

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TANE VE TOZ KARABİBER
ÜZERİNE OZONUN DEKONTAMİNASYON
YÖNTEMİ OLARAK ETKİSİ

Zehra EMER
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE

2005

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TANE VE TOZ KARABİBER
ÜZERİNE OZONUN DEKONTAMİNASYON
YÖNTEMİ OLARAK ETKİSİ

Zehra EMER
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Murat ÖZDEMİR

GEBZE
2005

ÖZET

Bu çalışmada toz ve tane karabiber örnekleri %80 bağıl nem ve 25°C sıcaklıkta farklı ozon konsantrasyonlarına (0.1, 0.5 ve 1.0 ppm) farklı sürelerde (0-360 dakika) maruz bırakılmışlardır. Toz ve tane karabiberin ozon gazı ile muamelesi sonucunda toz ve tane karabiber örneklerindeki *E. coli* inaktivasyonu incelenmiştir. Kontrol olarak toz ve tane karabiber örnekleri aynı koşullar altında 0-360 dakika ozonlanmadan bırakılmış olup, örneklerin mikrobiyal yüklerinde herhangi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

0.1 ve 0.5 ppm ozon konsantrasyonu ile muamele edilen toz karabiber örneklerindeki *E. coli* 360 dakika sonunda tamamen inaktive olurken, 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda *E. coli*'nin inaktivasyon süresi 240 dakikaya inmiştir. 0.1 ppm ozon konsantrasyonu ile muamele edilen tane karabiber örneklerindeki *E. coli* 360 dakika sonunda, 0.5 ppm ozon konsantrasyonu ile muamele edilen örneklerdeki *E. coli* 240 dakika sonunda ve 1.0 ppm ozon konsantrasyonu ile muamele edilen örneklerdeki *E. coli* ise 120 dakika sonunda tamamen inaktive olmuştur.

Tane karabiberlerin duyuşal özelliklerinde herhangi bir değişiklik olmadan tamamen *E. coli* inaktivasyonunun sağlanması için, tane karabiberlerin 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanması gerektiği belirlenmiştir. Toz karabiberin duyuşal özelliklerinin değişmeden tamamen *E. coli* inaktivasyonu için, toz karabiberlerin 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 240 dakika süre ile ozonlanması gerektiği tespit edilmiştir.

SUMMARY

In this study, ground and black pepper samples were exposed to different ozone concentrations (0.1, 0.5 and 1.0 ppm) at %80 RH (relative humidity) and 25°C for different times (0-360 minutes). Inactivation of *E. coli* in ground and black pepper samples was examined after the samples were exposed to gaseous ozone. As the control ground and black pepper samples were not subjected to ozone, but they were kept for 0-360 minute in the same conditions and no changes in the microbial load of these samples were detected.

While *E. coli* in ground pepper samples treated with ozone at a concentration of 0.1 and 0.5 ppm was completely inactivated after 360 minutes, at 1.0 ppm ozone concentration the *E. coli* inactivation time diminished to 240 minute. *E. coli* in black pepper samples treated with 0.1, 0.5 and 1.0 ppm ozone concentrations was completely inactivated after 360, 240 and 120 minutes, respectively.

For the complete inactivation of *E. coli* without any changes in organoleptic properties of black pepper samples, it was determined that black peppers must be ozonated at a concentration of 1.0 ppm for 120 minutes. For the complete inactivation of *E. coli* without any significant changes in organoleptic properties of ground pepper, it was determined that ground peppers must be ozonated at 1.0 ppm ozone concentration for 240 minutes.

TEŞEKKÜR

Çalışmada danışmanlığımı üstlenen, çalışma süresince bilgileri ve görüşleriyle yardımcı olan danışmanım Doç. Dr. Murat ÖZDEMİR'e, jüri üyelerim Yrd. Doç. Dr. Mahmut ŞEKER ve Yrd. Doç. Dr. Hasan SADIKOĞLU'na teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarının gerçekleşmesinde emeği olan Araş. Gör. Meltem AKBAŞ'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni destekleyen ve karşılaştığım güçlüklerde bana yol gösteren aileme de teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Hipotez	2
1.2. Amaç	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Escherichia coli</i> ve Özellikleri	4
2.1.1. Enterohemorajik <i>E. coli</i>	5
2.1.2. Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	7
2.1.3. Enteroinvaziv <i>E. coli</i>	8
2.1.4. Enteropatojenik <i>E. coli</i>	8
2.1.5. Enteroagratif <i>E. coli</i>	9
2.1.6. Difüz Adherent <i>E. coli</i>	9
2.1.7. <i>E. coli</i> 'nin Taşınmasında Aracı Olan Gıdalar	9
2.2. Ozon Gazı	10
2.2.1. Ozon Gazının Etkinliğine Etki Eden Çevresel Faktörler	11
2.2.1.1. Sıcaklık	11
2.2.1.2. pH	11
2.2.1.3. Bağıl Nem	12
2.2.1.4. Organik Bileşikler	12
2.2.2. Ozonun Mikroorganizmalar Üzerindeki Etkisi	13
2.2.2.1. Bakteriler	13
2.2.2.2. Virüsler	14
2.2.2.3. Küfler	15
2.2.2.4. Protozoonlar	16

2.2.3. Ozon Gazının Antimikrobiyal Etkisi	16
2.2.4. Gıda Sanayinde Ozon Kullanımı	19
2.3. Karabiber	22
3. MATERİYAL VE METOT	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Karabiber	25
3.1.2. Ozonlama Sistemi	25
3.2. Metot	26
3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması	26
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler	26
3.2.3. Duyusal Analizler	27
3.2.4. İstatistiksel Analizler	27
4. SONUÇLAR	28
4.1. Mikrobiyolojik Sonuçlar	28
4.2. Duyusal Sonuçlar	38
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	49

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Ozonun bakteriler üzerindeki etkisi	14
2.2. Ozonun virüsler üzerindeki etkisi	15
2.3. Ozonun küfler üzerindeki etkisi	15
2.4. Ozonun protozoonlar üzerindeki etki	16
2.5. Türk Gıda Kodeksine (Baharat Tebliği, 2000) göre baharatların sahip olması gereken mikrobiyolojik kriterler	23
2.6. Türk Gıda Kodeksine (Baharat Tebliği, 2000) göre tane karabiberin sahip olması gereken fiziksel ve kimyasal özellikler	24
2.7. Türk Gıda Kodeksine (Baharat Tebliği, 2000) göre toz karabiberin sahip olması gereken fiziksel ve kimyasal özellikler	24
4.1. Farklı ozon konsantrasyonlarının tane karabiberdeki <i>E. coli</i> üzerindeki etkisi	28
4.2. Farklı ozon konsantrasyonlarının toz karabiberdeki <i>E. coli</i> üzerindeki etkisi	33
4.3. Ozonlanmış tane karabibere ait duyusal analiz sonuçları	38
4.4. Ozonlanmış toz karabibere ait duyusal analiz sonuçları	39

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. 0.1 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış tane karabiberde <i>E. coli</i> bakterisinin inaktivasyonu	29
4.2. 0.5 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış tane karabiberde <i>E. coli</i> bakterisinin inaktivasyonu	30
4.3. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış tane karabiberde <i>E. coli</i> bakterisinin inaktivasyonu	31
4.4. 0.1 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış toz karabiberde <i>E. coli</i> bakterisinin inaktivasyonu	34
4.5. 0.5 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış toz karabiberde <i>E. coli</i> bakterisinin inaktivasyonu	35
4.6. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış toz karabiberde <i>E. coli</i> bakterisinin inaktivasyonu	36

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Ozonlama sistemi	25
4.1. Ozonlanmamış tane karabiber örneğinde <i>E. coli</i> bakterisi	32
4.2. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 60 dakika süre ile ozonlanmış tane karabiber örneğinde <i>E. coli</i> bakterisi	32
4.3. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanmış tane karabiber örneğinde <i>E. coli</i> bakterisi	32
4.4. Ozonlanmamış toz karabiber örneğinde <i>E. coli</i> bakterisi	37
4.5. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanmış toz karabiber örneğinde <i>E. coli</i> bakterisi	37
4.6. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 240 dakika süre ile ozonlanmış toz karabiber örneğinde <i>E. coli</i> bakterisi	37

1. GİRİŞ

Yemeklere farklı lezzet veren karabiber, ülkemizde birçok yemekte beğenilerek kullanılmaktadır. Fakat ülkemizin iklimi karabiberin yetiştirilebilmesi için uygun değildir. Bu nedenle her yıl yaklaşık olarak 3,000 ton karabiber ithal edilmektedir.

Karabiberin ticari olarak üretimi sırasında karabiberde mikrobiyal kirlenme meydana gelebilmekte ve bu da üründe önemli kalite kayıplarına neden olmaktadır. Karabiber üretim aşamaları boyunca (ekin toplama, kurutma, taşıma giderme, öğütme ve paketlenme) özellikle *E. coli*, *Bacillus spp.* ve *Salmonella* gibi bakterilerle kolaylıkla kontamine olabilmektedir. Karabiber üretim aşaması dışında, taşınması esnasında da bakteriyel kontaminasyona maruz kalabilmektedir.

Gıda üretiminde uygulanan işlemler ve muhafaza yöntemleri kaliteyi belirleyici etkiye sahiptir. Gıdaların değişik mikroorganizmalarla kontaminasyonu ve bunun getirdiği kalite sorunlarının çözümü büyük önem taşımaktadır. Gıdalar tüketiciye zarar verecek herhangi bir kimyasal, fiziksel veya biyolojik etken içermemelidir.

1.1. Hipotez

Karabiber sahip olduğu farklı koku ve lezzeti ile birçok ÷lkede birçok yemekte beğenilerek kullanılmaktadır. Karabiberin ticari üretimi çok basamaklı bir metot olup; ekin toplama, kurutma, taşıını giderme, öğütme ve paketleme evrelerini içerir. Bu aşamalar esnasında karabiber sık sık mikroorganizmalar tarafından kontamine olabilmektedir. Karabiberi zararlı mikroorganizmalardan arındırmak için uygulanan en yaygın metot, karabiberin etilen oksit gazı ile kimyasal işleme tabi tutulmasıdır. Bu yöntem etilen oksitin zehirlilik ve aşırı alev alma özelliğı nedeniyle Avrupa Tüzük ve Yönetmeliklerine (EC) uyan ÷lkelerde yasaklanmıştır. Karabiberdeki mikroorganizma seviyesinin indirgenmesi amacı ile gama ışını yöntemi tüketiciler tarafından bu teknolojinin olumlu karşılanmaması nedeniyle baharat sanayi tarafından tercih edilmemektedir. Diğer bir yöntem olan kimyasal koruyucular da baharat üretimi işleminde çekici olmayan alternatiflerdir. Bu nedenle baharat üreticileri baharatlardaki mikroorganizmaları arındırmak için alternatif yöntemlere ihtiyaç duymaktadırlar.

Ozon gazı, güçlü sterilize etme özelliklerine sahip bir gazdır. Başta su olmak üzere birçok taze meyve ve sebzedeki mikroorganizma yükünü azaltmak için güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat baharatlar için, özellikle de toz ve tane karabiberde, ozonun arındırıcı gaz olarak kullanımı fazla çalışılmamıştır. Ozon gazının toz ve tane karabiberdeki antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi baharat sanayi tarafından büyük önem taşımaktadır.

Bu bilgilerin ışığı altında bu çalışmanın hipotezi şudur; toz ve tane karabiber ozon gazı ile muamele edilerek yapısında herhangi bir değışiklik meydana gelmeden mikrobiyal bakımdan güvenli hale getirilebilir ve ozon gazı baharat sanayi için alternatif bir yöntem olabilir.

1.2. Amaç

Bu çalışmanın ana amacı, son yıllarda gıdaların muhafazasında kullanılan ozonlama teknolojisinin, baharatlar içerisinde yaygın olarak kullanılmakta olan toz ve tane karabiber için de güvenli bir şekilde kullanılabileceğinin gösterilmesi ve uygun ozon konsantrasyonu ve süresinin belirlenmesidir.

Bu çalışmanın bir diğer amacı da, ozonlamanın toz ve tane karabiberin dekontaminasyonu amacı ile kullanılan etilen oksit ve gama ışınlamasına alternatif bir metot olabileceğinin gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli* ve Özellikleri

Escherichia coli ilk kez 1885 yılında Theodor Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve önce *Bacterium coli commune* olarak, daha sonra *Escherichia coli* (*E. coli*) olarak adlandırılmıştır. Bugün üzerinde en çok çalışılan ve genetik yapısı en iyi bilinen canlı türü *E. coli*'dir.

Yıllardır gıda maddelerinde fekal kontaminasyonun göstergesi olarak kabul edilen *E. coli*, *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan koliform grubunun üyesidir. Çok farklı serotipleri bulunan *E. coli*'nin doğal ortamı sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarıdır (Anonim, 2000). *E. coli* oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C sıcaklıkta 30 dakika, oda sıcaklığında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençli olmasına rağmen dezenfektanlara karşı dirençsizdir (Bilgehan, 2000).

Doğrudan dışkı kaynaklı bir mikroorganizma olduğu için toplam *Enterobacteriaceae* sayısından daha uygun bir indikatördür ve gıda sanayinde bu amaçla izolasyonu önem taşımaktadır. *E. coli* suşları genellikle insan kalın bağırsağında bulunan zararsız mikroorganizmalardır. Ancak bazı suşları patojen özellik taşımaktadır (Anonim, 2000).

E. coli yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak ve çomak şeklindedir. Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa, bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekillerde bulunabilmektedir. Her iki şeklin birlikte bulunması da olasıdır. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır. Hareketsiz olan suşları da vardır (Bilgehan, 2000).

E. coli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve Gram negatiftir. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunmaktadır (Bilgehan, 2000).

E. coli; kan, serum, asit sıvısı ve glikoz gibi maddeler ilave edilmiş basit besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilmektedirler. Optimum üreme sıcaklığı 37°C ve optimum pH değeri 7.2'dir. Fakat, 15-45°C arasındaki sıcaklıklarda ve 5-8 arasındaki pH değerlerinde üreyebilmektedir (Anonim, 2000).

E. coli sıvı besiyeri içinde fazlaca ürer ve üremeden dolayı homojen bir bulanıklık ortaya çıkar. Dipte hafif bir çökelti oluşur ve tüp çalkalanınca bu çökelti kolaylıkla dağılır. Kanlı agarda hafif nemli görünümlü, 1-2 mm çapında gri koloniler oluşturur. Basit agarda 2-3 mm çapında, hafif kabarıklık, yuvarlak, kenarları düzgün gri-beyaz koloniler oluşur. MacConkey agarda kuru ve pembe-kırmızı; EMB agarda ise metalik koloniler oluşturur (Bilgehan, 2000).

E. coli, genellikle, bazı karbonhidratları (laktoz, mannitol ve glukoz) asit ve gaz oluşturarak fermente eder. İndol ve Metil Red (MR) testleri pozitifdir. Üre, H₂S ve Voges Proskauer (VP) testleri de genellikle negatif olan *E. coli*, sitrattan da yararlanamaz. Ayrıca, oksidaz negatif olan *E. coli*, nitratları nitritlere indirgeme özelliğine sahiptir (İzgür, 1999).

İnsanları ve hayvanları ölüme kadar götüren bağırsak rahatsızlıklarına neden olan serotipler, bağırsakların ağırlıklı florası olan *E. coli*'den ayrı olarak Enterovirulent *E. coli* grubunda toplanmıştır. Bu grup içinde 6 alt grup olarak belirtilebilecek değişik virulens faktörlere sahip ve bağırsak sistemini farklı etkileyen serotipler bulunmaktadır (Anonim, 2000).

2.1.1. Enterohemorajik *E. coli*

Enterohemorajik *E. coli* grubunun kökenini *E. coli* O157:H7 suşu oluşturur. Shiga ekzotoksine benzer (Shiga-like) toksini (verotoksin) vardır. Faj kontrolünde yapılan bu ekzotoksine verotoksin üreten *E. coli* de denmektedir (Özgüven, 2001).

Sulu ve çoğunlukla kanlı ishallere neden olan enterohemorajik *E. coli*, iki ciddi hastalığın da etmenidir. Bunlardan biri hemolitik üremik sendrom diğeri de trombotik trombozitenik purpura adları ile bilinen hastalıklardır. Virulens faktörler olarak Shigatoksin 1 ve 2 ile bunların varyantları saptanmıştır. Tüm enterohemorajik

E. coli suşları Shigatoksin ürettiklerinden, shigella benzeri toksin üreten *E. coli* olarak da anılırlar. Shigatoksin 1 ve 2 toksinlerini belirleyen genler fajlar üzerinde bulunmaktadır. Diğer virulens faktörler arasında; 60 Mega Dalton plazmidde kodlanmış olan shigella benzeri toksin üreten *E. coli*'de intimin bulunur. Ayrıca, ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1) ve serinproteazlar da diğer virulens faktörler arasındadır (Anonim, 2000).

Enterohemorajik *E. coli*'nin özellikle yaz aylarında A.B.D., Kanada ve Japonya gibi gelişmiş ülkelerde ciddi hastalıklara ve ölümlere neden olduğu bildirilmiştir. İlk olarak 1975 yılında ve daha sonra da 1978-1982 yılları arasında, ishalin gözlendiği hastalardan Centers for Disease Control (CDC) tarafından izole ve identifiye edilen *E. coli* O157:H7'nin tam anlamıyla insan patojeni olarak tanımlanması 1982 yılında Oregon (26 vaka) ve Michigan'da (21 vaka) yetersiz ısıtım işlem görmüş kontamine hamburgerlerin tüketilmesinden kaynaklanan 2 adet gastroenterit salgınında identifiye edilmesiyle ortaya konulmuştur (Griffin ve Tauxe, 1991; Jonhson ve ark., 1995).

A.B.D.'nde her yıl yaklaşık 20.000 adet enfeksiyon vakası ve 250 adet hemolitik üremik sendrom ve çeşitli komplikasyonlara bağlı ölümler görüldüğü bildirilmektedir. Organizmanın enfektif dozu tam olarak bilinmemekle birlikte, mevcut salgınlardan elde edilen verilere göre, dozun 10-100 organizma gibi çok düşük düzeylerde olduğu bildirilmiştir (Peacock ve ark., 2001).

Enterohemorajik *E. coli* grubunun gıda kaynaklı tek patojeni olan *E. coli* O157:H7'nin minimum üreme sıcaklığı 8°C, maksimum üreme sıcaklığı ise 44°C'dir. Bu bakterinin ısıya karşı diğer *E. coli* suşlarına göre daha dirençli olduğu belirtilmektedir. Ayrıca patojenik *E. coli*, 5.4 ve altındaki pH değerlerinde üreyememesine rağmen, *E. coli* O157:H7'nin düşük pH değerlerine sahip ortamlara karşı daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* O157:H7 suşu, %6.5 tuz içeren sıvı besiyeri ortamında yavaş da olsa üreyebilmekte, ancak %8.5 tuz içeren ortamda üreyememektedir.

E. coli O157:H7 enfeksiyonlarının önemli bir kaynağı, hayvansal kaynaklı gıdalardır. Bu patojenin geçişindeki başlıca gıdalar; sığır eti ve ürünleri ile

işlenmemiş çiğ süt ve ürünleridir (Takeuchi and Frank, 2000). Birçok salgında, yetersiz pişirilmiş hamburgerlerin şüpheli gıda olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında soğuk sandviçler, sosisler, rosto, kurutulmuş ve kürlenmiş salamalar, kurutulmuş fermente sucuklar, çiğ süttten yapılan peynirler, yoğurt ve beyaz turp filizi, pastörize olmayan meyve suları (elma, portakal), çiğ taze meyve ve sebzeler, mayonez, elma şırası, pişmiş mısır, kanatlı hayvanlar, domuz, geyik, kuzu etleri de çeşitli salgınlarda kaynak olarak gösterilmektedir (Wright ve ark., 2000).

2.1.2. Enterotoksijenik *E. coli*

Enterotoksijenik *E. coli* özellikle sıcak ülkelerde bebeklerde enterit olarak ortaya çıkan hastalığın etmenidir. Aynı zamanda iyi hijyenik standartlara sahip olan ülkelere hijyenik standartları düşük ve iklimi sıcak olan ülkelere giden erişkinlerde de sıklıkla görülmektedir. Enterotoksijenik *E. coli* turist ishalinin en sık etkenidir.

Enterotoksijenik *E. coli* suşlarının iki tür ekzotoksin yaptıkları, bunlardan birisinin ısıya duyarlı, diğerinin ise ısıya dirençli enterotoksinler oldukları ve ısıya dirençli olan enterotoksinin bir plazmit ile düzenlendiği ortaya konulmuştur. Isıya duyarlı olan enterotoksinin etkisinin kolera toksinine benzer olduğu ve bağırsak epitelindeki adenylate cyclase enzimini aktive ederek halkasal adenosin monofosfat konsantrasyonunda olan yükselme sonucunda, bağırsak boşluğundan izotonik sıvı ve Na^+ iyonunun geri emiliminin azalması ile etki ettiği kanıtlanmıştır. Isıya dirençli olan enterotoksinin etkisi ise halkasal quanozin monofosfat konsantrasyonu üzerinedir (Bilgehan, 2000).

Kirli sularla temas eden çiğ sebzeler, peynir, mayonez ve hazır gıdalar hastalığa neden olabilmektedir. İnsanlarda enterotoksijenik *E. coli* enfeksiyonunun şekillenebilmesi için tüketilen gıda maddelerinin gramında yaklaşık 10^6 veya daha fazla mikroorganizmanın olması ve ince bağırsak mukozası ile temas etmesi gerekmektedir. Hastalık süresi 3-19 gün kadardır. Sulu ishalin yanı sıra ateş, abdominal kramplar ve bulantı gibi belirtiler görülebilir (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

2.1.3. Enteroinvaziv *E. coli*

Enteroinvaziv *E. coli* serotiplerinin hastalık tablosu *Shigella*'ya çok benzer bir tablo gösterir. Sulu, kanlı ve çoğunlukla da mukozalı bir ishale neden olurlar. Kalın bağırsakta yerleşirler, epitel hücrelerine girerek burada çoğalırlar ve hücreleri öldürürler. İnvaziv yolla yayılmasına neden olan virulens genlerinin 120-140 Mega Dalton büyüklükteki plazmid üzerinde bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca enteroinvaziv *E. coli*'lerde, sulu ishale neden olduğu bilinen *Shigella* enterotoksin 2 de gösterilmiştir. O28ac, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152 ve O164 serotiplerinin yer aldığı enteroinvaziv *E. coli* grubunda, hastalıklarda en sık rastlanan serotip O124'dür. Hastalığın ilerlemesi sonucu, özellikle de çocuklarda hemolitik üremik sendrom görülebilir (Anonim, 2000).

Enteroinvaziv *E. coli* suşlarının başlıca kaynağı insandır. Hastalıklı kişiler ve kontamine sular kontaminasyon kaynakları olarak önemlidir. Brie ve Camambert peyniri ile patates salatası çeşitli çalışmalarda sorumlu gıda olarak bulunmuştur. Hastalık oluşabilmesi için gerekli enfektif dozun (yaklaşık 10^6 - 10^8 kob/g) oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir. İnkübasyon süresi 8-24 saat arasında değişmektedir. Hastalık birkaç gün sürebilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

2.1.4. Enteropatojenik *E. coli*

Enteropatojenik *E. coli* serotipleri şiddetli geçen sulu ve kanlı ishale neden olurlar. En çok bebeklerde ve çocuklarda görülen hastalığın etmeni olan enteropatojenik *E. coli*'ler bağırsak epiteline tutunarak etkilerini gösterir. Virulens faktör olarak enteropatojenik *E. coli*'de intimin saptanmıştır. İntimini belirleyen genin 50-70 Mega Dalton büyüklükteki plazmidde bulunduğu bildirilmiştir (Anonim, 2000).

Enteropatojenik *E. coli* suşları toksin üretebilme yeteneğine sahiptir. Ancak patojenitesinde toksinlerden ziyade bağırsak epitel hücrelerine yapışarak orada kolonize olmaları etkilidir. Bunun sonucunda mikrovilluslar tahrip edilerek ishal meydana gelir. Oluşan ishal pirinç suyu görünümünde ve mukusludur. Hastalığın ilk

belirtilerinin oluşumu 18-72 saat sürer. Hastalık süresi 6 saat ile 3 gün arasında değişmektedir. İshalin yanı sıra bulantı, karın ağrısı, baş ağrısı, kusma ve ateş de görülebilir (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Hastanelerde ve kreşlerde ortaya çıkan salgınlarda bulaşmanın, bulaşık bakıcı elleri, bulaşık biberon ve yiyecek maddeleri ve dışkının battaniye, havlu, çarşaf ve tozlara karışarak kuruması sonra oradan yine doğrudan ağıza veya gıdalara bulaşması ile olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu salgınlarda klorlanmamış et suyu, et ve kıymalı börek sorumlu gıdalar olarak belirlenmiştir.

2.1.5. Enteroagregatif *E. coli*

Enteroagregatif *E. coli* suşları daha çok ülke çocuklarında süreklilik gösteren ishallere neden olmaktadır. Erişkinlerde görülen seyahat sırasındaki ishallerde de rolü bulunmaktadır. Hücre kültürlerinde bu serotipler hücreler üzerine kümelenmektedir. Agregasyonun 60 Mega Dalton büyüklükteki virulens plazmidi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Enteroagregatif *E. coli*'lerin yarısında virulens faktör olarak ısıya dirençli enterotoksin (EAST 1) bulunmuştur (Anonim, 2000).

2.1.6. Difüz Adherent *E. coli*

Difüz adherent *E. coli* suşları çocuklarda süreklilik gösteren ishallere neden olur. Hücreye adhezyon yolu ile yapıştıkları gibi difüze olurlar. Bu durum Hep-2 hücrelerinde sadece bu grupla gösterilmiştir. İki ayrı adhezyon geninin varlığı ile intimin varlığı da saptanmıştır (Anonim, 2000).

2.1.7. *E. coli*'nin Taşınmasında Aracı Olan Gıdalar

Bu suşların taşınması doğrudan insandan insana olabileceği gibi sular veya kontamine gıdalarla da olabilmektedir. Doğrudan veya dolaylı olarak dışkı ile bulaşmış tüm gıdalar enfeksiyonlarda aracı olmaktadır. Çiğ yiyecekler (salatalar), yeterince ısıtılma işlem görmeyen veya pişirildikten sonra tekrar ısıtılmayan gıdalar *E. coli* enfeksiyonlarında taşıyıcı olarak rol oynarlar. Gelişmiş ülkelerde ılıman-serin iklim nedeniyle çok daha seyrek olarak *E. coli* hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Ancak

shigella benzeri toksin üreten *E. coli* hastalıkları bunun dışında kalmaktadır. Bu grubun taşınmasına aracılık eden gıdalar özellikle çiğ veya az pişmiş sığır etleridir. Bunun dışında diğer çiğ etler ve çiğ sütler de önemlidir.

Shigella benzeri toksin üreten *E. coli* suşları için enfeksiyon dozu 100 kob/g olarak saptanmıştır. Buna karşılık enterotoksijenik *E. coli*, enteroinvaziv *E. coli* ve enteropatojenik *E. coli* enfeksiyon dozlarını belirlemek üzere gönüllüler ile yürütülen araştırmalarda enfeksiyonun gerçekleşmesi için en az 10^6 - 10^{10} hücrenin vücuda alınması gerekmiştir (Anonim, 2000).

2.2. Ozon Gazı

Ozon (O_3) üç oksijen atomundan oluşan kimyasal bir bileşiktir. Ozon iki atomlu normal atmosferik oksijenin (O_2) çok yüksek enerji taşıyan bir şeklidir. Oda sıcaklığında renksiz ve karakteristik kokusu olan bir gazdır. Molekül ağırlığı 48 g/mol, kaynama noktası $-119^\circ C$ ve erime noktası 1 atm basınçta $-192.7^\circ C$ 'dir. $-112^\circ C$ sıcaklıkta koyu mavi bir sıvı olup, $-215^\circ C$ sıcaklıkta ise siyah-mavi renkte kristalleşir. Oda sıcaklığında yarı ömrü sadece 20 dakikadır. Daha sonra basit atmosferik oksijene dönüşür ve hiçbir kalıntı bırakmaz.

Ozon gazı, ilk kez Alman kimyacı Christian Friedrich Schönbein tarafından 1840 yılında tanımlanmıştır. Fransa'da 1900'lü yılların başlarında içme suyu dezenfekte etmek için kullanılmaya başlanmıştır.

Doğada ozon, güneşin 185 nm dalga boyundaki UV ışığından ve yıldırımlar sırasında oluşmaktadır. Ticari olarak jeneratörler vasıtasıyla havanın (%21 O_2) 210 nm'den daha az bir UV ışığından geçmesiyle oluşmaktadır. Düşük miktarda ozon da otomobil egzostlarından, endüstriyel, orman ve volkanik hareketlerin sonucu olarak serbest kalan hidrokarbon, oksijen ve nitrojenlerin arasındaki fotokimyasal reaksiyon sonucu troposferde oluşur. Ayrıca tesadüfi olarak fotokopi makinalarından, elektrik trafolarından ve diğer elektronik cihazlardan da oluşabilmektedir.

İnsanlar günde düşük seviyede ozona maruz kalmaktadırlar. Zemin seviyelerine yakın yerlerde 10 milyon hava partikülü başına bir partikül ozon 0,1 ppm = $200 \mu m/m^3$ konsantrasyonda duman şeklinde bulunur. 2000 metre

yükseklikte, ozon çok daha azalarak 0.03-0.04 ppm seviyelerine düşer. 1 ppm insan tolerans seviyesidir. Günde 8 saat boyunca 0.1 ppm seviyesinde ozona maruz kalınabilir. Diğer tüm oksidasyon fazları gibi, belli bir süre yüksek seviyede ozon konsantrasyonuna maruz kalınması insana zarar verir.

2.2.1. Ozon Gazının Etkinliğine Etki Eden Çevresel Faktörler

Ozon mikroorganizma çeşidine göre farklı etkilere sahiptir. Ozonun mikroorganizmalara karşı etkinliği sıcaklık, pH, bağıl nem ve organik madde varlığı gibi faktörlere bağlıdır (Hoigne and Bader, 1975).

2.2.1.1. Sıcaklık

Ozonun çözünürlüğü sıcaklığın azalmasıyla artmaktadır. Achen ve Yousef (2001) *E. coli* ile kontamine olmuş elmaları 4, 22 ve 45°C sıcaklıklarda sabit konsantrasyonda ozon gazı ile muamele etmişler ve yüzeydeki bakteri sayısının sırasıyla 3.3, 3.7 ve 3.4 log azaldığını saptamışlardır. Kalıntı ozon en düşük sıcaklıkta (4°C) en fazla olmuş, sıcaklık arttıkça azalmıştır. Bu da uygulama sıcaklığının artması ile ozonun reaktivitesinde artış, fakat kararlılığında azalmanın olduğunu göstermektedir. Bu sonuçların aksine Kim (1998) ozonun buzdolabı sıcaklığından daha yüksek sıcaklıklarda uygulandığında kontaminasyonları daha fazla azalttığını gözlemlemiştir.

Herbold ve ark. (1989) ozonun *Hepatit A* ve *E. coli* üzerindeki etkisinin sıcaklığın 10°C'den 20°C'ye yükseltildiğinde azaldığını rapor etmişlerdir. Ancak Katzenelson ve ark. (1974) sıcaklığın 5°C'den 1°C'ye düşürülmesinin mikroorganizmaları inaktif hale getirmede çok az etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

2.2.1.2. pH

Ozon uygulama suyunun pH değeri ve saflığı ozonun çözünürlüğünü etkilemektedir. Yüksek pH değerleri ozonun aktivitesini engelleyen radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Ozon yüksek pH değerlerine oranla düşük pH değerlerinde daha karardır. Mikroorganizmaların inaktivasyonu çoğunlukla

moleküler ozon reaktifliği boyunca düşük pH seviyelerinde gerçekleşmektedir. Farooq ve ark. (1977) ozona maruz bırakılma sırasında pH'nın yükseltilmesinin *Mycobacterium fortuitum*'un hayatta kalma oranını yükselttiğini göstermişlerdir.

Foegeding (1985) farklı pH değerlerinde *Bacillus* ve *Clostridium* sporlarının ozonla inaktif hale getirilmesini araştırmış ve asidik pH değerlerinin ozonun öldürücü özelliğini arttırdığını bulmuştur. Kim (1998) ozon gazının yüksek pH değerlerinde kararlılığının bozulduğunu, çözünürlüğünün azaldığını, deiyonize ve distile suda çeşme suyundan daha hızlı çözündüğünü tespit etmiştir.

2.2.1.3. Bağlı Nem

Smilanick (2003) patojenik mantarların inaktivasyonu için yüksek konsantrasyonlarda uzun süreli ozon uygulamalarının gerektiğini savunmuştur. Ayrıca işlem sırasında bağlı nem oranının da ozon etkinliğinde önemli olduğunu ve *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* ve *Geotrichum citri-aurantii*'nin %95 bağlı nemde 5°C sıcaklıkta 200 ppm ozonla inaktif hale gelirken, aynı şartlar altında %35 bağlı nemin kullanılması durumunda kullanılacak ozon miktarının 5-10 kata kadar arttırılması gerektiğini tespit etmiştir.

Ishizaki ve ark. (1986) 0.5–3.0 ppm ozonun spor inaktivasyonunu bağlı nem oranının %50'nin altında olduğu durumlarda önemli şekilde etkilemediğini; fakat bağlı nem oranının artmasıyla inaktivasyon oranının da arttığını gözlemlemişlerdir.

2.2.1.4. Organik Bileşikler

Suda bulunan organik maddeler ozonun etkinlik derecesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Organik bileşikler ozon aktivitesini düşürmekte ve istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna sebep olabilmekte ve bu nedenle ürün kalitesini etkileyebilmektedirler. Kim ve ark. (2001) ozon uygulamasında önce suyun filtrasyonunun, ozonun etkinliğini arttırdığını belirlemiştir.

Ozonun suda çözünürlüğünü etkileyen bir diğer faktör de, oluşan ozon baloncuklarının büyüklüğüdür. Çözünürlük, oluşan ozon baloncuklarının büyüklüğü ile ters orantılı olarak artmaktadır. Bunun nedeni daha küçük baloncukların daha geniş temas yüzeyi oluşturması ve böylece çözünürlüğü arttırmasıdır.

Katzenelson ve ark. (1974) ozonun suda çözünürlüğünün ozon baloncuklarının çapının 1-3 mm olduğu zaman optimum seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar ozonun akım oranının ve temas süresinin ozon gazının suya transferini etkilediğini de göstermişlerdir. Kim ve ark. (1999) doğranmış marullar üzerindeki mikroorganizmaların inaktivasyonu üzerinde en etkili ozonlamanın gaz haldeki ozonun suda 10 µm çapında baloncuklanması ve yüksek hızda karıştırma ile gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir.

2.2.2. Ozonun Mikroorganizmalar Üzerindeki Etkisi

Ozon bakteri, mantar, virüs, protozoon ve sporlara karşı etkili geniş spektrumlu bir mikrobiyal ajandır.

2.2.2.1. Bakteriler

Ozon Gram (+) ve Gram (-), vejetatif ve spor formlar dahil olmak üzere birçok bakteriyi inaktif hale getirebilmektedir (Tablo 2.1.). Finch ve ark. (1988) *E. coli*'nin 4.4-800 µm/litre arasındaki ozon konsantrasyonlarına 30-120 saniye maruz bırakılmaları ile inaktif hale geldiklerini belirtmişlerdir. Ozonun dozuna ve temas süresine bağlı olarak *E. coli* popülasyonunda 0.5-6.5 log seviyesinde azalmanın olduğunu rapor etmişlerdir.

Vejetatif formlara karşılık spor formlar ozona karşı daha dirençlidir. Broadwater ve ark. (1973) *E. coli* ve *Bacillus megaterium*'un inaktivasyon dozunun 0.19 mg/litre iken *Bacillus cereus* için ise 2.29 mg/litre olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca *Bacillus cereus* ve *Bacillus megaterium* sporları için inaktivasyon dozunun 2.3 mg/litre olduğunu da belirtmişlerdir.

Dave ve ark. (1998) damıtılmış sudaki *Salmonella enteritidis* popülasyonunun düşük konsantrasyondaki ozonlama (1.5 ppm) ile 6 log seviyesinde azaltılabileceğini göstermişlerdir. Kim (1998) ozonun, *Pseudomonas fluorescens*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 gibi gıda kaynaklı mikroorganizmalara karşı etkinliğini araştırmıştır. Test edilen bütün mikroorganizmaların 15 saniyede 1-1.5 ppm ozon konsantrasyonu ile 1.5-5 log arasında azaldığını belirlemiştir.

Tablo 2.1. Ozonun bakteriler üzerindeki etkisi

Bakteri ismi	İnaktivasyon (Log10)	Uygulama süresi (dak)	Konsantrasyon (mg/litre)	Sıcaklık (°C)	Kaynak
Bacillus cereus	>2.0	5.00	0.12	28	Broadwater ve ark. (1973)
Bacillus cereus sporları	>2.0	5.00	2.29	28	Broadwater ve ark. (1973)
Escherichia coli	4.0	1.67	0.23-0.26	24	Farooq ve Akhlaque (1983)
Legionella pneumophila	>4.5	20.0	0.32	24	Edelstein ve ark. (1982)
Mycobacterium fortuitum	1.0	1.67	0.23-0.29	24	Farooq ve Akhlaque (1983)
Pseudomonas fluorescens	>2.0	0.25			Burleson ve ark. (1975)
Salmonella enteritidis	1.0	0.25		25	Kim ve ark. (1999b)
Salmonella typhimurium	4.3	1.67	0.23-0.26	24	Farooq ve Akhlaque (1983)
Staphylococcus aureus	>2.0	0.25		25	Burleson ve ark. (1975)

2.2.2.2. Virüsler

Ozon gazı virüslerin inaktivasyonunu sağlayan etkili bir antimikrobiyal ajandır (Tablo 2.2.). Majumdar ve ark. (1973) 1 mg/litre ozon konsantrasyonuna 2 dakika maruz kalan virüslerin sayılarında hızlı bir azalmanın olduğunu rapor etmişlerdir. Herbold ve ark. (1989) 20°C sıcaklıkta ve pH 7 değerinde virüslerin ve bakterilerin ozona karşı dirençlerini test etmişlerdir. Buna göre ozona karşı direncin *Poliovirüs 1* < *E. coli* < *Hepatitis A virüs* < *Legionell pneumophila* serogrup 6 < *Bacillus subtilis* sporları şeklinde arttığını göstermişlerdir. Ayrıca *poliovirüs 1* ve *hepatitis A* virüslerinin tamamen inaktif hale getirilebilmeleri için 0.13-0.38 mg/litre arasında ozon konsantrasyonuna ihtiyaç olduğunu da ifade etmişlerdir. Katzenelson ve ark. (1974) ozonun etkili bir virüs önleyici olduğunu kanıtlamış ve ozonun tek başına veya klorla kombinasyonunun işlenmiş ve atık suda kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Tablo 2.2. Ozonun virüsler üzerindeki etkisi

Virüs ismi	İnaktivasyon (Log10)	Uygulama süresi (dak)	Konsantrasyon (mg/litre)	Sıcaklık (°C)	Kaynak
Bacteriophage f2	0.7	10.0	0.10	20	Harakeh ve Butler (1985)
Bacteriophage f2	>4.3	0.16	0.41	20	Boyce ve ark. (1981)
Coxsackie virüs B5	4.0	2.50	0.40	20	Harakeh ve Butler (1985)
Coxsackie virüs A9	>1.7	0.16	0.03	29	Boyce ve ark. (1981)
Hepatitis A virüs	2.7	0.02	0.25	20	Herbold ve ark. (1989)
Human rotavirüs	0.7	10.0	0.31	20	Harakeh ve Butler (1985)
Poliovirüs type 1	2.5	1.67	0.23-0.26	24	Farooq ve Akhlaque (1983)

2.2.2.3. Küfler

Ozon küfleri inhibe etmek için etkili bir ajandır (Tablo 2.3.). Farooq and Akhlaque (1983) ozonun mayaları da inaktif hale getirdiğini savunmuşlardır. *Candida parapsilosis* 0.23–0.26 mg/litre ozona maruz bırakıldığında 1.67 dakikada 2 log seviyesinde azalmıştır. Kawamura ve ark. (1986) *Candida tropicalis*'in 0.02 mg/litre ozon konsantrasyonuna 20 saniye veya 1 mg/litre ozon konsantrasyonuna 5 saniye maruz kalması halinde *Candida tropicalis* popülasyonunda 2 log seviyesinde azalmanın olduğunu rapor etmişlerdir.

Tablo 2.3. Ozonun küfler üzerindeki etkisi

Maya ismi	İnaktivasyon (Log10)	Uygulama süresi (dak)	Konsantrasyon (mg/litre)	Sıcaklık (°C)	Kaynak
<i>Candida parapsilosis</i>	2.7	1.67	0.23-0.26	24	Farooq ve Akhlaque (1983)
<i>Candida tropicalis</i>	2.0	0.30-0.08	0.02-1.0	20	Kawamura ve ark. (1986)

Mayalar küflere nazaran ozonlamaya karşı daha hassastır. Restaino ve ark. (1995) sayıları 10^4 seviyesinden fazla olan *Candida albicans* ve *Zygosaccharomyces bailii* popülasyonlarının ozonlu su ile anında inaktif hale getirilmelerine karşın sayıları 10'dan daha az olan *Aspergillus niger* sporlarının 5 dakika ozona maruz bırakıldıktan sonra inaktif hale geldiklerini tespit etmişlerdir.

Maya türlerinin ozona karşı hassasiyetleri farklıdır. Naitoh (1992) *Saccharomyces rosei*, *Pichia farinosa*, *Candida parapsilosis*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Debaryomyces hansenii* var. *Hansenii*'yi 30-60°C ve %30-90 bağıl nem arasında 4-5 ppm gaz ozon konsantrasyonuna 1-5 saat süreyle maruz bırakmıştır. *Candida parapsilosis* ve *Kluyveromyces marxianus* 30°C sıcaklıkta 5 saat süre ile 4-5 ppm ozon gazına maruz bırakıldığında her iki popülasyonda 1 log'tan fazla azalma olurken diğer mayalarda kayda değer bir azalmanın olmadığı gözlenmiştir.

2.2.2.4. Protozoonlar

Bazı protozoonlar ozon tarafından inaktif hale getirilebilmektedir (Tablo 2.4.). Wickramanayake ve ark. (1984) *Naegleria gruberi* kistlerinin *Giarda muris* kistlerine göre ozona karşı daha dirençli olduklarını rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar 25°C sıcaklıkta pH 7 değerinde 0.2 mg/litre ozon konsantrasyonunda *Naegleria gruberi* kistlerinde 7.5 dakikada, *Giarda muris* kistlerinde ise 1.05 dakikada 2 log seviyesinde azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Korich ve ark. (1990) gastroenterit hastalıklara yol açan bağırsak paraziti, *Cryptosporidium parvum*'un 1 mg/litre ozona 1 dakika maruz bırakılması ile parazit sayısında %90'dan fazla azalmanın olduğunu göstermişlerdir.

Tablo 2.4. Ozonun protozoonlar üzerindeki etkileri

Protozoon ismi	İnaktivasyon (Log10)	Uygulama süresi (dak)	Konsantrasyon (mg/litre)	Sıcaklık (°C)	Kaynak
<i>Cryptosporidium parvum</i>	1.0	1.0	1.0	25	Korich ve ark. (1990)
<i>Giardia lamblia</i>	2.0	1.1	0.7	5	Wickramanayake ve ark. (1984)
<i>Giarda muris</i>	2.0	2.8	0.5	5	Wickramanayake ve ark. (1984)
<i>Naegleria gruberi</i>	2.0	2.1	2.0	5	Wickramanayake ve ark. (1984)

2.2.3. Ozon Gazının Antimikrobiyal Özellikleri

Ozonun yarı ömrünün kısa olması ve hiçbir kalıntı bırakmadan oksijene dönüşmesi özelliğinden dolayı gıda sanayinde karbondioksit, klor ve etilen oksit gibi

dezenfektanların arasında yer alarak yeni çalışmalara yön vermiştir. Yapılan araştırmalarda; ozonun havadaki ve yüzeylerdeki bakterileri %71, küfleri ve mantarları %83 azalttığı, klordan 3000 kez daha fazla mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu, kükürtdioksitten 160, formaldehitten 37 ve hidrosiyamik asitten 1.7 kez daha güçlü antibakteriyel etkisi olduğu belirtilmiştir (Xu, 1999).

Ozon gazı *E. coli*'yi öldürmede klordan 3.125 kez daha etkilidir. Ozonun klordan daha etkin olmasının nedeni; ozonun çok yüksek bir oksitleme potansiyelinin ve kendine özgü öldürme mekanizmasının bulunmasıdır. Klor ilk önce hücre duvarından geçip hücre içinde yayılırken, ozon hücre zarının yırtılıp, sitoplazmanın dağılmasına neden olur. Klorun konsantrasyonu ve klorlama süresi yeterli değilse klorlama sonrasında hücrelerin yaşamlarına devam etmeleri mümkündür. Ancak ozonlama sonrasında hücre bütünlüğü bozulduğu için hücrelerin yaşama şansları ortadan kalkar.

Bakterilerin ozon gazı ile inaktivasyonu oldukça karmaşık bir süreçtir. Çünkü ozon birçok hücre bileşenine karşı etkilidir. Bu bileşenler, hücre zarlarında bulunan proteinler, doymamış yağlar, solunum enzimleri ile hücre duvarlarında bulunan peptidoglikanlar, nükleik asitler, spor kılıfları ve virüs kapsidlerindeki proteinlerdir. Bazı araştırmacılar moleküler ozonun mikroorganizmalar için asıl inaktivatör olduğunu, bazıları ise ozonun ayrışması ile oluşan OH^- ve HO_3^- gibi yan ürünlerin antimikrobiyal etkinlikleri olduklarını savunmuşlardır (Glaze ve Kang, 1989; Bablon ve ark., 1991a; Hunt ve Marinas, 1997). Ozon, polisakkaritlerle yavaşça reaksiyona girer ve glikozit bağlarını koparır (Bablon ve ark., 1991b). Mikrobiyal enzimlerin içinde bol ve verimli olan sülfidril grupların ozonla oksidasyonu, bakterilerin ve sporların hızla inaktivasyonunu sağlar.

Ozon hücrede sızıntıya ve daha sonra da hücre ölümüne neden olan doymamış yağ asidi, zar enzimleri, glikoprotein ve glikolipitler de dahil olmak üzere hücre zarı elemanlarını oksidasyona uğratabilir (Scott ve Leshner, 1963). Enzimlerdeki doymamış lipitler ve sülfidril gruplarının çift bağları, ozon tarafından oksitlenirken, normal hücresel aktiviteyi bozan hücre geçirgenliği ve ardından hücre ölümü meydana gelir. Dave (1999) sulu ozonun *Salmonella enteritidis*'in hücre zarını bozduğunu rapor etmiştir.

Perez ve ark. (1995), bakterilerin hücre duvarlarının peptidoglikan tabakasında bulunan N-asetil glikozaminin ozona karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Buna dayanarak Gram (+) bakterilerin daha fazla peptidoglikan içermelerinden dolayı Gram (-) bakterilere göre daha dirençli olduklarını rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada, Lee ve Deniniger (2000) ozonlanmış içme suyunda yaşayan mikroorganizmalar içinde Gram (+) bakterilerin baskın olduklarını tespit etmişlerdir. Sobsey (1989) sudaki patojen mikroorganizmalardan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp.* ve *Mycobacterium*'un Gram (-) bakterilerden daha dirençli olduklarını bulmuştur. Restaino ve ark. (1995) gıda kaynaklı mikroorganizmalardan *Listeria monocytogenes*'in de dahil olduğu Gram (-) bakterilerin, Gram (+) bakterilerden daha hassas olduklarını göstermişlerdir.

Ozon; sitoplazmadaki β -galaktoz hareketini, *E. coli*'nin alkalın fosfat periplazma hareketinden daha hızlı artırmaktadır (Takamoto ve ark., 1992). Ozon; mikroorganizmaları, onların genetik materyallerine zarar vererek etkisiz hale getirebilir. Scott (1975)'un araştırmalarına göre ozonlama *E. coli*'nin DNA'sında primidinin dayanıklılığını değiştirmekte olup, timinin ozona hassasiyeti, sitozin ve urasilinkinden daha fazla olmaktadır. Ozona genellikle bakteri ve mantar sporları daha dirençlidir. Foegeding (1985) *Bacillus cereus* sporları ve zar proteinlerinin bozulmasının, sağlam sporlara oranla ozonla daha hızlı bir şekilde etkisizleşmekte olup, spor tabakası ozona karşı başlıca koruma bariyeri niteliğindedir. Kim ve ark. (2001) ozon etkinliğini sekiz farklı *Bacillus spp.*'de denemişler, ozona en çok *Bacillus stearothermophilus* sporlarının dirençli olduklarını bulmuşlardır.

Sobsey (1989) virüslerin, ozona bakterilerin vejetatif formlarından daha dirençli olduklarını ve virüsler içerisinde bakteriofajların ozona hassas olduklarını göstermiştir. Kim ve ark. (1980) sıvı fazdaki ozonun hem f2 hem de T4 bakteriofajlarının kapsid proteinlerine karşı etkili olduğunu ve nükleik asit inaktivasyonuna neden olduğunu belirlemişlerdir. Komanapalli ve Lau (1998), oda sıcaklığında 600 ppm ozon konsantrasyonunun bakteriofaj, *Candida albicans* ve *E. coli* üzerine olan etkisini araştırmış olup, bakteriofajın 10 dakikada tamamen inaktif olduğunu, *Candida albicans* ve *E. coli*'nin ise 40 dakikada 4–5 log seviyesinde azaldığını göstermişlerdir.

2.2.4. Gıda Sanayinde Ozon Kullanımı

Günümüzde gıda sanayi tüketicinin daha taze ve daha güvenli ürün talebini karşılamak üzere yeni teknolojilere ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle ozonlama kurutulmuş ürünler ile taze meyve ve sebzelerin daha uzun süre muhafazası için iyi bir alternatif olarak görülmüştür. Geçtiğimiz son 20 yılda Amerika’da taze meyve ve sebze tüketiminde önemli bir artış olmuştur. Bununla birlikte patojen, kimyasal ve atık sular nedeni ile gıda kaynaklı hastalıklarda da bir artış gözlenmiştir.

Gıdaların hijyenik hale getirilmesinde kullanılan formaldehit ve metil bromür gibi bazı hijyen artırıcılar oluşturdıkları sağlıkla ilgili tehlikelerinden dolayı kullanımları sınırlandırılmış veya yasaklanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri’nde yanlış ve eksik hijyenik uygulamalar sonunda donmuş et ve hamburgerlerde *E. coli* O157:H7 (Centers for Disease Control, 1997a), bazı sosislerde *Listeria monocytogenes* (Centers for Disease Control, 1998) ve bazı donmuş çileklerde de *Hepatit A* (Centers for Disease Control, 1997b) bulunmuş ve bu ürünlerden yiyenlerde gıda kaynaklı hastalıklar ortaya çıkmıştır. Bundan dolayı Amerika Birleşik Devletleri ve birçok ülkede gıda sanayinde kullanılabilecek yeni antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç duyulmuştur.

Klorlama taze meyve ve sebze sanayinde mikrobiyolojik kaliteyi ve patojen kontrolünü artırmak için kullanılan en genel yöntem olmasına karşın yapılan birçok araştırma bu yöntemin meyve ve sebze yüzeylerindeki bakterileri öldürmede yeterli etkisinin olmadığını göstermiştir (Bott, 1991; Graham, 1997).

Ozonun gıda sanayinde kullanımının birçok avantajı bulunmaktadır. Geleneksel dezenfektan olarak kullanılan klor ile karşılaştırıldığında ozonun oldukça fazla üstünlükleri bulunmaktadır. Ozon bir oksitleyici olarak klordan 1.5 kez daha güçlüdür. Ozon doğal formuna hızla döner ve organik maddeler ile reaksiyona girdiğinde hiçbir toksik yan ürün oluşturmaz. Çok yüksek bir reaktif olduğundan işleme araçlarının üzerinde oluşan biofilmleri kaldırarak yok eder. Klor taze ürünler için yaygın olarak kullanılmasına karşın, meyve ve sebzelerin üzerindeki mikroorganizmaları yok etmede sınırlı etkiye sahiptir. Ayrıca çevre ve halk sağlığı

örgütleri, klorun trihalometanlar gibi yan ürünlerinin kalıntısından endişe duymaktadırlar.

Ozonun 2001 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından güvenli bir madde olarak kabulü ve gıdaların muhafazası ve işlenmesinde antimikrobiyal ajan olarak kullanımını onaylaması üzerine gıda sanayinde ozon uygulamaları artmıştır. Bu onay sayesinde ozonun kullanımı gıdaların yıkanmasından, kümes hayvancılığının yıkama suyuna ve deniz yiyeceklerinin dezenfeksiyonuna kadar uzanmıştır.

Bugüne kadar yapılan araştırmalarda ozon gazı kırmızı etin (Gorman ve ark., 1997), kümes hayvanları etlerinin (Dave, 1999), peynirin (Horvath ve ark., 1985), elmanın (Achen ve Yousef, 2001) ve marulun (Kim ve ark., 1999a) patojenlerden arındırılmasında başarı ile uygulanmıştır.

Hill ve Rice (1982) ozonun alkol ve meşrubatlarda, arıtma ve yapay yaşlandırmada, bira ve elma şarabı üretiminde ve koku kontrolünde dezenfektan olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. Kim ve ark. (2001) yüksek fruktozlu mısır şurubu içeren meyve sularının içeriğini ozon gazı ile dekontamine etmişlerdir. Willams ve ark. (1995) havuçları ozonlanmış su ile yıkadıklarında bakteri popülasyonunda 3 log seviyesinde bir azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Kondo ve ark. (1989) Çin lahanasını ozonlu su ile 60 dakika muamele ederek bakteri sayısında %90'nın üzerinde bir azalmanın olduğunu gözlemlemişlerdir. Palou ve ark. (2002) 0.3 mg/litre ozon gazının şeftali ve üzümelerde mantarların üreme ve sporulasyonlarını önlediğini tespit etmişlerdir. Sarig ve ark. (1996) ozon gazının üzümelerde hasat sonrası özellikle mantar bozulmalarına karşı SO₂ fumigasyonunun yerini alabileceğini göstermişlerdir.

Ozon çok düşük konsantrasyonda ürünlerin soğuk depolarda bakteri ve küfe karşı savunmasında etkilidir. Barth ve ark. (1995) dikensiz böğürtlenlerde ozon uygulamasının yaygın olarak bozulmaya neden olan küflerin üremesini engellediğini ve meyve kalitesinin bu uygulamadan etkilenmediğini göstermişlerdir. 2°C sıcaklıkta ve 0.3 ppm ozon konsantrasyonunda depolanan böğürtlenlerde mantar gelişimi durdurulmuştur. Song ve ark. (2000) ozonun depolardaki havadan kaynaklanan

patojen sporların miktarını azalttığını, paketlerde ve duvarlarda yüzeysel üremeyi önlediğini, böylece depolanmış ürünlerde olabilecek mikrobiyal üremenin de engellenebileceğini tespit etmişlerdir.

Soğuk depolamada ozonun önemli bir etkisi de meyve ve sebzelerin olgunlaşma süresini geciktirmesidir. Olgunlaşma sırasında muz ve elma gibi birçok meyve ortama etilen gazı salmaktadır. Ozon kimyasal reaksiyonla meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmada ve etilen gazını uzaklaştırmada oldukça etkilidir (Rice ve ark., 1982).

Ozonun potansiyel faydalarının yanında ürün için optimum konsantrasyonda kullanılmadığında ürün kalitesi üzerinde olumsuz etkileri olabilmektedir. Ozon belirli konsantrasyonların üzerinde bazı meyve ve sebzelerin renginin bozulmasına ve kokularının değişmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle ürüne özel optimum ozonlama dozunun ve uygulama koşullarının belirlenmesi, etkin bir ozonlama işlemi için gereklidir. Ewell (1940) çileklerin, ahududuların ve üzümelerin günde birkaç saat 2-3 ppm seviyesinde gaz ozona maruz bırakılmaları ile raf ömürlerinin iki katına çıkabileceğini bununla birlikte 60°C sıcaklıkta 0.6 ppm ozon konsantrasyonunun çileklerde hasar yaratabileceği sonucunu tespit etmiştir.

Horvath ve ark. (1985) peynirin 0,02 mg ozon/litre hava içeren ortamda depolandığında peynir kalitesinin 11 hafta süresince korunduğunu tespit etmişlerdir. Fournaud ve Lauret (1972) sığır etinin 30 dakika süreyle 100 mg/litre gaz ozon konsantrasyonu ile muamelesi sonucunda *Microbacterium thermosphactum*, *Lactobacillus*, *Pseudomonans fluorescens* ve *Leuconostoc* popülasyonunun azaldığını göstermişlerdir. Kim ve ark. (2001) istavrit (*Trachurus trachurus*) ve istavrit bozması balığının (*Caranx mertensi*) 0.6 mg/litre ozon konsantrasyonu ile 30-60 dakika süreyle muamelesi edilmesi sonucunda bakteri popülasyonunda yaklaşık 2-3 log seviyesinde azalmanın olduğunu belirtmişlerdir.

Allen ve ark. (2003) arpa yüzeyindeki mantar sporları ve miselleri üzerinde ozonun çok etkili olduğunu göstermişlerdir. Naitoh ve ark. (1989) ozon gazının buğday ununda mikrobiyal üremeyi önlediğini ve depolama zamanını artırdığını göstermişlerdir. Aynı oranda mikrobiyal (*Bacillus* ve *Micrococcus*) inaktivasyon için

un ve toz karabiberin, öğütülmemiş buğday ve tane karabiberlerden daha yüksek ozon konsantrasyonu gerektirdiği belirlenmiştir (Naitoh ve ark., 1988; Zhao ve Cranston, 1995).

Zhao ve Cranston (1995) tane karabiberlerin 6.7 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış suda 10 dakika süreyle muamele edilmeleri ile mikrobiyal popülasyonda 3-4 log azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Naitoh ve ark. (1988) 0.5-50 ppm ozonlama ile tahıl taneleri, fasulye, bezelye ve baharatlardaki (*Bacillus* ve *Micrococcus*) mikroorganizmaların sayısında 1-3 log arasında azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada özellikle 5 ppm'in üzerindeki ozon konsantrasyonlarında fazla miktarda yağ içeren gıdalarda yağ oksidasyonunun gerçekleştiği belirlenmiştir.

2.3. Karabiber

Karabiber, *Piper nigrum* L. türüne giren bitkilerin genellikle olgunlaşmadan toplanıp, güneşte veya ateşte kurutulmuş olan gri, kahve veya siyah renkli, yüzeyleri buruşuk meyvelerinin tane veya öğütülmüş halidir. Karabiber; yapısında aromatik yağlar, piperin adı verilen alkaloid, malik asit, ürik asit ve tuzlar içerir. Karabibere hoş acı lezzeti veren piperin alkaloididir.

Karabiber; Hindistan, Brezilya, Singapur, Malezya, Endonezya ve Vietnam'da yaygın olarak yetiştirilmektedir. Ülkemizin iklimi karabiberin yetiştirilmesi için uygun değildir. Adana ve civarında deneme üretimleri yapılmasına rağmen başarılı sonuçlar alınamamıştır. Bu nedenle karabiber ithal edilmektedir. Karabiberin ülkemizdeki yıllık tüketimi 3,000 ton civarındadır. Karabiberin, Salvak, Malabar ve Beyaz karabiber olmak üzere üç çeşidi vardır. Bunlardan Salvak, biraz çekildiği zaman esmer, Malabar açık gri ve Beyaz Karabiber ise süt beyazı renktedir. Ülkemizde kullanılan karabiberler genellikle Malabar cinsi olup, Malezya'dan ithal edilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliğine (2000) göre baharatların sahip olması gereken mikrobiyolojik kriterler Tablo 2.5.'de, tane karabiberin sahip olması gereken fiziksel ve kimyasal özellikler Tablo 2.6.'da ve toz karabiberin sahip olması gereken fiziksel ve kimyasal özellikler Tablo 2.7.'de verilmiştir.

Tablo 2.5. Türk Gıda Kodeksine (Baharat Tebliği, 2000) göre baharatların sahip olması gereken mikrobiyolojik kriterler

	n	c	m	M
Salmonella spp.	5	0	25 g'da bulunmamalı	
Staphylococcus aureus (kob/g)	5	3	1.0×10^2	1.0×10^3
Bacillus cereus (kob/g)	5	3	1.0×10^3	1.0×10^5
Escherichia coli (kob/g)	5	3	1.0×10^1	1.0×10^2
E.coli O157:H7	5	0	25 g'da bulunmamalı	
Sülfit indirgeyen Clostrida (kob/g)	5	3	1.0×10^2	1.0×10^4
Maya-küf (kob/g)	5	3	1.0×10^2	1.0×10^4
Mezofilik aerobik bakteri (kob/g)	5	3	1.0×10^4	1.0×10^6

n: Numune sayısı

c: Mikroorganizma sayısı “m” ile “M” arasında bulunabilecek maksimum numune sayısı

m: Tüm numunelerde bulunabilecek maksimum mikroorganizma sayısı

M: “c” sayıda numunede bulunabilecek maksimum mikroorganizma sayısı

Tablo 2.6. Türk Gıda Kodeksine (Baharat Tebliği, 2000) göre tane karabiberin sahip olması gereken fiziksel ve kimyasal özellikler

	Yabancı Madde	Rutubet	Toplam kül Kuru madde	%10'luk HCl'de çözünmeyen kül miktarı	Uçucu olmayan eter ekstraktı kuru madde	Selüloz kuru madde	Uçucu yağ kuru madde	Kırık tane	Bozuk tane
	En çok (%m/m)	En çok (%)	En çok (%m/m)	En az (%m/m)	En çok (%m/m)	En çok (%m/m)	En az (ml/100g)	En çok (%m/m)	En çok (%m/m)
Tane Karabiber	1	12	8	1	6	18	2	-	-

Tablo 2.7. Türk Gıda Kodeksine (Baharat Tebliği, 2000) göre toz karabiberin sahip olması gereken fiziksel ve kimyasal özellikler

	Yabancı Madde	Rutubet	Toplam kül Kuru madde	%10'luk HCl'de çözünmeyen kül miktarı	Uçucu olmayan eter ekstraktı kuru madde	Selüloz kuru madde	Uçucu yağ kuru madde	Boy özelliği	Suda çözünen ekstrat kuru madde
	En çok (%m/m)	En çok (%)	En çok (%m/m)	En çok (%m/m)	En az (%m/m)	En çok (%m/m)	En az (ml/100g)	Elek göz Açıklığı (mm)	En az (%m/m)
Toz Karabiber	Bulunmamalı	12	8	1	6	17.5	1.5	0.63	-

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Karabiber

Yapılan deneylerde kullanılan toz ve tane karabiberler (Lokman Baharat, Kocaeli, Türkiye) kullanılmadan önce oda sıcaklığında vakum ambalaj içinde muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Ozonlama Sistemi

Yapılan çalışmada kullanılan ozonlama sistemi; jeneratör (MKD, Trio-10, İstanbul, Türkiye), ozonlama kabini (Mis Industry, Ankara, Türkiye), ozonlama sensörü (Eco Sensors OS-3, Santa Fe, A.B.D.) ve nem-sıcaklık ölçer (KIMO HD 50, Bordo, Fransa)'den oluşmaktadır.



Resim 3.1. Ozonlama sistemi

3.2. Metot

3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Escherichia coli ATCC 8739 suşu yatık nutrient agarda (Merck, Almanya) +4°C sıcaklıkta stoklanan ana kültürden öze yardımı ile alınarak, diğer bir nutrient agara (Merck, Almanya) ekilmiştir. 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyondan sonra taze kültür hazırlanmıştır.

Toz ve tane karabiber örnekleri (25 g) petri plaklarına ince tabaka halinde yayılmıştır. *E. coli* ATCC 8739 suşunun bir gecelik taze kültürünün fizyolojik tuzlu (%0.9 NaCl) su ile süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyonun Mc Farland cihazı (CrystalSpec, Becton Dickinson, A.B.D.) ile bulanıklığı 0.5 değerine ayarlanmıştır. Bu değer yaklaşık 10^8 mikroorganizma/ml seviyesine denk gelmektedir. Hazırlanan solüsyondan 0.1 ml (yaklaşık 10^7 seviyesinde) alınarak her petrideki karabiber örneklerinin üzerine aşılanmıştır. Aşılanan örneklerin kurumaları ve yüzeylerine bakterilerin yapışmasını sağlamak amacıyla petriler, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle bekletilmiştir. Ozonlama kabineye yerleştirilen *E. coli* aşılanmış toz ve tane karabiber içeren petriler %80 bağıl nemde (doymuş KCl çözeltisi ile sağlanmıştır) ve 25°C sıcaklıkta 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm ozon konsantrasyonlarında farklı sürelerde (0-360 dakika) ozonlanmıştır. Her bir ozon uygulaması 3 defa tekrar edilmiştir.

3.2.3. Mikrobiyolojik Analizler

Ozonlanmış örnekler stomacher (Seaward, İngiltere) içerisine konulmuş ve %0.1'lik peptonlu su (Becton Dickinson, A.B.D.) ile önce 1/10'luk (25 g örnek + 225 ml peptonlu su) daha sonra da buradan uygun dilüsyonlar yapılarak *E. coli* bakterisi için seçici besiyeri olan TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) agara (Merck, Almanya) dökme plak yöntemi ile ekimler yapılmıştır. Petriler bakterinin optimum üreme sıcaklığı olan 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon sonunda besiyerinde üreyen *E. coli* ATCC 8739 suşundaki β -glucuronidase enzimi etkisiyle kromofor ve glukuronid arasındaki bağ koparak serbest kalan kromofordan dolayı mavi-yeşil renkte koloniler oluşturmuştur. Son aşamada koloni sayımı yapılmıştır.

3.2.4. Duyusal Analizler

Farklı ozon konsantrasyonları ve sürelerinde örneklerin duyusal analizi lezzet, acılık, koku ve renk nitelikleri 6 panelist tarafından puanlama metodu (1-3.9 arasındaki puanlar “zayıf”, 4-5.4 arası “orta”, 5.5-6.9 arası “iyi” ve 7-9 arası “çok iyi”) ile değerlendirilmiştir. Duyusal analiz için her paneliste ozonlanmamış toz ve tane karabiber ve farklı konsantrasyonlarda farklı sürelerde ozonlanmış toz ve tane karabiberler verilmiştir. Yapılan değerlendirmelerin sonucu olarak, her uygulama için yapılmış olan 6 değerlendirmenin ortalaması alınmıştır.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Yapılan ölçümler sonucu elde edilen veriler SPSS (versiyon 11.5.0, SPSS Inc., A.B.D.) programı kullanılarak One-way ANOVA (Post Hoc Multiple Comparisons/Tukey’s method) ile analiz edilmiştir.

4. SONUÇLAR

4.1. Mikrobiyolojik Sonuçlar

Farklı ozon konsantrasyonlarının (0.1, 0.5 ve 1.0 ppm) farklı ozonlama süreleri (0-360 dakika) sonunda tane karabiberdeki *E. coli* üzerindeki etkisi Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

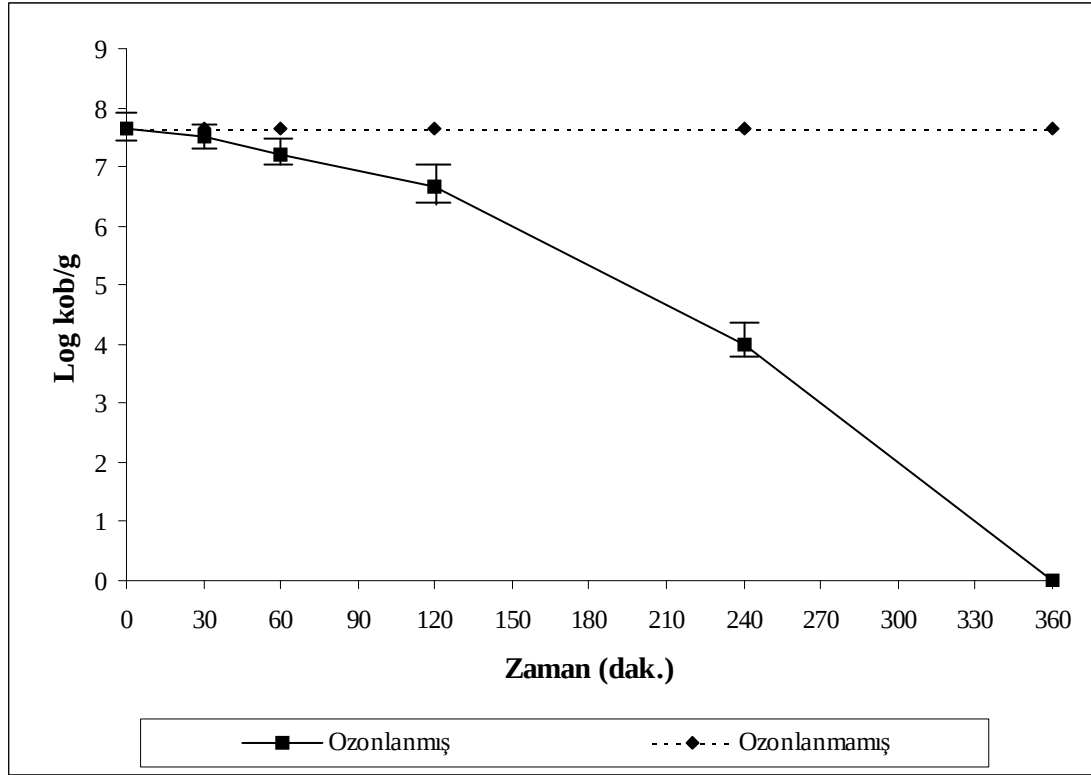
Tablo 4.1. Farklı ozon konsantrasyonlarının tane karabiberdeki *E. coli* üzerindeki etkisi*

Zaman (dak.)	Ozon konsantrasyonu (ppm)		
	0.1	0.5	1.0
0	7,65 ± 0,05a	7,20 ± 0,07a	7.60 ± 0,06a
30	7,50 ± 0,08a	6,70 ± 0,09b	5,77 ± 0,09b
60	7,20 ± 0,06b	5,95 ± 0,10c	5,48 ± 0,08c
120	6,67 ± 0,18c	5,41 ± 0,17d	0d
240	4,00 ± 0,11d	0e	
360	0e		

*a-e: Aynı kolonda yer alan farklı harfe sahip olan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

0.1 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu ve ozonlanmamış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu Grafik 4.1.’de gösterilmiştir. 0.1 ppm ozon konsantrasyonunda 30 dakika ozonlama ile tane karabiber örneklerindeki *E. coli* populasyonunda yaklaşık 0.2 logaritmalık azalma, 60 dakikalık ozonlama ile yaklaşık 0.5 logaritmalık azalma, 120 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 1 logaritmalık azalma ve 240 dakikalık ozonlama sonucunda 3.6 logaritmalık azalma olmuştur. Aynı konsantrasyonda 360 dakika ozonlama sonucunda ise tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

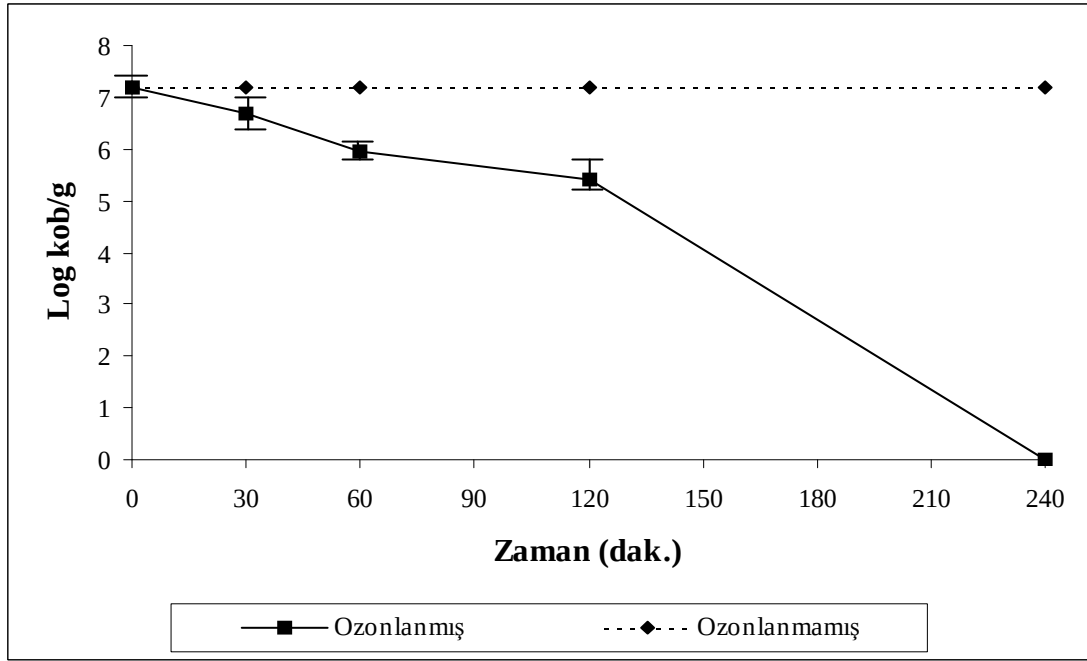
Kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış tane karabiber örneklerinde 30, 60, 120, 240 ve 360 dakika sonunda *E. coli* bakterisinin sayısında herhangi bir değişiklik olmamıştır.



Grafik 4.1. 0.1 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış tane karabiberde *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu

0.5 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu ve ozonlanmamış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu Grafik 4.2.'de gösterilmiştir. 0.5 ppm ozon konsantrasyonunda 30 dakika ozonlama ile tane karabiber örneklerindeki *E. coli* populasyonunda yaklaşık 0.5 logaritmalık azalma, 60 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 1.2 logaritmalık azalma ve 120 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 1.8 logaritmalık azalma gerçekleşmiştir. Aynı konsantrasyonda 240 dakika ozonlama sonucunda ise tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

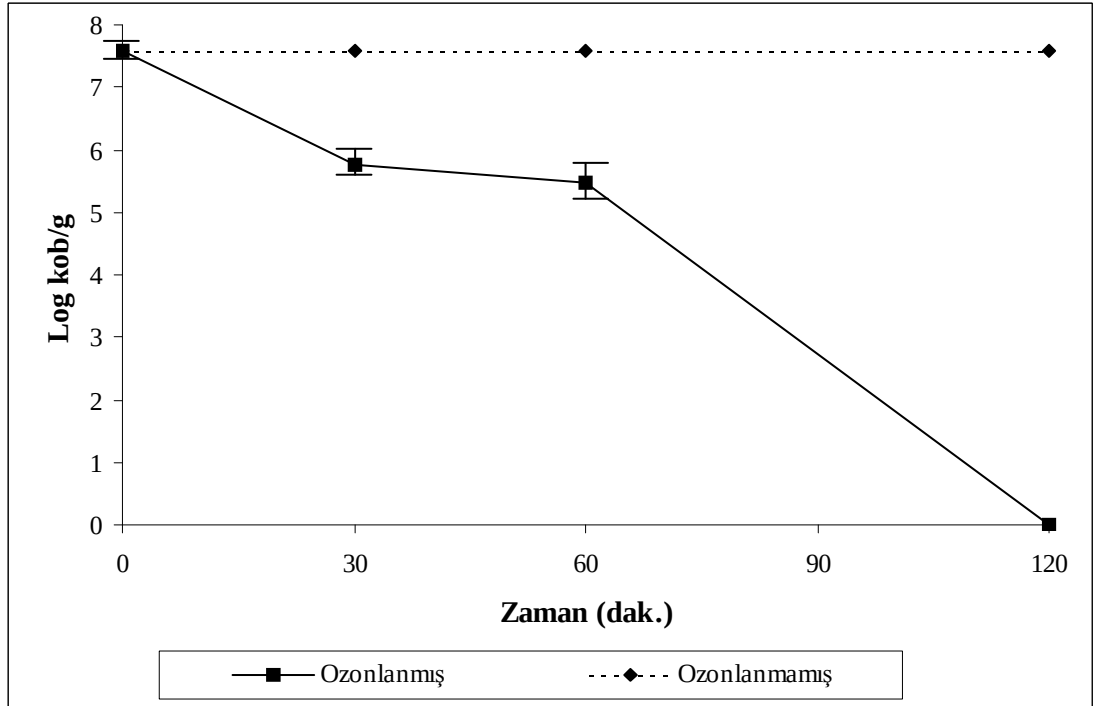
Kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış tane karabiber örneklerinde 30, 60, 120 ve 240 dakika sonunda *E. coli* bakterisinin sayısında herhangi bir değişiklik olmamıştır.



Grafik 4.2. 0.5 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış tane karabiberde *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu

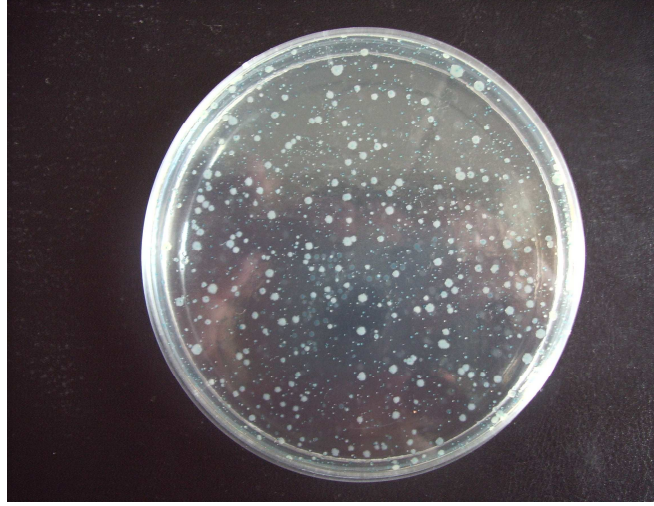
1.0 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu ve ozonlanmamış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu Grafik 4.3.'de gösterilmiştir. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 30 dakika ozonlama ile tane karabiber örneklerindeki *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 1.8 logaritmalık azalma ve 60 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 2.1 logaritmalık azalma gerçekleşmiştir. Aynı konsantrasyonda 120 dakika ozonlama sonucunda ise tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

Kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış tane karabiber örneklerinde 30, 60 ve 120 dakika sonunda *E. coli* bakterisinin sayısında herhangi bir değişiklik olmamıştır.

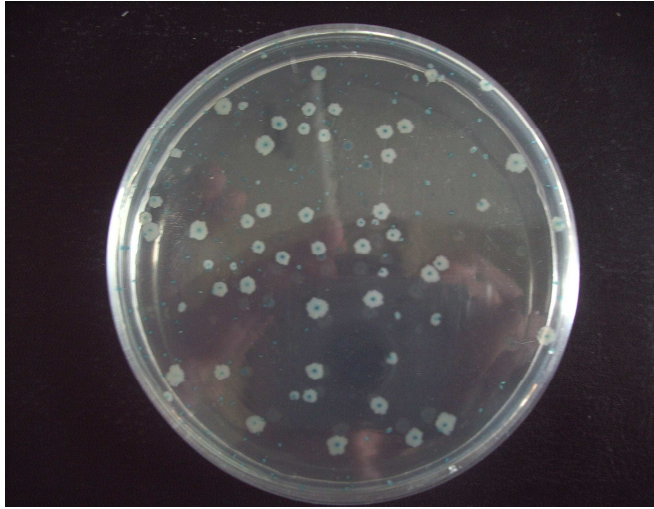


Grafik.4.3. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış tane karabiberde *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu

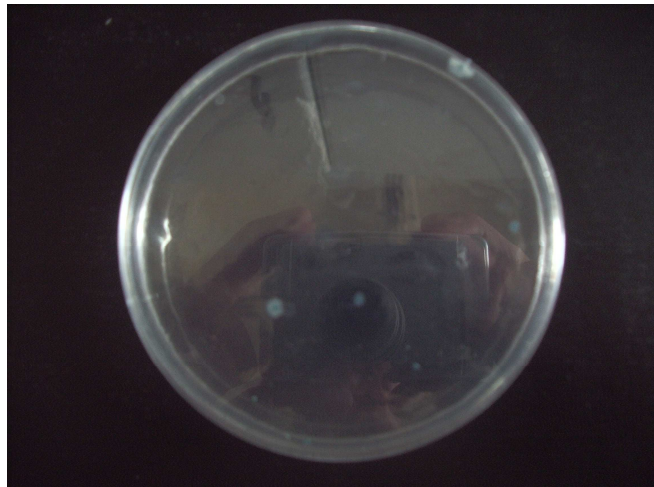
Ozonlanmamış tane karabiber örneğindeki *E. coli* bakterisi üremesi Resim 4.1.'de, 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 60 dakika süre ile ozonlanmış tane karabiber örneğindeki *E. coli* bakterisi üremesi Resim 4.2.'de ve 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanmış tane karabiber örneğindeki *E. coli* bakterisi üremesi ise Resim 4.3.'de verilmiştir.



Resim 4.1. Ozonlanmamış tane karabiber örneğinde *E. coli* bakterisi



Resim 4.2. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 60 dakika süre ile ozonlanmış tane karabiber örneğinde *E. coli* bakterisi



Resim 4.3. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanmış tane karabiber örneğinde *E. coli* bakterisi

Farklı ozon konsantrasyonlarının (0.1, 0.5 ve 1.0 ppm) farklı ozonlama süreleri (0-360 dakika) sonunda toz karabiberdeki *E. coli* üzerindeki etkisi Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

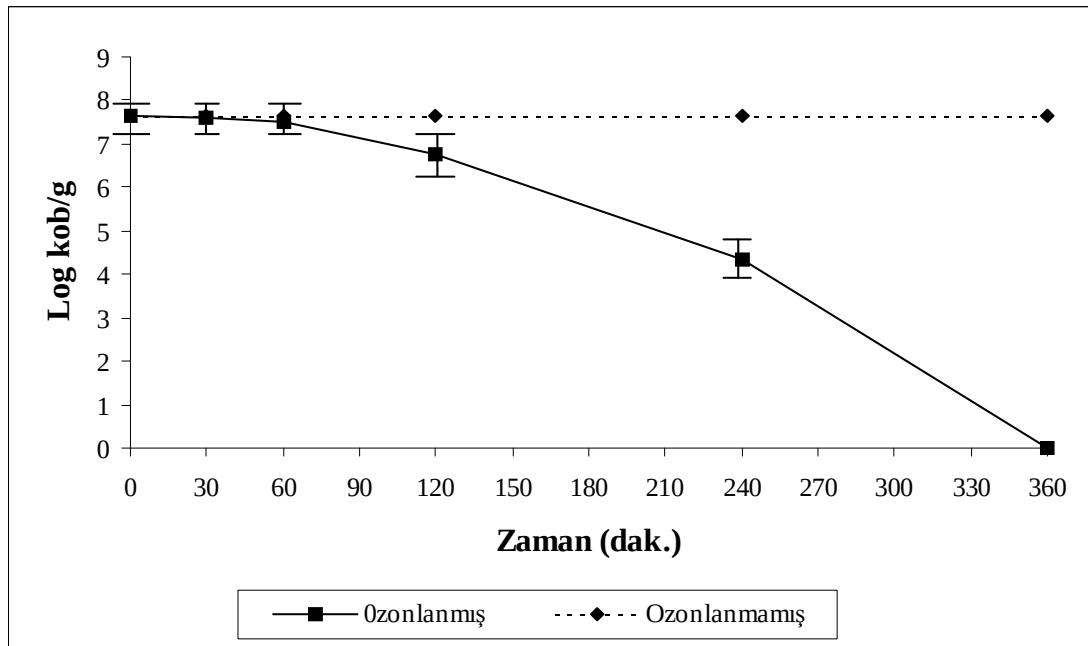
Tablo 4.2. Farklı ozon konsantrasyonlarının toz karabiberdeki *E. coli* üzerindeki etkisi*

Zaman (dak.)	Ozon konsantrasyonu (ppm)		
	0.1	0.5	1.0
0	7.65 ± 0.09a	7.20 ± 0.08a	7.60 ± 0.05a
30	7,60 ± 0,06a	6,95 ± 0,07b	5,82 ± 0,12b
60	7,50 ± 0,08a	5,95 ± 0,08c	5,65 ± 0,07b
120	6,74 ± 0,17b	5,65 ± 0,08d	4,17 ± 0,05c
240	4,35 ± 0,20c	4,00 ± 0,13e	0d
360	0d	0f	

*a-f: Aynı kolonda yer alan farklı harfe sahip olan değerler arasında $p \leq 0,05$ seviyesinde anlamlı bir değişiklik olduğunu göstermektedir.

0.1 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu ve ozonlanmamış toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu Grafik 4.4.'de gösterilmiştir. 0.1 ppm ozon konsantrasyonunda 30 dakika ozonlama ile toz karabiber örneklerindeki *E. coli* populasyonunda yaklaşık 0.1 logaritmik azalma, 60 dakikalık ozonlama sonucunda yaklaşık 0.2 logaritmik azalma, 120 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 0.9 logaritmik azalma ve 240 dakika ozonlama sonucunda 3.3 logaritmik azalma olmuştur. Aynı konsantrasyonda 360 dakika ozonlama sonucunda ise toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

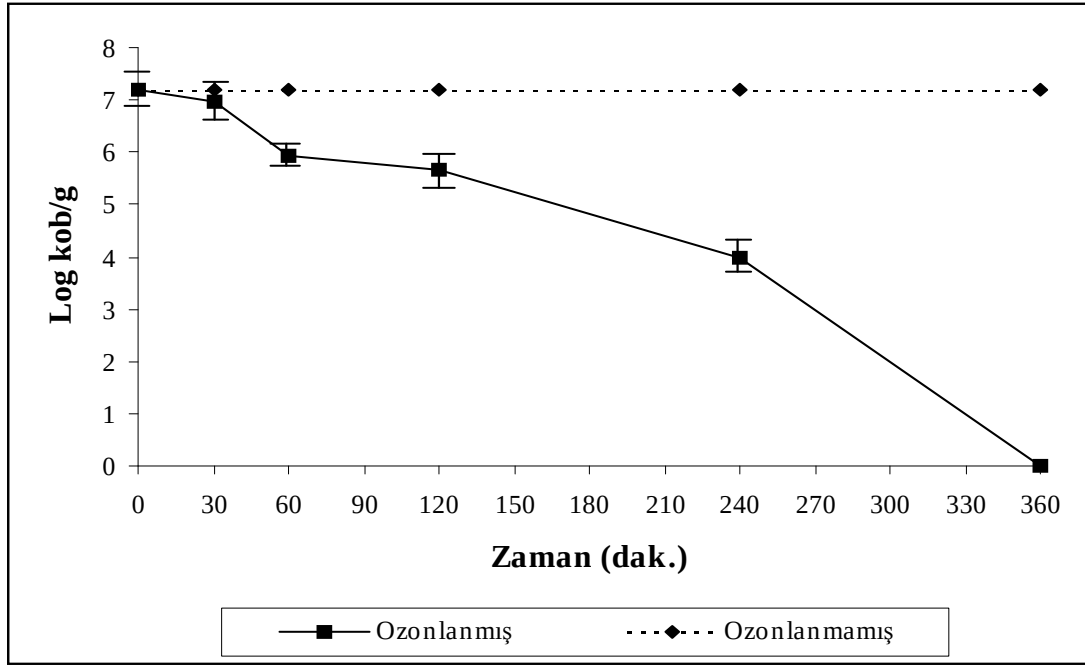
Kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış toz karabiber örneklerinde 30, 60, 120, 240 ve 360 dakika sonunda *E. coli* bakterisinin sayısında herhangi bir değişiklik olmamıştır.



Grafik 4.4. 0.1 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu

0.5 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu ve ozonlanmamış tane karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu Grafik 4.5.'de gösterilmiştir. 0.5 ppm ozon konsantrasyonunda 30 dakika ozonlama ile toz karabiber örneklerindeki *E. coli* populasyonunda yaklaşık 0.3 logaritmalık azalma, 60 dakikalık ozonlama sonucunda yaklaşık 1.2 logaritmalık azalma, 120 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 1.5 logaritmalık azalma ve 240 dakika ozonlama sonucunda 3.2 logaritmalık azalma olmuştur. Aynı konsantrasyonda 360 dakika ozonlama sonucunda ise toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

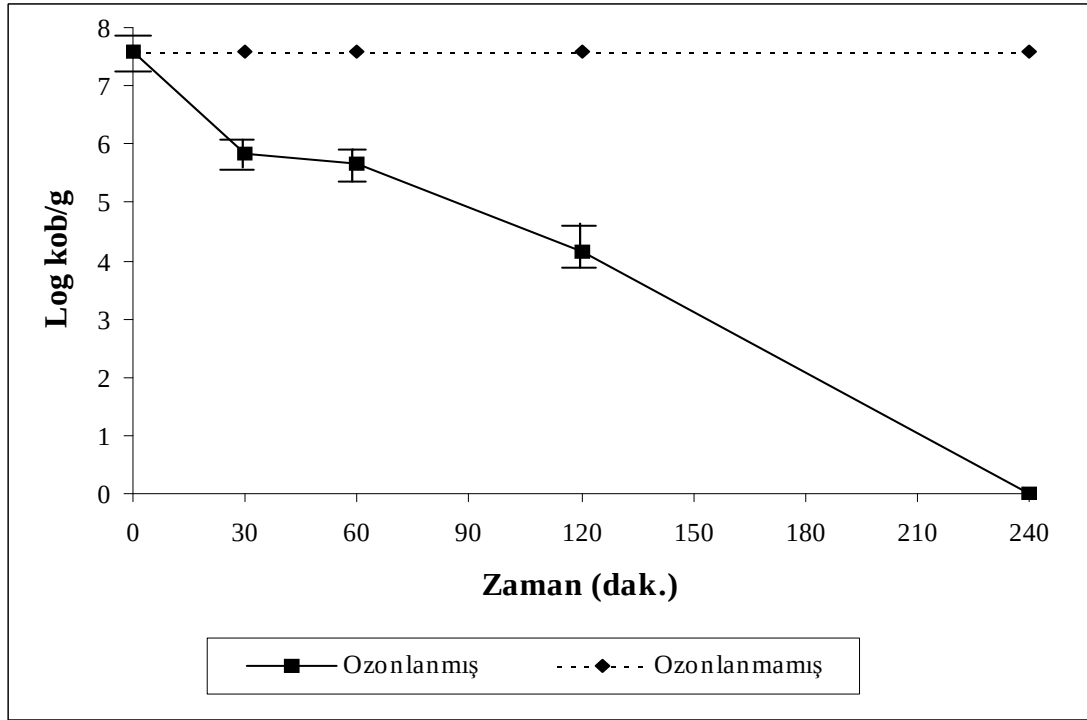
Kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış toz karabiber örneklerinde 30, 60, 120, 240 ve 360 dakika sonunda *E. coli* bakterisinin sayısında herhangi bir değişiklik olmamıştır.



Grafik 4.5. 0.5 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış toz karabiberde *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu

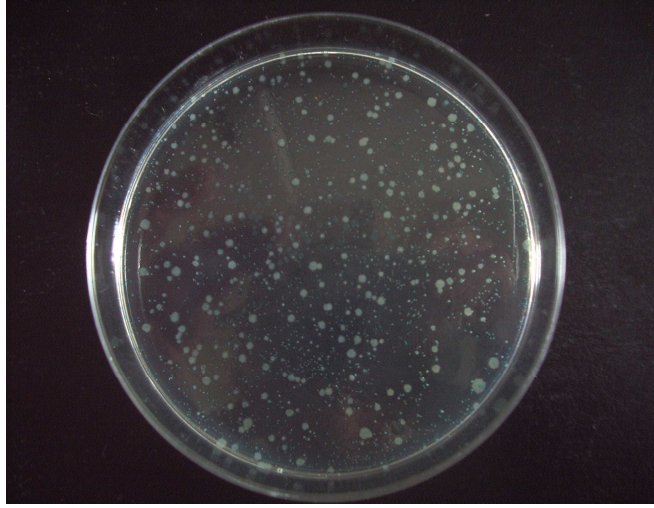
1.0 ppm ozon konsantrasyonu ile ozonlanmış toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu ve kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu Grafik 4.6.'da gösterilmiştir. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 30 dakika ozonlama ile toz karabiber örneklerindeki *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 1.7 logaritmik azalma, 60 dakikalık ozonlama sonunda yaklaşık 1.9 logaritmik azalma ve 120 dakikalık ozonlama ile yaklaşık olarak 3.4 logaritmik azalma gerçekleşmiştir. Aynı konsantrasyonda 240 dakika ozonlama sonucunda ise toz karabiberdeki *E. coli* bakterisinin tamamen inaktive olduğu saptanmıştır.

Kontrol olarak kullanılan ozonlanmamış toz karabiber örneklerinde 30, 60, 120 ve 240 dakika sonunda *E. coli* bakterisinin sayısında herhangi bir değişiklik olmamıştır.

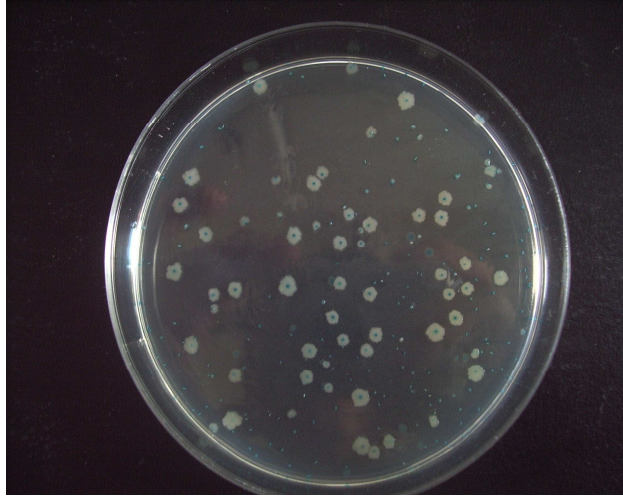


Grafik 4.6. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda ozonlanmış toz karabiberde *E. coli* bakterisinin inaktivasyonu

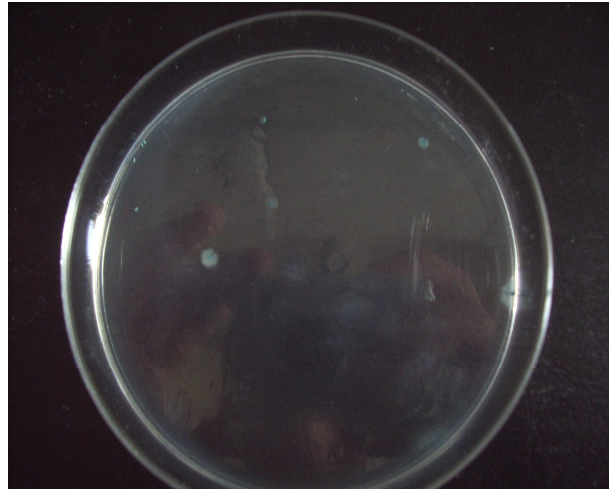
Ozonlanmamış toz karabiber örneğindeki *E. coli* bakterisi üremesi Resim 4.4.'de, 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanmış toz karabiber örneğindeki *E. coli* bakterisi üremesi Resim 4.5.'de ve 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 240 dakika süre ile ozonlanmış toz karabiber örneğindeki *E. coli* bakterisi üremesi ise Resim 4.6.'da verilmiştir.



Resim 4.4. Ozonlanmamış toz karabiber örneğinde *E. coli* bakterisi



Resim 4.5. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanmış toz karabiber örneğinde *E. coli* bakterisi



Resim 4.6. 1.0 ppm ozon konsantrasyonunda 240 dakika süre ile ozonlanmış toz karabiber örneğinde *E. coli* bakterisi

4.2. Duyusal Analiz Sonuçları

Gıdaların kalitelerinin belirlenmesinde en önemli değerlendirmelerden birisi de duyusal özelliklerin değerlendirmesidir. Bunun için ozonlanmış tane karabiber örnekleri ile ozonlanmamış tane karabiber örneklerinin duyusal analiz testleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Ozonlanmış tane karabibere ait duyusal analiz sonuçları*

Ozon konsantrasyonu (mg/litre)	Süre (dakika)	Acılık	Lezzet	Koku	Renk
0.0 (Kontrol)	0	9	9	9	9
0.1	30	9	9	9	9
0.1	60	9	9	9	9
0.1	120	9	9	9	9
0.1	240	9	9	9	9
0.1	360	9	9	9	9
0.5	30	9	9	9	9
0.5	60	9	9	9	9
0.5	120	9	9	7	7
0.5	240	9	9	7	7
1.0	30	9	9	9	9
1.0	60	9	9	9	9
1.0	120	9	9	7	7

*(1-3.9 arasındaki puanlar “zayıf”, 4-5.4 arası “orta”, 5.5-6.9 arası “iyi” ve 7-9 arası “çok iyi”)

0.1 ppm ozon konsantrasyonuna maruz bırakılan tane karabiber örnekleri ile ozonlanmamış tane karabiber örnekleri duyusal olarak karşılaştırıldıklarında, 0-360 dakika süre ile 0.1 ppm’de ozonlanmış tane karabiber örneklerinin duyusal özelliklerinde değişiklik olmadığı gözlenmiştir. 0.5 ppm ozon konsantrasyonuna maruz bırakılan tane karabiber örnekleri ile ozonlanmamış tane karabiber örnekleri duyusal olarak karşılaştırıldıklarında, 0-240 dakika süre ile 0.5 ppm’de ozonlanmış tane karabiber örneklerinin acılık ve lezzetlerinde değişiklik olmadığı; fakat, 120 ve 240 dakika ozonlama sonunda örneklerin karakteristik koku ve rengine çok az oranda değişiklik olduğu gözlenmiştir. 1.0 ppm ozon konsantrasyonuna maruz

bırakılan tane karabiber örnekleri ile ozonlanmamış tane karabiber örnekleri duyuşal olarak karşılaştırıldıklarında, 0-120 dakika süre ile 1.0 ppm’de ozonlanmış tane karabiber örneklerinin acılık ve lezzetlerinde değişiklik olmadığı; fakat, 120 dakika ozonlama sonunda örneklerin karakteristik koku ve reğinde çok az oranda değişiklik olduğu gözlenmiştir. Ozonlanmış toz karabiber örnekleri ile ozonlanmamış toz karabiber örneklerinin duyuşal analiz testleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.4.’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Ozonlanmış toz karabibere ait duyuşal analiz sonuçları*

Ozon konsantrasyonu (mg/litre)	Süre (dakika)	Acılık	Lezzet	Koku	Renk
0.0 (Kontrol)	0	9	9	9	9
0.1	30	9	9	9	9
0.1	60	9	9	9	9
0.1	120	9	9	9	9
0.1	240	9	9	9	9
0.1	360	9	9	9	9
0.5	30	9	9	9	9
0.5	60	9	9	9	9
0.5	120	9	9	9	9
0.5	240	9	9	7	7
0.5	360	9	9	7	7
1.0	30	9	9	9	9
1.0	60	9	9	9	9
1.0	120	9	9	9	9
1.0	240	9	9	7	7

*(1-3.9 arasındaki puanlar “zayıf”, 4-5.4 arası “orta”, 5.5-6.9 arası “iyi” ve 7-9 arası “çok iyi”)

0.1 ppm ozon konsantrasyonuna maruz bırakılan toz karabiber örnekleri ile ozonlanmamış toz karabiber örnekleri duyuşal olarak karşılaştırıldıklarında, 0-360 dakika süre ile 0.1 ppm’de ozonlanmış toz karabiber örneklerinin duyuşal özelliklerinde değişiklik olmadığı gözlenmiştir. 0.5 ppm ozon konsantrasyonuna maruz bırakılan toz karabiber örnekleri ile ozonlanmamış toz karabiber örnekleri

duyusal olarak karşılaştırıldıklarında, 0-360 dakika süre ile 0.5 ppm'de ozonlanmış toz karabiber örneklerinin acılık ve lezzetlerinde değişiklik olmadığı; fakat, 240 ve 360 dakika ozonlama sonunda örneklerin karakteristik koku ve renginde çok az oranda değişiklik olduğu gözlenmiştir. 1.0 ppm ozon konsantrasyonuna maruz bırakılan toz karabiber örnekleri ile ozonlanmamış toz karabiber örnekleri duyusal olarak karşılaştırıldıklarında, 0-240 dakika süre ile 1.0 ppm'de ozonlanmış toz karabiber örneklerinin acılık ve lezzetlerinde değişiklik olmadığı; fakat, 240 dakika ozonlama sonunda örneklerin karakteristik koku ve renginde çok az oranda değişiklik olduğu gözlenmiştir.

Tane karabiberlerin duyusal özelliklerinde herhangi bir değişiklik olmadan tamamen *E. coli* inaktivasyonunun sağlanması için, tane karabiberlerin 1 ppm ozon konsantrasyonunda 120 dakika süre ile ozonlanması gerektiği belirlenmiştir. Toz karabiberin duyusal özelliklerinin değişmeden tamamen *E. coli* inaktivasyonu için, toz karabiberlerin 1 ppm ozon konsantrasyonunda 240 dakika süre ile ozonlanması gerektiği tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu çalışmada tane ve toz karabiberin *E. coli* bakterisinden arındırılmasında ozonun kimyasal madde olarak kullanılabilirliği incelenmiştir. Ozon sahip olduğu güçlü sterilize özelliği ile en fazla suyun arındırılmasında kullanılmasına rağmen, diğer gıdaların arındırılması amacıyla gıda sanayinde de kullanım alanı bulmaya başlamıştır.

Bu çalışma gıda sanayinde tane ve toz karabiberde bulunması muhtemel olan diğer bakteriler (*Salmonella* ve *Bacillus*) ve küfler (*Penicillium* ve *Aspergillus*) ile de yapıp, ozonun denenen bakteri ve küfler üzerindeki etkinliği araştırılabilir. Ayrıca ozon gazının; gıda sanayinde tane ve toz karabiber dışındaki diğer baharatların yanı sıra süt ve meyve suyu gibi sıvı gıdaların mikroorganizmalardan arındırılmasında etkinliğinin belirlenmesi için çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Achen, M., Yousef, A.E., 2001. Efficiency of ozone against *Escherichia coli* O157:H7 on apples. *Journal of Food Science*, 66: 1380-1384.
2. Allen, B., Wu, J., Doan, H., 2003. Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. *Journal of Environmental Science Health*, 38: 617-630.
3. Anonim, 2000. "Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları", Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Mikrobiyoloji Birimi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
4. Bablon, G., Belamy, W.D., Billen, G., Bourbigot, M.M., Daniel, F.B., Erb, E., Gomella, C., Gordon, G., Hartemann, P., Joret, J.C., Knocke, W.R., Langlais, B., Laplanche, A., Legube, B., Lykins, Jr. B., Martin, G., Martin, N., Mortiel, A., Morin, M.E., Miltner, R.S., Perrine, D., Prevost, M., Reckhow, D.A., Servais, P., Singer, P.C., Sproul, O.T., Ventresque, C., 1991a. Practical applications of ozone: Principles and case studies. p. 133-316. In: Langlais, G., Reckhow, D.A., Brink, D.R., (ed.), *Ozone in Water Treatment: Applications and Engineering*. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, Michigan, USA
5. Bablon, G., Bellamy, W.D., Bourbigot, M., Daniel, F.B., Dore, M., Gordon, G., Langlais, B., Laplanche, A., Legube, B., Martin, G., Masschelein, W.J., Pacey, G., Reckhow, D.A., Ventresque, C., 1991b. Fundamental aspects. p.11-132. In: Langlais, G., Brink, D.R. (ed.), *Ozone in Water Treatment: Applications and Engineering*. Lewis Publishers, Inc., Chelsea, Michigan, USA.
6. Barth, M.M., Zhou, C., Mercier, J., Payne, A.F., 1995. Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries. *Journal of Food Science*, 60: 1286-1288.
7. Bilgehan, H., 2000. *Klinik Mikrobiyoloji. Fakülteler Kitabevi. Barış Yayınları, İzmir.*
8. Bott, T.R., 1991. Ozone as a disinfecting in a process plant. *Food Control*, 2(1): 44-49.
9. Boyce, D.S., Sproul, O.J., Buck, C.E., 1981. The effect of bentonite clay on ozone disinfection of bacteria and viruses in water. *Water Research*, 15: 759-767.

10. Broadwater, W.T., Hoehn, R.C., King, P.H., 1973. Sensitivity of three selected bacterial species to ozone. *Applied Microbiology*, 26: 391-393.
11. Burleson, G.R., Murray, T.M., Pollard, M., 1975. Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. *Applied Microbiology*, 29: 340-344.
12. Centers For Disease Control, 1997a. *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with eating a nationally distributed commercial brand of frozen ground beef patties and burgers. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 46: 777-778, Atlanta, USA.
13. Centers For Disease Control, 1997b. Hepatitis A associated with consumption of frozen strawberries. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 46: 288-295, Atlanta, USA.
14. Centers For Disease Control, 1998. Multistate outbreak of listeriosis. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 47: 1085-1086, Atlanta, USA.
15. Dave, S., Kim, J.G., Lou, Y., Yousef, A.E., 1998. Kinetics of inactivation of *Salmonella enteritidis* by ozone. Institute of Food Technologists Annual Meeting, book of abstracts, p. 15.
16. Dave, S.A., 1999. Efficacy of Ozone Against *Salmonella enteritidis* in Aqueous Suspensions and on Poultry Meat. MSc. thesis. The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.
17. Edelstein, P.H., Whittaker, R.E., Kreiling, R.L., Howell, C.L., 1982. Efficacy of ozone in eradication of *Legionella pneumophila* from hospital plumbing fixtures. *Applied Environmental Microbiology*, 44: 1330-1334.
18. Ewell, A.W., 1940. Ozone and its applications in food preservation. "Refrigeration Application Data Book," 2nd ed., Sect. II. "Cold Storage Practice," p. 199-203. American Society of Refrigeration Engineering, Menasha, Wisconsin, USA.
19. Farooq, S., Akhlaque, S., 1983. Comparative response of mixed cultures of bacteria and virus to ozonation. *Water Research*, 17: 809-812.
20. Farooq, S., Chian, E.S., Engelbrechet, R.S., 1977. Basic concepts in disinfection with ozone. *Journal of Water Pollution Control*, 49: 1818-1831.
21. Finch, G.R., Smith, D.W., Stiles, M.E., 1988. Dose-response of *Escherichia coli* in ozone demand-free phosphate buffer. *Water Research*, 22: 1563-1570.

22. Foegeding, P.M., 1985. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore population and the importance of the spore coat to resistance. *Food Microbiology*, 2: 123-134.
23. Fournaud, J., Lauret, R., 1972. Influence of ozone on the surface microbial flora of frozen beef and during thawing. *Industrial Alimental and Agricultural*, 89: 585-589.
24. Glaze, W.H., Kang, J.W., 1989. Advanced oxidation processes. Description of a kinetic model for the oxidation of hazardous materials in aqueous media with ozone and hydrogen peroxide in a semibatch reactor. *Industrial Engineering and Chemical Research*, 28: 1573-1580.
25. Gorman, B.M., Kochevar, S.L., Sofos, J.N., Morgan, J.B., Schmidt, G.R., Smith, G.C., 1997. Changes on beef adipose tissue following decontamination with chemical solutions or water of 35°C and 74°C. *Journal of Muscle Foods*, 8: 185-197.
26. Graham, D.M., 1997. Use of ozone for food processing. *Food Technology*, 51: 72-75.
27. Griffin, P.M., Tauxe, R.V., 1991. Shiga-like toxin-producing *E. coli* infections, the epidemiology of infections caused by *E. coli* O157:H7, other Enterohemorrhagic *E. coli* and associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiologic Reviews*, 13: 61-91.
28. Harakeh, M.S., Butler, M., 1985. Factors influencing the ozone inactivation of enteric viruses in effluent. *Ozone Science and Engineering*, 6: 235-243.
29. Herbold, K., Flehmig, B., Botzenhart, K., 1989. Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms. *Applied Environmental Microbiology*, 55: 2949-2953.
30. Hill, A.G., Rice, R.G., 1982. Historical background, properties and applications. p. 1-37. In Rice, R.G., Netzer, A. (ed.), *Handbook of Ozone Technology and Applications*. Vol. 1. Annual Arbor Science, Annual Arbor, Michigan, USA.
31. Hoigne, J., Bader, H., 1975. Ozonation of water role of hydroxyl radicals as oxidizing intermediates. *Science*, 190: 782-784.
32. Horvath, M., Bilitzky, L., Huttner, J., 1985. Fields of utilization of ozone. p. 257-316. In Clark, R.J.H. (ed.), *Ozone*. Elsevier Science Publ. Co., Inc., New York, USA.

33. Hunt, N.K., Marinas, B.J., 1997. Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone water. *Water Research*, 31(6): 1355-1362.
34. Ishizaki, K., Shinriki, N., Matsuyama, H., 1986. Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone. *Journal of Applied Bacteriology*, 60(1): 67-72.
35. İzgür, M., 1999. Fakültatif Anaerobik Gram Negatif Çomaklar. p. 45-48. Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M. Diker, S. (ed.), Özel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi, Ankara.
36. Johnson, J.L., Rose, B.E., Sharar, A.K., Ransom, G.M., Lattuada, C.P., Mcnamara, A.M., 1995. Methods used for detection and recovery of *E. coli* O157:H7 associated with a food-borne disease outbreak. *Journal of Food Protection*, 58: 597-603.
37. Joret, J.C., Block, J.C., Hartemann, P., Richard, Y., 1982. Wastewater disinfection: Elimination of fecal bacteria and enteric viruses by ozone. *Ozone Science and Engineering*, 4: 91-99.
38. Katzenelson, E., Kletter, B., Shuval, H.I., 1974. Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. *Journal of American Water Works Association*, 66: 725-729.
39. Kawamura, K., Kaneko, M., Hirata, T., Taguchi, K., 1986. Microbial indicators for the efficiency of disinfection processes. *Water Science and Technology*, 18: 175-184.
40. Kim, C.K., Gentile, D.M., Sproul, O.J., 1980. Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2. *Applied Environmental Microbiology*, 39: 210-218.
41. Kim, J.G., 1998. Ozone as an Antimicrobial Agent in Minimally Processed Foods. Ph.D. thesis. The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.
42. Kim, J.G., Yousef, A.E., Chism G.W., 1999a. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. *Journal of Food Safety*, 19: 17-34.
43. Kim, J.G., Yousef, A.E., Dave, S., 1999b. Application of ozone enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection*, 62: 1071-1087.
44. Kim, J.G., Yousef, A.E., Khadre, M.A., 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. *Journal of Food Science*, 66: 1242-1251.

45. Komanapalli, I.R., Lau, B.H.S., 1998. Inactivation of bacteriophage, *Candida albicans* and *E. coli* by ozone. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49: 766-769.
46. Kondo, F., Utoh, K., Rostamibashman, M., 1989. Sterilizing effect of ozone water and ice on various microorganisms. *Bulletion of Faculty of Agricultural, University of Miyazaki*, 36(1): 93-98.
47. Korich, D.G., Mead, J.R., Madore, M.S., Sinclair, N.A., Sterling, C.R., 1990. Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Applied Environmental Microbiology*, 56: 1423-1428.
48. Lee, J.Y., Deniniger, R.A., 2000. Survival of bacteria after ozonation. *Ozone Science and Engineering*, 22: 65-75.
49. Majumdar, S.B., Ceckler, W.B., Sproul, O.J., 1973. Inactivation of poliovirus in water by ozonation. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 45: 2433-2443.
50. Naitoh, S., 1992. Studies on the application of ozone in food preservation; microbicidal properties of ozone in the gas phase to yeast. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents*, 21: 341-346.
51. Naitoh, S., Shiga, I., 1982. Studies on utilization of ozone in food preservation. I. Microbicidal properties of ozone on various microorganisms suspended in water. *Journal of Japanase Society of Food Science and Technology*, 29: 1-10.
52. Naitoh, S., Okada, Y., Sakai, T., 1988. Studies on utilization of ozone in food preservation: V. Changes in microflora of ozone-treated cereals, grains, peas, beans, and spices during storage. *Journal of Japanase Society of Food Science and Technology*, 35: 69-77.
53. Naitoh, S., Sawada, Y., Yamaguchi, N., 1989. Studies on utilization of ozone in food preservation: Effect of ozone treatment on storage of packaged "Namamen" Japanese raw noodle. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents*, 17: 517-526.
54. Özgüven, V., 2001. *Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji. Atlas Kitapçılık*, Ankara.
55. Palou, L., Smilanick, J.L., Mansour, M., Crisosto, C.H., Clark T.J., 2002. Evaluation of ozone gas penetration through citrus commercial packages and

- control of green and blue molds sporulation during cold storage. Central Valley Postharvest Newsletter, 11: 1-14.
56. Peacock, E., Jacob, V.W., Fallone, S.M., 2001. *E.coli* O157:H7: Etiology, clinical features, complications, and treatment. Nephrology Nursing Journal, 28: 547-554.
 57. Perez, R.R., Nunez, S.A., Baluja, C., Otero, M.L., 1995. Ozonation kinetics of glucosamine and N-acetyl glucosamine in aqueous medium. Ozone Science and Engineering, 17(4): 463-467.
 58. Restaino, L., Frampton, E.W., Hemphill, J.B., Palnikar, P., 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. Applied Environmental Microbiology, 61: 3471-3475.
 59. Rice, R.G., Farquhar, J.W., Bollyky, L.J., 1982. Review of the applications of ozone for increasing storage times of perishable foods. Ozone Science and Engineering, 4: 147-163.
 60. Sarig, P., Zahavi, T., Zutkhi, Y., Yannai, S., Lisker, N., Arie, B.R., 1996. Ozone for control of postharvest decay of grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 48(6): 403-415.
 61. Scott, D.B.M., 1975. The effect of ozone on nucleic acids and their derivatives. p. 226-240. In: Blogoslawski W.J., Rice, R.G. (ed.), Aquatic Applications of Ozone. International Ozone Institute, New York, USA.
 62. Scott, D.B.M., Lesher, E.C., 1963. Effect of ozone on survival and permeability of *Escherichia coli*. Journal of Bacteriology, 85: 367-376.
 63. Smilanick, J.L., 2003. Postharvest use of ozone on citrus fruit. Packinghouse Newsletter, 199.
 64. Sobsey, M.D., 1989. Inactivation of health-related microorganisms in water by disinfection processes. Water Science and Technology, 21(3): 179-195.
 65. Song, J., Fan, L., Hildebrand, P.D., Forney, C.F., 2000. Biological effects of corona discharge on onions commercial storage facility. Horticultural Technology, 10: 608-612.
 66. SPSS, 2002. Versiyon 11.5.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA.
 67. Takamoto, Y., Maeba, H., Kamimura, M., 1992. Changes in survival rate of enzyme activities and in *Escherichia coli* with ozone. Applied Microbiology and Biotechnology, 37: 393-395.

68. Takeuchi, K., Frank, J.F., 2000. Penetration of *E.coli* O157:H7 into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability. *Journal of Food Protection*, 63: 434-440.
69. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği, 2000. Tebliğ No: 2000/6. Resmi Gazete, Sayı: 24126. Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, Ankara.
70. Ünlütürk, A., Turantaş, F., 1999. Gıda Mikrobiyolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
71. Williams, D.W., Montecalvo, J., Mueller, Jr.E., Earls, D., Swanson, K., Petersen, L., 1995. Ozone as an alternative disinfectant for carrot washwater. Institute of Food Technologists Annual Meeting, book of abstracts, p. 81.
72. Wickramanayake, G.B., Rubin A.J., Sproul, O.J., 1984. Inactivation of *Naegleria* and *Giardia* cysts in water by ozonation. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 56: 983-988.
73. Wright, J.R., Sumner, S.S., Hackney, C.R., Pierson, M.D., Zoecklein, B.W., 2000. Efficacy of ultraviolet light for reducing *E. coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider. *Journal of Food Protection*, 63: 563-567.
74. Xu, A., 1999. Use of ozone to improve the safety of fresh fruit and vegetables. *Food Technology*, 53(10): 58-62.
75. Zhao, J., Cranston, P.M., 1995. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68: 11-18.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Trabzon'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Kocaeli'nde tamamladı. Üniversite eğitimine 1998 yılında Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladı. 2002 yılında biyolog olarak mezun oldu. 2002 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.