

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BUĞDAY, MAŞ FASULYESİ VE YEŞİL MERCİMEĞİN
ÇİMLENDİRME ÖNCESİ BİTKİ HİDROSOLLERİ İLE
DEKONTAMİNASYONU**

NEYRAN ŞAHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. FATİH TÖRNÜK**

İSTANBUL, 2017

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BUĞDAY, MAŞ FASULYESİ VE YEŞİL MERCİMEĞİN ÇİMLENDİRME
ÖNCESİ BİTKİ HİDROSOLLERİ İLE DEKONTAMİNASYONU

Neyran ŞAHAN tarafından hazırlanan tez çalışması _____ tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Muhammet ARICI
Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Banu METİN
Sabahattin Zaim Üniversitesi

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında bana her türlü araştırma imkânını tanıyan, tüm aşamalarda bana destek olan ve önerileriyle çalışmama yön veren, sabrı ve anlayışıyla eksikliklerimi gidermeme yardımcı olan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK' e,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör Ruşen METİN YILDIRIM, Arş. Gör. Perihan Kübra ÇİÇEK'e ve aynı anda çalışma yaptığım diğer öğrenci arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan ve manevi desteklerini hep üzerimde hissettiğim kıymetli annem ve sevgili eşime teşekkürü bir borç bilmekteyim.

Haziran 2017

Neyran ŞAHAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vi
KISALTMA LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin amacı	2
1.3 Hipotez	2
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER	3
2.1 Buğdayın Genel Özellikleri.....	3
2.2 Yeşil Mercimeğin Genel Özellikleri	4
2.3 Maş Fasulyesinin Genel Özellikleri	4
2.4 Tohumların Filizlendirilmesi.....	5
2.5 Filizlerin Besin İçeriği.....	6
2.6 Tohum Filizlerindeki Mikrobiyal Riskler	8
2.7 Tohum Filizlerindeki Mikrobiyal Riskleri Azaltma Yöntemleri	10
2.8 Dekontaminasyon İşlemlerinin Tohumların Çimlenmesi Üzerindeki Etkisi ..	12
2.9 Hidrosollerin Dekontaminasyonda Kullanımı.....	13
BÖLÜM 3	
YÖNTEMLER.....	16
3.1 Materyal.....	16
3.2 Hidrosol Hazırlanması.....	16

3.3 Mikroorganizmaların Hazır Hale Getirilmesi	17
3.4 Örneklerin Hazırlanması	17
3.5 Dekontaminasyon İşlemi	17
3.6 Mikrobiyolojik Analizler	18
3.7 Tohumların Çimlenebilme Kabiliyetlerinin Tespiti	18
3.8 İstatistiksel Analizler	19
BÖLÜM 4	
BULGULAR ve TARTIŞMA	20
4.1 Hidrosollerle <i>Salmonella</i> 'nın dekontaminasyonu	20
4.2 Hidrosollerle <i>Staphylococcus aureus</i> 'un dekontaminasyonu.....	21
4.3 Hidrosollerin, bitki tohumlarının çimlenme kabiliyetine etkisi	25
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR	33

SİMGE LİSTESİ

Ca	Kalsiyum
ClO ₂	Klor Dioksit
Cu	Bakır
dk	Dakika
Fe	Demir
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
K	Potasyum
L	Litre
Mg	Magnezyum
mL	Mililitre
Mn	Mangan
Na	Sodyum
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
Zn	Çinko

KISALTMA LİSTESİ

BPA	Baird Parker Agar
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
GC-MS	Gas Chromatography- Mass Spectrometry
GİO	Gelişim İnhibisyon Oranı
kGy	Kilogray
kob	Koloni Oluşturan Birim
MA	Malik asit
MPa	Mega paskal
NACMF	National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods
ppm	Parts Per Million
SAEW	Düşük asitli elektrolize su
TDS	Tiamin dodesil sülfat
XLD	Xylose Lysine Deoxycholate

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Buğday daneleri	3
Şekil 2.2 Yeşil mercimek Tanesi	4
Şekil 2.3 Maş fasulyesi Tanesi.....	5
Şekil 3.1 Clavenger Distilasyon Cihazı	16
Şekil 4.1 Hidrosol uygulamaları sonucu mikroorganizmaların (<i>Staphylococcus Aureus</i> ve <i>Salmonella Typhimurium</i>) gelişim engelleme oranları (GIR, %).	24

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.1 Buğday, maş fasulyesi ve mercimeğin hidrosoller ile farklı sürelerde dekontaminasyonu ile <i>Salmonella</i> Typhimurium sayılarındaki değişim (log kob/g).....	20
Çizelge 4.2 Buğday, maş fasulyesi ve mercimeğin hidrosoller ile farklı sürelerde dekontaminasyonu ile <i>Staphylococcus aureus</i> sayılarındaki değişim (log kob/g)	22
Çizelge 4.3 Hidrosollerin tohumların çimlenme kabiliyetine etkisi.....	25

ÖZET

BUĞDAY, MAŞ FASULYESİ VE YEŞİL MERCİMEĞİN ÇİMLENDİRME ÖNCESİ BİTKİ HİDROSOLLERİ İLE DEKONTAMİNSAYONU

Neyran ŞAHAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Bu çalışmada *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *Staphylococcus aureus* ile $10^5 - 10^6$ kob/g düzeyinde kontamine edilmiş buğday, maş fasulyesi ve yeşil mercimek farklı zamanlarda (0.dk., 20.dk., 40.dk., 60.dk.) kekik, defneyaprağı ve zahter bitkilerinin hidrosolleri çimlendirme öncesinde yıkanmıştır. Kontrol örneği steril musluk suyu ile yıkanmıştır. *S. Typhimurium*, kekik hidrosolü ile yıkanmış maş fasulyesinden 20. dakikadan itibaren, yine kekik ile yıkanmış buğday ve yeşil mercimekten ise 60. dakikadan itibaren tamamen elimine edilmiştir ($P < 0,05$). Diğer yandan *Staphylococcus aureus* popülasyonu ise kekik hidrosolü ile yıkanmış maş fasulyesi dışındaki tohumların hiçbirinde tamamen elimine edilememiş, fakat önemli düzeyde azalmalar ($P < 0,05$) tespit edilmiştir. Buğday ve maş fasulyesi tohumlarının hidrosolde 60 dk. süreyle bekletildikten sonra çimlenebilirliği yaklaşık %90 olarak gerçekleşirken, yeşil mercimekte bu oranın en fazla %76 olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma, bitki hidrosolleri ile özellikle de kekik hidrosolü ile yıkama işleminin, tohumların çimlenmesinde önemli düzeyde bir kayıp meydana getirmeden çimlendirme öncesi mikrobiyal güvenliğin sağlanması ile *Staphylococcus aureus* ve *S. Typhimurium* riskinin azaltılması veya önlenmesinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Buğday, maş fasulyesi, yeşil mercimek, çimlendirme, dekontaminasyon, bitki hidrosolleri, mikrobiyal güvenlik.



ABSTRACT

DECONTAMINATION OF WHEAT, MUNG BEAN AND GREEN LENTILE SEEDS USING PLANT HYDROSOLS BEFORE SPROUTING

Neyran ŞAHAN

Department of Food Engineering
MSc. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Dr.Fatih TÖRNÜK

In this study, wheat, mung bean and green lentile seeds that were artificially contaminated with *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium and *S. aureus* at a level of $10^5 - 10^6$ kob/g were washed with summer savory, bayleaf and thyme hydrosols at different times (0, 20, 40, 60 min). Control sample was washed with sterile tap water. It was found that *S. Typhimurium* could be completely disinfected from mung bean by the treatment with thyme hydrosol for 20. min and from wheat and green lentile for 60 min ($P < 0.05$). On the other hand, although *Staphylococcus aureus* population could not be completely eliminated except for washing of mung bean with thyme hydrosol, significant ($P < 0.05$) decreases on *Staphylococcus aureus* population were observed on green lentil and wheat seeds. Hydrosols of effect on capability of seed's sprouting were examined while hydrosols of effect on ensure microbial safety. After keeping wheat and mung bean samples in hydrosols for 60 min, it was observed that germination abilities of the seeds were approximately 90% while this rate was determined to be maximum 76% for green lentile. In conclusion, this study confirmed that plant hydrosols especially thyme hydrosol was found to be effective on providing microbial safety of seeds before sprouting by eliminating or decreasing the numbers of *S. Typhimurium* and *S. aureus* without negatively affecting their germination.

Keywords: Wheat, mung bean, green lentil, sprouting, decontamination, plant hydrosols, microbial safety.



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Hızla değişen yaşam koşulları, insanların beslenme alışkanlıklarında önemli değişikliklere neden olmuş ve özellikle çalışan bireyler zamandan tasarruf etmek amacıyla daha kolay ve daha çabuk hazırlanan yiyeceklere yönelmiştir. Bununla birlikte, bu hız ve kolaylık sağlık sorunlarını da beraberinde getirmiş, insanların doğal ve sağlıklı besin kaynaklarına karşı olan talebi artmıştır. İşte tohum filizleri, besin değeri yüksek ve taze olarak tüketilebilecek besin kaynaklarından birisidir.

1.1 Literatür Özeti

Dünyadaki popülaritesi son 20 yılda yaygınlaşmaya başlayan yenilebilir tohum filizlerinin aslında çok eski çağlardan beri bazı Uzakdoğu Asya toplumları tarafından geleneksel olarak tüketildiği bilinmektedir [1].

Günümüzde yaygın olarak tüketilen tohum filizleri; turp, buğday, yonca, brokoli, soya ve bakliyatlar gibi çok sayıda bitki ve sebze tohumunun çimlendirilmesiyle üretilmektedir. Çimlendirme işlemi, pratikte toprak altı ile benzer koşullar sağlanarak gerçekleştirilmektedir. Bu işlem hem evde basit yöntemlerle hem de modern iklimlendirme kabinlerinde gerçekleştirilebilmektedir. Örneğin kavanoz yöntemi incelenecek olursa; tohumların bir süre suda bekletilip bünyelerine nem çekmesi sağlandıktan sonra bu tohumlar kavanozlarda belli aralıklarla ıslatılmak suretiyle çimlendirilebilirler. Örtü yönteminde de genel prensipler aynıdır. Tohumun suda bekletilmesinin ardından iki örtü arasına yayılması ve ara sıra bu örtüler nemlendirilerek istenen çimlenme sağlanması esasına dayanır [2].

Tohum filizleri genelde çiğ ya da minimal düzeyde işleme tabi tutulmak suretiyle tüketilmektedir. Filizler yapılarında çok sayıda mikroorganizma barındırmaktadır. Tohum kaynaklı olan bu mikroorganizmaların sayısı çimlendirme esnasında çok yüksek seviyelere ulaşabilmektedir [3,4]. Tohum ve onların yenilebilir filizlerinin yüksek düzeyde mikroorganizma barındırdığı ve zaman zaman da patojen mikroorganizma kontaminasyonuna maruz kaldıkları yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur [5]. Filizler mikrobiyolojik açıdan riskli ürünler arasında sayılmaktadır. Bunun sebebi, yenilebilir filizlerin üretim sürecinde herhangi bir dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmaması, tohum yüzeyinde bulunan bakterilerin çimlenme esnasında tohumun iç kısmına girmeleri, tüketicilerin filizleri yemeden önce pişirmemeleri ve yıkasalar bile yıkama işleminin patojen ve bozulmaya yol açan mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında yetersiz kalması sayılabilir [6,7].

Bu mevcut risk, tohum ve filizlerinden mikrobiyal yükü uzaklaştırabilmek için dezenfeksiyon yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu hale getirmiştir. Fakat bu yöntemler seçilirken tohumun çimlenme özelliğini etkilememesine ve tüketici için toksik olmamasına dikkat edilmelidir [8].

1.2 Tezin amacı

Bu çalışmada filizi tüketilecek tohumların, filizlenme öncesinde mikroorganizma yüklerinin düşürülmesi/eleme edilmesi amacıyla uygulanan kullanılan hidrosol muamelesinin etkisi incelenmiştir. Ayrıca, hidrosol muamelesinin tohumların çimlenme kabiliyetlerinde herhangi bir azalmaya yol açıp açmadıkları araştırılmıştır.

1.3 Hipotez

Günümüzde minimal işlenmiş gıdaların dezenfeksiyonunda alternatif yöntemler araştırılmaktadır. Bunlardan yapısında doğal olarak antimikrobiyal maddeleri barındıran bitki ve baharatlardan elde edilen hidrosollerinin kullanımına ise eğilim giderek artmaktadır. Törnük vd. [9,10] arkadaşları tarafından yapılan bazı çalışmalarda, farklı ürünlere kontamine edilmiş mikroorganizmaların eleme edilmesi için kullanılan hidrosollerin etkisi incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

2.1 Buğdayın Genel Özellikleri

Gramineae familyasındaki tahıllardan biri olan buğdayın (Şekil2. 1) ilk olarak 10.000 yıl öncesinde neolitik çağlarda yetiştirildiği tahmin edilmektedir [11].



Şekil 2. 1 Buğday Daneleri

Buğday tanesinin bileşimi incelendiğinde % 65-75 karbonhidrat, % 7-18 protein, % 8-14 su, % 1-3 lipit ile % 1-2 mineral maddeler, enzimler ve vitaminlerden oluştuğu görülmektedir [12,13]. Dünyada tarımı yapılan ilk bitki olduğu düşünülen buğdayın milattan önceki yıllarda Türkiye'nin kuzeyi ve Kafkasya dolaylarında bulunup buradan Mezopotamya ve Mısır aracılığıyla Asya ve Avrupa'ya yayıldığı bildirilmiştir. Yapılan keşifler sonucunda da Avustralya ve Amerika'ya ulaştığı edinilen bilgiler arasındadır [13-15].

2.2 Yeşil Mercimeğin Genel Özellikleri

Baklagiller familyasında yer alan *Lens* cinsine dâhil dört türden biri olan mercimeğin (*Lens culinaris*), sap ve tanesinde % 10,2 nem, % 1,8 yağ, % 4,4 protein, % 50 karbonhidrat, % 21,4 selüloz ve % 12,2 oranında kül bulunmaktadır [16].



Şekil 2. 2 Yeşil Mercimek Tanesi

Mercimek kuru taneleri yüksek oranda lösin, izölösün, lisin, fenilalanin ve valin gibi önemli amino asitlerce zengin protein (% 27-30) içermektedir [17]. Mercimek sahip olduğu yüksek protein içeriğinden dolayı halk arasında fakir eti olarak da bilinmektedir. Bunun yanı sıra mercimeğin besleyici özelliklerinin yüksek olmasının diğer bir sebebi de α -hidroksiarginin, α -hidroksiornitin ve homoarginin gibi başka bitkilerde bulunmayan serbest amino asitleri bünyesinde barındırıyor olmasıdır [18].

2.3 Maş Fasulyesinin Genel Özellikleri

Ülkemizde maş fasulyesi olarak bilinen *Vigna radiata*'ya İngilizcede mung bean, green gram, golden gram, *Oregon pea* gibi isimler verilmektedir. Sinonimi *V. aureus* Roxb'dur [19]. *Vigna* savi cinsi içerisinde en önemli yenilebilir baklagillerden biri maş fasulyesidir [20].

Maş fasulyesinin ilk olarak M.Ö. 2000'li yıllarda Hindistan'da ortaya çıktığı öngörülmektedir. Ülkemizde henüz hak ettiği yeri bulamayan maş fasulyesi, Karaman

ile Gaziantep bölgelerinde yetiştirilmektedir[20].Günümüzde Afrika, Asya, Amerika ve Avustralya başta olmak üzere tüm dünyada tarımı yapılmaktadır. Özellikle Tayland'da baklagillerin arasında en önemli yere sahiptir [21,22].

Popülaritesini son yıllarda arttıran maş fasulyesi (Şekil 2. 3), diğer baklagillerde olduğu gibi kolesterol düşürücü, tümör oluşumunu engelleyici, iltihap kurutucu, idrar söktürücü ve toksin etkili maddeleri vücuttan temizleyici etkilere sahiptir [23]. Ayrıca Çin'de dizanteri, çiçek hastalığı, sebze zehirlenmesi gibi rahatsızlıklarda tedavi amaçlı tercih edilen maş fasulyesi tohumlarının müshil ilacı olarak da kullanıldığı tespit edilmiştir [24, 25].



Şekil 2. 3 Maş Fasulyesi Tanesi

Maş fasulyesi % 23,67 protein, % 1,44 yağ ve % 71,82 karbonhidrat içermektedir. Bununla beraber, genotip ve çevre koşullarına bağlı olarak protein içeriği % 19,0-29,0 arasında değişebilir [26].

2.4 Tohumların Filizlendirilmesi

Filizlendirme; tohumların uygun ortam koşulları altında enzimatik aktivitelerini takiben karbonhidrat, lipit ve proteinlerin parçalanması işlemi olarak tanımlanabilir. Çimlenme olarak da tanımlayabileceğimiz filizlenme işlemi, tohumların fonksiyonel ve besinsel özelliklerinin geliştirilmesi açısından oldukça önemli bir işlemdir [27, 28]. Başka bir tanımda ise tohum filizi, hasat edilmiş bitkisel tohumların çimlenmiş formlarını tanımlamak için kullanılan bir terim olarak geçmektedir [29].

Filizlendirme işlemi için, temizlenmiş olan tohumlar ıslatılarak bekletilmelidir. En uygun koşullar 18-26 °C sıcaklık ile % 70-80 nispi nem oranıdır. Islatılan tohumların 2-3 günde bir havalandırılarak tekrar nemlendirilmesi sağlanmalıdır. Bu işlemlere tohumun filiz boyu istenen seviyeye gelene kadar devam edilmelidir [30].

2.5 Filizlerin Besin İçeriği

Tohumların mevcut besin değerlerinin ve tohumlardaki sağlık üzerine olumlu etkileri bulunan bileşenlerin kalitelerini arttırmanın yollarından biri de tohumu çimlendirmedir [31, 32]. Bu işlem ucuz ve basit olmasının yanı sıra tüm baklagiller (fasulye, bezelye, mercimek, soya fasulyesi), tahıllar (buğday, çavdar, arpa, yulaf) ve özellikle son zamanlarda bazı sebzelerin tohumları (yonca, turp) gibi çok farklı ürün çeşidine de uygulanabilmektedir [28].

Tohumların filizlendirilerek tüketilmesinin eski çağlara kadar dayandığı yapılan araştırmalar ile tespit edilmiştir. Günümüzde ise tüketicilerin özellikle az işlem görmüş, katkısız, daha doğal, besleyici ve sağlıklı gıdalara eğiliminden dolayı tohum filizlerine olan ilgi artmıştır [33, 34].

Tohum filizleri düşük miktarlarda kalori ve yağ içermesine karşın, C vitamini, folik asit ve lif bakımından oldukça zengindir [32]. Bunun birlikte bazı tohum filizleri antikanserojen ve antioksidan gibi biyoaktif özelliklere sahip bileşikler de bünyelerinde barındırmaktadırlar [29].

Antikanserojen ve antioksidan bileşikler içeren tohumlardan biri brokoli tohumudur. Brokoli tohumundaki antioksidan özellik yapısında doğal olarak bulunan selenyum elementinden ileri gelmektedir. İçerdiği izotiyosiyanat sayesinde de antikanserojen özelliği öne çıkmaktadır [35, 36]. Ayrıca brokolinin tohumunda bulunan tiyoglukozid ve glukosinolat gibi oldukça faydalı bileşenlerin çimlenme ile 2 kat artış gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur [37].

Çimlendirildiğinde besin içeriğindeki artış görülen tohumlardan bir diğeri de karabuğdaydır. Karabuğday tohumunun sahip olduğu rutin, kuersetin gibi fenolik bileşikler ile lizin, mineral maddeler, ham lif, C vitamini gibi maddelerin çimlenme sonucu tohuma göre daha fazla zenginleştiği tespit edilmiştir [37-40].

Tüm bunların yanı sıra karabuğday tohumunda çimlenme sonucu disakkaritlerin (maltoz, sukroz gibi) oranı azalırken, fruktoz ve glukoz düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda filizlenmiş karabuğday tohumunda doymamış yağ asitlerinin seviyelerinde artış olurken, doymuş yağ asitlerinin miktarının ise azaldığı tespit edilmiştir [39,40]. Çağımız hastalıklarından korunmak için aranan antioksidan, antimutajen, antikanserojen ve antimikrobiyal özellikleri bünyesinde barındıran karabuğday tohumu çimlendirildiğinde bu özellikleri kendisine kazandıran antosiyaninler, rutin, kuersetin, orientin, isoorientin, viteksin ve izoviteksin gibi flavonollerin önemli derecede artış gösterdiği görülmüştür [40].

Özellikle Uzakdoğu ülkelerinde çok fazla tüketilen soya ve filizi, bu ülkelerdeki akciğer, kolon ve prostat kanseri, osteoporoz, kalp damar hastalıkları gibi rahatsızlıklara az rastlanıyor olmasının sebebi olarak gösterilmektedir [41,42]. Özellikle soya fasulyesinin yapısında bulunan ve çimlenme ile miktarında oldukça artış gözlenen izoflavon, genistein ve daidzein gibi bileşiklerin osteoporozun ilerlemesini, kalp hastalıklarını ve kanseri engellediği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir [43,44]. Soya filizinin çimlenmesi sonucu bahsi geçen bileşiklerin yanı sıra lesitin, α -amilaz, lipaz ve α -galaktosidaz ile daidzein gibi bileşikler ile Ca, Cu, Mn ve Zn gibi minerallerin maddelerin de miktarlarında artış olduğu gözlemlenmiştir [45].

Farklı tohumların çimlendirilmesi ile yapılarında meydana gelen değişimler pek çok araştırma ile incelenmiştir. Bunlardan kanda kolesterolü düşürücü etkisi olan baklagillerden nohudun filiziyle beslenen denek hayvanlarında kolesterol düzeyinin kontrol altına alındığı gözlemlenmiştir [46,47].

Yonca tohumu üzerine yapılan incelemelerde ise tohumun kendisinde hâlihazırda mevcut olan pek çok mineralin çimlenme ile serbest kalması sonucu biyoyararlılıklarında artış görülmüştür. Yonca tohumunda bulunan vitaminlerin de filizlendirme sonrası miktarlarında artış tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra besleyici değer bakımından oldukça önemli olan protein ve kül miktarları çimlenme sonucu fazla kayıp yaşamazken, yağ miktarında önemli derecede azalma saptanmıştır. Bu durum sağlıklı beslenme açısından yonca filizinin tercih edilebilirliğini arttırmaktadır [48, 49].

Çin’ de yüzyıllar öncesinde de tüketildiği bildirilen maş fasulyesinin yapısında bulunan fitik asit çimlenme işlemi sonrasında kısmen parçalanarak kendisine bağlı olan mineraller serbest kalmaktadır. Yine çimlenme işlemi ile maş fasulyesinin toplam yağ miktarında azalma görüldüğü kaydedilmiştir [50].

Çimlendirilen tohumlar arasında oldukça tercih edilen bir diğer tohum da buğdaydır. Buğday filizi insanlar için esansiyel olan besin bileşenlerini taşıdığı ve ucuz olduğu için önemli bir potansiyele sahiptir [30]. Buğday filizinin sahip olduğu besinsel özelliklerin, ıspanak, brokoli gibi pek çok sebze filizi ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [51]. Bir karşılaştırma yapmak gerekirse 15 g buğday filizinin içerdiği besleyici değerlerin 350 g yeşil sebzelerininkine eşdeğer olduğu görülmüştür [30]. Buğday tohumunda çimlenme ile meydana gelen diğer değişimleri ise vitamin, fenolik madde, aromatik amino asit, protein ve çoklu doymamış yağ asidi miktarlarındaki artışlar olarak sıralanabilir. Tüm bunların yanı sıra maş fasulyesinde olduğu gibi buğday tohumunda da çimlenme ile fitaz aktivitesi artarak fitik asidin parçalanması sağlanmaktadır [42, 53].

Arıcı vd. [54] tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise brokoli, brüksel lahanası, iran üçgülü ve soya tohumları 12 saat karanlık-12 saat ışık ve tamamen karanlık olmak üzere iki farklı koşulda çimlenmeye bırakılmış ve besin içeriğindeki değişim incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda ışıktaki çimlendirilen tüm filizlerin c vitamini, şeker ve protein içeriğinin karanlıkta çimlendirilenlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

2.6 Tohum Filizlerindeki Mikrobiyal Riskler

Yaygın olarak çiğ ya da minimal düzeyde işlenerek tüketilen tohum filizleri bünyelerinde tohum kaynaklı olan çok sayıda mikroorganizma barındırmakta [3] ve bunların sayıları çimlendirme sırasında çok yüksek seviyelere kadar ulaşabilmektedir [55]. Bunun sebebi; filizlerin yüksek oranda su, protein, vitamin ve mineral madde içermeleri ile mikrobiyal gelişim için son derece elverişli ortamlar oluşturmalarıdır [56-58]. Bunun yanında çimlendirme için gerekli olan yüksek sıcaklık ve nispi nem patojen mikroorganizmaların gelişiminde hızlandırıcı rol oynamaktadır [59,60]. Hâlihazırda tohum ve yenilebilir filizlerinin yüksek mikrobiyal yük taşıdığı ve bunların da zaman zaman patojen mikroorganizma kontaminasyonuna maruz kaldığı, yapılan çalışmalarla

ortaya konulmuştur [61]. Tohuma bulaşmış olan sadece birkaç bakteri bile bahsedilen uygun koşullar altında çimlenme boyunca mevcut sayısını oldukça katlayabilmektedir [62,63].

Tüketicilerin sağlıklı ve doğal gıda tüketimine yönelik eğilimlerinde meydana gelen artışla beraber tohum filizlerinden kaynaklanan bakteriyel salgınlarda da artış gözlemlenmiştir [64,65].

Amerika'da 1998 ile 2010 yılları arasında tohum filizlerinden kaynaklandığı düşünülen en az 33 salgın vakasının yaşandığı tespit edilmiştir [66].

1996 yılında da Japonya'da *Escherichia coli* O157:H7 ile kontamine olmuş filizlerin tüketimine bağlı olarak felaket diye nitelendirilebilecek bir salgın meydana gelmiştir. Bu salgından 6000'den fazla ilkokul çağındaki çocuk etkilenmiştir [67].

Benzer olarak 2011 yılında Almanya'da organik bir çiftlikten temin edilen filizlerden yaklaşık 1000 kişi etkilenmiş ve 53 kişi hayatını kaybetmiştir [68].

İspanya'da Abadias vd. [69] tarafından yapılan bir çalışmada, farklı süpermarketlerden toplanan yaklaşık 300 adet minimal işlem görmüş meyve sebze ve filiz örneği, mikrobiyolojik analize tabi tutulmuştur. Yapılan analizler sonucunda, özellikle soya ve yonca filizlerinde yüksek oranda mikrobiyal yük saptanmıştır. Bunun yanı sıra diğer tüm filiz örneklerinde ise toplam mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı 10^7 kob/g'ın üzerinde iken psikrofilik mikroorganizmaların sayısı da oldukça yüksek çıkmıştır. Ayrıca alınan filiz örneklerinin % 40 gibi yüksek bir kısmının *E. coli* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada ise çimlenmiş farklı tohumlar incelenmiş ve içlerinde *E. coli* ile kontamine olanlar tespit incelenmiştir. Çimlenmiş tohumlar arasında *E. coli*'ye en çok rastlananların başında yonca, turp ve maş fasulyesinin geldiği tespit edilmiştir [70,71].

Piernas vd. [72]'nin pirinç tohumu ve filizleri üzerine yaptığı çalışmada önce pirinçlerin tohum hali mikrobiyolojik analize tabi tutulurken çimlendirme işlemi uygulandıktan sonraki durumu da değerlendirilmiştir. Çıkan sonuçlarda pirinç tohumlarında 7 log

kob/g düzeylerinde olan mezofilik aerobik bakteri sayısının 48 saatlik çimlendirme işlemi sonrasında yaklaşık 2 log düzeyinde artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Farklı tohumlarda yapılan diğer çalışmalarda da benzer olarak başlangıçta 3-7 log seviyesinde toplam mezofilik aerobik veya koliform bakteri barındıran tohumların mikrobiyal yükünün çimlenme boyunca 8-9 log seviyesine kadar çıkabildiği rapor edilmiştir [73].

2.7 Tohum Filizlerindeki Mikrobiyal Riskleri Azaltma Yöntemleri

Mikroorganizmaların tohumlara kontaminasyonu ve çoğalması hasat, taşıma, hazırlama, çimlenme ve son ürüne kadar olan tüm dağıtım süreçlerinde meydana gelebilmektedir [74]. Özellikle çimlenme esnasında büyük artış gösteren mikrobiyal yükün toprak ve tohum kaynaklı olduğu düşünülmektedir [75].

Filizlerde mevcut olan patojen mikroorganizma riskini ortadan kaldırmak için tohumlara uygulanacak bir dezenfeksiyon metodunun, çimlenme işlemi gerçekleştikten sonra filize uygulanacak yöntemlerden çok daha fazla etkili olacağı yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir [69].

Filizlendirilecek tohumların çimlenme işlemi öncesi mikrobiyal güvenliklerinin sağlanması amacıyla uygulanan pek çok metot bulunduğu bildirilmektedir. Bunlar; ısıtma işlemi [54], iyonize radyasyon [58,65,76,77], yüksek basınç uygulaması [3,55], klorlu bileşikler, hidrojen peroksit, etanol ve ozon gibi kimyasal bileşiklerle muamele olarak sıralanabilir [56,57].

Farklı kimyasal bileşiklerin farklı tohumlar ve filizlerinin mikrobiyal yükleri üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada buğday tohumu, farklı konsantrasyonlardaki NaClO (Sodyum hipoklorit) ve H₂O₂ (Hidrojen peroksit) solüsyonlarında oda sıcaklığında bekletilerek tohumların doğal mikrobiyal yüklerindeki azalma incelenmiştir. 30 dakikanın sonunda NaClO ve H₂O₂'n tüm konsantrasyonlarında *E. coli* popülasyonunun tamamen elemine edildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca 400 ppm NaClO ile dezenfekte edilen tohumların çimlendirilme sonrası mikrobiyal yükü incelendiğinde toplam mezofilik bakteri, küf,

maya ve koliform sayısında su ile yıkama yapılan kontrol örneğine göre önemli bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir [78].

FDA tarafından aktarılan bazı sonuçlara göre 20.000 ppm kalsiyum hipoklorit çözeltisinde 10-15 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilen tohumlarda bakteri popülasyonunda ortalama 3 log seviyesinde azalma görülmüştür [79].

Kim vd. [80] tarafından yapılan bir çalışmada ısı ve bağıl nemin turp tohumunda *E. coli* O157:H7 popülasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. 24 saat süreyle farklı sıcaklıklarda (55, 60 ve 65 °C) farklı bağıl nem koşullarına (% 25, % 45, % 65, % 85 ve % 100) maruz bırakılan turp tohumlarında 2,5-7 log arasında azalma belirlenmiştir. % 100 bağıl nem uygulandığında ise çalışılan 3 farklı sıcaklığın her birinde (55, 60 ve 65 °C) mikroorganizmaların tamamen yok edildiği tespit edilmiştir. En etkili dekontaminasyonun sağlandığı koşulların ise 65 °C ve %45-100 bağıl nem olduğu tespit edilmiştir.

Tohumların dezenfeksiyonunda ısıya dayalı yöntemler de test edilmiştir. Tohumlar 50 °C'de saatler ya da günlerce tutulduğunda veya 90 °C'de 90 s bekletilip sıcaklığının 30 s gibi kısa bir sürede 0 °C'ye düşürüldüğünde tohumdan *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* dezenfeksiyonda oldukça etkili sonuçlar elde edilmiştir [81].

Isıl işlem ile tohum dekontaminasyonunda test edilen bir diğer yöntem ise sıcak suda bekletme olarak önümüze çıkmaktadır. 85 °C'deki sıcak suda 10 s süreyle bekletilen tohumların *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* sayılarında yaklaşık 3 log düzeyinde azalma gözlemlenmiştir. Bu süre 40 s'ye çıkarıldığında ise elde edilen azalmaya ilaveten 0,5 log'luk ek inhibisyon meydana gelmiştir [81,82].

Tohum dezenfeksiyonunda yüksek basınç uygulamaları ise oldukça gelecek vaat etmektedir. Oda sıcaklığında yaklaşık 2 dakika 500-600 MPa basınca maruz bırakılan tohumların *Escherichia coli* O157:H7 popülasyonunda 3,5 log ve üzerinde azalma meydana geldiği bildirilmiştir [83,84].

İyonize radyasyonun tohum dezenfeksiyonunda FDA tarafından çeşitli dozlarda uygulanmasında bir sakınca görülmemiştir. Tohum dezenfeksiyonunda maksimum 8

kGy doza kadar izin veren FDA, tohumların hem mikrobiyal güvenliğini sağlanması hem de istenen çimlenebilirlik kabiliyeti ve kalitesi için 2 kGy ve altındaki doz miktarlarının hedeflendiğini bildirmiştir [85,86]. Tohuma uygulanmasının yanı sıra filize de uygulanabilen iyonize radyasyonun gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaları elimine edebildiği görülmüştür [72]. Yapılan çalışmalar iyonize radyasyon uygulamasının sadece tohum üzerindeki patojenlerin değil dokulardaki çatlak, yarık ve hücreler arası boşluklardan penetre olan patojenleri de etkileyebildiğini göstermektedir [58,62]. Ülkemizde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının yayımladığı Gıda İşinlama Yönetmeliğinde mikroorganizmaları azaltmak amacıyla belirlenen maksimum işinlama dozu hububatlar için 5 kGy olarak belirlenmiştir [87].

Yapılan bir çalışmada, Çin piyasasından farklı tohum filizleri toplanmış ve gama ışınlarıyla yapılan elektron demeti uygulamalarının mikrobiyal yüklerdeki azalmaya etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, uygun dozlarda uygulanan gama ışınlarının, filiz dekontaminasyonunda etkili olabileceği görülmüş ve işinlama işleminin *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *Bacillus cereus* inaktivasyonunda elektron demeti yönteminden ($\leq$ MeV) daha etkili olduğu belirlenmiştir [58]. Hindistan'da yapılan bir çalışmada ise 4 log₁₀ kob/g *S. Typhimurium* inoküle edilmiş çeşitli tohumlardaki mevcut yük, 2 kGy gama işinlama işlemi ile tamamen elimine edilebilmiştir [88].

Sadece bir dezenfeksiyon yönteminin kullanılmasının yanı sıra birden fazla yöntemin kombinasyonu da araştırılan konular arasında yer almaktadır. Örneğin, sodyum hipoklorit, yüksek basınç ve kekikte bulunan karvakrolün kombine olarak muamelesinin maş fasulyesinde mikrobiyal yük üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada “yüksek basınç + hipoklorit” ile “yüksek basınç + karvakrol” kombinasyonları ayrı ayrı uygulandığında, her iki durumda da tohumda bulunan toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam ve fekal koliform ile maya ve küf sayısında etkin bir azalma (>5 log) meydana gelmiştir [89].

2.8 Dekontaminasyon İşlemlerinin Tohumların Çimlenmesi Üzerindeki Etkisi

Çeşitli yöntemlerle yapılan dekontaminasyon işlemlerinin tohum ve filizlerde mikrobiyal güvenliğin sağlanmasındaki etkinlikleri birçok çalışma ile rapor edilmiştir.

Bununla birlikte, eğer dekontaminasyon işlemi tohumda gerçekleştiriliyorsa, uygulanan işlemin tohumların çimlenme özellikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmaması gerekmektedir. Çeşitli araştırmalar, dekontaminasyon işlemlerinin tohum çimlenebilirliği üzerine etkisi üzerine odaklanmıştır. Özellikle kimyasal maddelerle yapılan işlemler sonucu tohum ve filizlerde mikrobiyal güvenlik istenen seviyede sağlanıyor olsa da tohumda kalıntı bırakıp bırakmadığı, uygulama sonrası tohumun çimlenebilirliğini ne düzeyde etkilediği üzerinde durulması gereken önemli konular arasında yer almaktadır [89].

Kim vd. [80] tarafından yapılan, turp tohumlarında sıcaklık ve bağıl nem uygulamasıyla dekontaminasyon çalışmalarında tohumların çimlenebilirlikleri de incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında tohumlara uygulanan bağıl nem oranı arttıkça tohumun çimlenebilirliğinin azaldığı tespit edilmiştir. 55 °C’de % 45 bağıl nem uygulanan tohumların, herhangi bir işlem görmemiş tohumlar kadar (% 94,8) çimlenebildikleri görülmüştür. Tohumlara % 100 bağıl nem uygulandığında ise çalışılan tüm sıcaklıklarda çimlenmenin tamamen başarısız olduğu tespit edilmiştir.

Tohumun çimlenme kabiliyeti üzerine ısı işlem uygulamalarının etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda düşük sıcaklıkta uzun süre (50°C / birkaç gün), ya da yüksek sıcaklıkta kısa süre bekletip hemen soğutma (90°C / 90 s) gibi farklı yöntemler denenmiştir. Tüm bu denemelerde tohumun çimlenebilirliğinin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir [81].

Direk ısı uygulamasının aksine, tohumlar sıcak suda bekletildiklerinde (85°C / 10-40 sn) çimlenme oranlarında herhangi bir kayıp söz konusu olmamıştır [81,82].

Maş fasulyesine “yüksek basınç + hipoklorit” ile “yüksek basınç + karvakrol” kombinasyonları ayrı ayrı uygulanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ilk kombinasyonda tohumun çimlenebilirliği % 80 olduğu görülürken ikinci uygulamada % 60 olarak tespit edilmiştir [89].

2.9 Hidrosollerin Dekontaminasyonda Kullanımı

Tüketime hazır ya da minimal işlenmiş meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda kullanılmasına yönelik çalışmaların yapıldığı bir diğer materyal ise bitki hidrosolleridir.

Aromatik su, distile su ya da çiçek suyu olarak bilinen hidrosoller, bitki materyallerinin su ve buhar distilasyon yan ürünü ya da ikincil ürünüdür. Hidrosoller suda çözülebilir pek çok bileşiğe ek olarak esansiyel yağları da barındıran oldukça kompleks yapılardır [90,91].

Yapılan araştırmalarda eski çağlarda insanların daha sağlıklı yaşamak için bitki hidrosollerini içecek olarak tükettikleri de rapor edilmiştir [90].

Hidrosollerin en büyük avantajları ucuz olmaları, elde edilme işlemlerinin masrafsız olması ve insan sağlığını tehdit edici bir unsur içermemesidir. Bazı araştırmacılar tarafından çeşitli baharatlardan elde edilen hidrosollerin antimikrobiyal etkileri bildirilmesine rağmen hala bu konu hakkındaki bilgiler oldukça kısıtlıdır. Hidrosollerin antimikrobiyal aktivitelerinin kendi bünyelerinde bulunan monoterpenik esansiyel yağ bileşenleri ve fenolik maddelerden kaynaklandığı bilinmektedir [90,92,93].

Bir çalışmada, GC-MS cihazları kullanılarak kekik hidrosolünün uçucu bileşen kompozisyonu incelenmiştir. Bu bileşikler arasında ilk sırayı % 48,3 ile karvakrol alırken onu % 17,5 ile timol takip etmiştir. Kekik uçucu yağının ana bileşenlerini oluşturan bileşikler ise karvakrol, timol, p-simen ve γ -terpinen'dir [94].

Yapılan başka bir çalışmada, *Salmonella* Typhimurium bulaştırılan elma ve havuç örnekleri çeşitli bitki hidrosolleri ile muamele edilmiş ve mikroorganizma yükündeki en fazla azalma kekik hidrosolu ile sağlanmıştır. Defneyaprağı, çörekotu, biberiye ve adaçayı hidrosolleri ile yapılan uygulamalarda ise birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir [9].

Hidrosoller, yüksek antimikrobiyal etkileri sayesinde minimal işlenmiş tüketime hazır gıdaların mikrobiyolojik güvenliklerinin sağlanmasında önemli potansiyele sahiptir. yapılan literatür araştırmalarında, çeşitli bitkilerden elde edilen hidrosollerin havuç, elma, maydanoz, domates ve salatalık gibi taze meyve ve sebzelerin dekontaminasyonunda kullanıldığı belirlenmiş, çimlendirilecek tohumların dekontaminasyonunda kullanıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı; maş fasulyesi, mercimek ve buğday tohumlarının çimlendirme öncesinde bitki hidrosolleri ile yıkanması sonucunda tohumlara kontamine edilen *S.*

Typhimurium ve *S.Aureus* sayısında meydana gelen azalmanın tespit edilmesi ve hidrosol uygulaması sonucu tohumların çimlenme kabiliyetlerinde kayıp olup olmadığının ortaya konulmasıdır.



BÖLÜM 3

YÖNTEMLER

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan buğday (*Triticum aestivum*), maş fasulyesi (*Vigna radiata*) ve yeşil mercimek (*Lens culinaris*) İstanbul'daki çeşitli market ve aktarlardan temin edilmiştir.

Hidrosol eldesinde kullanılan defne yaprağı (*Lauris nobilis*), zahter (*Satureja hortensis*) ve kekik (*Thymus vulgaris*) yaprakları kuru olarak yerel bir marketten temin edilmiş olup analiz aşamasına kadar serin ve rutubetsiz koşullarda saklanmıştır.

3.2 Hidrosol Hazırlanması

Hidrosol eldesi için Clavenger distilasyon cihazı kullanılmıştır (Şekil 3. 1).



Şekil 3. 1 Clavenger Distilasyon Cihazı

Bitki hidrosolleri Törnük ve Dertli [95] tarafından tanımlanmış metot temel alınarak hazırlanmıştır. 100 g kuru kekik, defneyaprağı ve zahter tartılarak 5 L hacmindeki balona alınmış ve üzerine 1 L saf su ilave edilmiştir. Clavenger cihazıyla 2 saat süreyle

distilasyon işlemi yapılmıştır. Baharatların yapısındaki esansiyel yağından ayrılan hidrosol, geri soğutucudan geçirilerek 1 L'lik amber renkli şişelere alınmıştır. Hidrosoller kullanılacakları zamana kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3 Mikroorganizmaların Hazır Hale Getirilmesi

Çalışmada kullanılacak bakteri kültürleri (*Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028) Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir. Dondurulmuş bakteri kültürleri Nutrient Broth (Merck, Almanya) besiyerinde 24 saat süreyle 37 °C'de iki defa peş peşe aktive edilmiştir.

3.4 Örneklerin Hazırlanması

Analize başlamadan önce buğday, maş fasulyesi ve yeşil mercimek ihtiva edebilecekleri olası kirlerden (toprak, kök, ot gibi) temizlenmiştir. Daha sonra tohumlar doğal olarak bulunabilecek mikroorganizmalardan arındırılma amacıyla musluk suyu ile hafifçe çalkalanarak yıkanmıştır. Yıkanan tohumlar, kuruması için biyogüvenlik kabinlerinde yaklaşık 2 saat ortam sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra her bir tohumdan yaklaşık 400 g tartılarak, % 1 (v:v) oranındaki önceden aktiveleştirilen mikroorganizma inoküle edilmiş suya eklenerek 20 dk bekletilmiştir. Bu süre zarfında tohumlardaki kontaminasyon seviyesinin $\sim 10^5 - 10^6$ kob/g olması hedeflenmiştir. 20 dk'nın sonunda tohumlar süzölmüş ve biyogüvenlik kabininde kuruması için 2 saat bekletilmiştir.

3.5 Dekontaminasyon İşlemi

Kekik, defne yaprağı ve zahter hidrosollerinin buğday, maş fasulyesi ve yeşil mercimek tohumlarının dekontaminasyonu üzerine etkisini belirlemek amacıyla, kontamine edilmiş tohumlar kekik, defneyaprağı ve yeşil mercimek hidrosolleri içinde bekletilmiştir. Yıkama işlemi, tohumların bu hidroseller içinde 0., 20., 40. ve 60. dakikalarda analize tabi tutulmaları suretiyle 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Bu işlem, Sağdıç vd. [96] Törnük ve Dertli [95] ve Törnük vd. [9] tarafından yapılan çalışmalarda tanımlanan metot temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.6 Mikrobiyolojik Analizler

Yıkama işleminin ardından çeker ocakta kurutulan tohumlar, aseptik koşullarda Maximum Recovery Diluent bulunan steril şişelerden iki tanesine 10 g olacak şekilde tartılmıştır. Daha sonra sterilize edilmiş beherlerin her birine 200 g tartılmıştır. Beherlerin birine 200 mL sterilize musluk suyu diğerlerine de aynı miktarda hidrosollerden ilave edilip kronometre çalıştırılmış ve 60 dk boyunca hidrosollerle muamele edilmiştir. Muamalenin 0, 20, 40 vs 60. dakikalarında örnekler alınarak mikrobiyolojik analize tabi tutulmuştur.

Her bir dekontaminasyon periyodunun ardından şişelerden 10 g tohum tartılıp 90 mL Maximum Recovery Diluent (Merck, Dalmstadt, Almanya) kullanılarak seyreltilmiştir. Ardından bu örneklerden seri dilüsyonlar hazırlanmıştır

Mikrobiyolojik analizde *Staphylococcus Aureus* sayımı için Baird Parker Agar (BPA) (Merck, Almanya), *Salmonella* sayımı için Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD) (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Dekontaminasyon işlemi sırasında hazırlanan dilüsyonlardan daha önceden hazırlanmış olan besiyerlerine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim işleminin ardından petriyerler inkübasyon aşaması için etüvde 37 ° C’de 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonrasında spesifik koloniler sayılmış ve koloni oluşturan birim (kob) olarak logaritmik değerler hesaplanmıştır.

Hidrosol ile yıkama sonucu sağlanan, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* için Gelişim İnhibisyon Oranı (GİOs) aşağıdaki denklik ile hesaplanmıştır [88]:

$$GIO(\%) = \frac{(P_c - P_T)}{P_T} \times 100$$

Bu denklemde P_c kontrol örneklerinin sayısını gösterirken, P_T hidrosol ile yıkanmış örneklerin sayısını göstermektedir.

3.7 Tohumların Çimlenebilme Kabiliyetlerinin Tespiti

Hidrosol ile muamele etme işleminin tohumların çimlenme etkinliği üzerinde olası olumsuz etkisinin tespiti için tohumlar hidrosol içinde 60 dk boyunca bekletilmiş, daha

sonra 22°C’de %85 nispi nem koşulları altında çimlenmeye bırakılmıştır. imlenebilen tohum sayısı yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.8 İstatistiksel Analizler

Analizler en az iki paralel ve iki tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Analiz sonucu elde edilen veriler istatistiksel analiz programı (SAS 8.2; SAS Institute, Cary, NC, ABD) kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Veriler arasındaki önemli derecedeki farklılıklar, Duncan oklu aralık testi kullanılarak %95’e kadar değerlendirilmiştir.



BÖLÜM 4

BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Hidrosollerle *Salmonella*'nın dekontaminasyonu

Salmonella ile kontamine edilen buğday, maş fasulyesi ve yeşil mercimek örnekleri Bölüm 3.5'te anlatıldığı gibi hidrosollerle muamele edilerek bakteri sayısındaki değişim incelenmiştir. İnkübasyon süresi sonucu yapılan sayımda buğdayda elde edilen sonuçlar çizelge 4. 1'de görülmektedir;

Çizelge 4. 1. Buğday, maş fasulyesi ve mercimeğin hidrosoller ile farklı sürelerde dekontaminasyonu ile *Salmonella* Typhimurium sayılarındaki değişim (log kob/g)

BUĞDAY				
Örnek	Bakteri sayısı (log 10 kob/g)			
	0 dk	20 dk	40 dk	60 dk
Kontrol	4,25±0,32 ^{Aa}	4,38±0,02 ^{Aa}	4,60±0,38 ^{Aa}	4,23±0,09 ^{Aa}
Defne	4,25±0,32 ^{Aa}	3,94±0,31 ^{Aa}	4,06±0,35 ^{Aa}	3,85±0,00 ^{Ab}
Zahter	4,25±0,32 ^{Aa}	4,02±0,02 ^{Aa}	3,50±0,23 ^{Bc}	3,24±0,28 ^{Bc}
Kekik	4,25±0,32 ^{Aa}	2,85±0,17 ^{Bb}	2,70±0,00 ^{Bd}	<1,00 ^{Cd}
MAŞ FASULYESİ				
	0 dk	20 dk	40 dk	60 dk
Kontrol	4,55±0,17 ^{Aa}	4,39±0,39 ^{Ab}	4,29±0,36 ^{Aa}	4,54±0,34 ^{Aa}
Defne	4,55±0,17 ^{Aa}	4,80±0,02 ^{Aa}	3,83±0,15 ^{Bb}	3,27±0,31 ^{Cb}
Zahter	4,55±0,17 ^{Aa}	<1,00 ^{Bc}	<1,00 ^{Bc}	<1,00 ^{Bc}
Kekik	4,55±0,17 ^{Aa}	<1,00 ^{Bc}	<1,00 ^{Bc}	<1,00 ^{Bc}
MERCİMEK				
	0 dk	20 dk	40 dk	60 dk
Kontrol	4,85±0,36 ^{Aa}	4,79±0,22 ^{Aa}	4,43±0,23 ^{Aa}	4,51±0,37 ^{Aa}
Defne	4,85±0,36 ^{Aa}	3,83±0,16 ^{Bb}	3,62±0,35 ^{Bb}	3,0±0,00 ^{Cb}
Zahter	4,85±0,36 ^{Aa}	4,48±0,27 ^{Aa}	4,48±0,37 ^{Aa}	4,42±0,27 ^{Aa}
Kekik	4,85±0,36 ^{Aa}	3,87±0,15 ^{Bb}	3,24±0,07 ^{Cb}	<1,00 ^{Cb}

Ortalama ± standart sapma. kob = koloni oluşturan birim. Aynı sütundaki farklı üst harfler sonuçlar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir (P<0,05); Aynı satırdaki farklı büyük harfler sonuçlar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir (P<0,05).

Çizelge 4. 1’de farklı uygulama zamanlarında (0, 20, 40, 60 dk.) kekik, defne yaprağı ve zahter hidrosollerinde bekletilen maş fasulyesi, buğday ve yeşil mercimek tohumlarındaki *Salmonella* popülasyonu gösterilmektedir. Kontrol örneklerindeki başlangıç mikroorganizma sayısı buğdayda 4,25 log₁₀ kob/g, yeşil mercimekte 4,85 log₁₀ kob/g ve maş fasulyesinde 4,55 log₁₀ kob/g olarak tespit edilmiştir. Hidrosollerde bekletme işleminin ardından ilk 20 dakikada *S. Typhimurium* sayısında önemli ölçüde azalma ($P<0,05$) sağlanırken, kontrol örneği olarak kullanılan musluk suyunda bekletilen örneklerde beklenildiği üzere herhangi bir değişim tespit edilememiştir ($P>0,05$). Zahter ve kekik hidrosolleri ile muamele işleminin 20 dakikada maş fasulyesindeki tüm bakterilerin inhibe edebildiği tespit edilmiştir. Ayrıca uygulama süresinin 60. dakikaya ulaşmasıyla beraber kekik hidrosolünün yeşil mercimek ve buğdaydaki mikroorganizma varlığını tamamen elimine ettiği görülmüştür ($P<0,05$). Musluk suyu ile yıkanan örneklerde elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında defne yaprağı uygulamasının *Salmonella* sayısında önemli bir azalma sağlayabildiği görülse de çalışılan tüm tohumlardaki kekik ve zahter uygulamaları göz önüne alındığında daha sınırlı düzeyde bir dekontaminasyon sağlanabilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde ise *S. Typhimurium* inhibisyonunda en etkili olan hidrosol kekik olarak tespit edilirken, onu sırasıyla zahter ve defne yaprağı izlemektedir.

4.2 Hidrosollerle *Staphylococcus aureus*’un dekontaminasyonu

Staphylococcus aureus ile kontamine edilen buğday, yeşil mercimek ve maş fasulyesi örnekleri, Bölüm 3.5’te anlatıldığı gibi defne yaprağı, kekik ve zahterden elde edilen hidrosollerle muamele edilmiş ve bakteri popülasyonundaki değişim belirlenmiştir. Dekontaminasyon işlemleri sonucu buğday, maş fasulyesi ve yeşil mercimekteki bakteri sayıları Çizelge 4. 2’de görülmektedir.

Çizelge 4. 2 Buğday, maş fasulyesi ve mercimeğin hidrosoller ile farklı sürelerde dekontaminasyonu ile *Staphylococcus aureus* sayılarındaki değişim (log kob/g)

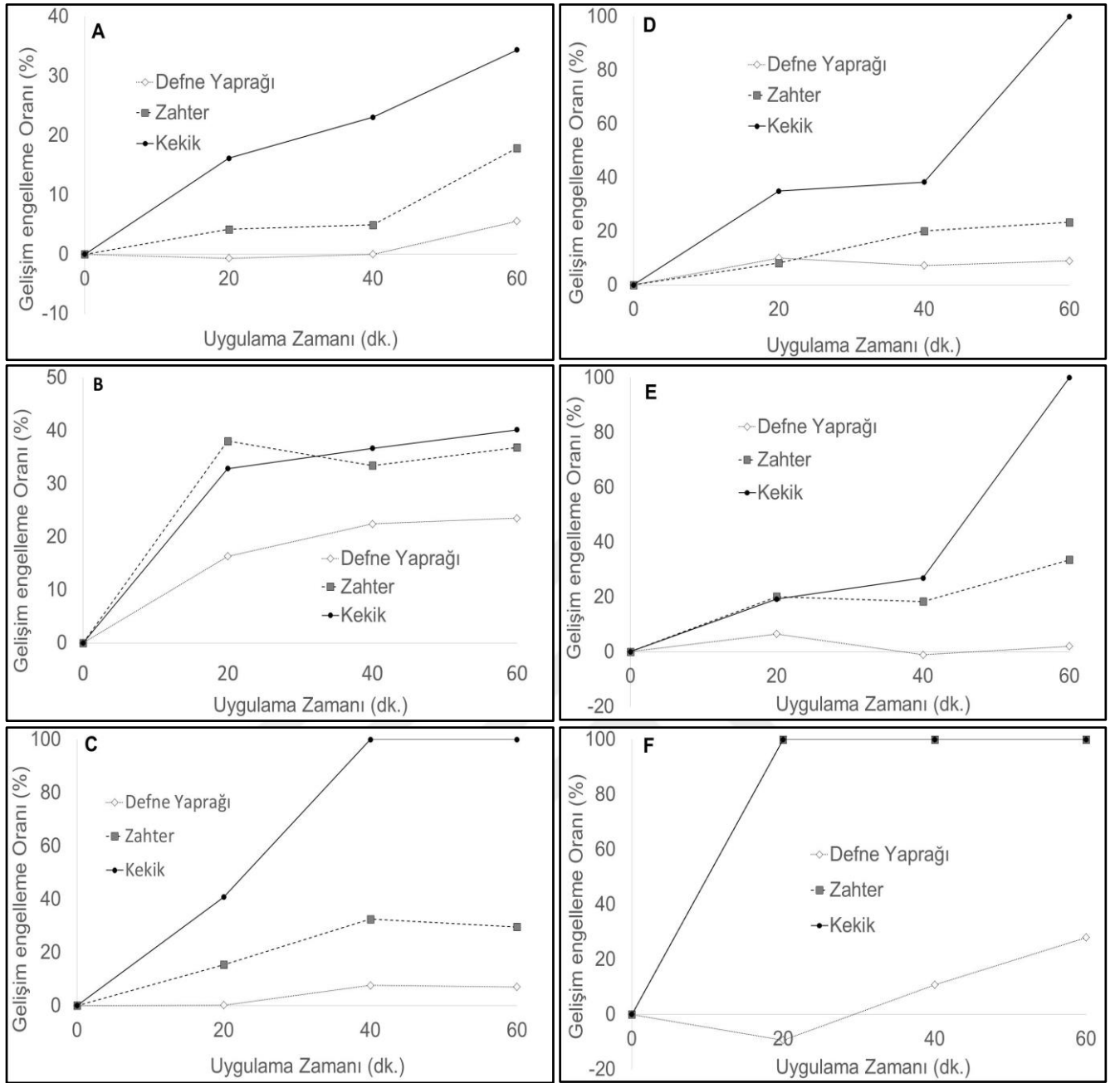
BUĞDAY				
Örnek	Bakteri sayısı (log10 kob/g)			
	0 dk	20 dk	40 dk	60 dk
Kontrol	4,86±0,35 ^{Aa}	4,52±0,19 ^{Aa}	4,47±0,31 ^{Aa}	4,48±0,40 ^{Aa}
Defne	4,86±0,35 ^{Aa}	4,55±0,12 ^{BAa}	4,41±0,36 ^{Ba}	4,31±0,26 ^{Ba}
Zahter	4,86±0,35 ^{Aa}	4,33±0,25 ^{Ba}	4,25±0,33 ^{Ba}	3,68±0,20 ^{Cb}
Kekik	4,86±0,35 ^{Aa}	3,79±0,13 ^{Bb}	3,44±0,06 ^{Bb}	2,94±0,28 ^{Cc}
MAŞ FASULYESİ				
	0 dk	20 dk	40 dk	60 dk
Kontrol	4,92±0,36 ^{Aa}	4,56±0,29 ^{BAb}	4,58±0,11 ^{BAa}	4,26±0,06 ^{Ba}
Defne	4,92±0,36 ^{Aa}	4,55±0,26 ^{BAa}	4,23±0,05 ^{BCb}	3,96±0,13 ^{Cb}
Zahter	4,92±0,36 ^{Aa}	3,86±0,36 ^{Bb}	3,09±0,10 ^{Cc}	3,00±0,00 ^{Cc}
Kekik	4,92±0,36 ^{Aa}	2,70±0,00 ^{Bc}	<1,00 ^{Cd}	<1,00 ^{Cd}
MERCİMEK				
	0 dk	20 dk	40 dk	60 dk
Kontrol	4,24±0,18 ^{Aa}	4,60±0,06 ^{Aa}	4,64±0,24 ^{Aa}	4,51±0,20 ^{BAa}
Defne	4,24±0,18 ^{Aa}	3,85±0,17 ^{BAb}	3,60±0,35 ^{Bb}	3,09±0,10 ^{Cb}
Zahter	4,24±0,18 ^{Aa}	2,85±0,17 ^{Bd}	3,09±0,10 ^{Bc}	2,85±0,17 ^{Bc}
Kekik	4,24±0,18 ^{Aa}	3,09±0,12 ^{Bc}	2,94±0,34 ^{CBb}	2,70±0,00 ^{Cc}

Ortalama ± standart sapma. kob = koloni oluşturan birim. Aynı sütundaki farklı üst harfler sonuçlar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir (P<0,05); Aynı satırdaki farklı büyük harfler sonuçlar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir (P<0,05).

Kekik, defne yaprağı ve zahter hidrosolleri ile yıkama işleminin buğday, yeşil mercimek ve maş fasulyesi tohumlarındaki *S. aureus* popülasyonu üzerindeki etkisi Çizelge 4.2’de görülmektedir. Buğday, yeşil mercimek ve maş fasulyesinin inokülasyon sonrası başlangıç popülasyonları sırasıyla 4,86, 4,24 ve 4,94 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında musluk suyunda bekletme işleminin tohumlardan *S.Aureus* sayısını azaltmada sınırlı etki gösterebildiği belirlenmiştir. Buna karşın çalışılan tüm tohumlar göz önüne alındığında bakteri popülasyonundaki en fazla azalmayı (P<0,05) ise kekik hidrosolünün sağlayabildiği görülmüştür. Maş fasulyesinin kekik hidrosolü ile muamelesi sonucu 40. dakika ile birlikte *S. aureus* sayısındaki tespit edilebilir seviyenin altına düştüğü belirlenmiştir. Kekik’in sahip olduğu antimikrobiyal etkiyi sırasıyla zahter ve defneyaprağının takip ettiği tespit edilmiştir. Zaman faktörü göz önünde bulundurmaksızın, hidrosol ile muamele edilen tohumlar arasında *S. aureus* üzerinde en yüksek inhibisyon etkisinin maş fasulyesinde sağlandığı görülmüştür.

GİO (%) dekontaminasyon uygulamaları sonucu elde edilen inhibisyon değerleri ile kontrol uygulaması sonucu elde edilen değerlerin yüzde olarak birbirlerine oranını göstermektedir. Bu değer bir antimikrobiyal ajanın dekontaminasyon etkinliği hakkında açık bir şekilde fikir sahibi olmamızı sağlamaktadır. Hidrosol ile yapılan muamele sonrasında mikroorganizma inokule edilmiş olan buğday, maş fasulyesi ve yeşil mercimek tohumlarındaki *S.aureus* ve *S.Typhumirum* miktarlarının GİO değeri hesaplanmış ve Şekil 4. 1' de gösterilmiştir.





(A) *S. aureus* ile kontamine edilmiş buğday tohumunun GİO değeri; (B) *S. aureus* bulaştırılmış yeşil mercimek tohumunun GİO değeri; (C) *S. aureus* bulaştırılmış maş fasulyesi tohumunun GİO değeri; (D) *S. Typhimurium* bulaştırılmış buğday tohumunun GİO değeri; (E) *S. Typhimurium* bulaştırılmış yeşil mercimek tohumunun GİO değeri; (F) *S. Typhimurium* bulaştırılmış maş fasulyesi tohumunun GİO değeri.

Şekil 4. 1 Hidrosol uygulamaları sonucu mikroorganizmaların (*Staphylococcus aureus* ve *Salmonella Typhimurium*) gelişim inhibisyon oranları (GİO, %).

Genel olarak bakıldığında tüm tohumlardaki bakteri gelişimini engellemede en yüksek GİO değerinin bariz bir şekilde kekik hidrosolünde olduğu görülmektedir. Kekik hidrosolünün GİO değeri uygulama süresinin uzamasına bağlı olarak artmaktadır. Kekik hidrosolünü sırasıyla zahter ve defneyaprığı takip etmektedir. Maş fasulyesinin kekik

hidrosolü ile muamelesinin 20. ve 40. dakikalarında sırasıyla *S. aureus* ve *S. Typhumirum* popülasyonuna karşı %100 inhibisyon sağlayabildiği görülmüştür (Şekil 1C ve 1F). *S. Typhumirum* bulaştırılan maş fasulyesinin zahter hidrosolü ile muamelesi ise GİO değerinin %100 elde edilebildiği çalışmalardan bir diğeridir.

Yapılan farklı bir çalışmada *L. monocytogenes* bulaştırılan atom marullarının, kekik, zahter ve oregano ile muamelesi sonucu %30-50 arasında GİO değeri elde edilmiştir. Bu değerin, aynı mikroorganizmada defneyaprağı, biberiye ve sideritis ile ulaşılan sonuçları geride bıraktığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde *S. Typhimurium* bulaştırılan marulların zahter, oregano ve kekik hidrosolleri ile muameleleri sonucu elde edilen GİO değerinin özellikle ilk 20 dakikadan itibaren oldukça dikkat çekici olduğu saptanmıştır. Bunun aksine sideritis, adaçayı ve defneyaprağı ile yapılan çalışmalar sonucu elde edilen GİO değeri ise oldukça düşüktür.

4.3 Hidrosollerin, bitki tohumlarının çimlenme kabiliyetine etkisi

Tohumlarda toprak kaynaklı ya da taşıma işleme gibi işlemler sırasında bulaşabilen ve çimlenme esnasında artış gösteren mikroorganizma yükünü azaltmak için kullanılan hidrosollerin, tohumun çimlenme kabiliyeti üzerine etkisinin olup olmadığının da incelenmesi gerekmektedir. Bunun için tohumlar önce hidrosoller içinde bekletilmiş daha sonra çimlenebilirlikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3’de görülmektedir.

Çizelge 4. 3 Hidrosollerin tohumların çimlenme kabiliyetine etkisi.

Tohum	Hidrosol	Çimlenebilen tohum sayısı	Çimlenemeyen tohum sayısı	Çimlenme oranı (%)
Buğday	Defneyaprağı	302	29	91,2
	Kekik	306	24	92,7
	Zahter	235	27	89,7
Yeşil mercimek	Defneyaprağı	96	46	67,6
	Kekik	137	42	76,5
	Zahter	37	68	35,2
Maş fasulyesi	Defneyaprağı	104	22	82,5
	Kekik	175	10	94,6
	Zahter	215	18	92,2

Çizelge 4. 3 incelendiğinde buğdayın test edilen tohumlar arasında hidrosol muamelesi sonucu çimlenebilirlik bakımından en az etkilenen tohum olduğu görülmektedir. Buğdayı maş fasulyesi takip etmektedir. Yeşil mercimek tohumunun çimlenme kabiliyetinin ise hidrosol uygulamalarından sonra çimlenme kabiliyetinde oldukça fazla kayıp yaşadığı tespit edilmiştir. Özellikle zahter hidrosolünde bekletilen yeşil mercimek tanesinin çimlenebilirliğinde %70'e varan kayıp gözlemlenmiştir.

Günümüzde daha sağlıklı beslenmek için önerilen alternatif gıdaların arasında tohum filizleri de yer almaktadır. Filizler, tohumlarına göre daha yüksek besin değerine sahiptir. Önceki bölümlerde bu konuyla ilgili yapılan çalışmalara değinilmiş, tohumların filizlenme öncesi ve sonrası besin değerlerindeki değişim gösterilmiştir [34-36].

Tohumların filizlenmesi için nemli ortam ve belli seviyelerde sıcaklık gerekmektedir. Her tohumun ihtiyacına göre değişebilen bu koşullar, mikroorganizmalar için de oldukça elverişlidir. Filizlenme esnasında çoğalan mikroorganizmalar tohum kaynaklı olabileceği gibi çevreden de bulaşabilmektedir. İki olasılıkta da ortamda bulunan mikroorganizmalar şartların elverişliliği sayesinde kısa sürede çok yüksek seviyelere ulaşabilmekte ve ürünü tüketici açısından riskli hale getirmektedir [52, 56, 57].

Filizlendirilerek tüketilen tohumların beslenme açısından önemine karşın taşıdığı mikrobiyal riskler, bu ürünlerin tüketilebilmesi için çeşitli dezenfeksiyon yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Tüketime hazır minimal işlem görmüş taze meyve sebzelerde olduğu gibi tohum filizleri de yaygın görülen gıda kaynaklı salgınların zaman zaman görüldüğü gıdalar arasında yer almaktadır [63, 64, 65].

Pek çok araştırmanın sonucu göstermektedir ki; mikrobiyal gelişmede çimlendirme koşulları oldukça etkili olsa da, filiz tüketiminden kaynaklı salgınlarda mikrobiyal bulaşmanın ana kaynağı tohum olarak görülmektedir. Bundan dolayı tohumdan olası patojenlerin uzaklaştırılmasında bir ya da daha fazla metodun kombine olarak kullanılması tavsiye edilmektedir [3]. NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods) aynı zamanda yeterli bir sanitasyon uygulamasında özellikle *S. Typhimurium* ve *E.coli* O157:H7 gibi patojenlerde minimum 5 log₁₀ kob/g düzeyinde azalma olması gerektiğini bildirmektedir.

Çimlenme esnasında mikroorganizma sayısı yüksek seviyelere ulaşmış olacağından dolayı, tohumlara filizlendirme sonrası dezenfeksiyon işlemleriyle muamele etmenin beklenen sonucu vermesi zor gözükmektedir. Yapılan araştırmalarla da görüldüğü gibi tohumun çimlenme öncesi dekontaminasyonu son üründe mikrobiyal yükün düşürülmesi üzerinde daha etkili sonuç vermektedir. Burada dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, seçilen dezenfeksiyon yönteminin tohumun çimlenebilme kabiliyetini azaltmamasıdır [78, 87].

Yapılan bir araştırmada ClO_2 (200 µg/ml, 5 dk) ve sıcaklık uygulamasının (80 °C / %23 nisbi nem 24 s) yonca, brokoli, lahana, hardal, çin lahanası, kırmızilahana, kırmızı turp, mor turp ve tatsoi tohumunun çimlenme kabiliyeti üzerine etkisi ile çin lahanasına kontamine edilen *E.coli* O157:H7 ve *S.enterica* düzeyindeki azalmanın tespit edilmesi amaçlanmıştır. Sonuçta çin lahanası, kırmızı turp ve tatsoi tohumları ClO_2 ve sıcaklık uygulamalarına yüksek tolerans göstermiştir. Ayrıca sırasıyla ClO_2 , kurutma ve sıcaklık uygulamalarına tabi tutulan çin lahanasındaki mikrobiyal yük seviyesinde oldukça fazla miktarda azalma tespit edilirken, çimlenme kabiliyetinde de kayıp yaşanmadığı gözlemlenmiştir [95]

Hidrosollerin dışında steril musluk suyuyla da bir deneme yapılmıştır. Fakat musluk suyunun mikroorganizmaları tohumlardan arındırmada etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Benzer bulgular *E.coli* O157:H7 bulaştırılan taze kesilmiş salatalıkla yapılan çalışmalar ile [96] *E.coli* O157:H7, *L.monocytogenes* ve *S. Typhimurium* bulaştırılan iceberg marullarla yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir [97].

Elektrolize su uygulaması ise tohum ve filiz dekontaminasyonunda alternatif bir metod olarak görülmektedir. Bu uygulamada doğal popülasyonda ve patojen seviyesinde önemli derecede azalma elde edilse de, tamamen elimine etmek mümkün olmamıştır. Bunun yanı sıra elektrolize su uygulaması sonrası tohumun çimlenebilme kabiliyetinin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir [57, 98, 99]. Buna benzer yapılan farklı bir çalışmada ise düşük asitli elektrolize su (SAEW; pH 5,0 – 6,5) ile NaOCl (sodyum hipoklorit) uygulamaları karşılaştırılmıştır. *E.coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* bulaştırılan çin kerevizi, marul ve turp tohumu mikroorganizmaların inhibisyonu için SAEW ve NaOCl ile muamele edilmiştir. SAEW ile yapılan uygulama sonucu mikroorganizma sayısında oldukça önemli düzeyde (2,45-2,70 log₁₀ kob/g) azalma

sağlanmıştır. Elde edilen bu sonuçların NaOCl ile muamelede sağlanan mikrobiyal azalmaya hemen hemen denk olduğu tespit edilmiştir. Bu haliyle SAEW uygulamasının NaOCl' ye bir alternatif oluşturabilecek nitelikte olduğu gözlemlenmiştir [100].

Özellikle son on yılda gıda endüstrisinde ısı işlemlere alternatif olarak kullanılan bir diğer yöntem de yüksek frekanslı ses uygulamasıdır [101]. Araştırmalara göre 20-100 kHz arasındaki ultrasonik dalgaların hücre duvarlarına şiddetli bir şekilde zarar verdiği ve böylece mikroorganizmaları inaktive edebildiği görülmüştür [102, 103, 104]. Bu yöntemin avantajları arasında kısa işlem süresi, düşük enerji gereksinimi ve düşük tat kaybı sayılabilir [101]. Yüksek frekanslı ses uygulaması taze sebze ve meyvelerin yanı sıra sıvı gıdalara da uygulanabilmektedir [105, 106]. Yapılan çalışmalar, sayısı sınırlı da olsa yüksek frekanslı ses uygulamalarının çevre dostu teknoloji olarak sınıflandırılabilirliğini göstermektedir. Aynı zamanda bu teknoloji tohum ve filizlerinin kaliteli ve güvenli gelişimlerini sağlayabilmektedir [107].

Organik asit, yağ asidi ve yüzey aktif maddeleri kapsayan organik dezenfektanların çeşitli kombinasyonları ve konsantrasyonlarının tohumlardaki patojenlere karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir [108]. Lang vd. [109] tarafından yapılan bir çalışmada *E.coli* O157:H7 bulaştırılan yonca tohumları % 5 laktik asit ve % 5 asetik asit ile muamele edilmiştir. 42 °C'de 10 dk. süreyle yapılan uygulama sonucu mikroorganizma sayısında sırasıyla 6,6 log₁₀ kob/g ve 6,3 log kob/g azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

Tohum dezenfeksiyonunda gelecek vaad eden bir diğer metot ise bakteriyosinlerin kullanımıdır. Bakteriyosinler, düşük moleküllü peptit ya da proteinlerden (genellikle 30-60 amino asit) oluşan, mekanizmaları bakteriosidal yada bakteriostatik etki olarak sınıflandırılan hücre dışı ribozom sentezleridir [110, 111]. Yapılan bir çalışmada bakteriyosin olarak Enterosin AS-48 kullanılmıştır. 25µl/ml konsantrasyonunda enterosin AS-48 içeren çözelti ile muamele edilen yonca ve soya filizlerinin *L.monocytogenes* sayısında 2 – 2,4 log kob/g azalma tespit edilmiştir. Aynı yıkama metodu 6 °C' de depolanan soya ve yonca filizlerine uygulandığında 1 – 3 gün sonra *B.cereus* sayısının tespit edilebilir seviyenin altına düştüğü belirlenmiştir [112].

UV ışınlarının kullanımı mikroorganizmaları inaktive etmek için kullanılan fiziksel bir yöntemdir. UV ışınları; UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) ve UV-C (< 280 nm) olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Bunlardan UV-C antiseptik özelliğe sahiptir ve dalga boyu en kısa ama enerjisi en yüksek olan UV ışınıdır [113]. 1 kJ/m² ışınlamaya maruz bırakılan yonca filizlerine 254 nm UV-C uygulandığında *E.coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium ve *L.monocytogenes* popülasyonunda sırasıyla 1,02 log kob/g, 1,06 log kob/g ve 0,87 log kob/g azalma tespit edilmiştir. Aynı tohumla 1kJ/m² UV-C ışını ile 0,5 g/100 ml fumarik asit kombinasyonu uygulandığında maksimum fayda sağlanmıştır. *E.coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium ve *L.monocytogenes* popülasyonunda sırasıyla 3,03 log kob/g, 2,88 log kob/g ve 2,81 log kob/g azalma sağlandığı belirlenmiştir [114].

Yapılan farklı bir çalışmada 10 g yonca tohumu % 10 malik asit (MA) ve % 1 tiamin dodesil sülfat (TDS) çözeltileriyle muamele edilmesi sonucu *E.coli* O157:H7 87-23 popülasyonunun tamamen elemine edildiği gözlemlenmiştir. Burada elde edilen sonuç 20000 ppm klor çözeltisi ile yapılan uygulama sonucu ile benzerlik göstermektedir [115].

Sonuç olarak, tohumlara çimlenme öncesi uygulanan dezenfeksiyon işleminin tohum filizlerine uygulanmasından daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca çimlenme işlemi sırasında mikrobiyal gelişmenin en düşük seviyede tutulabilmesi için çimlenme koşulları da göz önünde bulundurulmalıdır. Çimlenme işlemi sırasındaki yüksek nem ve sıcaklık mikrobiyal gelişmeyi destekler nitelikte olduğu bilinmektedir [76, 95].

Bitki hidrosolleri tohum dezenfeksiyonu yöntemleri arasında en ucuz en kolay elde edilebilir ve insan sağlığı açısından en az zararı olan yöntem olduğu tespit edilmiştir. Toksik değildir, özellikle klor bazlı bileşiklerle kıyaslandıklarında kanserojenik etkileri bulunmamaktadır.

Literatür incelemelerinde tohumlardan patojenlerin uzaklaştırılması işleminde başarılı olduğu görülmektedir. Yaptığımız bu çalışmada hem *Staphylococcus aureus* hem de *Salmonella* bulunan tohumları kekik hidrosolü ile farklı sürelerde elemine edilmiştir.

Buğday ve yeşil mercimeğe bulaştırılan *Salmonella* 'nın dezenfekte edilmesinde en etkili hidrosol kekik olurken, maş fasulyesinde hem zahter hem kekiğin etkisinden söz edilebilmektedir.

Staphylococcus aureus ile yaptığımız denemelerde ise sadece maş fasulyesinin kekik hidrosolü ile muamelesinde kesin sonuç elde edilebilmiştir. Buğdayda, kekik ve zahterle 1 log düzeyinde azalma sağlanırken yeşil mercimekte de yine kekik ve zahter hidrosolü ile 2 log düzeyinde azalma gözlemlenmiştir.

Tohumları hidrosolde bekletmemizin ana nedeni çimlenme esnasında oluşacak mikrobiyal gelişmeyi engellemektir. Fakat bu işlem esnasında tohumların çimlenebilme kabiliyetlerinde değişim olup olmadığı da göz önünde bulundurulması gereken bir husustur.

Hidrosolde bekletilen belirli miktardaki tohumun sonrasındaki çimlenme yüzdesine bakıldığında çimlenme kabiliyetinde en fazla kayıp yaşayan tohumun yeşil mercimek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle zahterle muamelesinde çimlenebilirlik oranı %35,2'ye gerilemiştir. Buğday ve maş fasulyesinde ise çimlenebilirlik oranı kullanılan hidrosolde göre farklılık göstermekle birlikte genelde %90 dolaylarında olduğu gözlemlenmiştir. Bazı tohumların çimlenebilirliği ise çalışmada kullandığımız tüm hidrosollere karşı olumsuz yönde etkilendiğinden dolayı her tohumun hidrosol ile dezenfeksiyonunun uygun olmadığı sonucu çıkarılabilir.

Bu çalışma ile giderek yaygınlaşan tohum filizlerinin tüketiminde bir risk teşkil eden, çimlenmeyle birlikte artış gösteren mikrobiyal gelişmeyi engellemek için bitki hidrosollerinin kullanımının oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen genel sonuç ve öneriler;

Bu çalışmada maş fasulyesi, yeşil mercimek ve buğday filizlerinin mikrobiyolojik açıdan insanlar tarafından tüketilebilir seviyede güvenliğini elde edebilmek için çimlenme öncesinde tohumlarının kekik, defneyaprağı ve zahter hidrosolleri ile dekontaminasyonlarının sağlanması amaçlanmıştır.

Bu amaçla tohumlara *S.Aureus* ve *S. Typhimurium* ayrı ayrı kontamine edilmiş ve tohumlar hidrosollerde 60 dk. süreyle bekletilerek hidrosollerin tohumlara kontamine edilen bakteriler üzerindeki inhibe edici etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada ayrıca, hidrosolle muamele işleminin tohumların çimlenme yeteneği üzerindeki olası olumsuz etkileri de incelenmiştir. Çalışma ile elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Kekik hidrosolü *Salmonella* popülasyonunu tüm tohumlardan, *S.Aureus* popülasyonunu ise maş fasulyesinden tamamen elimine edebilmiştir. Eliminasyon süresi tohum çeşidine göre değişiklik göstermiştir.
- Zahter ve defneyaprağı hidrosolleri ile yapılan çalışmada uygulama süresince tohumlara kontamine edilen patojen bakterilerin sayısında önemli bir azalma sağlanmıştır. Kekikte olduğu gibi dekontaminasyon etkinliği tohum çeşidi de muamele süresinden etkilenmiştir.
- Genel olarak hidrosollerin tohumlardaki bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi; kekik > zahter > defneyaprağı olarak sıralanabilir.
- Hidrosol muamelesi sonucu tohumların çimlenebilirlik kabiliyetlerinde % 5,8 ile % 64,8 arasında azalma gerçekleşmiştir. Hidrosol muamelesinden en fazla etkilenen tohum yeşil mercimek iken, zahter hidrosolü yeşil mercimek tohumunun çimlenebilirliği üzerinde en büyük azalmaya sebebiyet vermiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile bitki hidrosollerinin özellikle de kekik hidrosolünün, filiz üretiminde kullanılacak tohumların çimlenme öncesi dekontaminasyonunda güvenilir dezenfektanlar olduğu doğrulanmıştır.

Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgulara dayanılarak bundan sonra yapılabilecek araştırmalar ile ilgili aşağıdaki önerilerde bulunulabilir:

- Bazı tohumların hidrosol ile muameleleri sonrası çimlenebilirlikleri olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Bu yüzden her tohum için en etkili hidrosol araştırılmalıdır.
- Tohum filizlerinin sağlığa faydaları dikkate alındığında mevcut risklerin ortadan kaldırılması için yapılan çalışmalar oldukça önem arz etmektedir. Mikrobiyal riski ortadan kaldırırken tohumun besleyici özellikleri ve çimlenebilirlik kapasitesini etkilemeyen yöntemler üzerinde durulmalıdır.
- Soya fasulyesi, yonca gibi dünyada yaygın olarak filizi tüketilen tohumların hidrosollerle dekontaminasyonları araştırılmalıdır.
- Tohumların çimlenmesi sonrasında uygulanacak hidrosol ile dekontaminasyon işleminin etkinliği üzerinde çalışmalar yapılmalıdır.
- Hidrosollerle muamele işleminin filizlerin besin değerleri üzerindeki etkisi incelenmelidir.
- Hidrosollerin ısıtma işlemi, ışıklandırma gibi farklı teknikler ile birlikte kullanıldığında etkinliği incelenmelidir.

Bu yöntemler içinde bizim çalışma konumuz olan hidrosollerin kullanımı tohum dezenfeksiyonu için oldukça olumlu sonuçlar vermiştir. Bu yöntemin daha büyük ölçeklerde uygulanabilmesi için gerekli araştırma ve çalışmaların üzerinde geliştirilerek durulmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca özellikle toplumumuzun bu konularda bilgilendirilmesi, tohum filizi tüketiminin beslenme alışkanlıklarımız arasında yer etmesinin sağlanması, hastalık riski düşük, daha sağlıklı nesiller oluşturmamız açısından da oldukça büyük önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Penàs, E., Gómez, R., Frías, J. ve Vidal-Valverde, C., (2009). “Efficacy of Combinations of High Pressure Treatment, Temperature and Antimicrobial Compounds to Improve the Microbiological Quality of Alfalfa Seeds for Sprout Production”, Food Control, 20: 31-39.
- [2] Öztürk, D., (2008). Çimlendirilmiş Buğday Tanesinin Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi ve Doğal Gıda Katkı Maddesi Olarak Değerlendirilme İmkânlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- [3] NACMCF, (1999). Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Sprouted Seeds, International Journal of Food Microbiology, 52: 123-153.
- [4] De Roeve, C., (1998). “Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Fresh Produce”, Food Control, 9 (6): 321-347.
- [5] Montville, R. ve Schaffner, D., (2005). “Monte Carlo Simulation of Pathogen Behavior During the Sprout Production Process”, Applied and Environmental Microbiology, 71(2): 746-753.
- [6] Alonzo, A.G., Mirasol, C.B., Estrada, A.M.P., Lopez, G.A.A., Nery, J.G.B. ve Villaflor, E.J.B., (2007). “Microbiology of Retail Mung Bean Sprouts Vended in Public Markets of National Capital Region, Philippines”, Food Control, 18: 107-1313.
- [7] Mohle-Boetani, J.C., Farrar, J.A., Werner, S.B., Minassian, D., Bryant, R., Abbott, S., Slutsker, L. ve Vugia, D.J., (2001). “Escherichia coli O157 and Salmonella Infections Associated with Sprouts in California, 1996–1998”, Annals of Internal Medicine, 135: 239-247.
- [8] Piernas, V. ve Guiraud, J.P., (1997). “Microbial Hazards Related to Rice Sprouting”, Int. J. Food Sci. Technology, 32: 33-39.
- [9] Törnük, F., Cankurt, H., Ozturk, I., Sagdic, O., Bayram, O. ve Yetim, H., (2011). “Efficacy of Various Plant Hydrosols as Natural Food Sanitizers in Reducing

Escherichia coli O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on Fresh Cut Carrots and Apples”, International Journal of Food Microbiology, 148: 30-35.

- [10] Choi, S., Beuchat, L.R., Kim, H. ve Ryu, J.-H., (2016). “Viability of Sprout Seeds as Affected by Treatment with Aqueous Chlorine Dioxide and Dry Heat and Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on Pak Choi Seeds by Sequential Treatment with Chlorine Dioxide, Drying and Dry Heat”, Food Microbiology, 54: 127-132.
- [11] Altan, A., (1986). Tahıl İşleme Teknolojisi, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Adana.
- [12] Elgün, A. ve Ertugay, Z., (2002). Tahıl İşleme Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 718, Erzurum.
- [13] Dizlek, H., (2010). Süne Zararına Uğramış Ekmeklik Buğdayların Bazı Niteliklerinin İncelenmesi ve İyileştirilmesi Olanakları Üzerine Bir Araştırma, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- [14] Rana, S., Kamboj, JK. ve Gandhi, V., (2011). “Living Life the Natural Way – Wheatgrass and Health”, Functional Foods in Health and Disease, 1(11): 444-456.
- [15] Tay. S., (2014). “Buğday Çimi Marmelatı, Uhut”, 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, Adana.
- [16] Nygaard, D.F. ve Hawtin, G.C., (1981). “Lentils Production, Trade and Uses”, ICARDA, 1981, Aleppo, SYRIA.
- [17] Saint-Clair, P.M., (1972). Responses of *Lens esculenta* Moench. to Controlled Environmental Factor. H. Weenmen-Zone N.V. Wageningen 84 s.
- [18] Sulser, H. ve Sager, F., (1974). “Identification of Uncommon Amino Acids in the Lentil Seed”, Lebensm-wiss-Techol, 7: 327.
- [19] Bozoğlu, H. ve Topal, N., (2005), “Ülkemiz İçin Yeni Yemeklik Tane Baklagil Türleri”, Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, 5-9 Eylül 2005, Antalya.
- [20] Toker, C., Çancı, H., Hag, M. A. Ve Çağırğan, D., (2002). “Türkiye’nin Batı Akdeniz Bölgesinde Yetistirilen Mas Fasülyesi [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Genotiplerinin Agronomik, Morfolojik ve Fenolojik Özelliklerinin Belirlenmesi”, Turkish J. of Field Crops, 78-83.
- [21] Bailey, I.H., (1949). Manual of Cultivated Plants, Macmillan Publishing, New York, Macmillan.
- [22] De Candolle, A., (1959). Origin of Cultivated Plants, Transformation. IFPRI Discussion Paper, 00922, November 2009, 1, 36. New York.

- [23] Hu, Y., (2003). *Compendium of Materia Medica-Food Application*, China Ancient Books Press, Pp. 78-80, Beijing, China.
- [24] Anonymous, <http://www.erathnotes.tripod.com/adzuki.html>, 2004.
- [25] Çiftçi, C.Y., (2004). *Dünyada ve Türkiye’de Yemeklik Tane Baklagiller Tarımı*, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Yayınlar Dizisi, 5, Ankara.
- [26] Jomduang, S., (1985). *Production and Charocterization of Vegetable Protein Products from Mungbean and Soybean*, Thesis of MS, Kasetsar University, Thailand.
- [27] Amiryousefi, MR. ve Razavi, SMA., (2013). “Viscous Flow Behavior, Microstructure and Physicochemical Characteristics of a Sweet Paste Functional Dessert (Samanu) Made from Germinated Wheat”, *Journal of Food Process Engineering*, 36: 385–396.
- [28] Rana, S., Kamboj, JK. ve Gandhi, V. (2011). “Living life the natural way – Wheatgrass and Health”, *Functional Foods in Health and Disease*, 1(11): 444-456.
- [29] Kurtzweil, P., (1999). “Questions keep sprouting about sprouts”, *FDA Consum*, 33: 18-22.
- [30] Ashish, S., Shilpa, K., Singh, RR., Sanjay, K. ve Rajendran, N., (2012). “Wheatgrass: An alternative household nutritional food security”, *International Research Journal of Pharmacy*, 3(7): 246-250.
- [31] Bau, HM., Villaume, C., Nicolas, JP. Ve Méjean, L., (1997). “Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Antinutritional Factors of Soya Bean (*Glycine max*) Seeds”, *Journal of Science Food and Agricultural*, 73: 1-9.
- [32] Chen H, Wells CE, Ford R (1975) *J Food Sci* 49:656–657
- [33] Dávalos, A., Bartolomé, B. ve Gómez-Cordovés, C., (2000). “Futuras Tendencias en la Alimentación”, *Alimentación Equipos y Tecnología*, 19: 192–196
- [34] McCarthy, M.A., Matthews, R.H. (1994). Nutritional quality of fruits and vegetables subject to minimal processes, p. 313-326. In: R.C. Wiley (ed.). *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman and Hall, New York.
- [35] Finley, JW., Ip, C., Lisk, DJ., Davis, CD., Hintze, KJ. Ve Whanger, PD., (2001). “Cancer Protective Properties of High-Selenium Broccoli”, *J Agric Food Chem*, 49: 2679-2683.

- [36] Zhang, Y., Munday, R., Jobson, HE., Munday, CM., Lister, C., Wilson, P., Fahey, JW. ve Mhaweche-Fauceglia, P., (2006). "Induction of GST and NQO1 in Cultured Bladder Cells and in the Urinary Bladders of Rats by an Extract of Broccoli (*Brassica oleracea* ssp. *italica*) Sprouts", J Agric Food Chem, 54: 9370-9376.
- [37] Hsu, CK., Chiang, BH., Chen, YS., Yang, JH. ve Liu, CL., (2008). "Improving the Antioxidant Activity of Buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) Sprout with Trace Element Water", J Agric Food Chem, 108: 633-641.
- [38] Kim, LS., Kim, KS. ve Park, HC., (2004). "Introduction and Nutritional Evaluation of Buckwheat Sprouts as a New Vegetable", Food Research International, 37: 319-327.
- [39] Kim, SJ., Zaidul, ISM., Suzuki, T., Mukasa, Y., Hashimoto, N., Takigawa, S., Noda, T., Matsuura-Endo, C. ve Yamauchi, H., (2008). "Comparison of Phenolic Compositions Between Common and Tartary Buckwheat (*Fagopyrum*) Sprouts", Food Chem, 110: 814-820.
- [40] Lintschinger, J., Fuchs, N., Moser, H., Jager, R., Hlebeina, T., Markolin, G. Ve Gossler, W., (1997). "Uptake of Various Trace Elements During Germination of Wheat, Buckwheat and Quinoa", Plant Foods for Human Nutrition, 50: 223-237.
- [41] Setchell, KD., (1998). "Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones", Amer J Clin Nutr 68 (suppl): 1333– 1346.
- [42] Messina, MJ., (1999). "Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects", Amer J Clin Nutr 70 (suppl): 439-450. J. Amer J Clin Nutr 70 (suppl):439-450.
- [43] Gallagher, JC., Rafferty, D. ve Wilson, M., (1999). The effects of soy isoflavone intake on bone metabolism in post-menopausal women. Poster, Abstract, Second International Symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. Brussels, Belgium
- [44] Sirtori, CR., Gianazza, E., Manzoni, C., Lovati, MR. ve Murphy, PA., (1997). "Role of isoflavones in the cholesterol reduction by soy proteins in the clinic", Amer J Clin Nutr 65:166–167.
- [45] Plaza, L., Ancos, B. ve Cano, MP., (2003). "Nutritional and Health-Related Compounds in Sprouts and Seeds of Soybean (*Glycine max*), Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Alfalfa (*Medicago sativa*) Treated By a New Drying Method", Eur Food Res Techno., 216: 138-144.
- [46] Khattak, AB., Zeb, A., Khan, M., Bibi, N., Ihsanullah, I. ve Khattak, MS., (2007). "Influence of Germination Techniques on Sprout Yield, Biosynthesis of

Ascorbic Acid and Cooking Ability, in Chickpea (*Cicer arietinum* L.)", Food Chem, 103: 115-120.

- [47] Geervani, P., (1991). "Utilization of Chickpea in India and Scope for Novel and Alternative Uses. In Uses of Tropical Grain Legumes", Proceedings of Consultants' Meeting, 27–30 March, 1989, ICRISAT Center, Patancheru, Andhra Pradesh, India.
- [48] Lee, S.J., Ahn, J.K., Khanh, T.D., Chun, S.C., Kim, S.L., Ro, H.M., Song, H.K. ve Chung, I.M., (2007). "Comparison of Isoflavone Concentrations in Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Sprouts Grown under Two Different Light Conditions", J Agric Food Chem, 55: 9415-9421.
- [49] Hamilton, M.J. ve Vanderstoep, J., (1979). "Germination and Nutrient Composition of Alfalfa Seeds", J Food Sci, 44 (2): 443-445.
- [50] Dueñas, M., Hernández, T., Estrella, I. ve Fernández, D., (2009). "Germination As a Process to Increase the Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Lupin Seeds (*Lupinus angustifolius* L.)", Food Chem, 117: 599-607.
- [51] Rana, S., Kamboj, J.K., Gandhi, V., (2011). "Living life the natural way – Wheatgrass and Health", Functional Foods in Health and Disease, 1(11): 444-456.
- [52] Yang, F., (2000). Nutritional Evaluation of Germinated Wheat and Its Use in a Nutritional Bar, Thesis of Master of Science, University of Alberta, Edmonton, Canada.
- [53] Öztürk, İ., (2008). Çimlendirilmiş Buğday Tanesinin Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi ve Doğal Gıda Katkı Maddesi Olarak Değerlendirilme İmkânlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Türkiye.
- [54] Arın, L., Arıcı, M., Polat, S. ve Ateş, E., (2014). "Bazı Lahanagil (*Cruciferae*) ve Baklagil (*Fabaceae*) Türlerinin Tohum Filizlerindeki Kimyasal Özelliklerinin Değişimi ve Beslenme Değeri", Tarım Bilimleri Dergisi, Cilt:20,Sayı:3 s:230-238.
- [55] De Roever, C., (1998). "Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce", Food Control, 9 (6): 321-347.
- [56] Thompson, S., Powell, D.A., (2000). Risks associated with the consumption of fresh sprouts: Food Safety Network, <http://www.foodsafetynetwork.ca>, Accessed October 2007.
- [57] Wood, M., (2000). Safer sprouts: Agricultural Research Magazine, <http://www.ars.usda.gov>, Accessed October 2007.

- [58] Waje, C.K., Jun, S.Y., Lee, Y.K., Kim, B.N., Han, D.H., Jo, C. ve Kwon, J.H., (2009). "Microbial quality assessment and pathogen inactivation by electron beam and gamma irradiation of commercial seed sprouts", *Food Control*, 20: 200-204.
- [59] Rosas, C.J. ve Escartin, E.F., (2000). "Survival and growth of *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* O157:H7 in alfalfa sprouts", *Journal of Food Science*, 65: 162–165.
- [60] Sharma, R.R. ve Demirci, A., (2003). "Treatment of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water", *International Journal of Food Microbiology*, 86: 231- 237.
- [61] Montville, R. ve Schaffner, D., (2005). "Monte Carlo simulation of pathogen behavior during the sprout production process", *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2): 746-753.
- [62] Buck, J., Walcott, R. ve Beuchat, L., (2003). "Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables", *Plant. Health Prog.*, 10: 1094.
- [63] Tournas, V., (2005). "Moulds and yeasts in fresh and minimally processed vegetables, and sprouts", *Int. J. Food Microbiol.*, 99: 71-77.
- [64] Bang, J., Kim, H., Beuchat, L.R. ve Ryu, J.-H., (2011). "Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on radish seeds by sequential treatments with chlorine dioxide, drying, and dry heat without loss of seed viability", *Appl. Environ. Microbiol.*, 77: 6680-6686.
- [65] Waje, C.K. ve Kwon, J.K., (2007). "Improving the food safety of seed sprouts through irradiation treatment", *Food Science and Biotechnology*, 16: 171-176
- [66] Dechet, A.M., Herman, K.M., Chen Parker, C., Taormina, P., Johanson, J., Tauxe, R.V. ve Mahon, B.E., (2014). "Outbreaks caused by sprouts, United States, 1998-2010: lessons learned and solutions needed", *Foodborne Pathog. Dis.* 11: 635-644.
- [67] Watanabe, Y., Ozasa, K., Mermin, J.H., Griffin, P.M., Masuda, K., Imashuku, S. ve Sawada, T., (1999). "Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan", *Emerg. Infect. Dis.*, 5: 424.
- [68] Uphoff, H., Hedrich, B., Strotmann, L., Arvand, M., Bettge-Weller, G. ve Hauri, A., (2014). "A prolonged investigation of an STEC-O104 cluster in Hesse, Germany, 2011 and implications for outbreak management", *J. Public Health*, 22: 41-48.
- [69] Caetano- Anolles, G., Favelukes, G. ve Bauer, W.D., (1990). "Optimization of surface sterilization for legume seed", *Crop Science*, 30: 708-712.

- [70] Beuchat, L.R., (1996). "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce", J. Food Prot. 59: 204-216.
- [71] Gutierrez, E., (1997). "Japan prepares as O157 strikes again", Lancet, 349: 1156.
- [72] Piernas, V. ve Guiraud., J.P., (1998). "Control of microbial growth on rice sprouts", International Journal of Food Science and Technology, 33: 297-305.
- [73] Kim, S.A., Kim, O.M. ve Rhee, M.S., (2013). "Changes in microbial contamination levels and prevalence of foodborne pathogens in alfalfa (*Medicago sativa*) and rapeseed (*Brassica napus*) during sprout production in manufacturing plants", Lett. Appl. Microbiol., 56: 30-36.
- [74] Taormina, P.J., Beuchat, L.R. ve Slutsker, L., (1999). "Infections associated with eating seed sprouts: an international concern", Emerg Infect Dis, 5: 626-34.
- [75] Winthrop, K.L., Palumbo, M.S., Farrar, J.A., Mohle-Boetani, J.C., Abbott, S., Beatty, M.E., Inami, G. ve Werner, S.B., (2003). "Alfalfa sprouts and *Salmonella* Kottbus infection: a multistate outbreak following inadequate seed disinfection with heat and chlorine", J. Food Prot., 66: 13-17.
- [76] Rajkowski, K.T. ve Thayer, D.W., (2000). "Reduction of *Salmonella* spp. and strains of *Escherichia coli* O157:H7 by gamma irradiation of inoculated sprouts", Journal of Food Protection, 63: 871-875.
- [77] Bari, M.L., Al-Haq, M.I., Kawasaki, T., Nakauma, M., Todoriki, S., Kawamoto, S. ve Isshikii, K., (2004). "Irradiation to kill *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on ready-to-eat radish and mungbean sprouts", Journal of Food Protection, 67: 2263-2268.
- [78] Törnük, F., Öztürk, İ., Sağdıç, O. ve Yetim, H., (2011). "Determination and Improvement of Microbial Safety of Wheat Sprouts with Chemical Sanitizers", Foodborne Pathogens and Disease, 8 (4): 503-508.
- [79] Ding, H., Fu, T-J. ve Smith, M.A., (2013). "Microbial Contamination in Sprouts: How Effective is Seed Disinfection Treatment", Journal of Food Science, Vol. 78, Nr. 4: 495-501.
- [80] Kim, Y.B., Kim, H.W., Song, M.K. ve Rhee, M.S., (2015). "Decontamination method using heat and relative humidity for radish seeds achieves a 7- log reduction of *Escherichia coli* O157:H7 without affecting product quality", International Journal of Food Microbiology, 201: 42-46.
- [81] Bari, M.L., Inatsu, Y., Isobe, S. ve Kawamoto, S., (2008). "Hot water treatments to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in mung bean seeds", J Food Prot., 71: 830-4.

- [82] Bari, ML., Enomoto, K., Nei, D. ve Kawamoto, S., (2010). "Practical evaluation of Mung bean seed pasteurization method in Japan", J Food Prot., 73: 752–57.
- [83] Neetoo, H., Ye, M. Ve Chen, H., (2008). "Potential application of high hydrostatic pressure to eliminate Escherichia coli O157:H7 on alfalfa sprouted seeds", Intl J Food Microbiol, 128: 348–53.
- [84] Neetoo, H., Ye, M. ve Chen, H., (2009). "Factors affecting the efficacy of pressure inactivation of Escherichia coli O157:H7 on alfalfa seeds and seed viability", Intl J Food Microbiol, 131: 218–23.
- [85] U.S. Food and Drug Administration Memorandum, (1999). M. Walderhaug to J. Ziyad, December 15.
- [86] U.S. FoodandDrugAdministration, (2000). Irradiationin the production, processing and handling of food, Fed Regist 65(210):64605–7.
- [87] TKG (2005). Gıda ve İşinlama Yönetmeliği, http://www.kkgm.gov.tr/yonetmelik/gida_isinlama.html.
- [88] Saroj, S. D., Hajare, S., Shashidhar, R., Dhokane, V., Sharma, A. ve Bandekar, J. R., (2007). "Radiation processing for elimination of *Salmonella typhimurium* from inoculated seeds used for sprout making in India and effect of irradiation on germination of seeds", Journal of Food Protection, 70 (8): 1961-1965.
- [89] Penàs, E., Gómez, R., Frías, J. ve Vidal-Valverde, C., (2010). "Efficacy of combinations of high pressure, temperature and antimicrobial products on germination of mung bean seeds and antimicrobial quality of sprouts", Food Control, 21: 82-88.
- [90] Sagdic, O., (2003). "Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols", LWT – Food Science and Technology, 36 (5): 467-473.
- [91] Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. ve Cliver, D.O., (2010). "Antimicrobial herb and spice compounds in food", Food Control, 21: 1199-1218.
- [92] Sagdic, O. Ve Ozcan, M., (2003). "Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols", Food Control 14: 141-143.
- [93] Chorianopoulos, N.G., Giaouris, E.D., Skandamis, P.N., Haroutounian, S.A. ve Nychas, G.J.E., (2008). "Disinfectant test against monoculture and mixed-culture biofilms composed of technological, spoilage and pathogenic bacteria: bactericidal effect of essential oil and hydrosol of *Satureja thymbra* and comparison with standard acid-base sanitizers", Journal of Applied Microbiology, 104: 1586-1596.

- [94] Porte, A. ve Godoy, R.L.O., (2008). "Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil)", Journal of the Serbian Chemical Society, 73 (3): 307-310.
- [95] Törnük, F. ve Dertli, E., (2015). "Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* from fresh-cut parsley with natural plant hydrosols", Journal of Food Processing and Preservation, 39: 1587-1594.
- [96] Sagdic, O., Ozturk, I. ve Tornuk, F. (2013). "Inactivation of non-toxigenic and toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on minimally processed tomatoes and cucumbers: Utilization of hydrosols of Lamiaceae spices as natural food sanitizers", Food Control, 30 (1): 7-14.
- [97] Ozturk, I., Tornuk, F., Aydogan-Caliskan, O. ve Durak, M.Zeki. (2016). "Decontamination of iceberg lettuce by some plant hydrosols", Food Science and Technology, 74: 48-54.
- [98] Issa-Zacharia, A., Kamitani, Y., Miwa, N., Muhimbula, H. ve Iwasaki, K., (2011). "Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts", Food Control, 22: 601-607.
- [99] Kim, C., Hung, Y.-C., Brackett, R.E. ve Lin, C.-S., (2003). "Efficacy of electrolyzed oxidizing water in inactivating *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts", Journal of Food Protection, 66: 208-214.
- [100] Issa-Zacharia, A., Kamitani, Y., Miwa, N., Muhimbula, H. ve Iwasaki, K., (2010). "Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts", Food Control, 22 (2011): 601-607.
- [101] Chemat, F., Zill-e-Huma ve Khan, M.K. (2011). "Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction", Ultrasonics Sonochemistry, 18: 813–835.
- [102] O'Donnell, C.P., Tiwari, B.K., Bourke, P. ve Cullen, P.J. (2010). "Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance", Trends in Food Science & Technology, 21: 358–367.
- [103] Jayasooriya, S. D., Bhandari, B. R., Torley, P. D. ve Arcy, B. R. (2004). "Effect of high power ultrasound waves on properties of meat: a review", International Journal of Food Properties, 7: 301– 319.
- [104] Kwak, T.Y., Kim, N.H. ve Rhee, M.S. (2011). "Response surface methodology-based optimization of decontamination conditions for *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on freshcut celery using thermoultrasound and calcium propionate", International Journal of Food Microbiology, 150: 128–135.

- [105] Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S. ve Ashokkumar, M. (2012). "Ultrasonics in food processing-food quality assurance and food safety", *Trends in Food Science & Technology*, 26: 88 –98.
- [106] Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. ve Chemat, F. (2013). "Degradation during application of ultrasound in food processing: a review", *Food Control*, 31: 593–606.
- [107] Yaldagard, M., Mortazavi, S.A. ve Tabatabaie, F. (2008). "Influence of ultrasonication stimulation on germination of barley seed and its alpha-amylase activity", *African Journal of Biotechnology*, 7: 2465–2471.
- [108] Pierre, P., ve E. Ryser, (2006). "Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium DT104, and *Listeria monocytogenes* on inoculated alfalfa seeds with a fatty acid–based sanitizer". *J. Food Prot.* 69: 582–590.
- [109] Lang, M., B. Ingham, ve S. Ingham., (2000). "Efficacy of novel organic acid and hypochlorite treatments for eliminating *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting", *Int. J. Food Microbiol.*, 58: 73–82.
- [110] Abee, T., L. Krockel, ve C. Hill., (1995). "Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning", *Int. J. Food Microbiol.*, 28: 169–185.
- [111] Jack, R. W., J. R. Tagg, ve B. Ray., (1995). "Bacteriocins of grampositive bacteria", *Microbiol. Rev.*, 59: 171–200.
- [112] Molinos, AC., Abriouel, H., Ben Omar, N., Valdivia, E., Lo'pez, LR., Maqueda, M., Canˆamero, MM. ve Ga'lvez, A., (2005). "Effect of immersion solutions containing enterocin AS-48 on *Listeria monocytogenes* in vegetable foods", *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 7781–7787.
- [113] Miller, RV., Jeffrey, W., Mitchell, D. Ve Elasri, M., (1999). "Bacterial responses to ultraviolet light", *ASM News*, 65: 535–541.
- [114] Kim, Y., Kim, M. ve Song, KB., (2009). "Combined treatment of fumaric acid with aqueous chlorine dioxide or UV-C irradiation to inactivate *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* inoculated on alfalfa and clover sprouts", *LWT Food Sci. Technol.*, 42: 1654–1658.
- [115] Fransisca, L., Park, H.K., ve Feng, H. (2012). "*Escherichia coli* O157:H7 population reduction from alfalfa seeds with malic acid and thiamine dilauryl sulfate and quality evaluation of the resulting sprouts", *Journal of Food Science* Vol., 77, Nr. 2: 121-126.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı Neyran ŞAHAN
Doğum Tarihi ve Yeri Kadıköy 1985
Yabancı Dili İngilizce
E- posta neyran_kevelcioglu@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Gıda Mühendisliği	Ege Üniversitesi	2009
Lise	Ağırlama ve Gıda Teknolojisi	Maltepe Anadolu Kız Meslek Lisesi	2003

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2013	Bismil İlçe Gıda Tarım Hayvancılık Müdürlüğü	Gıda Kontrolörü
2014	Bağlar İlçe Gıda Tarım Hayvancılık Müdürlüğü	Gıda Kontrolörü
2015	İstanbul Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü	Gıda Kontrolörü

YAYINLARI

Makale

1. Application of plant hydrosols for decontamination of wheat, lentil and mung bean seeds prior to sprouting (Quality Assurance and Safety of Crops & Foods: 8 (4) - Pages: 575 – 582. 2016)

