreli işleme ihtiyaç olduğu ve bu şekilde uzun süreli buhar uygulamalarının mantarlarda ayrıca esmerleşmeye neden olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde, hidrojen peroksit çözeltisine daldırılan marullarda da şiddetli bir esmerleşme görülmüştür (Sapers and Simmons 1998).

FDA, kalıntı hidrojen peroksidin gıdaların işlenmesi sırasında fiziksel ya da kimyasal yöntemlerle uzaklaştırılmasını zorunlu tutmaktadır (Code of federal regulations 2000a). Davidson and Branen (1993) tarafından belirtildiğine göre; karakteristik özelliği sonucunda hidrojen peroksidin çeşitli faktörlerin etkisiyle hızlı bir şekilde suya ve oksijene parçalanmasından dolayı uzun süreli kalıntı etkisi yoktur. Ancak herhangi bir kalıntı söz konusu ise bu, katalaz enziminin ilavesiyle giderilmektedir (Schurman 2001). Hidrojen peroksit, katalaz enziminin katalizörlüğünde Şekil 2.8'de verilen eşitliğe göre parçalanmaktadır. Parçalanma ürünlerinin su ve oksijenden ibaret olması, hidrojen peroksidin katalaz bulunan ortamlarda kullanılması halinde, benzer amaçlarla kullanılan diğer oksidant bileşiklerde karşılaşılan kalıntı sorunu ortaya çıkmamaktadır (Klapes and Vesley 1990, Forney *et al*. 1991, Simmons *et al*. 1997).



Şekil 2.8 Hidrojen peroksidin parçalanması

Sapers and Simmons (1998) kalıntı hidrojen peroksidin meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan katalaz enzimi ile kolaylıkla parçalandığını ve gerekirse esmerleşme inhibitörü olarak kullanılan sodyum eritorbatın hidrojen peroksidi uzaklaştırmak için kullanılabileceğini belirtmektedirler. Bunun dışında, hidrojen peroksit uygulamasından hemen sonra meyve ve sebzelerin su ile yıkanmasının hidrojen peroksit kalıntısının uzaklaştırılmasında etkili olduğu ve bu uygulama ile de özellikle hidrojen peroksit ile gıda bileşenleri arasındaki muhtemel reaksiyonların önlenebileceği ileri sürülmektedir (Sapers and Simmons 1998).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu araştırmada araştırma materyali olarak Ankara'daki bir pazardan temin edilen pazı kullanılmıştır. Temin edilen materyal analize alınıncaya kadar kısa süreli olarak buzdolabında tutulmuştur. Çalışma iki tekerrür olarak yürütülmüştür.

Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerden sodyum hipoklorit (NaClO), hekzan ($CH_3(CH_2)_4CH_3$) ve klorofil standartları (klorofil a: C5753, klorofil b: C5878) Sigma (Steinheim, Almanya) firmasından; hidrojen peroksit (H_2O_2), metanol (CH_3OH) ve kloroform ($CHCl_3$) Riedel-de Haen (Steinheim, Almanya) firmasından satın alınmıştır. Tüm kimyasallar analitik (veya HPLC) saflıktadır.

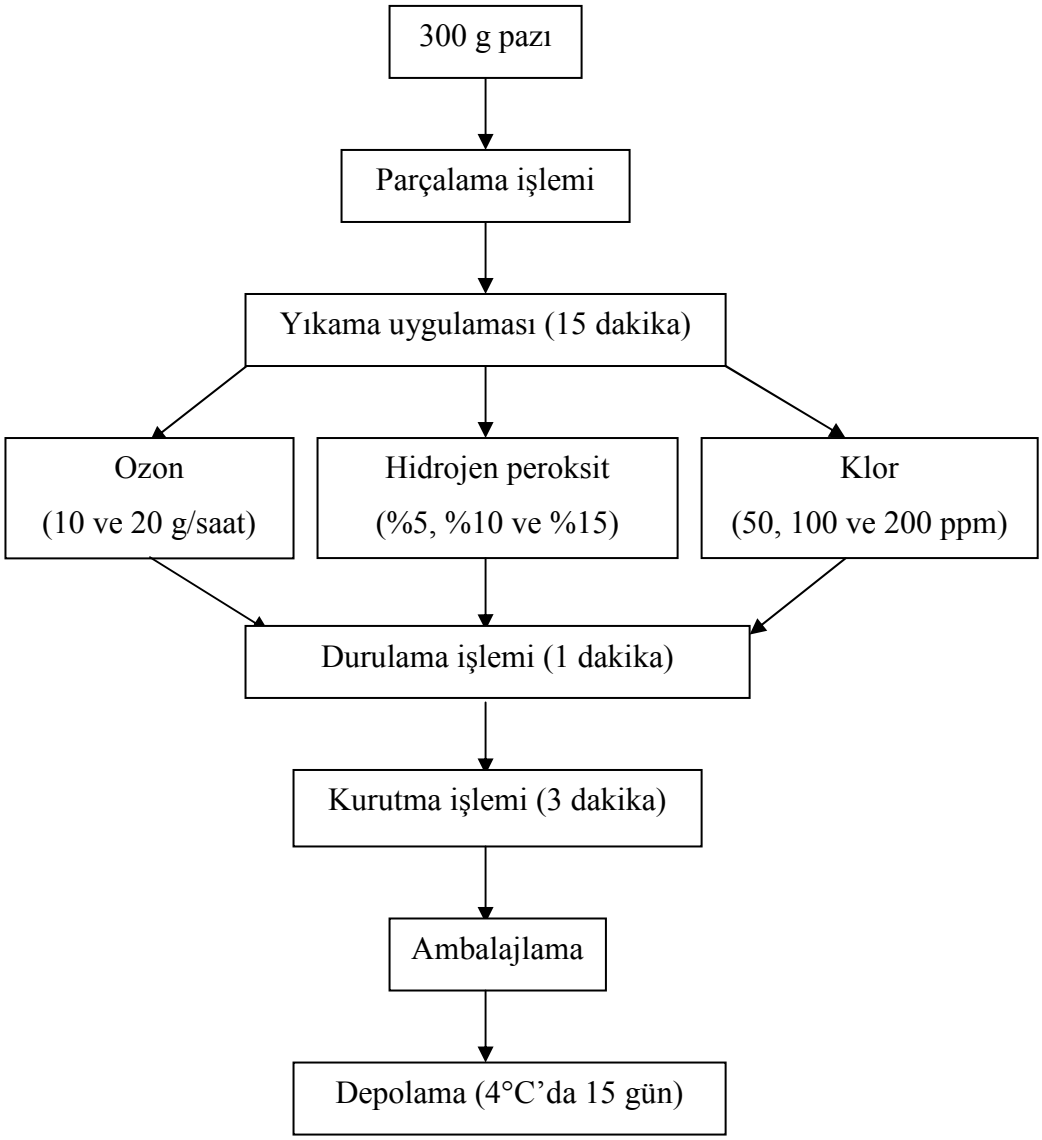
3.2 Yöntem

3.2.1 Yıkama Çözeltilerinin Hazırlanması

Yıkama işleminde kullanılan %5, %10 ve %15'lik hidrojen peroksit çözeltileri %30'luk hidrojen peroksit çözeltisinden; 50, 100 ve 200 ppm'lik klor çözeltileri ise %10-13 aktif klor içeren sodyum hipoklorit çözeltisinden hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan ozon gazı ise, "Korona Deşarj" metodu ilkesiyle çalışan, 10 ve 20 g/saat ozon üretim kapasiteli bir jeneratörle (OGL-20, Opal, Türkiye) ortam havasından üretilmiştir.

3.2.2 Yıkama İşlemi

Pazıların analize hazırlanmasında Şekil 3.1'de verilen işlem basamakları uygulanmıştır.



Şekil 3.1 Yıkama işleminde uygulanan işlem basamakları

Pazılar çamur vb. kirliliklerin uzaklaştırılması amacıyla musluk suyu altında yıkanmıştır. Musluk suyu altında gerçekleştirilen bu ön yıkamanın ardından pazı yaprakları orta kısımlarında bulunan ana damar ve sapları kesildikten sonra, genişliği yaklaşık 1-1,5 cm olan şeritler halinde parçalara ayrılmıştır. İşlem görecek materyal kitlesinde gerekli homojenlik sağlandıktan sonra, içinde belirli konsantrasyonlarda yıkama çözeltileri (ozon-klor-hidrojen peroksit) bulunan cam şişelerde materyal 15 dakika boyunca çalkalama hızı 200 d/dak olan bir çalkalayıcı üzerinde daldırma yöntemi ile yıkanmıştır. Dezenfektanlarla yıkama işleminin ardından 1L'lik bir cam

kapta elle daldırma yöntemi ile 1 dakika boyunca saf su ile materyale durulama işlemi uygulanmıştır. Durulanmış materyalin üzerindeki su, santrifüj ilkesiyle çalışan el tipi basit bir kurutucuyla giderilmiştir. Daha sonra ağzı kilitli plastik ambalaja alınan örnekler, no-frost tip bir buzdolabında (+4°C'da) 15 gün süreyle depolanmıştır.

Ozonlama işlemi, yıkama şişesinde, mevcut bulunan ozon jeneratörü kullanılarak yapılmıştır. Ozon, suya, literatürde (Kim *et al*. 1999, Achen and Yousef 2001) sulu ortamda en etkin sonuçların alındığı bildirilen yöntem olan bubbling (doğrudan gazlama) şeklinde verilmiştir.

3.2.3 Standart Pigment çözeltilerinin hazırlanması

3.2.3.1 Standart Klorofil a ve Klorofil b Çözeltilerinin Hazırlanması

Klorofil a stok çözeltisi, 1 mg saf klorofil a 25 mL metanolde çözülerek hazırlanmıştır. Standart çalışma çözeltileri stok çözeltiden 1, 5, 10, 15, 20 ve 30 mL/L konsantrasyonlarda olacak şekilde metanol ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Klorofil b stok çözeltisi ise 1 mg saf klorofil b 50 mL metanolde çözülerek hazırlanmıştır. Standart çalışma çözeltileri stok çözeltiden 1, 3, 5, 7, 10, 15 ve 20 mL/L konsantrasyonlarda olacak şekilde metanol ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.3.2 Standart Feofitin a ve Feofitin b çözeltilerinin hazırlanması

Feofitin a ve feofitin b çözeltilerini hazırlamak için standart klorofil a ve klorofil b çözeltileri feofitinizasyona uğratılmıştır. Bu amaçla 900 µL'lik klorofil a ve klorofil b çözeltileri üzerine 50 µL 1 N hidroklorik asit ilave edilmiş ve yaklaşık 3 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra oluşan feofitin çözeltileri 50 µL 1 N sodyum hidroksit ilave edilerek stabilize edilmiştir.

3.3 Analiz Yöntemi

Her bir tekerrürde analizler için örnekler depolamanın 0., 5., 10. ve 15. günlerinde alınmış ve depolama süresince klorofil ve nem miktarındaki değişim incelenmiştir.

3.3.1 Nem miktarı tayini

Öngörülen depolama süresinin sonunda yaklaşık 3 g örnek 0,001g hassasiyette, daha önce 105±1ºC'da kurutulmuş ve darası alınmış cam kuru madde kaplarına tartılmış, aynı sıcaklıktaki kurutma dolabında sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Sabit ağırlığa gelen kaplar, desikatörde soğutulmuş ve hassas olarak tartılmıştır. Nem miktarı, meydana gelen ağırlık kaybından yüzde olarak hesaplanmıştır (Anonymous 2000b).

3.3.2 Klorofil miktarındaki değişimin HPLC yöntemi ile belirlenmesi

Pazıda klorofil miktarı, HPLC yöntemiyle iki aşamadan (ekstraksiyon ve tanımlama-hesaplama) oluşan bir uygulama sonunda belirlenmiş olup bu aşamalar aşağıda kısaca açıklanmıştır.

3.3.2.1 Ekstraksiyon

Örnek ekstraksiyonu için Teng and Chen (1999) tarafından belirlenen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Klorofil ekstraksiyonu için, küçük parçalara bölünen pazı yaprakları, bir parçalayıcıda (Waring blender) 1 dakika süreyle parçalanmıştır. Bu kitleden yaklaşık 5 g örnek, porselen bir havana alınmış ve havaneli ile iyice ezilerek homojen bir kitle elde edilmiştir. Bu kitleden ±0,001 g duyarlılıkla 0,2 g örnek, ekstraksiyonun yapılacağı test tüpüne tartılmış ve üzerine 3 mL metanol eklenmiştir. Karışım 1 dakika süreyle vorteksle kuvvetlice karıştırılmış ve 1 dakika kendi haline

bırakılarak katı unsurların çökmesi sağlanmıştır. Sıvı kısım 25 mL hacmindeki ölçü balonuna aktarılmıştır. Aktarma sırasında tüpten balona katı unsurların geçmemesine dikkat edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi, her defasında 3 mL metanol kullanılarak, örnek kitlesi tamamen renksiz oluncaya kadar (6 kez) tekrarlanmıştır. Ekstraktlar ölçü balonuna transfer edilmiş ve balon metanol ile çizgisine tamamlanmıştır. Balon içeriği, uygun bir tüpe aktarılıp 4000 d/d'da 10 dakika santrifüj (Sigma, Model 2-16) edilmiştir. İşlem sonunda sıvı kısım 0,45 µm gözenek çaplı şırınga ucu tipte teflon filtreden Eppendorf tüplerine süzülmüştür. Bu süzüntü HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Analizde uygulanan HPLC aygıtı ve çalışma koşulları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

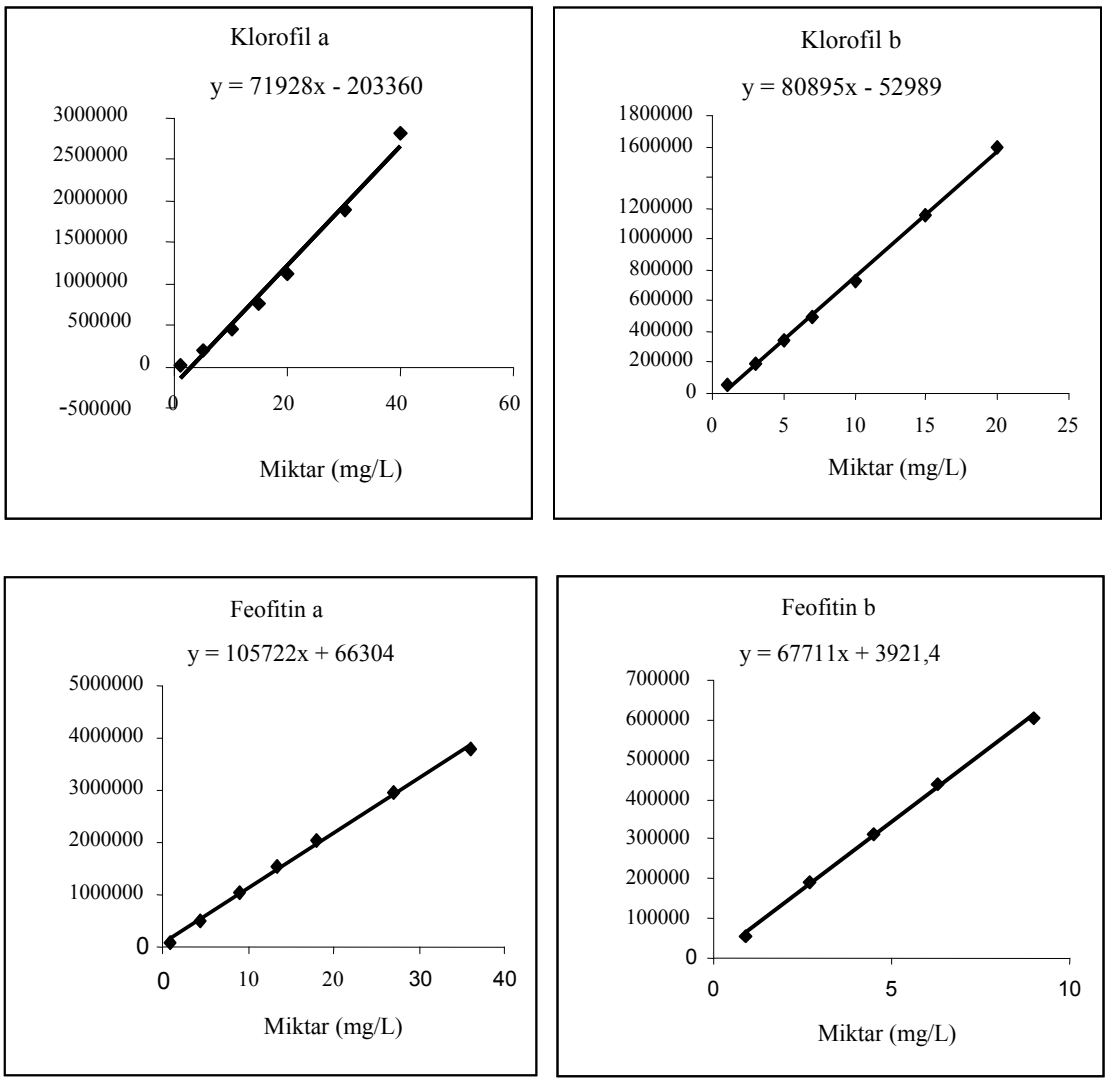
Çizelge 3.1 HPLC çalışma koşulu

HPLC çalışma koşulu	
Sistem	: Shimadzu
Detektör	: Shimadzu SPD-M10A PDA
Sistem Kontrol Ünitesi	: Shimadzu SCL-10 AVp
Pompa	: Shimadzu LC-10 AD-VP
Kolon Fırını	: Shimadzu CTO-10A SVp
Kolon	: Phenomenex (5µ, C_{18}, 100A^{o}, 250 x 4,6 mm)
Basınç	: 250 kgf/cm^2 (max)
Mobil Faz	: Metanol:kloroform:n-hekzan (85:7,5:7,5)
Deteksiyon Dalga Boyu	: 408, 430, 460 nm
Akış Hızı	: 1 mL/dak (İsokratik akış)
Kolon Sıcaklığı	: 25°C
Enjeksiyon Hacmi	: 20 µL

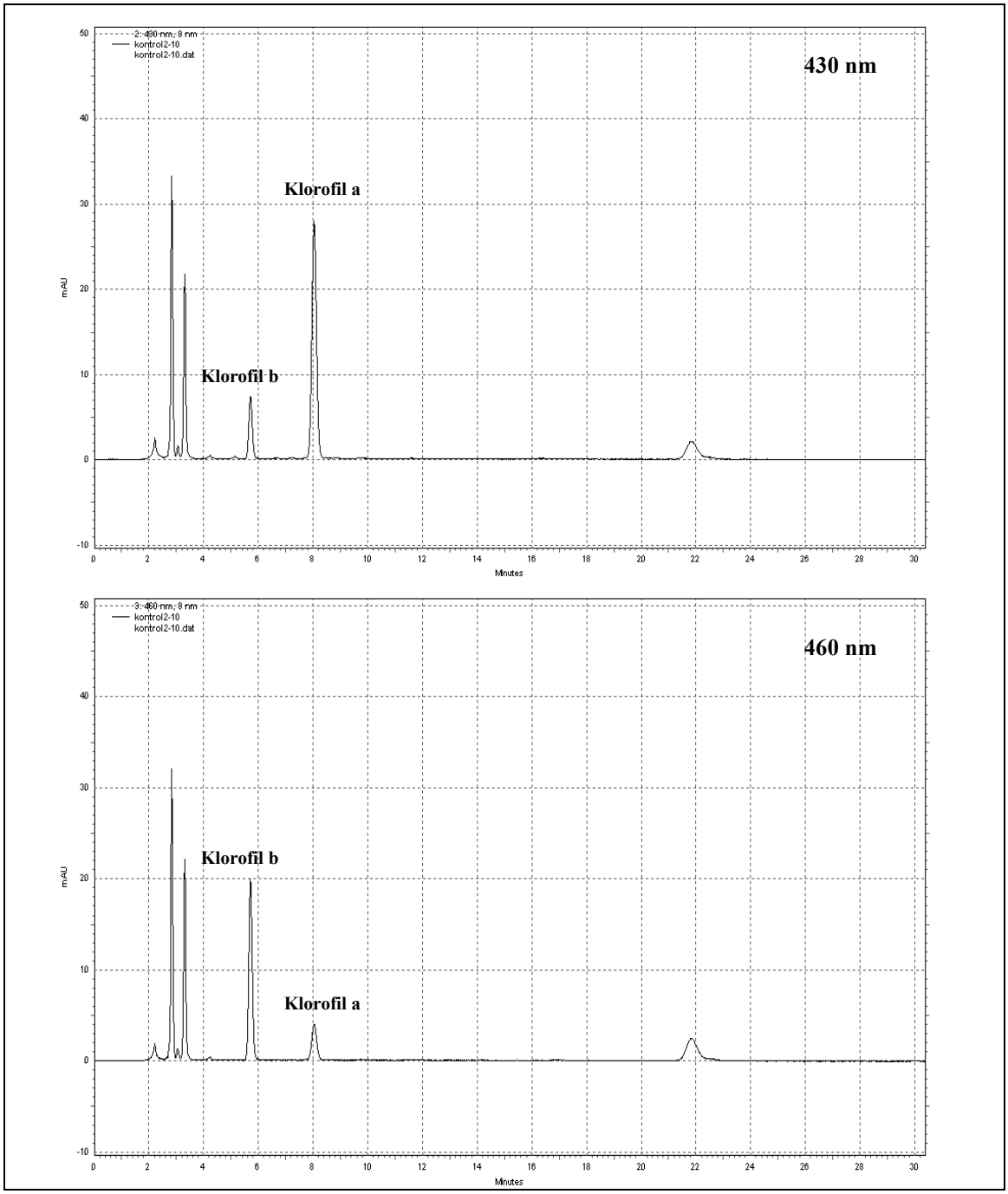
3.3.2.2 Tanımlama ve hesaplama

Klorofil ve türevlerinin belirlenmesi amacıyla ekstraksiyonu yapılarak HPLC'ye enjekte edilen örneklerde her bir klorofil ve feofitin için maksimum absorbans verdikleri dalga

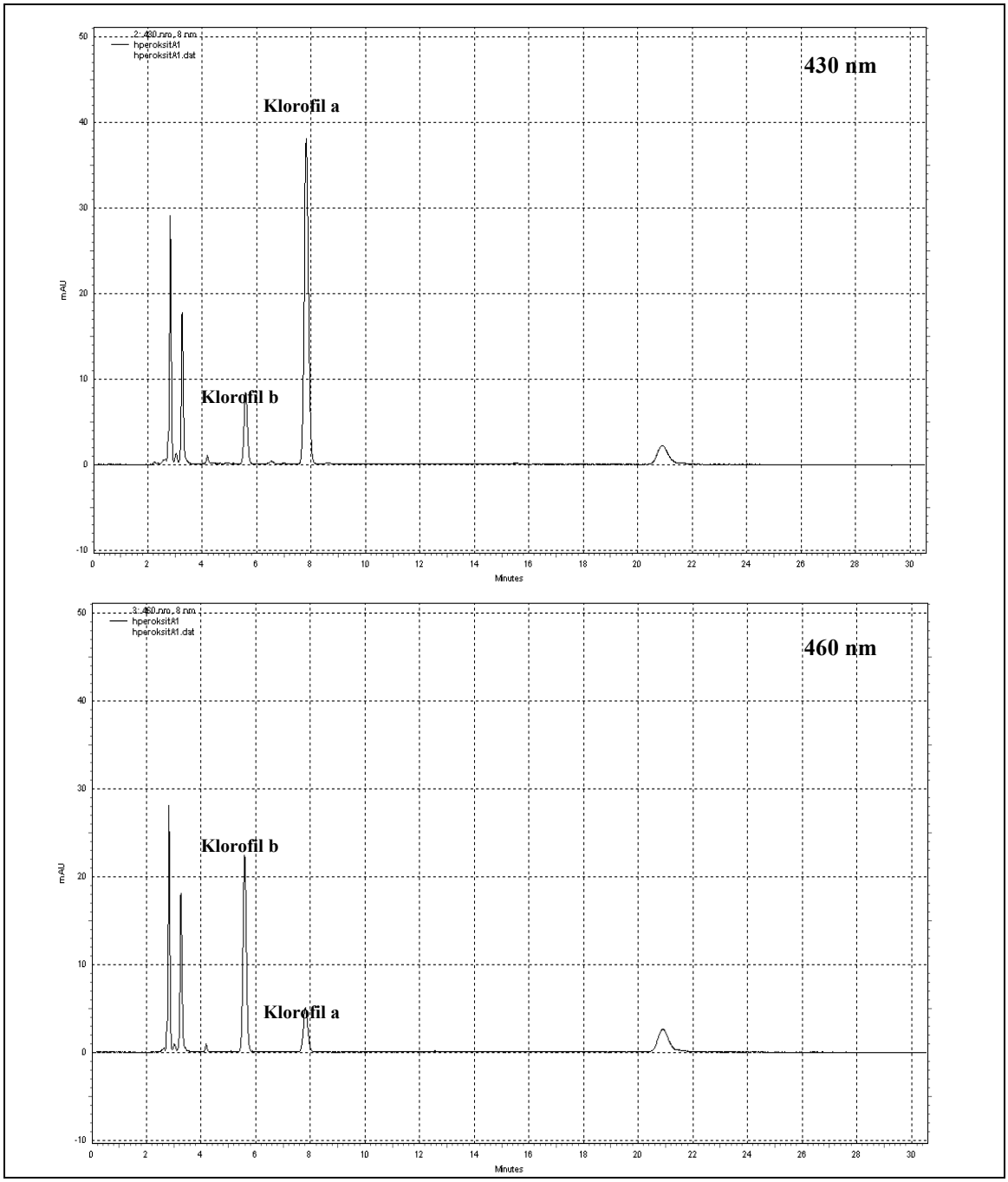
boyları kullanılarak kromatogramlar kaydedilmiştir. Klorofil a ve feofitin b için 430 nm, klorofil b için 460 nm ve feofitin a için 408 nm'de ölçüm yapılmıştır. Örneklerin kromatogramında oluşmuş pikler, standart klorofil a, klorofil b, feofitin a ve feofitin b'nin kalış süresi (retention time) ve UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. HPLC analizi sonucunda örneklerde 5 adet pik elde edilmiş, ancak bu piklerden 2'si tanımlanabilmiştir. Tanımlanan bileşenlerin, ilgili klorofil ve feofitin standartlarından yararlanılarak elde edilmiş "standart eğriler" ile kantitatif hesaplaması yapılmıştır. Sonuçlar "mg/kg kuru madde" olarak verilmiştir. Standart kurveler ve bunlara ilişkin denklemler Şekil 3.2'de verilmiştir.



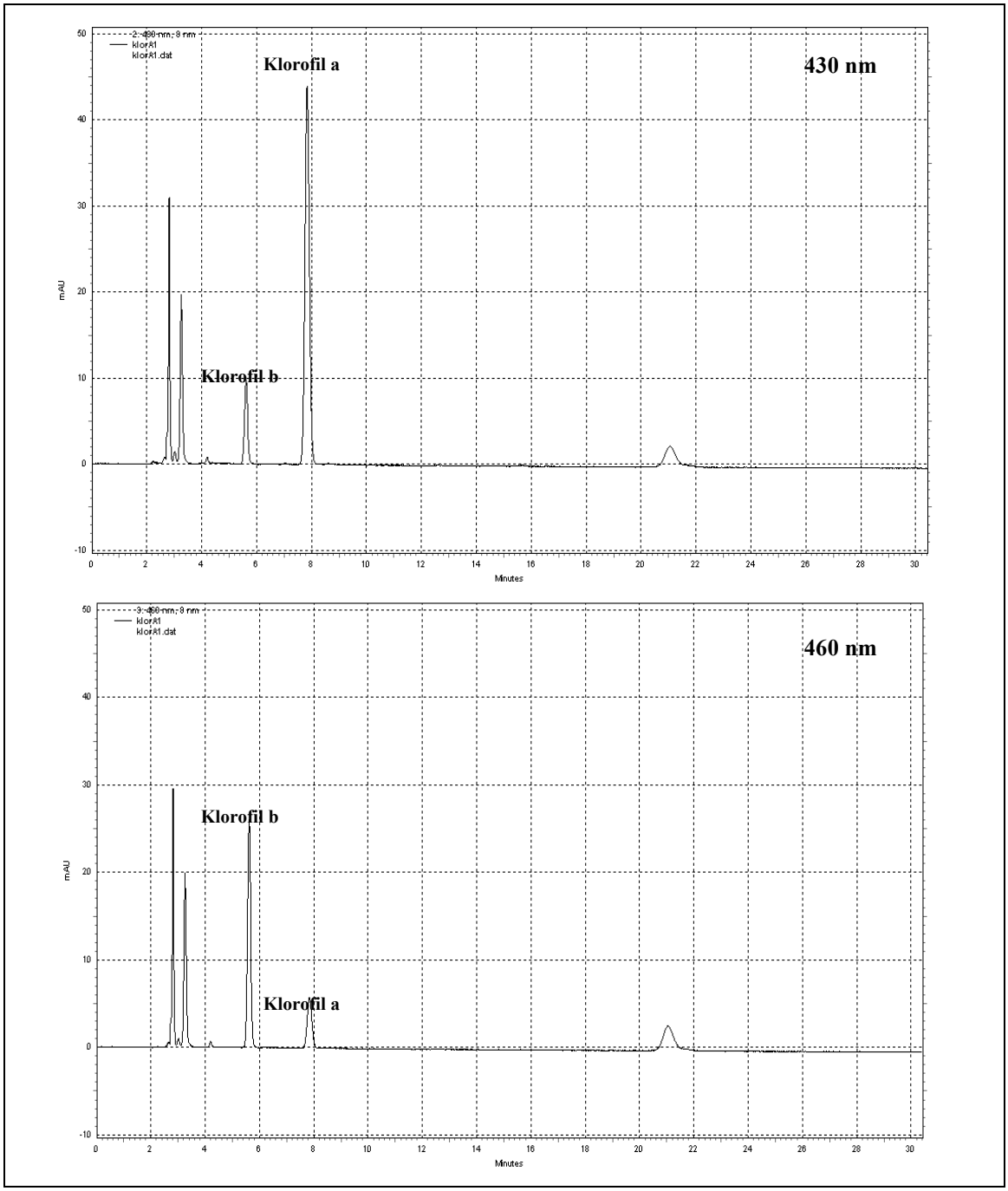
Şekil 3.2 Klorofillerin ve feofitinlerin standart eğrileri



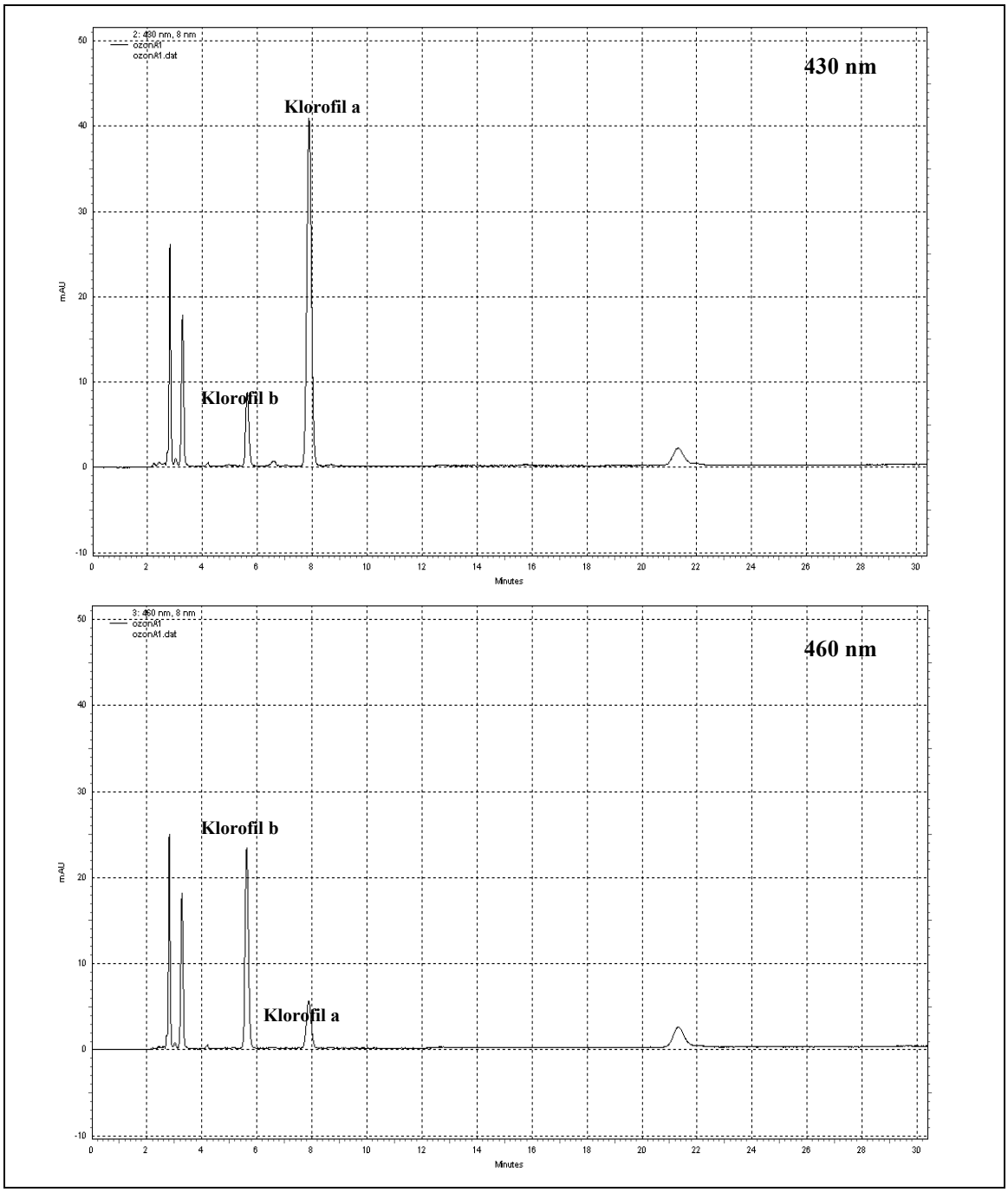
Şekil 3.3 İşlem uygulanmayan (kontrol) örneklere ait kromatogram



Şekil 3.4 %15'lik hidrojen peroksit uygulanan örneklere ait kromatogram



Şekil 3.5 200 ppm klor uygulanan örneklere ait kromatogram



Şekil 3.6 20 g/saat ozon uygulanan örneklere ait kromatogram

3.3.3 İstatistik analiz

Sonuçlar iki tekrarlı ölçümlerin ortalaması ± standart hata olarak gösterilmiştir. Araştırma sonuçları varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analizi Minitab ver.14 programı kullanılarak yapılmıştır. Duncan Çoklu Karşılaştırma Testleri'nin yapılmasında ise MSTAT-C programından yararlanılmıştır. Farklılıkların $p<0.05$ seviyesinde önemli olup olmadığı değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırmada ele alınan örneklerde yapılan klorofil miktarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1, 4.3, 4.6, 4.9, 4.12, 4.14'de ve oluşan değişime ilişkin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.2, 4.4, 4.5, 4.7, 4.8, 4.10, 4.11, 4.13, 4.15 ve 4.16'da verilmiştir.

4.1 Klor ile Gerçekleştirilen Yıkama Uygulamasının Sonuçları

Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımından elde edilen gözlem değerleri, varyans analizi tekniği ile Çizelge 4.1'de değerlendirilmiş olup, "Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu" interaksiyonu istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı olan alt grup ortalamalarının belirlenmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımımdan yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Klorofil a			
	SD[ŧ]	KT[ŧ]	KO[ŧ]	F[ŧ]
Depolama Süresi	3	29887032	9962344	97.33*
Dezenfektan Dozu	3	20737674	6912558	67.54*
Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu	9	4233375	470375	4.60*

* : $p<0.05$ düzeyinde önemli

ŧ : SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler ortalaması, F: F (Fisher) değeri

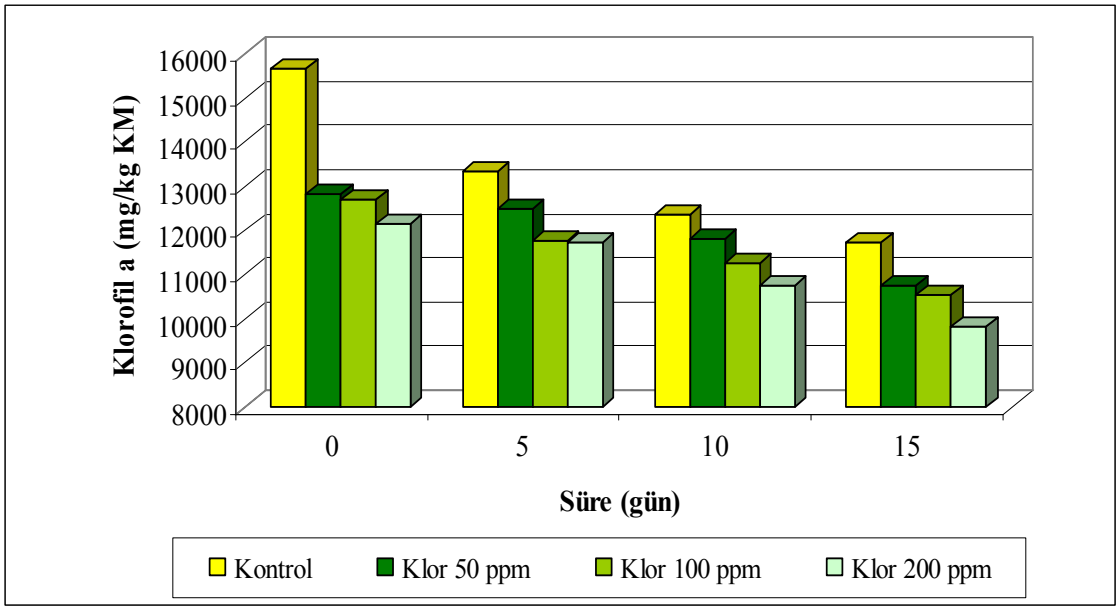
Çizelge 4.2 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Klorofil a (mg/kg kuru madde)				
Uygulanan Dezenfektan Dozu (ppm)	Depolama Süresi			
	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün
0	15650 ± 250^{Aa}	13330 ± 87^{Ab}	12370 ± 114^{Ac}	11730 ± 149^{Ac}
50	12810 ± 287^{Ba}	12490 ± 82.4^{Bab}	11820 ± 139^{ABb}	10740 ± 411^{Bc}
100	12690 ± 326^{Ba}	11770 ± 82.5^{Cb}	11250 ± 90.2^{BCb}	10520 ± 196^{Bc}
200	12140 ± 283^{Ba}	11710 ± 53.9^{Ca}	10770 ± 370^{Cb}	9837 ± 238^{Cc}

* klorofil a miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
a–c : Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.2'de verilen analiz sonuçları değerlendirildiğinde 50, 100 ve 200 ppm gibi farklı konsantrasyonlarda klor çözeltileri ile gerçekleştirilen yıkama işlemi ve 15 günlük depolama sonucunda klorofil a miktarında azalma tespit edilmiştir. Bu azalma uygulanan klor dozunun artmasıyla artış göstermektedir. Nitekim 50, 100 ve 200 ppm klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde 15 günlük depolama süresi sonucunda klorofil a miktarında sırasıyla yaklaşık %31, %33 ve %37 düzeyinde azalma tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2'de verilen analiz sonuçları incelendiğinde depolamanın 0. gününde klorofil a miktarında meydana gelen azalmada dozlar arasındaki farkın önemli olmadığı, depolamanın 5. gününden itibaren dozlar arasındaki farklılıkların önem kazandığı görülmektedir. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi genel olarak uygulanan klor dozu artıkça klorofil a miktarında meydana gelen azalma da artmıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre depolama süresi bakımından klorofil a miktarındaki azalma kontrol gurubu örneklerde incelendiğinde günler arasındaki farkın istatistik açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre 50 ile 100 ppm klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil a miktarındaki azalma bakımından önemli farklılıkların olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.1 Farklı klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil a miktarında meydana gelen değişimler

Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımından elde edilen gözlem değerleri, varyans analizi tekniği ile Çizelge 4.3'de değerlendirilmiş olup, "Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu" interaksiyonu istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı olan alt grup ortalamalarının belirlenmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Çizelge 4.4 ve 4.5).

Çizelge 4.3 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımımdan yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Klorofil b			
	SD[t]	KT[t]	KO[t]	F[t]
Depolama Süresi	3	3739925	1246642	63.67*
Dezenfektan Dozu	3	3591595	1197198	61.15*
Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu	9	337652	37517	1.92

* : $p<0.05$ düzeyinde önemli

t : SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler ortalaması, F: F (Fisher) değeri

Çizelge 4.4 Farklı konsantrasyonlardaki klor çözeltilerinin klorofil b miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Uygulanan Dezenfektan Dozu (ppm)	Klorofil b (mg/kg kuru madde)
0	4895±173^{A}
50	4323±163^{B}
100	4175±111^{B}
200	3977±82.7^{C}

* klorofil b miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

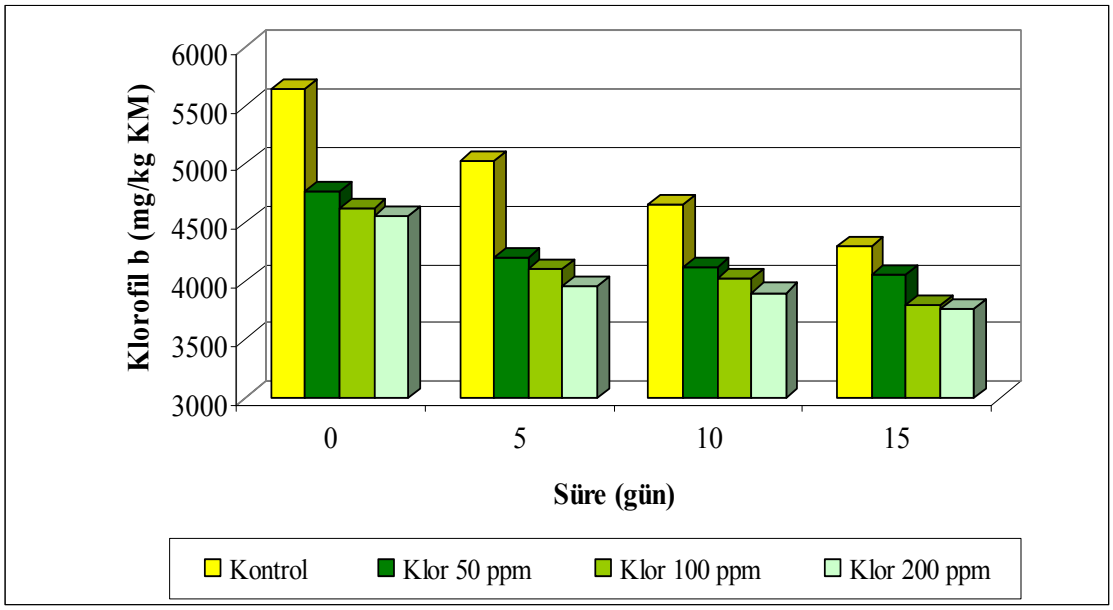
Çizelge 4.5 Farklı depolama sürelerinin klor ile muamele edilen örneklerdeki klorofil b miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Depolama Süresi (gün)	Klorofil b (mg/kg kuru madde)
0	4904±195^{A}
5	4282±109^{B}
10	4138±119B^{C}
15	4046±119^{C}

* klorofil b miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.4 ve 4.5'de verilen analiz sonuçları incelendiğinde uygulanan farklı klor dozlarının ve depolama sürelerinin birbirlerinden bağımsız olarak klorofil b miktarı üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. 50, 100 ve 200 ppm'lik klor çözeltileri ile yıkama işlemi gerçekleştirilen örneklerde 15 günlük depolama süresi sonucunda klorofil b miktarında sırasıyla yaklaşık olarak %28, %33 ve %33 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Çizelge 4.5'de verilen analiz sonuçları değerlendirildiğinde depolamanın 5. ve 10. günleri ile 10. ve 15. günleri arasında dozlar arasındaki farkın klorofil b miktarındaki azalma açısından önemli olmadığı belirlenmiştir. Varyans analizi

sonuçlarına göre depolama süresi bakımından klorofil b miktarındaki azalma incelendiğinde ise 50 ile 100 ppm klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde klorofil b miktarındaki azalma açısından önemli farklılıkların olmadığı tespit edilmiştir. Martinez-Sanchez *et al*. (2006) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada da roka yaprakları ozonlu ve klorlu su ile yıkanmış ve farklı depolama teknikleri kullanılarak 15 gün süresince depolanmıştır. Depolama sırasında klorofil a ve klorofil b miktarında azalma olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2 Farklı klor çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil b miktarında meydana gelen değişimler

4.2 Ozon ile Gerçekleştirilen Yıkama Uygulamasının Sonuçları

Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımından elde edilen gözlem değerleri, varyans analizi tekniği ile Çizelge 4.6'da değerlendirilmiş olup, "Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu" interaksiyonu istatistik olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı olan alt grup ortalamalarının belirlenmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Çizelge 4.7 ve 4.8).

Çizelge 4.6 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımımdan yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Klorofil a			
	SD[t]	KT[t]	KO[t]	F[t]
Depolama Süresi	3	39511095	13170365	26.44*
Dezenfektan Dozu	2	31512166	15756083	31.63*
Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu	6	2595019	432503	0.87

* : $p<0.05$ düzeyinde önemli

t : SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler ortalaması, F: F (Fisher) değeri

Çizelge 4.7 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin klorofil a miktarındaki[*] (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Uygulanan Dezenfektan Dozu (g/saat)	Klorofil a (mg/kg kuru madde)
0	13270±566[A]
10	11940±441[B]
20	10470±586[C]

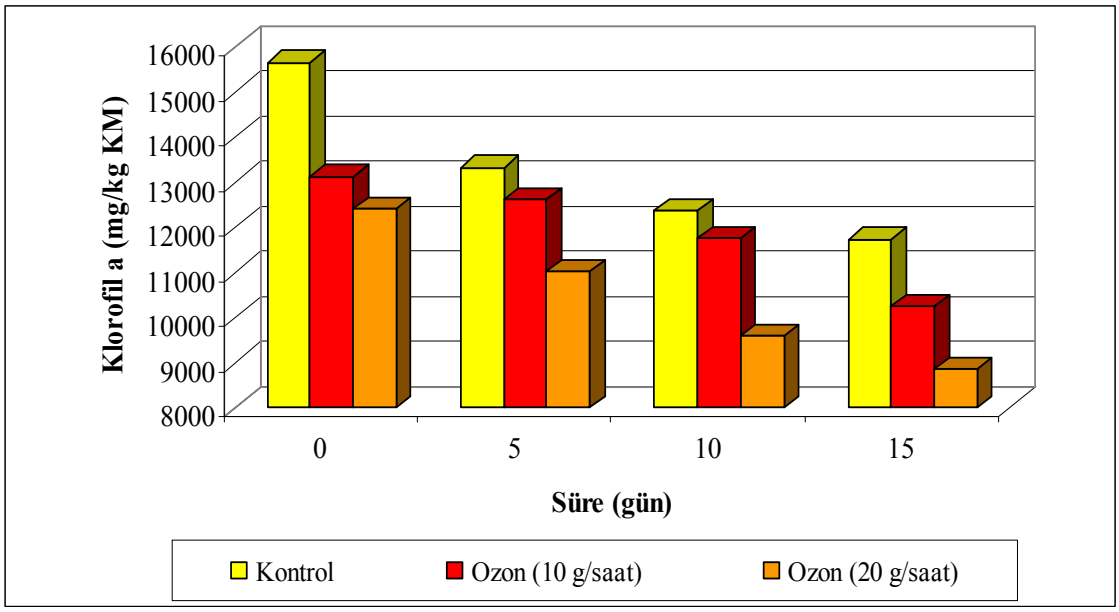
[*] klorofil a miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.8 Farklı depolama sürelerinin ozon ile muamele edilen örneklerdeki klorofil a miktarındaki[*] (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Depolama Süresi (gün)	Klorofil a (mg/kg kuru madde)
0	13730±635[A]
5	12320±544[B]
10	11240±580[C]
15	10280±547[D]

[*] klorofil a miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–D: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.7 ve 4.8'de verilen Duncan testi sonuçları incelendiğinde uygulanan farklı ozon dozlarının ve depolama sürelerinin birbirlerinden bağımsız olarak klorofil a miktarı üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. 10 ve 20 g/saat ozon çözeltileri ile yıkama işlemi gerçekleştirilen örneklerde 15 günlük depolama süresi sonucunda klorofil a miktarında sırasıyla yaklaşık olarak %35 ve %43 düzeyinde azalma belirlenmiştir. Şekil 4.3'de de görüldüğü gibi meydana gelen bu azalma uygulanan ozon dozunun artmasıyla artış göstermektedir. Varyans analizi sonuçlarına göre depolama süresi bakımından klorofil a miktarındaki azalma incelendiğinde ise günler arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.3 Farklı ozon çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil a miktarında meydana gelen değişimler

Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımından elde edilen gözlem değerleri, varyans analizi tekniği ile Çizelge 4.9'da değerlendirilmiş olup, "Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu" interaksiyonu istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı olan alt grup ortalamalarının belirlenmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Çizelge 4.10 ve 4.11).

Çizelge 4.9 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımımdan yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Klorofil b			
	SD[t]	KT[t]	KO[t]	F[t]
Depolama Süresi	3	4441298	1480433	18.73*
Dezenfektan Dozu	2	4869306	2434653	30.80*
Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu	6	88962	14827	0.19

* : $p<0.05$ düzeyinde önemli

t : SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler ortalaması, F: F (Fisher) değeri

Çizelge 4.10 Farklı konsantrasyonlardaki ozon çözeltilerinin klorofil b miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Uygulanan Dezenfektan Dozu (g/saat)	Klorofil b (mg/kg kuru madde)
0	4904±195[A]
10	4438±164[B]
20	3805±181[C]

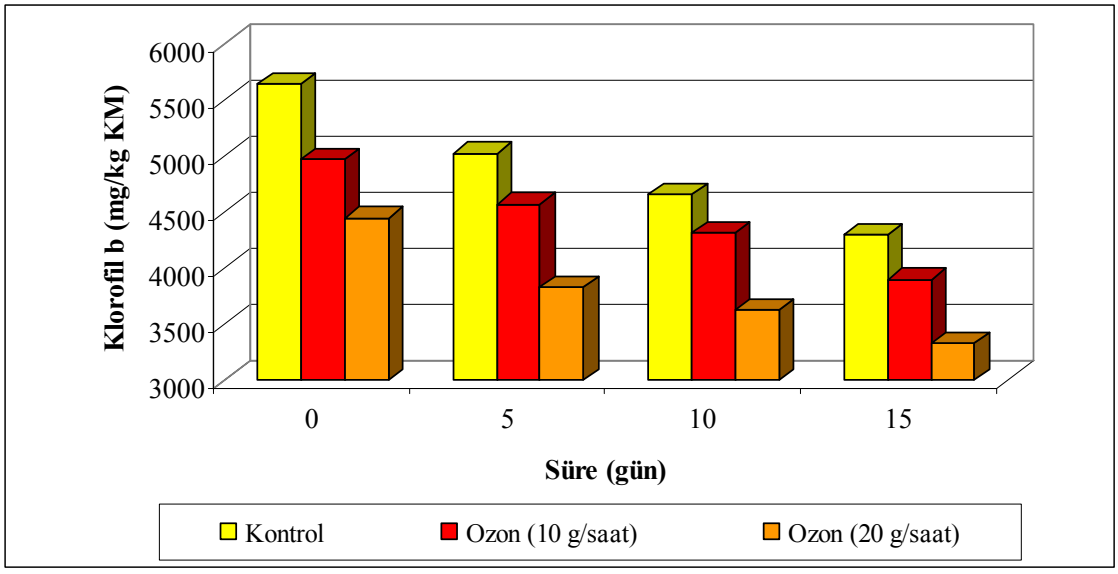
* klorofil b miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.11 Farklı depolama sürelerinin ozon ile muamele edilen örneklerdeki klorofil b miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Depolama Süresi (gün)	Klorofil b (mg/kg kuru madde)
0	5018±229[A]
5	4474±250[B]
10	4197±221[B]
15	3841±181[C]

* klorofil b miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.10 ve 4.11'de verilen analiz sonuçları incelendiğinde uygulanan farklı ozon dozlarının ve depolama sürelerinin birbirlerinden bağımsız olarak klorofil b miktarı üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. 10 ve 20 g/saat ozon çözeltileri ile yıkama işlemi gerçekleştirilen örneklerde 15 günlük depolama süresi sonucunda klorofil b miktarında sırasıyla yaklaşık %31 ve %41 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde ozonun 10 g/saat'lik dozu uygulandığında klorofil a ve klorofil b miktarında meydana gelen azalma aynı oranda iken, ozonun 20 g/saat'lik dozu uygulandığında ise klorofil a miktarında meydana gelen azalmanın daha fazla olduğu gözlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre depolama süresi bakımından klorofil b miktarındaki azalma incelendiğinde ise günler arasındaki farkın istatistik açıdan önemli olduğu, ancak depolamanın 5. ve 10. günlerinde klorofil b miktarında meydana gelen azalma üzerinde dozlar arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.4 Farklı ozon çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil b miktarında meydana gelen değişimler

4.3 Hidrojen Peroksit ile Gerçekleştirilen Yıkama Uygulamasının Sonuçları

Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımından elde edilen gözlem değerleri, varyans

analizi tekniği ile Çizelge 4.12'de değerlendirilmiş olup, "Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu" interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Farklı olan alt grup ortalamalarının belirlenmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.12 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarı üzerine etkileri bakımımdan yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Klorofil a			
	SD[t]	KT[t]	KO[t]	F[t]
Depolama Süresi	3	30947533	10315844	72.82*
Dezenfektan Dozu	3	34200078	11400026	80.47*
Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu	9	5210033	578893	4.09*

* : $p<0.05$ düzeyinde önemli

t : SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler ortalaması, F: F (Fisher) değeri

Çizelge 4.13 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil a miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Klorofil a (mg/kg kuru madde)				
Uygulanan	Depolama Süresi			
Dezenfektan Dozu (%)	0. gün	5. gün	10. gün	15. gün
0	15650 ± 250^{Aa}	13330 ± 87^{Ab}	12370 ± 114^{Ac}	11730 ± 149^{Ac}
5	13260 ± 126^{Ba}	12820 ± 92.8^{Aa}	11740 ± 329^{ABb}	10700 ± 411^{Bc}
10	11990 ± 472^{Ca}	11680 ± 332^{Bab}	11120 ± 278^{BCb}	9981 ± 196^{Bc}
15	11280 ± 296^{Ca}	11060 ± 227^{Ba}	10630 ± 422^{Ca}	9105 ± 238^{Cb}

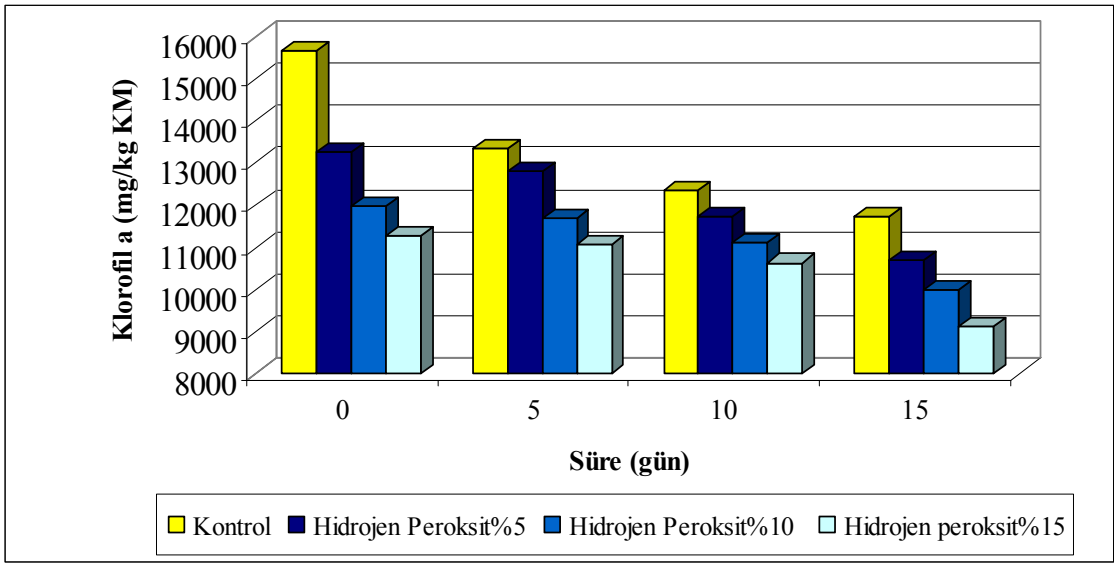
* klorofil a miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

a–c : Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.13'de verilen analiz sonuçları incelendiğinde %5, %10 ve %15 gibi farklı konsantrasyonlarda hidrojen peroksit çözeltileri ile gerçekleştirilen yıkama işlemi ve 15

günlük depolama sonucunda klorofil a miktarında azalma tespit edilmiştir. %5, %10 ve %15 hidrojen peroksit çözeltileri ile yıkanan örneklerde 15 günlük depolama süresi sonucunda klorofil a miktarında sırasıyla yaklaşık %32, %37 ve %42 düzeyinde azalma tespit edilmiştir.



Şekil 4.5 Farklı hidrojen peroksit çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil a miktarında meydana gelen değişimler

Çizelge 4.13'de verilen analiz sonuçları değerlendirildiğinde %15'lik hidrojen peroksit çözeltisi ile gerçekleştirilen yıkama işleminin depolamanın 0., 5. ve 10. günlerinde klorofil a miktarında meydana gelen azalmada önemli farklılıklar oluşturmadığı görülmektedir. Ayrıca depolamanın 0., 5. ve 10. günlerinde klorofil a miktarında meydana gelen azalmada %10 ve %15'lik hidrojen peroksit ile yıkama işleminin arasındaki farkın istatistik açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımından elde edilen gözlem değerleri, varyans analizi tekniği ile Çizelge 4.14'de değerlendirilmiş olup, "Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu" interaksiyonu istatistik olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

Farklı olan alt grup ortalamalarının belirlenmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Çizelge 4.15 ve 4.16).

Çizelge 4.14 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin ve depolama sürelerinin klorofil b miktarı üzerine etkileri bakımımdan yapılan varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Klorofil b			
	SD[t]	KT[t]	KO[t]	F[t]
Depolama Süresi	3	3226688	1075563	34.59*
Dezenfektan Dozu	3	5469876	1823292	58.64*
Depolama Süresi X Dezenfektan Dozu	9	463752	51528	1.66

* : $p<0.05$ düzeyinde önemli

t : SD: Serbestlik derecesi, KT: Kareler Toplamı, KO: Kareler ortalaması, F: F (Fisher) değeri

Çizelge 4.15 Farklı konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit çözeltilerinin klorofil b miktarındaki[*] (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

Uygulanan Dezenfektan Dozu (%)	Klorofil b (mg/kg kuru madde)
0	4904 ± 195^{A}
5	4355 ± 106^{B}
10	4052 ± 135^{C}
15	3794 ± 85.6^{D}

[*] klorofil b miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–D: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

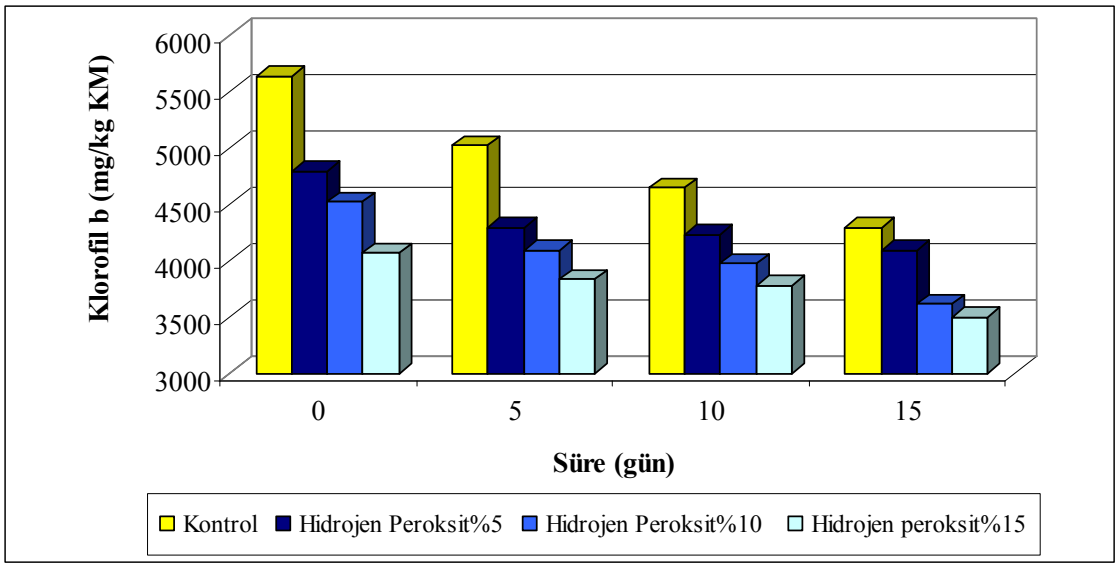
Çizelge 4.15 ve 4.16'da verilen analiz sonuçları incelendiğinde uygulanan farklı hidrojen peroksit dozlarının ve depolama sürelerinin birbirlerinden bağımsız olarak klorofil b miktarı üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. %5, %10 ve %15 hidrojen peroksit çözeltileri ile yıkama işlemi gerçekleştirilen örneklerde 15 günlük depolama süresi sonucunda klorofil b miktarında sırasıyla yaklaşık %27, %36 ve %38 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre depolama süresi bakımından

klorofil b miktarındaki azalma incelendiğinde ise günler arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. Ancak Çizelge 4.16'da verilen Duncan testi sonuçları incelendiğinde depolamanın 5. ve 10. günlerinde klorofil b miktarında meydana gelen azalma üzerinde dozlar arasındaki farkın istatistik açıdan önemli olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.16 Farklı depolama sürelerinin hidrojen peroksit ile muamele edilen örneklerdeki klorofil b miktarındaki* (mg/kg kuru madde) etkisine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi

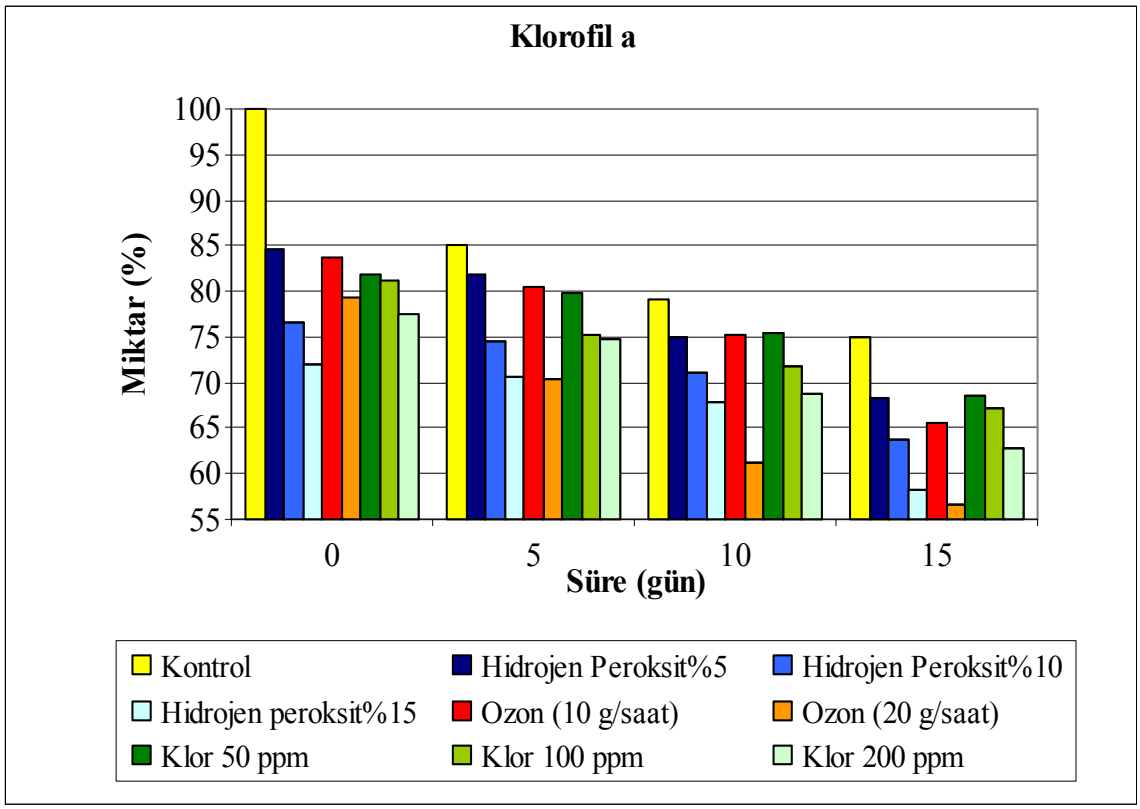
Depolama Süresi (gün)	Klorofil b (mg/kg kuru madde)
0	4756±224^{A}
5	4311±176^{B}
10	4160±128^{B}
15	3878±132^{C}

* klorofil b miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.6 Farklı hidrojen peroksit çözeltileri ile yıkanan örneklerde depolama süresince klorofil b miktarında meydana gelen değişimler

Sonuçlar bütün olarak irdelendiğinde Martinez-Sanchez *et al*. (2006) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada olduğu gibi kontrol dahil tüm örneklerde depolama süresi boyunca klorofil a ve klorofil b miktarlarında azalmalar gözlenmektedir. Genel olarak klorofil a miktarında meydana gelen azalmalar, tüm yıkama işlemlerinde, uygulanan dezenfektan dozunun artmasıyla depolama süresince artış göstermektedir. Depolama süresinin 0. ve 5. günlerinde uygulamalar arasındaki farklılıklar daha azken depolamanın 15. gününde klorofil a miktarında meydana gelen azalma, özellikle yüksek ozon dozlarında, artmaktadır. Hangi yıkama uygulaması yapılırsa yapılsın 10 günlük depolama sonunda klorofil a'nın en az 1/4'ü kaybolmaktadır. Buna karşın 15 günlük depolama sonucunda bu kayıp yaklaşık 1/3'ü civarındadır.

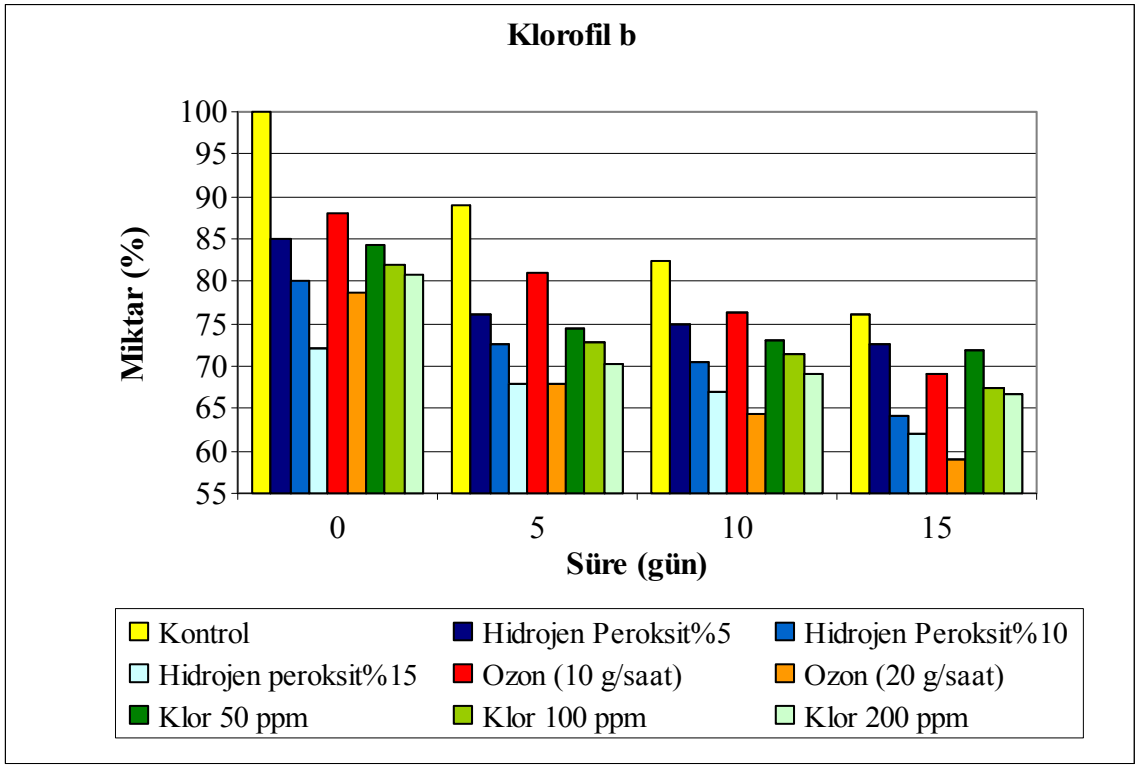


Şekil 4.7 15 günlük depolama süresince klorofil a miktarında oluşan azalma

Analiz bulguları incelendiğinde genel olarak klorofil b miktarında meydana gelen azalmalar klorofil a'da olduğu gibi, tüm yıkama uygulamalarında, uygulanan

dezenfektan dozunun artmasıyla depolama süresince artış göstermektedir. Sondheimer and Kertesz (1952), Simmons *et al*. (1997), Sapers and Simmons (1998) ve Özkan *et al*. (2000) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda da çeşitli meyvelerin yüzey sterilizasyonunda kullanılan hidrojen peroksidin, çeşitli meyvelerin renklerini ağarttığı, yani antosiyanin, klorofil gibi pigmentleri parçaladığı ve bu parçalanmanın da kullanılan dezenfektan konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak arttığı bildirilmektedir.

Depolama süresinin başlarında klorofil a'da olduğu gibi uygulamalar arasındaki farklılıklar daha azken depolamanın 15. gününde klorofil b miktarında meydana gelen azalma, özellikle yüksek ozon dozlarında, hızla artmaktadır. Hangi yıkama uygulaması yapılırsa yapılsın 15 günlük depolama sonucunda klorofil b'nin en az 1/4'ü kaybolmaktadır. Çizelge 4.7 ve 4.8'de verilen analiz sonuçları incelendiğinde klorofil a miktarında meydana gelen azalmanın, klorofil b miktarında meydana gelen azalmaya kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.8 15 günlük depolama süresince klorofil b miktarında oluşan azalma

Örneğin 15 günlük depolama sonucunda %5 hidrojen peroksit uygulanmış örneklerde klorofil a miktarındaki kayıp %32 kadarken, klorofil b kaybı %27 kadardır. %10 hidrojen peroksit uygulanmış örneklerde bu oranlar sırasıyla %37 ve %36; %15 hidrojen peroksit uygulanmış örneklerde ise bu oranlar sırasıyla %42 ve %38 kadardır. Benzer sonuçlar klor uygulamaları içinde belirlenmiştir. Örneğin 50 ppm klor uygulanmış örneklerde klorofil a miktarında meydana gelen azalma %31 iken, klorofil b miktarında meydana gelen azalma %28'dir. 100 ppm klor uygulanmış örneklerde klorofil a ve klorofil b miktarındaki tahribat aynı oranda (%33) gerçekleşmiştir. 200 ppm klor uygulanmış örneklerde bu oranlar sırasıyla %37 ve %33; 10 g/saat ozon uygulanmış örneklerde sırasıyla %35 ve %31; 20 g/saat ozon uygulanmış örneklerde ise bu oranlar sırasıyla %43 ve %41 kadardır. Daha önce yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi bu durum klorofil a'nın klorofil b'den daha az stabil olduğunu göstermektedir (Minguez-Mosquera and Fernandez 1989, Tan *et al*. 2000, Tijskens *et al*. 2001). Tüm yıkama uygulamalarında, 15 günlük depolama sonucunda klorofil a'nın 1/3'ünün ve klorofil b'nin ise 1/4'ünün parçalanmasına rağmen feofitin oluşumuna rastlanmamıştır.

5. SONUÇ

Gıda endüstrisinde mikroorganizmaların inaktivasyonunda ve böylece neden oldukları gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesinde ve gıdalarda bulunan toksik maddelerin giderilmesinde çeşitli dezenfektanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu maddelerin kullanımı sırasında toksik maddelerin oluşumu gibi çeşitli olumsuzluklarla karşılaşıldığı için, bu maddelerin kullanımına bazı sınırlamalar getirilmiştir. Bu nedenle gıda endüstrisinde mikrobiyolojik yükün azaltılmasında ve gıdalardaki toksik maddelerin giderilmesinde daha etkili olan, gıdanın tat ve koku gibi duyusal özelliklerini en az etkileyen, gıda proseslerinde kolaylıkla kullanılabilen ve çevreye zarar vermeyen yeni yöntemlerin kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Bu araştırmanın amacı; meyve ve sebze endüstrisinde halen yaygın olarak kullanılan klorlu ve gelecekte yaygınlaşma potansiyeli olan ozonlu ve hidrojen peroksitli suyla yıkama işleminin, başlangıçtaki ve iki haftalık bir depolama süresi sonundaki doğranmış pazılardaki klorofil degradasyonu üzerine etkilerinin incelenmesi ve dezenfektanların bu açıdan kıyaslanmasıdır.

Ulaşılan bulgular incelendiğinde kontrol dahil tüm örneklerde depolama süresi boyunca, uygulanan dezenfektan dozunun artmasıyla, klorofil a ve klorofil b'de oluşan parçalanmalar da artış göstermektedir. Klorofil a'nın klorofil b'ye kıyasla dezenfektanlara ve depolamaya karşı daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Klorofil a'nın yüksek duyarlılığı nedeniyle, tüm yıkama uygulamalarında, 15 günlük depolama sonucunda klorofil a'nın 1/3'ü ve klorofil b'nin ise 1/4'ü parçalanmaktadır. Denenen konsantrasyonlarda depolama sırasında klorofil a ve klorofil b miktarında azalma olduğu, ancak bu azalmada dezenfektanlar arasında önemli farklılıkların olmadığı gözlemlenmiştir. Hidrojen peroksit ve klor ile gerçekleştirilen yıkama uygulamaları sonucunda elde edilen değerler arasındaki farklılığın oldukça az olmasından dolayı (%1-5 arası), hidrojen peroksidin klora iyi bir alternatif olduğu düşünülmektedir. Ozon uygulaması ise, düşük dozlarda ve kısa depolama sürelerinde klora oldukça iyi bir

alternatif olarak görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar Wang *et al*. (2004) ve Martinez-Sanchez *et al*. (2006) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Meyve ve sebzelerde sıklıkla görülen mikrobiyal bozulmanın önüne geçmek amacıyla kullanılan çeşitli dezenfektanlar nedeniyle ürünün kalite özelliklerinde çeşitli faktörlere bağlı olarak olumlu ya da olumsuz değişimler söz konusu olmaktadır. Bu nedenle konu üzerindeki çalışmaların devam ettirilmesi gerekmektedir. Meyve ve sebze teknolojisinde kullanılan dezenfektanların geliştirilmesinde bakterisidal etkileri, duyusal karakteristikleri ve aynı zamanda pazarlama potansiyelleri de dikkate alınmalıdır (McWatters *et al*. 2002b).

KAYNAKLAR

Achen, M. and Yousef, A.E. 1999. Ozone treatment of apples to reduce *Eschericia coli* O157:H7 contamination. In Book of Abstracts. Institute of Food Technologists Annual Meeting, Chicago, IL, p 215.

Achen, M. and Yousef, A.E. 2001. Efficacy of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. Journal of Food Science 66(9), 1380-1384.

Ackers, M.L., Mahon, B.E., Leahy, E., Goode, B., Damrow, T., Hayes, P.S., Bibb, W.F., Rice, D.H., Barrett, T.J., Hutwagner, L., Griffin, P.M. and Slutsker, L. 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. The Journal of Infectious Diseases, 177, 1588-1593.

Agüero, M.V., Pereda, J., Roura, S.I., Moreira, M.R. and Del Valle, C.E. 2005. Sensory and biochemical changes in Swiss chard (*Beta vulgaris*) during blanching. Food Science and Technology, 38, 772-778.

Aharoni, Y., Copel, A. and Fallik, E. 1994. The use of hydrogen peroxide to control postharvest decay on 'Galia' melons. Annals of Applied Biology, 125(1), 189-193.

Allende, A., Tomas-Barberan, A.F. and Gil, M.I. 2006. Minimal processing for healthy traditional foods. Trends in Food Science and Technology, 17(9), 513-519.

Almela, L., Fernandez-Lopez, J.A. and Roca, M.J. 2000. High-performance liquid chromatographic screening of chlorophyll derivatives produced during fruit storage. Journal of Chromatography A., 870(1-2), 483-489.

Anık, A. 2007. İklimlendirme sistemlerinde ozon kullanımının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Makine Eğitimi Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gazi Üniversitesi, 102 s, Ankara.

Anonim. 2008a. Ozon sağlık hizmetleri. www.ozon.com.tr Erişim tarihi: 19.07.2008.

Anonim. 2008b. Ozon nedir? www.ozonjeneratoru.com Erişim tarihi: 19.07.2008.

Anonim. 2008c. Dezenfektan. http://www.tamaysaglik.com.tr/dezenfektan.htm Erişim tarihi: 12.03.2008.

Anonim. 2009a. Klor. http://www.kimyaevi.org/elementler/klor Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonim. 2009b. Klor nedir? Klor gazı hakkında bilgi. http://www.delinetciler.net Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonim. 2009c. Türkiye'de ve dünyada klor kullanımı. http://www.uzerine.com Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonim. 2009d. Klor bileşikleri. http://www.suforumu.com Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonim. 2009e. Sodyum hipoklorit. http://tr.wikipedia.org/wiki/Sodyum_hipoklorit Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonim. 2009f. Sodyum hipoklorit ağartma. http://www.cehago.com Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonim. 2009g. Kimyasal sterilizasyon. http://www.forumfood.net Erişim tarihi: 15.06.2009.

Anonymous. 2000a. Introduction to hydrogen peroxide. www.h2o2.com Erişim tarihi: 15.04.2008.

Anonymous. 2000b. Official Methods of Analysis. Horwitz, W. (Ed.), 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.

Arıcı, M:, Gümüş, T. ve Şimşek, O: 2003. Hazır salataların hijyenik durumu. Gıda, 28(6), 571-577.

Baker, J.C. 1926. Chlorine in sewage and waste disposal. Canadian Engineering in Water and Sewage, 50, 127-132.

Badiani, M., Fuhrer, J, Paolacci, A.R. and Giovannozzi, S.G. 1996. Deriving critical levels of ozone effects on peach trees (*Prunus persica* L. *Batsch*) grown in open top chambers in Central Italy. Fresenius Environmental Bulletin, 5, 594-603.

Barriga, M.L., Trachy, G., Willomot, C. and Simard, R.E. 1991. Microbial changes in shredded iceberg lettuce stored under controlled atmospheres. Journal of Food Science, 56(6), 1586-1588.

Barry-Ryan, C. and O'Beirne, D. 1998. Quality and shelf-life of fresh cut carrot slices as affected by slicing method. Journal of Food Science, 63(5), 1-6.

Barth, M.M., Zhou, C., Mercier, J. and Payne, F.A. 1995. Ozone storage effects on antocyanin content and fungal growth in blackberries. Journal of Food Science, 60(6), 1286-1288.

Başer, K.H.C. 2002. Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir.

Baur, S., Klaiber, R., Hammes, W.P. and Carle, R. 2004b. Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing procedures with chlorinated and ozonated water. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 5, 45-55.

Baur, S., Klaiber, R., Koblo, A. and Carle, R. 2004a. Effect of different procedures on phenolic metabolism of shredded, packaged iceberg lettuce during storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 7017-7025.

Baur, S., Klaiber, R., Wei, H., Hammes, W.P. and Carle, R. 2005. Effect of temperature and chlorination of pre-washing water on shelf life and physiological properties of ready-to-use iceberg lettuce. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 6, 171-182.

Beltran, D., Selma, M.V., Marin, A. and Gil, M.I. 2005. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(14), 5654-5663.

Beuchat, L.R. 1995. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. Journal of Food Protection, 59, 204-216.

Beuchat, L.R. 1996. *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. Food Control, 7, 223-228.

Beuchat, L.R., Adler, B.B. and Lang, M.M. 2004. Efficacy of chlorine and a peroxyacetic acid sanitizer in killing *Listeria monocytogenes* on iceberg and romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. Journal of Food Protection, 67, 1238-1242.

Beuchat, L.R. Nail, B.V., Adler, B:B. and Clavero, M.R.S. 1998. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce. Journal of Food Protection, 61, 1305-1311.

Beuchat, L.R. and Ryu, J.H. 1997. Produce handling and processing practices. Emerging Infectious Diseases, 3(4), 459-465.

Boekel, M.A.J.S. 1999. Testing of kinetic models: usefulness of the multiresponse approach as applied to chlorophyll degradation in foods. Food Research International, 32(4), 261-269.

Bomar, M.T. 1988. Mikrobiologische Bestandsaufnahme von Fertigsalaten in den Jahren 1985 und 1987. Emährungs Umschau 35, 392-395.

Brackett, R.E. 1992. Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. Journal of Food Protection, 55, 808-814.

Brocklehurst, T.F. 1987. A note on the microbiology of retail packs of prepared salad vegetables. Journal of Applied Bacteriology, 63, 409-415.

Cabrera, G. 2000. Effect of five dietary antimutagens on the genetoxicity of six mutagens in the microscreen prophage-ınduction assay. Environmental and Molecular Mutagenesis, 36, 206-220.

Cemeroğlu, B. 1990. Meyve Suyu ve İçecek Üretiminde Aseptik Ambalajlama Tekniği. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No: 12, 42 s., Ankara.

Cemeroğlu, B. ve Acar, J. 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No: 6, 36 s, Ankara.

Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2001. Meyve ve sebzelerin bileşimi soğukta depolanmaları. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:24, s 88-95, Ankara.

Chen, H.C., Huang, S.H., Moody, M.W. and Jiang, S.T. 1992. Bactericidal and mutagenic effects of ozone on shrimp (*Penaeus mondon*) meat. Journal of Food Science, 57, 923-927.

Chen, B.H. and Liu, M.H. 1998. Relationship between chlorophyll a and β-carotene in a lipid containing model system during illumination. Food Chemistry, 63(2), 207-213.

Chernomorsky, S., Segelman, A. and Poretz, R.D. 1999. Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis, 19(5), 313-322.

Code of federal regulations, title 21, 184.1366 2000a. Direct food substances affirmed as generally recognized as safe. Office of the Federal Register, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

Code of federal regulations, title 21, 173.315 2000b. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption. Office of the Federal Register, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

Çakmakçı, S. ve Çelik, İ. 2000. Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notu, 164 s., 160-161.

Dalvi, A.G.I., Al-Rasheed, R. and Javeed, M.A. 2000. Haloacetic acids (HAAs) formation in desalination processes from disinfectants. Desallination, 129(3), 261-271.

Davidson, M.P. and Branen, A.L. 1993. Antimicrobials in Foods. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York.

Degl'Innocenti, E., Pardossi, A., Tognoni, F. and Guidi, L. 2007. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. Food Chemistry, 104, 209-215.

De, A.K., Chaudhuri, B. and Bhattacharjee, S. 1999. A kinetic study of the oxidation of phenol, o-chlorophenol and catechol by hydrogen peroxide between 298K and 333K: the effect of pH, temperature and ratio of oxidant to substrate. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 74, 162-168.

De Roever, C. 1998. Microbiological safety evaluation and recommendations on fresh produce. Food Control, 9, 321-347.

Delaquis, P.J., Stewart, S., Toivonen, P.M.A. and Molys, A.L. 1999. Effect of warm, chlorinated water on the microbial flora of shredded iceberg lettuce. Food Research International, 32, 553-563.

Demirbüker, D., Arcan, İ., Tokatlı F. and Yemenicioğlu, A. 2005. Effects of hot rehydration in the presence of hydrogen peroxide on microbial quality, texture, color, and antioxidant activity of cold-stored intermediate-moisture sun-dried figs. Journal of Food Science, 70(3), 153-159.

Eder, R. 2000. Pigments. In Food Analysis by HPLC, L.M.L., Nollet, (ed.), pp. 834 845, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Fallik, E., Ahoroni, Y., Grinberg, S., Copel, A. and Klein J.D. 1994. Postharvest hydrogen peroxide treatment inhibits decay in eggplant and sweet red pepper. Crop Protection, 13, 451-545.

Forney, C.F., Rij, R.E., Dennis-Arrue, R. and Smilanick, J.L. 1991. Vapor phase hydrogen peroxide inhibits postharvest decay of table grapes. The American Society for Horticultural Science, 26(12), 1512-1514.

Funamoto, Y., Yamauchi, N., Shigenaga, T. and Shigyo, M. 2002. Effects of heat treatment on chlorophyll degrading enzymes in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.). Postharvest Biology and Technology, 24, 163-170.

Gökmen, V, Bahçeci, S. and Acar, J. 2002. Liquid chromatographic method for the determination of chlorophylls, carotenoids and their derivatives in fresh and processed vegetables. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 25(8), 1201-1213.

Graham, D.M. 1997. Use of ozone for food processing. Food Technology, 51(6), 72-75.

Grass, M.L., Vidal, D., Betoret, N., Chiralt, A. and Fito, P. 2003. Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation interactions with cellular matrix. Journal of Food Engineering, 56(2-3), 279-284.

Guidi, L., Tognoni, F., Pardossi, A. and Degl'Innocenti, E. 2007. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. Food Chemistry, 104(1), 209-215.

Guzel-Seydim, Z.B., Grene, A.K. and Seydim, A.C. 2004. Use of ozone in the food industry. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 37, 453-460.

Hari, R.K., Patel, T.R. and Martin, A.M. 1994. An overview of pigment production in biological systems: Functions, biosynthesis and applications in food industry. Food Reviews International, 10(1), 49-70.

Hendry, G.A.F. 1996. Chlorophylls chlorophyll derivatives. Natural Food Colorants, Hendry, G.A.F., Hougton, J.D. (eds.), Blackie Academic and Professional, Glasgow, 348 p.

Henry, L.K., Puspitasari-Nienaber, N.L., Jaren-Galan, M., Van Breemen, R.B. Catignani, G.L. and Schwartz, S.J. 2000. Effects of ozone and oxygen on the degradation of carotenoids in an aqueous model system. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48(10), 5008-5013.

Higashi-Okai, K., Otani, S. and Okai, Y. 2000. Potent suppressive effect of a Japanese edible seaweed, *Enteromorpha prolifera* (Sujiao-nori) on initiation and promotion phases of chemically induced mouse skin tumorigenesis. Cancer Letters, 148(1), 111.

Hildebrandt, G., Beneke, B., Erol, L.I. and Müller, A. 1989. Hygienischer Status von Rohkostsalaten verschiedener Angebots-Formen. Archiv für Lebensmittelhygiene, 40, 65-68.

Hitti, M. 2007. FDA sets fresh-produce safety rules. WebMD Medial News. http://www.onhealth.com/script/main/art.asp?articlekey=80024. Erişim tarihi: 25.06.2007.

Hoff, A.J. and Amesz, J. 1991. Visible absorption spectroscopy of chlorophylls. In: Chlorophylls, H., Scheer (Edt), CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, Boston, London, pp. 723-738.

Johnson, R.L. and Toledo, R.T. 1975. Storage stability of 55° brix orange juice concentrate aseptically packaged in plastic and glass containers. Journal of Food Science, 40, 433-434.

Karaca, H. 2006. Meyve ve sebze işlemede ozon uygulamaları. Doktora Semineri, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, 28 s, Ankara.

Kasım, M.U. ve Kasım, R. 2007. Sebze ve meyvelerde hasat sonrası kayıpların önlenmesinde alternatif bir uygulama: UV-C. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 13(4), 413-419.

Kearsley, M.W. and Katsaboxakis, K.Z. 1980. Stability and use of natural colors in foods: red beet powder, copper chlorophyll powder and cochineal. Journal of Food Technology, 15, 501-514.

Khadre, M.A. and Yousef, A.E. 2002. Susceptibility of human rotavirus to ozone, high pressure and pulsed electric field. Journal of Food Protection, 65(9), 1441-1446.

Khadre, M.A., Yousef, A.E. and Kim, J.G. 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. Journal of Food Science, 66(9),1242-1252.

Khalyfa, A., Kermasha, S. and Alli, I. 1992. Extraction, purification and characterization of chlorophylls from spinach leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40, 215-220.

Kırca, A., Yemiş, O. and Özkan, M. 2006. Chlorophyll and colour changes in grapevine leaves preserved by passive modification. European Food Research and Technology, 223(3), 387-393.

Kim, J.G. 1998. Ozone as an antimicrobial agent in minimally processed foods. Ph.D. thesis, The Ohio State University, Columbus.

Kim, J.G. and Yousef, A.E. 1998. Effective ozone delivery for decontamination of fresh lettuce. In Book of Abstracts. Institute of Food Technologists Annual Meeting, Chicago, IL, pp 55-56.

Kim, J.G., Yousef, A.E. and Dave, S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. Journal of Food Protection, 62(9), 1071-1087.

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

King, A.D. and Bolin, H.R. 1989. Processing, packaging, and regulation of minimally processed fruits and vegetables. Food Technology February, 132-136.

King, A.D., Magnuson, J.A., Török, T. and Goodman, N. 1991. Microbial flora and storage quality of partially processed lettuce. Journal of Food Science, 56(2), 459-461.

Klapes, N.A. and Vesley, D. 1990. Vapor phase hydrogen peroxide as a surface decontamination and sterilant. Applied and Environmental Microbiology, 56, 503-506.

Kramer, J. 1992. Lebensmittelmikrobiologie. Verlag Eugen Ulmer. 2. Aufl. Stuttgart.

Kuşçu, A. ve Pazır, F. 2004. Gıda endüstrisinde ozon uygulamaları. Gıda, 29(2), 123-129.

Lack, W.K., Becker, B. and Holzapfel, W.H. 1996. Hygienischer Status frischer vorverpackter Mischsalate im Jahr 1995. Archiv für Lebensmittelhygiene, 47(66), 129-152.

Lajolo, F.M. and Marquez, U.M.L. 1982. Chlorophyll degradation in a spinach system at low and intermediate water activities. Journal of Food Science, 47, 1995-1998.

Lewis, L., Zhuang, H., Payne, F.A. and Barth, M.M. 1996. Beta-carotene content and color assessment in ozone treated broccoli florets during modified atmosphere packaging. In Book of Abstracts. Institute of Food Technologists Annual Meeting, Chicago, IL, pp 99.

Liew, C.L. and Prange, R.K. 1994. Effect of ozone and storage temperature on postharvest diseases and physiology of carrots (*Daucus carota* L.). Journal of the American Society for Horticultural Science, 119(3), 563-567.

Lin, C.M., Moon, S.S., Doyle, M.P. and McWatters, K.H. 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. Journal of Food Protection, 65(8), 1215-1220.

Ma, L. and Dolphin, D. 1999. The metabolites of dietary chlorophylls. Phytochemistry, 50(2), 195-202.

Madden, J.M. 1992. Microbial pathogens in fresh produce-the regulatory perspective. Journal of Food Protection, 55, 821-823.

Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E.K., Tsiotsias, A. Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. 2005. Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. Food Microbiology, 22, 1-9.

Marcy, G. 1985. Potentielle bakteriologische Gefahren durch Feinkost-Salate. Deutsche Lebensmittel Rundschau, 81, 78-79.

Martinez-Sanchez, A., Allende, A., Bennett, R.N., Ferreres, F. and Gil, M.I. 2006. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. Postharvest Biology and Technology, 42(1), 86-97.

McKenzie, K.S., Sarr, A.B., Mayura, K., Bailey, R.H., Miller, D.R., Rogers, T.D., Norred, W.P., Voss, K.A., Plattner, R.D., Kubena, L.F., Phillips, T.D. 1997. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. Food and Chemical Toxicology, 35, 807-820.

McWatters, K.H., Chinnan, M.S., Walker, S.L., Doyle, M.P. and Lin, C.-M. 2002a. Consumer acceptance of fresh-cut iceberg lettuce treated with 2% hydrogen peroxide and mild heat. Journal of Food Protection, 65(8), 1221-1226.

McWatters, K.H., Doyle, M.P., Walker, S.L., Rimal, A.P. and Venkitanarayanan, K. 2002b. Consumer acceptance of raw apples treated with an antibacterial solution designed for home use. Journal of Food Protection, 65(1), 106-110.

Minguez-Mosquera, M.I. and Fernandez, G.J. 1989. Chlorophyll and carotenoid presence in olive fruit (*Olea europaea*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 37(1), 1-7.

Minguez-Mosquera, M.I., Gondul-Rojas, B., Gallardo-Guerrero, L. and Jaren-Galan, M. 2002. Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals, Hurst, W.J. (ed.), CRC Pres LLC, 416 p., Florida.

Mitchell, E.L. 1988. A review of aseptic processing. Advances in Food and Nutrition Research, 32, 1-37.

Moore, G., Griffith, C. and Peters, A. 2000. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. Journal of Food Protection, 63(8), 1100-1106.

Moreira, M.R., Roura, S.I. and Valle, C.E. 2003. Quality of Swiss chard produced by conventional and organic methods. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 36(1), 135-141.

Morita, K., Ogata, M. and Hasegawa, T. 2001. Chlorophyll derived from *Chlorella* inhibits dioxin absorption from the gastrointestinal tract and accelerates dioxin excretion in rats. Environmental Health Perspectives, 109(3), 289-294.

Munter, R., Kamenev, S., Kalas, J. and Maripuu, L. 1998. Using ozone in high quality drinking water production. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 28, 81-86.

Nakabayashi, T. 1986. Influences of pH and temperature on the green colour of spinach. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 33(12), 835-836.

Negishi, T., Rai, H. and Hayatsu, H. 1997. Antigenotoxic activity of natural chlorophylls. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 376, 97-100.

Nelson, P.E. 1993. Introduction. In Principles of Aseptic Processing and Packaging, J.V. Chambers and P.E. Nelson (Eds.). 2nd ed., Ch. 1, Food Processors Institute, Washington, D.C.

Özbakkaloğlu, B. 2003. Hastane ortamında kullanılacak yüzey dezenfektanları. http://www.das.org.tr/tr/dosya/kongre/kong2003/10.htm Erişim tarihi: 15.06.2009.

Özçelik, B. 1995. Yeşil bitkilerden elde olunacak klorofilin kompozisyon ve stabilite açısından karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 75 s, İstanbul.

Özkan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. Food Chemistry, 78, 499-504.

Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2002. Desulfiting dried apricots by hydrogen peroxide. Journal of Food Science, 67(5), 1631-1635.

Özkan, M. ve Kırca, A. 2001. Gıdalarda hidrojen peroksit uygulamaları. Gıda, 26(1), 17-24.

Özkan, M., Yemenicioğlu, A., Çıtak, B. and Cemeroğlu, B. 2000. Effect of hydrogen peroxide on sour cheery anthocyanins. Journal of Food Quality, 23, 421-428.

Page, T., Haris, R.H. and Epstein, S.S. 1976. Drinking water and cancer mortality in Louisiana. Science 193(4247), 55-57.

Ragaert, P., Devlieghere, F. and Debevere, J. 2007. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. Postharvest Biology and Technology, 44(3), 185-194.

Restaino, L., Frampton, E.W., Hemphill, J.B. and Palnikar, P. 1995. Efficacy of ozonated water against various food related microorganisms. Applied and Environmental Microbiology, 61(9), 3471-3475.

Reyes, V.G. 1996. Improved preservation systems for minimally processed vegetables. Food Australia, 48(2), 87-90.

Richardson, S.D., Thruston, A.D., Caughran, T.V., Chen, P.H., Collette, T.W., Schenck, K.M., Lykins, B.W, Rav-Acha, C. and Glezer, V. 2000. Identification of new drinking water disinfection byproducts from ozone, chlorine dioxide, chloramine and chlorine. Water, Air, Soil Pollution, 123, 95-102.

Rico, D., Diana, A.B.M., Frias, J.M., Henehan, G.T.M. and Ryan, C.B. 2006. Effect of ozone and calcium lactate treatments on browning and texture properties of fresh-cut lettuce. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(13), 2179-2188.

Rothemund, P. 1954. Chlorophyll. Encyclopedia of Chemical Technology, 3, 871-881.

Sakaki, T. and Kondo, N. 1981. Destruction of photosynthetic pigments in ozone fumigated spinach leaves. Kokuritsu Kogai Kenkyusho Kenkyu Hokoku, 28, 31-37.

Sapers, G.M. 2001. Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products. Food Technology and Biotechnology, 39(4), 305-311.

Sapers G.M. and Jones D.M. 2006. Improved sanitizing treatments for fresh tomatoes. Journal of Food Science, 71(7), 252-256.

Sapers, G.M., Miller, R.L., Choi, S.-W. and Cooke, P.H. 1999b. Structure and composition of mushrooms as affected by hydrogen peroxide wash. Journal of Food Science, 64(5), 889-892.

Sapers, G.M., Miller, R.L., Jantschke, M. and Mattrazzo, A.M. 2000. Factors limiting the efficacy of hydrogen peroxide washes for decontamination of apples containing *Escherichia coli*. Journal of Food Science, 65(3), 529-532.

Sapers, G.M., Miller, R.L. and Mattrazzo, A.M. 1999a. Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in Golden Delicious apples. Journal of Food Science, 64(4), 734-737.

Sapers, G.M., Miller, R.L., Pilizota, V. and Kamp, F. 2001a. Shelf-life extension of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) by application of hydrogen peroxide and browning inhibitors. Journal of Food Science, 66(2), 362-366.

Sapers, G.M., Miller, R.L., Pilizota, V. and Mattrazzo, A.M. 2001b. Antimicrobial treatments for minimally processed cantaloupe melon. Journal of Food Science, 66(2), 345-349.

Sapers, G.M. and Simmons, G.F. 1998. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. Food Technology, 52(2), 48-52.

Schurman, J.J. 2001. Antibacterial activity of hydrogen peroxide against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in fruit juices, both alone and in combination with organic acids. Master's Thesis, Department of Food Science and Technology, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.

Schwartz, S.J. and Von Elbe, J.H. 1983. Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. Journal of Food Science, 48(4), 1303-1306.

Schwartz, S.J., Woo, S.L. and Von Elbe J.H. 1981. High performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. Journal of Agricultural Food and Chemistry, 29(3), 533-535.

Sheldon, B.W. and Brown A.L. 1986. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. Journal of Food Science, 5, 305-309.

Shewfelt, R.L. 1987. Quality of minimally processed fruits and vegetables. Journal of Food Quality, 10, 143-156.

Shin, S.Y., Calvisi, E.G., Beaman, T.C., Pankratz, H.S., Gerhardt, P. and Marquis, R.E. 1994. Microscopic and thermal characterization of hydrogen peroxide killing and lysis of spores and protection by transition metal ions, chelators, and antioxidants. Applied and Environmental Microbiology, 60, 3192-3197.

Simmons, G.F., Smilanick, J.L., John, S. and Margosan, D.A. 1997. Reduction of microbial populations on prunes by vapor-phase hydrogen peroxide. Journal of Food Protection, 60, 188-191.

Simons, L.K. and Sanguasri, P. 1997. Advances in the washing of minimally processed vegetables. Food Australia, 49(2), 75-80.

Skog, L.J. and Chu, C.L. 2001. Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. Canadian Journal of Plant Science, 81(4), 773-778.

Sondheimer, E. and Kertesz, Z.I. 1952. The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. Food Research, 17, 288-298.

Stevenson, K.E. and Shafer, B.D. 1983. Bacterial spore resistance to hydrogen peroxide. Food Technology, 37(11), 111-114.

Suslow, T.V. 2004. Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops. ANR Publication, University of California, 8133, 1-8.

Takamiya, K., Tsuchiya, T. and Ohta, H. 2000. Degradation pathways of chlorophyll: What has gene cloning revealed?. Trends in Plant Science, 5, 426-431.

Takeuchi, K. and Frank, J.F. 2001. Quantitative determination of the role of lettuce leaf structures in protecting *Escherichia coli* O157:H7 from chlorine disinfection. Journal of Food Protection, 64(2), 147-151.

Tan, Y., Jiang, J.H., Wu, H.L., Cui, H. and Yu, R.Q. 2000. Resolution of kinetic system of simultaneous degradation of chlorophyll a and b by parafac. Analytica Chimica Acta, 412(1-2), 195-202.

Teng, S.S. and Chen, B.H. 1999. Formation of pyrochlorophylls and their derivatives in spinach leaves during heating. Food Chemistry, 65(3), 367-373.

Thron, M., Eichner, K. and Ziegleder, G. 2001. The influence of light of different wavelengths on chlorophyll containing foods. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 34, 542-548.

Tijskens, L.M.M., Barringer, S.A. and Biekman, E.S.A. 2001. Modeling the effect of pH on the colour degradation of blanched broccoli. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2(4), 315-322.

Tillotson, J.E. 1984. Aseptic packaging of fruit juices. Food Technology, 38(3), 63-66.

Toledo, R.T. 1986. Postprocessing changes in aseptically packed beverages. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 34, 405-408.

Tönük, B. ve Seçkin, R. 1980. Bazı sebzelerin konserveye işlenmesinde klorofilin feofitine dönüşmesi üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Diploma Sonrası Yüksek Okulu (Doktora Tez Özetleri). Ankara Üniversitesi Basımevi, s. 349-365, Ankara.

Trueman, J.R. 1971. The halogens. In Inhibition and Destruction of Microbial Cells. (W.B. Hugo, ed.) pp. 137-183, Academic Press, London.

Ukuku, D.O. 2006. Effect of sanitizing treatments on removal of bacteria from cantaloupe surface, and re-contamination with *Salmonella*. Food Microbiology, 23, 289-293.

Ukuku, D.O., Pilizota, V. and Sapers, G.M. 2001. Influence of washing treatment on native microflora and *Escherichia coli* population of inoculated cantaloupes. Journal of Food Safety, 21(1), 31-47.

Ünal, R. Kim, J.G. and Yousef, A.E. 2001. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus leichmannii* by combinations of ozone and pulsed electric field. Journal of Food Protection, 64(6), 777-782.

Velioğlu, S. 2001. Minimal işlem görmüş meyve ve sebzeler-yeni gelişmeler. Dünya Gıda 11, 78-82.

Velioğlu, S. ve Karaca, H. 2008. Tavuk, balık ve yumurtada ozonla dezenfekte. Popüler Bilim Ekim, Sayı 176, 24-27.

Venkitanarayanan, K.S., Lin, C.M., Bailey, H. and Doyle, M.P. 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on apples, oranges, and tomatoes by lactic acid with hydrogen peroxide. Journal of Food Protection, 65(1), 100-105.

Von Bockelmann, B.A.H. and Von Bockelmann, I.L.I. 1986. Aseptic packaging of liquid food products: a literature review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 34, 384-392.

Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J. 1996. Colourants. In Food Chemistry, O.R. Fennema, (ed.), pp. 659-673, Marcel Dekker, Inc., New York, USA.

Wang, H., Feng, H. and Luo, Y. 2004. Microbial reduction and storage quality of fresh cut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. Food Research International, 37(10), 949-956.

Wang, J. and Toledo, R.T. 1986. Sporicidal properties of mixtures of hydrogen peroxide vapor and hot air. Food Technology, 40(12), 60-66.

Watada, A.E. and Ling, Q. 1999. Quality of fresh-cut produce. Postharvest Biology and Technology, 15(3), 201-205.

Weaver, D. 1999. Flexibility and innovation key to prepared expansion. Fresh Produce Journal, 5, 17-18.

Wei, C.I., Cook, D.L. and Kirk, J.R. 1985. Use of chlorine compounds in the food industry. Food Technology, 1, 107-115.

Wei, C.I., Huang, T.S., Kim, J.M., Lin, W.F, Tamplin, M.L. and Bartz, J.A. 1999. Growth and survival of *Salmonella montevideo* on tomatoes and disinfection with chlorinated water. Journal of Food Protection, 58, 829-836.

White, R.C., Jones, I.D. and Gibbs, E. 1963. Determination of chlorophylls and chlorophyllides, pheophytins and peophorbides in plant material. Journal of Food Science, 28, 431-436.

Yıldız, F. 1994. Initial preparation, handling and distribution of minimally processed refrigerated fruits and vegetables, Chapt. 2. In Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables, (R.C. Wiley, ed.) Chapman & Hall, New York.

Yoshikawa, K., Inagaki, K., Terashita, T., Shishiyama, J., Kuo, S. and Shankel, D.M. 1996. Antimutagenic activity of extracts from Japanese eggplant. Mutation Research/Genetic Toxicology, 371(1-2), 65-71.

Zhang, S. and Farber, J.M. 1996. The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. Food Microbiology, 13(4), 311-321.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Özlem SEVİLGEN

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 17.01.1984

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : İncesu Anadolu Lisesi (1998-2002)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2002-2006)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Şubat 2007-Temmuz 2009)

Yayınları

Sevilgen, Ö. 2008. Zeytin zararlılarının meyve kalitesi üzerine etkileri. I. Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi, Bildiriler, 17-18 Mayıs, Balıkesir (Poster olarak kabul edildi).

Velioğlu, S. ve **Sevilgen, Ö.** 2008. Gıda temizliğinde yeni alternatif hidrojen peroksit. Popüler Bilim, Eylül, Sayı 175, 43-46.