

Taze Sıkılmış Meyve Sularının Mikrobiyolojik Kalitesi¹

Ufuk Bağcı², Ayhan Temiz³

Giriş

Gıda hammaddelerinin işletmeye girmesinden başlayarak son ürün elde edilmesi aşamasına kadar olan üretim zincirinde, ürüne çeşitli kaynaklardan mikroorganizma kontaminasyonu söz konusudur. Mikroorganizmalar gıdalara toprak, hava, su, gıda işçileri, insan ve hayvanlardan barsak sistemleri, gıda işletmelerinde kullanılan hammadde, çeşitli alet-ekipman ve kaplar, atık ve artıklar ile hammadde, ara ürün ve son ürünün temas ettiği her türlü yüzeylerden bulaşabilmektedir (1).

Meyve sularının üretiminde hammadde olarak kullanılan meyvelerin hayvan/insan dışkısu ile direkt kontaminasyonu veya kontamine su ile yıkanması sonucu indirekt kontaminasyonu söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle yıkamada kullanılan suyun mikrobiyolojik kalitesi de büyük önem taşımaktadır. Meyvelerin dış yüzeyinin etkili bir şekilde yıkanması ile her ne kadar yüzeydeki mikroorganizma yükü önemli ölçüde azaltılabilirse de bu uygulama her zaman yeterli olmamaktadır (2).

Meyve ve sebzeler yetiştirmeleri ve hasat edilmeleri boyunca toprak, hava, su, böcekler ve diğer çeşitli hayvanlarla temas halinde olup yüzeyleri çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır. Mikroorganizmalar genelde meyvenin yüzeyinde veya yüzeye yakın bölgelerinde bulunur. Bu mikroorganizmalar ancak meyvenin yaralanıp berelenmesi veya işlenmek amacıyla ekstraksiyonu sırasında meyveye ve meyve suyuna geçebilir. Ancak, meyve suları düşük pH değerlerine (genellikle pH 3-4) sahip olmasına bağlı olarak mikroorganizma gelişimine fazlaca uygun değildir. Bunun başlıca nedeni meyve suyu bileşimindeki organik asitlerin birçok bakteri üzerine mikrobiyostatik ve/veya mikrobisidal etki göstermesi şeklinde açıklanmaktadır (3).

Taze sıkılmış meyve sularının tüketimi sonucu ortaya çıkan sağlık sorunu vakaları oldukça eskidir. Ancak bu ürünler asidik nitelik taşıması nedeniyle çoğu zaman patojenlerin gelişimi yönünden güvenli kabul edilmiştir. Buna karşılık temiz su ile yıkanmış meyvelerden üretilen meyve sularında dahi *Salmonella* Typhi kontaminasyonuna sıklıkla rastlanılmıştır. Taze sıkılmış meyve suyu tüketiminin artması bu ürünlerin güvenilirliği konusunu tekrar gündeme getirmiştir. Özellikle küçük

¹ Prof. Dr. Ayhan Temiz danışmanlığı altında Ufuk Bağcı tarafından hazırlanan ve 2005 yılında tamamlanmış olan Yüksek Lisans Tezinin kaynak özeti bölümüdür.

² Gıda Y. Müh., ³ Prof. Dr. Hacettepe Üniv. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe Ankara. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: temiz@hacettepe.edu.tr

çocuklar, yaşlılar ve bağışıklık sistemi zayıf olan bireyler risk grubunu oluşturduklarından bu konuya dikkat çekilmektedir (4).

Yaklaşık 1922 yılından beri düşük pH'lı taze sıkılmış (pastörize edilmemiş) meyve sularında *Salmonella* Typhi, *S. Typhimurium*, *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw*, *E. coli* O157:H7 ve *Cryptosporidium* türleri gibi patojen bazı bakterilerin varlığı tespit edilmiş olmasına karşılık bu tür ürünlerin gıda zehirlenmesine neden olabildiği ancak yakın bir geçmişte ortaya konmuştur (5).

1980 yılında meydana gelen *E. coli* O157:H7 kaynaklı hemolitik üremik sendrom (HUS) vakalarının elma suyu (apple cider) kaynaklı olduğu belirlenmiştir (6). Orlando'da (Florida/ABD) 1995 yılında taze sıkılmış portakal suyundan kaynaklanan salmonellosis salgınından 63 insanın etkilendiği rapor edilmiştir. Portakal suyu örneklerinden *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw* ve *S. Newport*, hastalardan ise *S. Hartford*, *S. Gaminara* ve *S. Rubislaw* izole edilmiştir (7). Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) New York, California, Washington ve Colorado gibi birçok eyaletinde 1980, 1991 ve 1996'da ve Kanada'da ise 1980 ve 1998 yıllarında *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş taze sıkılmış elma suyu tüketimine bağlı olarak ishal ve hemolitik üremik sendromu (HUS) salgınları bildirilmiştir (8). *E. coli* O157:H7 kaynaklı HUS salgınında 1997 yılında bir kişi ölmüştür. Arizona'da bir işletmede üretilen ve *Salmonella enterica* serotype Muenchen ile kontamine olmuş taze sıkılmış portakal suyu tüketimi sonucu 1999 yılında ABD'nin birçok eyaletinde ve Kanada'da gıda zehirlenmeleri meydana gelmiştir. Güney Avustralya'da 1999 yılında 400 kişi *Salmonella* Typhimurium'un neden olduğu gıda zehirlenmesinden etkilenmiştir (3). Yine 1999 yılında tespit edilen 423 vakada taze sıkılmış portakal suyu tüketimi sonucu *Salmonella* Muenchen enfeksiyonu ve 8 vakada da elma suyu tüketimi sonucu *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu belirlenmiştir. 2000 yılında meydana gelen bir salgında ise 88 kişide *Salmonella* Enteritidis enfeksiyonu belirlenmiştir. Taze meyve suyu tüketimine bağlı yeni bir gıda zehirlenmesi vakası; *S. Enteritidis* ile kontamine olmuş taze sıkılmış portakal ve greyfurt suyu tüketimi sonucu 2000 yılında ABD'nin yedi farklı eyaletinde meydana gelmiştir. Bu salmonellosis salgınından 74 insanın etkilendiği bildirilmiştir (9).

Taze sıkılmış, pastörize edilmemiş meyve suları tüketiciler tarafından yüksek tat ve besleyici değeri nedeniyle tercih edilmektedirler. Pastörize edilmiş meyve sularından daha pahalı olmalarına rağmen çoğu ülkede etkin bir şekilde pazarlanmaktadır (4).

Ülkemizde bu talep daha çok büyük süpermarketlerde hizmet veren küçük üretim birimleri tarafından karşılanmakta ve daha çok taze sıkılmış portakal ve greyfurt suyu üretilmektedir. Meyveler yıkanıp sıkıldıktan hemen sonra meyve suyu, üzerine raf ömrü ve saklama koşullarını belirten bir etiket yapıştırılmış pet veya cam şişelere doldurulmaktadır. Taze sıkılmış meyve suyu şişelenmiş bir halde buzun içinde muhafaza edilerek satışa sunulmaktadır (10). Ülkemizde de son yıllarda taze sıkılmış meyve suyuna olan talebin arttığı gözlenmektedir

Taze Sıkılmış Portakal Suyu Üretimi

Piyasada taze sıkılmış portakal suyu üretimi genel olarak el ekstraktörleri (sıkma makinası) ya da küçük ölçekli otomatik ekstraktörler kullanılarak yapılmaktadır. Üreticiler tarafından genel olarak tercih edilen otomatik ekstraktörlerde bir seferde tek bir portakal sıkılmak üzere dakikada yaklaşık 30 portakala kadar sıkım yapılabilmektedir. Bu makineler temizlenmesi kolay, portatif, kolayca kurulabilen ve tüketicilerin dikkatini çekici şekilde dizayn edilmişlerdir (11). İyi bir mekanik ekstraksiyon ile ağırlık bazında yaklaşık olarak % 45-55 verimde portakal suyu elde edilebilmektedir (12).

Taze sıkılmış (pastörize edilmemiş) ve polietilen şişelere doldurulmuş portakal suyunun raf ömrü ve kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada, alınan portakal suyu örnekleri -1.7 °C, 1.1 °C, 4.4 °C ve 7.8 °C'de depolanmıştır. Bu sıcaklıklarda raf ömrü -1.7 °C'de 20-23 gün, 1.1 °C'de 16-22 gün, 4.4 °C'de 10-16 gün ve 7.8 °C'de 5-8 gün olarak bulunmuştur. Kötü tat raf ömrünü kısıtlayan en önemli etmen olarak görülmüş ve 7.8 °C'de diasetil oluşumunun en önemli tat bozulması etmeni olduğu belirtilmiştir. Mikrobiyal yük 7.8 °C'de artarken diğer depolama sıcaklıklarında genel olarak azalma göstermiştir (Çizelge 1). Askorbik asit miktarı 4.4 °C ve daha düşük sıcaklıklarda depolama ile 2 hafta sonunda % 86-93 oranında korunmuştur (Çizelge 2). Yapılan duyusal analizlerde 1.1 °C'de depolanan portakal suyu örnekleri panelistler tarafından tercih edilmiştir. Raf ömrü -1.7 °C'de daha uzun olmasına rağmen, üreticiler tarafından 1.1 °C sıcaklığa erişilmesinin pratikte daha kolay olacağı belirtilerek çalışma sonucunda bu depolama sıcaklığı önerilmiştir (13).

Çizelge 1. Taze sıkılmış portakal sularında toplam canlı mikroorganizma sayısında iki hafta depolama boyunca değişimler (13)

Örnek	Toplam canlı sayısı (koloni/ml x 1000)								
	Başlangıç	1. Hafta (°C)				2. Hafta (°C)			
		-1.7	1.1	4.4	7.8	-1.7	1.1	4.4	7.8
Valencia	8.1	-	8.9	9.1	72.0 ^a	-	6.2	6.6 ^a	409.0 ^a
Hamlin	190.8	133.0	130.0	127.0	-	59.5	66.5	55.0	-
Pineapple	85.0	1.5	18.0	1.8	-	1.3	0.8	1.0	-

^a Kabul edilemez tada sahip örnekler.

Taze sıkılmış meyve sularının geleneksel meyve suyu üretiminden farkı üretimde pastörizasyon aşamasının bulunmamasıdır. Pastörizasyon uygulaması ile doğal enzimlerin ve mikroorganizmaların inaktive edilmesi sonucunda ürünün raf ömrü uzatılmaktadır. Fakat ısı işlem sonucunda üründe flavor kaybı olmaktadır.

Çizelge 2. Taze sıkılmış polietilen ambalajlarda şişelenmiş portakal sularında depolama süresinin askorbik asit miktarı (mg/100ml) üzerine etkisi (13)

Depolama süresi (hafta)	Hamlin portakalı			Pineapple portakalı		
	-1.7 °C	1.1 °C	4.4 °C	-1.7 °C	1.1 °C	4.4 °C
0	54.5	54.5	54.5	54.3	54.3	54.3
1	-	-	-	52.2	51.7	51.2
2	50.5	50.2	49.5	49.9	49.4	49.3
3	47.7	47.5 ^a	49.6	47.3	48.4 ^a	49.6 ^a
Yüzde askorbik asit korunumu						
1	-	-	-	96.1	95.2	94..3
2	92.7	92.1	90.8	91.9	91.0	94.3
3	87.5	87.2	91.0	87.1	89.1	91.3

^a Kabul edilemez tada sahip örnekler

Meyvenin Temizlenmesi

Taze sıkılmış meyve sularında meyve temizliği ve sanitasyon işlemleri mikrobiyal güvenliği sağlamak için iyi bir ilk yaklaşım şeklidir (10). Yüksek kalitede taze sıkılmış portakal suyu üretebilmek için meyvelerin dikkatli toplanması (handling) ve bu aşamadaki sanitasyon önlemleri çok önemlidir. Portakal yüzeyindeki toplam aerobik mikroorganizma sayısının yaklaşık 4.0 kob/cm² olduğu belirtilmektedir. Taze sıkılmış portakal sularında mikrobiyal yükün 1.3-5.3 log kob/ml arasında değiştiği rapor edilmiştir. Yüksek miktarda mikrobiyal yük genelde meyvelerin yetersiz temizlenmesi, bozuk hammadde kullanımı ve ekipmanın yetersiz sanitasyonundan kaynaklanmaktadır. Taze sıkılmış meyve suyunun kalitesini ve güvenliğini etkileyen en önemli faktör meyvenin yüzeyindeki mikrobiyal kontaminasyon düzeyidir. Ekstraksiyon sırasında meyvenin yüzeyindeki mikroorganizmalar meyve suyuna geçebildiği için meyve yüzeyindeki mikrobiyal yük ne kadar az olursa meyve suyuna geçen mikroorganizma sayısı da o kadar az olacaktır. Buna bağlı olarak da meyve suyunun patojen mikroorganizmalar nedeniyle taşıdığı risk azalacaktır. Bu nedenle taze sıkılmış meyve suyu üretimi prosesi mikroorganizmaları öldürme yönünde herhangi bir işlem içermediğinden meyve suyunun güvenliğini sağlayabilecek ve aynı zamanda da duyuşal özelliklerini etkilemeyecek meyve yüzey dekontaminasyon yöntemlerine gerek duyulmaktadır (13).

Bu amaca dönük olarak gerçekleştirilen bazı araştırmalarda sıcak su uygulaması ve yüzey yıkama çözeltilerinde klorlu bileşikler, peroksiasetik asit, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve pH 11,8'e ayarlı alkali bileşikler denenmiştir (3, 14, 15).

Taze meyve suyu kaynaklı gıda zehirlenme vakalarını dikkate alan FDA 1998 yılında güvenli meyve suyu üretimi için bir HACCP tüzüğü yayınlamıştır. Bu tüzük gereğince üreticilerin halk sağlığı açısından önemli olan en dirençli mikroorganizma sayısında 5 log düzeyinde bir azalma sağlamaları gerekmektedir (3). Bu nedenle yapılan ön çalışmalarda ilk olarak meyve suyunun mikrobiyal florası belirlenmektedir. Değişik

çalışmalarda taze sıkılmış meyve sularından izole edilen patojen ve indikatör bakteriler; *Salmonella* alt türleri ve serotipleri (*S. Typhi*, *S. Typhimurium*, *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw*, *S. Enteritidis* ve *S. enterica*), *E. coli* O157:H7, *Cryptosporidium* türleri, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* ve diğer koliform bakteriler (*Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Citrobacter* türleri) olarak belirlenmiştir (5, 3).

Patojenler

Patojen mikroorganizmalar meyve sularında düşük pH'ya sahip olmaları nedeniyle gelişme gösterememekte ancak bu mikroorganizmalar bu tip ortamlarda canlılığını koruyarak asidik koşullara adapte olabilmektedir. Düşük pH'sı nedeniyle güvenli görülen meyve sularında düşük pH ile asit konsantrasyonunun patojenik bakteriler üzerine antogonistik etkisi olsa da bu faktörlerin tek başına gıda güvenliğini sağlayamadığı ortaya çıkmıştır (5, 3).

Florida'da 1995 yılında bir meyve suyu üretim işletmesinde üretilen taze sıkılmış portakal sularının tüketilmesi sonucu meydana gelen salmonellosis vakaları nedeniyle bu işletmeden alınan meyve suyu ve yüzey örneklerinde *S. Hartford*, *S. Gaminara*, *S. Rubislaw* tanımlaması yapılmıştır. Örneklerdeki fekal koliform ve *E. coli* sayısı >110 EMS/ml olarak bulunmuş ve meyve suyundaki *Salmonella* varlığı yüksek sayıdaki fekal koliform ve *E. coli* varlığı ile ilişkilendirilmiştir (16).

Koliform grubu bakteriler, 35-37 °C'da 48 saat içinde laktozdan asit ve gaz oluşturan Gram-negatif, sporsuz, çubuk şekilli enterik bakterilerdir. Bu tarife Enterobacteriaceae familyası üyeleri olan *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Ent. cloacae*, *Citrobacter freundii* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakteriler girmektedir. Koliform grubu bakteriler gıdalarda hijyen indikatörü olarak değerlendirilmektedir (17).

E. coli, Enterobacteriaceae familyasına dahil, Gram-negatif, fakültatif anaerobik, sporsuz, hareketli ve çubuk şekilli bir bakteridir. *E. coli* insan ve çoğu sıcak kanlı hayvanın normal bağırsak florasında yer almakta ve bu nedenle de fekal bulaşının indikatörü olarak kabul edilmektedir. Ancak son yıllardaki birçok salgından patojenik *E. coli* biyotiplerinin sorumlu tutulması, bu bakterinin patojenik potansiyelinin önemsenmesine yol açmıştır (18, 19, 20).

Patojen *E. coli* suşları arasında enterotoksijenik (ETEC), enteropatojenik (EPEC), enteroinvazif (EIEC), enterohemorajik (EHEC) veya verotoksin/shiga toksin üreten (VTEC/STEC) *E. coli*'ler bulunmaktadır. EHEC iki tip verotoksin (VT-1 ve VT-2) ve iki tip shiga-like toksin (SLT-1 ve SLT-2) olmak üzere iki farklı sitotoksin üretmektedir. Bu toksinler "hemorojenik kolit (HK)", "trombotik trombositopenik purpura (TTP)" ve "hemolitik üremik sendrom (HUS)"a neden olmaktadır. HK az ateşli veya ateşsiz, abdominal kramp, kanlı dışkı ve diyare ile karakterize edilmektedir. TTP genellikle yetişkinlerde görülen ve merkezi sinir sisteminin hasarı sonucu ortaya çıkan nöbet ve felçler ile karakterizedir. HUS ise anemi, karaciğer hasarı ve muhtemel karaciğer yetmezliğine neden olmaktadır. Meydana gelen HK ve HUS vakaları genellikle *E. coli* O157:H7 serotipi ile ilişkilendirilmektedir. *E. coli* O157:H7 ilk olarak 1982 yılında meydana gelen HK vakaları ile insan patojeni olarak belirlenmiştir. *E. coli* O157:H7 10 adet/g canlı hücre kadar düşük düzeyde vücuda alınması durumunda bile enfeksiyon için yeterli olabilmektedir. Gıda patojeni olarak nispeten yeni bir tehlike

olan *E. coli* O157:H7 son yıllarda gıda güvenliğinde en ciddi tehditlerden biri haline gelmiştir. *E. coli* O157:H7 USDA ve FDA tarafından denetlenen bir patojendir ve bu nedenle gıda üreten işletmeler ürünlerinin bu patojenle kontamine olup olmadığını test etmek zorunluluğundadır (20, 21, 22, 23).

E. coli O157:H7 suşu, diğer *E. coli* 'lerden, 44,5 °C'de zayıf gelişim göstermesi ya da hiç gelişmemesi, sorbitolü fermente edememesi, enterohemolizin üretimi ve β -glukoronidaz enzimine sahip olmaması gibi özellikleriyle ayrılmaktadır. Bu karakteristik özelliklerinden yararlanılarak selektif besiyerleri kullanımı ile izolasyonu mümkün olabilmektedir (24).

E. coli O157:H7'nin gelişimi için limit pH yaklaşık 4,5 dolayında olmasına karşılık bu bakteri daha asidik koşulları uzun süre tolere edebilmektedir. Asit toleransında bakteri suşu, gelişim fazı, gıda tipi ve depolama sıcaklığı rol oynamaktadır (25). Sublethal pH düzeyine maruz bırakılmış *E. coli* O157:H7 hücrelerinin daha düşük pH düzeylerini tolere edebildiği belirlenmiştir (26, 27). Brundzinski ve Harrison (26), yaptıkları bir çalışmada aside adapte *E. coli* O157:H7'nin aside adapte olmayana göre pH 4,0'de canlılığını yaklaşık 1000 kat fazla koruduğunu göstermişlerdir. Ryu ve ark. (27), sitrik asit ile pH 3,9'a ve malik asit ile pH 3,4'e ayarlanmış TSA (Tryptic Soy Agar) besiyerinde aside adapte suşların en az 48 saat canlılıklarını koruduğunu belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda aside toleranslık cevabının spesifik proteinlerin üretimi ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. *E. coli*'nin böyle bir adaptasyonu büyük baş hayvanların sindirim sistemine yerleştiğinde ya da sindirim sırasında mide asidine maruz kalmasıyla geliştirebileceği ve bu yolla meyve suyu asitliğine karşı dayanım sağlayabileceği belirtilmiştir (25, 28; 29).

E. coli O157:H7'nin asidik meyve sularında canlılığı sürdürme özelliği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada *E. coli* O157:H7'nin elma suyunda pH 3,7 ve 8 °C'de canlılığını 31 gün süresince koruduğu belirlenmiştir (62). Uljas ve Ingham (30), *E. coli* O157:H7'nin elma suyunda, organik asitler eklenerek asitleştirilmiş TSB (Tryptic soy broth) besiyerine göre daha iyi canlılığını koruduğunu belirlemişlerdir. Bunun muhtemel nedeni olarak koruyucu meyve suyu bileşenlerinin varlığını göstermişlerdir. Portakal suyu ile yapılan bir çalışmada ise pH 3,9'da canlılığın 25 günden daha fazla sürdüğü, pH 3,4'de ise bu sürenin 13 güne indiği gösterilmiştir (31). Benjamin ve Datta (32), *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 suşunun pH 3,0'da ve pH 2,5'da 5 saate kadar canlı kalabildiğini göstermişlerdir.

Salmonella dünyada yaygın olarak rastlanılan patojen bir bakteri olup başlıca kaynağı sağlıklı veya hasta insan ve diğer omurgalı hayvanların bağırsak sistemleridir. *Salmonella*, Enterobacteriaceae içinde yer alan fakültatif anaerop, Gram negatif, çubuk şekilli, *S. pullorum* ve *S. gallinarum* haricinde hepsi peritriş flegallaya sahip patojen bir bakteridir (33). Optimum üreme sıcaklıkları 35-37 °C'dir, karbohidratlardan asit veya gaz oluştururlar, tek karbon kaynağı olarak sitrati kullanırlar, H₂S üretirler, lizin ve ornithini kadaverin ve putresine dekarboksile ederler, oksidaz negatif, katalaz pozitifler, laktoz, sukroz ve üreyi metabolize edemezler. Bazı atipik *Salmonella* biyotipleri ise lizini dekarboksile edemezken, laktoz, sukroz ve üreyi kullanabilirler. Genellikle koliform grubu bakteriler tarafından yoğun düzeyde kontamine olmuş gıdalarda rastlanılır. *Salmonella* cinsi *S. enterica* (bazı kaynaklarda bu tür *S. chleraesuis* olarak adlandırılmaktadır) ve *S. bongori* olmak üzere iki türe ayrılmıştır ve *S. enterica* türü içinde alt tür bulunmaktadır (*S. subsp. enterica*,

salamae, arizonae, diarizonae, houtenae, indica). *Salmonella*'nın 2422'nin üzerinde serotipi tanımlanmıştır. *S. bongori*, insan hastalıkları ile ilgili değilken *S. enterica*, bağırsak enfeksiyonlarına veya ciddi sistemik hastalıklara (tifo) neden olan pek çok serotipi içerir. Genel olarak yumurta, kümes hayvanları, et ve et ürünleri salmonellosis aracı olarak belirlense de meyve ve sebze ürünleri ile ilgili vakalar da tespit edilmiştir (33, 34, 35).

Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kaynaklı gastroenterit vakalarının büyük çoğunluğunun etmeni olarak *Salmonella* bulunmuştur. *Salmonella* 'nın hastalık yapabilmesi için en düşük kontaminasyon dozu 10^5 - 10^6 adet/g canlı hücre olarak belirlenmiştir. *Salmonella* gastroenterit, septisemi, enterik ateş ve tifoya neden olmaktadır. Tifo yüksek ateş (40 °C), baş ve mide ağrısı ile karakterize olup *Salmonella* kaynaklı enfeksiyonlarda en yüksek ölüm oranına sahiptir. *Salmonella* kaynaklı gastroenterit de ölüme sonuçlanabilmektedir (9, 33, 36).

Salmonella gelişimi için optimum pH yaklaşık 7,4'dür ancak gelişim ve canlılığın devamı daha düşük pH'larda mümkün olabilmektedir. Ferreira ve Lund (37), *Salmonella* spp.'nin HCl ile pH 3,8'e asitlendirilmiş TSB besiyerinde 30 °C'de gelişebildiğini göstermişlerdir. Yapılan çalışmalarda *Salmonella* 'nın meyve sularında canlılığını birkaç saatten bir kaç haftaya kadar koruyabildiği gösterilmiştir. Bu durum çeşitli çalışmalarda incelenmiş ve kısmi olarak "asit tolerans cevabı" olayı ile açıklanmıştır. Sublethal pH düzeyine maruz bırakılmış hücrelerin daha düşük pH seviyelerini tolere edebildiği asit şok proteinlerin üretimi ile ilgili olduğu belirlenmiştir. *S. typhimurium* hücreleri ile yapılan bir çalışmada daha önce pH 5,8'e maruz bırakılan hücrelerin bırakılmayanlara göre pH 3,3'de 100 ile 1000 kat arasında daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde yapılan başka bir çalışmada *Salmonella gaminara*, *S. hartford*, *S. rubislaw* ve *S. typhimurium* önce pH 5,0' a maruz bırakılmış daha sonra pH 3,5; 3,8; 4,1 ve 4,4'e ayarlı (sitrik asit ve 2N NaOH ile) portakal sularına 10^6 düzeyinde inoküle edilerek 4 °C'de inkübe edilmiş ve pH 3,5'de 27 gün, pH 3,8'de 46 gün, pH 4,1'de 60 gün ve pH 4,4'de 73 gün canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir. Sonuçlar kontamine olmuş portakal sularında *Salmonella* 'nın hastalığa neden olabilecek kadar uzun süre canlılığını koruyabileceğini göstermiştir (5).

Her yıl milyonlarca insan gıda kaynaklı hastalıklardan hasta olmaktadır. Bu vakaların bazılarında mevsimsel artışlar olduğu belirtilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu vakaların % 52'sinin, campylobacteriosis'in % 35'inin, salmonellosis'in ise % 32'sinin yaz aylarında (Haziran-Ağustos) ortaya çıktığı belirlenmiştir (38).

Derkontaminasyon

Tanım olarak dezenfeksiyon, ortamdaki ürüne kontaminasyon kaynağı olabilecek mikroorganizmaların tümünün öldürülmesi ya da zararlı etki yapmayacak en düşük düzeye indirilmesidir. Dekontaminasyon ise fiziksel ya da kimyasal yollar ile yüzeylerdeki zararlı mikroorganizmaların öldürülmesi, uzaklaştırılması ve ya inaktive edilmesi işlemidir (39).

Halojen dezenfektanlar arasında yer alan klor ve klorlu bileşiklere gıda işletmelerinde yaygın olarak başvurulmaktadır. Hipokloritler, özellikle sodyum hipoklorit (NaOCl) ve

kalsiyum hipoklorit gıda üretim alanlarında en çok kullanılan klorlu bileşiklerdir. Klor ve klorlu bileşikler; bakteriler, küfler, mayalar, bakteriyofajlar ve bazı virüsleri içine alan oldukça fazla çeşitte mikroorganizmaya ve mikroorganizma sporlarına karşı etkilidirler (40).

Klor ve klorlu bileşikler uzun yıllardır içme suyu ve atık su uygulamalarında, gıda işletmelerinde ekipmanların ve yüzeylerin sanitasyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca ham sebze ve meyve endüstrisinde bunların yıkanmasında dezenfektan olarak da kullanılmaktadır. Dezenfeksiyon işlemlerinde genel olarak 50-200 ppm serbest klor içeren çözeltiler kullanılmaktadır (41).

Klorun germisid etkisi ortamdaki miktarı ve temas süresi ile yakından ilgili olup, bu etki çeşitli teorilerle açıklanmaktadır. Mikrobisidal etkilerini; hücre membranına zarar vererek, enzim inhibisyonuna neden olarak, DNA'yı etkileyerek, sitozinin toksik N-klor bileşiklerini oluşturarak, amino asitlerin nitril ve aldehitlere oksidatif dekarboksilyasyonuna neden olarak gösterebilmektedirler. Hücre membranı fonksiyonlarının bozulması; hücre içeriğinin dışarı sızması veya hücre dışındaki besin öğelerinin hücre içine alınmasının engellenmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Klorun germisid etkisi, hangi görüşe dayanırsa dayansın, esas olarak suda oluşturduğu hipokloroz (HOCl) asitten kaynaklanmaktadır. HOCl, hücre içine girerek, hücre metabolizmasında önemli görevleri olan enzimlerin sülfidril gruplarını okside etmekte ve enzim inaktivasyonuna neden olmaktadır (40). Mikroorganizmaların ölüm hızının, doğrudan doğruya suda bulunan dissosiyeye olmamış HOCl miktarı ile orantılı olduğu saptanmıştır. Klorun germisid etkisi klor derişimi dışında pH değeri, sıcaklık, organik madde çeşit ve derişimi gibi faktörlerden etkilenir (42).

Klor ve klorlu bileşiklerin etkileri serbest klor miktarı ile ilişkilidir ve serbest klor miktarı arttıkça etkileri de artmaktadır. Düşük pH değerlerinde (pH 4-5) daha fazla etki göstermektedirler. pH'nın 4 ün altına düştüğü değerlerde toksik Cl₂ gazı oluşmaktadır. Suyu sodyum hipoklorit ilavesi ile hipokloroz asitle birlikte sodyum hidroksit oluşmakta ve böylece pH değeri yükselmektedir. Bu durumda dissosiyeye olmamış HOCl miktarı düşmektedir. Suyu katılan hipoklorit miktarı arttıkça, suyun pH değeri de yükseleceğinden HOCl miktarı doğru orantılı olarak artmamaktadır. HOCl miktarı 20 °C'de göreceli olarak pH 6.0'da % 97 iken pH 8,0'da % 23 olmaktadır. Sıcaklığın artması ile aktivitelerinde bir artış meydana gelmesine rağmen, yüksek sıcaklıklarda sudaki çözünürlükleri azalmaktadır (39; 42, 43).

Bu maddelerin geniş spektrumlu ve ucuz olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmalarına karşılık, kullanılmalarını sınırlayan bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Organik maddeler klorlu bileşikler ile kompleks oluşturarak etkinliklerini azaltmaktadır. Oluşan bu maddelerin kanserojenik olduğuna değinilmektedir. Yüksek konsantrasyonda kullanıldıklarında insan derisini tahriş edebilmektedirler. Paslanmaz çelik ve diğer metaller üzerinde yüksek korozyon etkiye sahiptirler ve sıcaklığın artması ile korozyon etki artmaktadır. Bu nedenle yüksek sıcaklıkta kullanılmamaları ve yüzeylerde uzun süre tutulmamaları önerilmektedir (43).

Damıtık su niteliğinde olmayan her hangi bir suya, kontrollu olarak az miktarlarda klor katılırsa, klor önce suyun klor ihtiyacını gidermeye harcanır. Klorun bir kısmı bu sırada azotlu maddelerle zayıf bir bağ ile bağlanarak kloraminler veya diğer kloro-

nitrojen bileşiklerini oluşturur. Suya klor katılmaya devam edilirse belli bir serbest kalıntı klor düzeyinde serbest kalıntı klor ile kloro-nitrojen bileşikleri arasında bir oksidasyon reaksiyonu başlar ve serbest kalıntı klor miktarı reaksiyon tamamlanana kadar azalır ve nihayet serbest kalıntı klor miktarı sabit kalır. Bu noktadan sonra, serbest kalıntı klor miktarı, katılan klor miktarı ile doğru orantılı olarak artmaya başlar (42).

Peroksitler ve perasetik asit gibi oksidan bileşikler düşük konsantrasyonlarda, olumsuz çevre koşullarında ve organik madde varlığında da oldukça etkilidirler. Daha önceleri sadece antiseptik olarak kullanılan hidrojen peroksit antimikrobiyal ajan olarak geniş bir uygulama alanına sahiptir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) bakteri, küf, maya, virüs ve sporlar üzerine etkili olup geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahiptir. *Staphylococcus* türlerinde bulunan enzim sistemlerinin hidrojen peroksiti inaktive ettiği bilinmektedir (44). Anaerobikler katalaz üretemedikleri için peroksit uygulamasına karşı daha duyarlıdır. Gram-negatif bakterilere karşı ise Gram-pozitif bakterilere göre daha etkilidirler. Oksidan maddeler deri ve mukoz membranlara karşı iritan özelliğe sahiptirler. Bazı alet ve ekipmanlara karşı korozyon olabilmektedirler. Peroksitler ve perasetik asitler seyreltildiğinde kolayca CO_2 , O_2 ve suya dissosiyasyon olarak etkisini kaybedebilmektedirler (39, 45).

H_2O_2 mikroorganizmaları hızlı bir şekilde öldürmekte ancak uzun süreli koruma etkisi bulunmamaktadır. Bu kısa süreli etki H_2O_2 'nin hızlı bir şekilde oksijen ve suya dekompozisyonundan kaynaklanmaktadır. H_2O_2 'nin antimikrobiyal etkisi özellikle singlet oksijen, süperoksit radikalleri ve hidroksil radikalleri (HO^\cdot) gibi güçlü oksidanları oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Bu reaktif oksijen türleri hücrelerde enzim, membran bileşenleri ve DNA'da geri dönüşsüz hasarlara neden olmaktadır (46).

H_2O_2 'nin öldürücü ya da inhibe edici etkisi pH, sıcaklık ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Mikroorganizmalara karşı öldürücü etki düşük sıcaklıklarda çok yavaştır. Ancak sıcaklık yükseldikçe H_2O_2 öldürücü etkisi hızla artmaktadır. Ünlütürk ve Turantaş (47) yaptıkları bir çalışmada sıvı yumurta içinde % 1'lik H_2O_2 'nin *Salmonella typhimurium*'a karşı etkisini incelemiş ve 20 °C'de ve 5 °C'de 24 saat inkübasyon sonunda 20 °C'de yaklaşık 1 log düzeyinde daha fazla etki bulmuşlardır. pH düştükçe H_2O_2 'nin etkinliği artmaktadır. Baldy (48), *Bacillus subtilis*'e karşı % 3'lük H_2O_2 'nin pH 5.0'da 3 saatte sporosidal etki ettiğini gösterirken pH 6.5'de aynı etkiyi sağlamak için geçen sürenin 6 saate çıktığını göstermiştir.

HO^\cdot radikali H_2O_2 'nin antimikrobiyal etkisinde en önemli role sahiptir. Bu radikal DNA heliksinden hidrojen atomlarının uzaklaşmasına ya da helikse baz katılmasına neden olabilmektedir. HO^\cdot radikali aynı zamanda hücre membranına da zarar verebilmektedirler. Model membran sistemde yapılan çalışmada HO^\cdot radikalinin lipid peroksidasyonunu arttırdığı ve membran geçirgenliğini etkilediği bulunmuştur. HO^\cdot radikali'nin 17 dakika uygulaması sonucunda membranın tamamıyla yıkıldığı görülmüştür (49).

Hidrojen peroksit 1800'lü yıllardan günümüze antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır ve % 3 konsantrasyonunda cilt dezenfeksiyonu için kullanımı en bilinen uygulamasıdır. Gıda alanında ise H_2O_2 süt korunmasında ve ambalaj dezenfeksiyonunda kullanılabilir (50). Bu madde GRAS (Generally

Recognized as Safe) statüsünde olup FDA tarafından gıda endüstrisinde ambalaj ve yüzey dezenfeksiyonu alanında kullanımı onaylanmıştır (51).

Hidrojen peroksitin gıda endüstrisinde direkt olarak gıda içinde kullanımına izin verilmesi kısıtlıdır. Antimikrobiyal amaçlarla peynire işlenecek çiğ sütün soğukta depolanması ve taşınması imkanlarının bulunmadığı sıcak iklimlerde % 0.1 oranında süte ilave edilebilmektedir. Aynı zamanda modifiye peynir suyu hazırlanmasında % 0.4 oranında H₂O₂ kullanılmaktadır. Şarap, yumurta tozu üretiminde ve mısır şurubu üretiminde okside edici ajan olarak, instant çay üretiminde, renkli peynirlerin peynir suyu üretiminde ağartıcı ajan (bleaching agent) olarak kullanılmaktadır. Bu durumlarda kalıntı hidrojen peroksitin uzaklaştırılması gerekmektedir ve bu amaçla genel olarak ortama katalaz ilave edilmektedir (52).

Meyve yüzeylerinin mum ile kaplanması (waxing) yüzeydeki mikroorganizma yükünde azalmalara neden olabilmektedir. Pao ve ark. (53)'ün *E. coli* ATCC 25922 ile inoküle edilmiş portakallarla gerçekleştirdiği bir çalışmada, portakallara değişik sıcaklık ve pH'larda ticari mum bileşimleri uygulanmıştır. Çalışma sonucunda *E. coli* sayısında meyvelerin orta yüzey alanında pH 8.0 ve 60 °C'lik uygulamada 4.0 log kob/cm², pH 11 ve 60 °C'lik uygulamada ise 5,0 log kob/cm² azalma sağlandığı görülmüştür. Sap bölgelerinde ise *E. coli* sayısındaki azalma yaklaşık 1,0 log kob/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 3). Çalışma sonucunda meyve yüzeyinin mum ile kaplanması işleminin mikrobiyal yükün azaltılmasında yararlı olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 3. Değişik pH ve sıcaklıklarda Shellac mum uygulanan portakallardaki *E. coli* popülasyonu (53)

Orta yüzey alanı		<i>E. coli</i> (log kob/cm ²) ^a			
		25 °C	50 °C	60 °C	
Süre (dakika) pH	pH				
	2	8.0	4.9±0.2	4.1±0.4	2.6±0.9
		10.0	3.5±2.2	2.5±0.1	1.6±1.2
		11.0	3.3±0.1	1.9±0.2	1.4±0.2
4	8.0	5.1±0.4	3.9±0.3	0.9±0.6	
		10.0	4.7±0.4	1.6±0.8	1.1±0.7
		11.0	2.9±0.4	1.4±0.1	0.4±0.3
Sap bölgesi					
2	8.0	6.4±0.3	6.3±0.2	6.3±0.3	
		10.0	6.5±0.2	6.3±0.4	6.0±0.6
		11.0	6.2±0.9	6.2±0.4	6.1±0.4
4	8.0	6.5±0.3	6.0±0.8	5.8±0.3	
		10.0	6.6±0.2	5.9±1.0	6.0±0.1
		11.0	5.6±0.2	4.9±1.0	5.8±0.7

^a Başlangıç *E. coli* seviyesi sırasıyla 6.3±0.2, 6.9±0.2 kob/cm²'dir.

Kenney ve Beuchat (54) yaptıkları çalışmada *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* Muenchen ile inoküle edilmiş elmalara çeşitli ticari meyve mumlama materyalleri uygulamalarının etkilerini incelemişler ve her iki bakteri popülasyonunda da yaklaşık 1,48 kob/elma düzeyinde azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Pao ve Brown (55) portakal ve mandalinaların hasat sonrası paketlenme işlemlerinde mikroorganizma sayısında meydana gelen azalmayı incelemişlerdir. Yıkamadan önce ortalama toplam aerobik canlı bakterimi ve maya-küf sayıları sırasıyla 4.0 log kob/cm² ve 3.3 log kob/cm² olarak bulunmuş, yıkama sonrasında yük sırasıyla 2.1 log kob/cm² ve 1.3 log kob/cm²'ye düşmüştür. Sadece mum ile kaplama ise toplam aerobik bakteri sayısını 3.7 log kob/cm² ve koliform sayısını 35 EMS/cm²'den sırasıyla 2.6 log kob/cm² ve 1.4 EMS/cm²'ye düşürmüştür. Tüm proses hattı boyunca alınan meyve örnekleri ile ürünlerde *Salmonella*, proses sonrası alınan ürünlerde ise *E. coli* bulunamamıştır. *E. coli* ile inoküle edilen örneklerde yıkama ile 2.4 log kob/cm² azalma sağlanırken mum ile kaplama sonucunda *E. coli* sayısı 4.8 log kob/cm²'den 1.4 log kob/cm²'ye düşürülmüştür.

Meyve yüzeylerine uygulanan yüzey dekontaminasyon tekniklerinin yüzeydeki mikroorganizma yükünde azalmalara neden olabildiği konusunda gerçekleştirilmiş pek çok çalışma bulunmaktadır.

Pao ve Davids (10) yaptıkları çalışmada sıcak su uygulaması şeklindeki yüzey dekontaminasyon tekniği ile taze sıkılmış portakal suyunun orjinal duyusal özelliklerini değiştirmeden portakalların sanitize edilebileceğini göstermişlerdir. Çalışmada *E. coli* ATCC 25922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları ile inoküle edilen portakallara 70 °C'de 2 dakika ve 80 °C'de 1 dakika ısı işlem uygulanmıştır. Her iki ısı işlem sonrasında *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 4.5 log kob/cm², inokülasyon yapılmamış portakal örneklerindeki toplam canlı mikroorganizma sayısında ise yaklaşık 3,5 log kob/cm² azalma görülmüştür. Yapılan duyusal analizlerde ısı işlem uygulanmış portakallardan elde edilen portakal suyu ile ısı işlem görmemiş portakallardan elde edilen portakal suyunun duyusal özellikleri arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Isıl işlem süresi 70 °C'de 4 dakika ve 80 °C'de 2 dakikaya yükseltildiğinde ise duyusal analizler sonucunda ısı işlem görmüş ve görmemiş portakallardan elde edilen portakal suları arasında önemli tat farkları görülmüştür. Bu sebeple sıcaklık ve süre kontrolünün iyi yapılması önerilmektedir. Aynı çalışmada 30 °C'de 8 dakika 200 ppm klor uygulaması ile *E. coli* popülasyonunda yaklaşık 2,0 log kob/cm² azalma olduğu bulunmuştur.

Fleischman ve ark. (56), *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş elmalarla yaptıkları çalışmada 95 °C'de sıcak su uygulamasının elma yüzeyindeki mikrobiyal yük üzerine etkisini incelemişlerdir. Daldırma metoduyla inoküle edilen elmalarda 95 °C'de 30 saniye sıcak su uygulaması sonrasında *E. coli* O157:H7 sayısında 2,40 log kob/g düzeyinde azalma görülmüştür. Yüzeye damlatma (5µl) metoduyla inoküle edilen elmalarda ise 95 °C'de 30 saniye sonunda *E. coli* O157:H7 sayısında yaklaşık 6,0 log kob/g azalma bulunmuştur (Çizelge 4, Çizelge 5). Sonuçlar arasındaki farkın, daldırma metoduyla inokülasyonda *E. coli* O157:H7 hücrelerinin internalizasyonu (meyve kabuğundaki porlara ve girintilere yerleşmesi) sonucu yüzey sıcaklığından korunması nedeniyle olabileceği belirtilmektedir.

Taze koparılmış bir portakal yüzeyinde yaklaşık 4.0 log kob/cm² aerobik mikroorganizma bulunduğu belirtilmektedir. Mikrobiyal yük yıkama ve mum kaplama ile azaltılabilmektedir. Yapılan bir çalışmada yüzeyi *E. coli* inoküle edilmiş portakallarda yıkama ve durulama ile *E. coli* miktarında ortalama olarak 2.4 log kob/cm² azalma sağlanmıştır. Aynı çalışmada yıkama ve mum kaplama

kombinasyonları ile *E. coli* miktarının 4.8-1.4log kob/cm² azaltılabildiği görülmüştür (53).

Çizelge 4. Damlatma metoduyla *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş portakallara sıcak su uygulamasının mikrobiyal yük (kob/g) üzerine etkisi (56)

Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)				
	0	5	10	15	30
40	7.23±0.24	6.99±0.12	7.07±0.28	7.07±0.18	7.31±0.06
60	7.34±0.06	7.13±0.16	7.00±0.18	7.13±0.15	6.99±0.11
80	6.71±0.14	6.18±0.18	4.740±47	0.65±1.04	0.25±2.33
95	7.09±0.21	2.56±3.12	0.36±0.52	0.70±1.02	1.00±1.003

Çizelge 5. Daldırma metoduyla *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş portakallara sıcak su uygulamasının mikrobiyal yük (kob/g) üzerine etkisi (56)

Sıcaklık ve Süre	Kontrol (log kob/g)	Isıl işlem sonrası (log kob/g)
40 °C, 90 s	5.55±0.97	4.45±0.96
95 °C, 15 s	5.07±0.75	3.33±1.25
95 °C, 30 s	3.95±0.91	1.55±0.87
95 °C, 60 s	4.00±0.83	1.77±0.98

Sapers ve ark. (57) yaptığı çalışmada çeşitli sanitizerlerin farklı *E. coli* suşları ile inoküle edilmiş elmalar üzerine etkisi incelenmiştir. *E. coli* ATCC 25922, 23176 ve 11775 suşlarının sayısında 200 ppm klor çözeltisi uygulaması ile sırasıyla 1.8, 1.4 ve 1.7 kob/g azalma, 50 °C'de % 5'lik H₂O₂ uygulaması ile ise yine sırasıyla 3.9, 2.4 ve 2.6 kob/g azalma görülmüştür (Çizelge 6). Çalışma sonucunda sanitasyon ajanlarının etkilerinin suşdan suşa değişim gösterebileceği belirtilmiştir.

Çizelge 6. Farklı *E. coli* suşları ile inoküle edilen elmalara çeşitli dekontaminasyon yöntemlerinin etkileri (57)

İşlem	Sayıda ortalama logaritmik azalma		
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> ATCC 23716	<i>E. coli</i> ATCC 11775
200 ppm Cl ₂	1.8	1.4	1.7
% 5 H ₂ O ₂ (50 °C)	3.9	2.4	2.6
% 5 H ₂ O ₂ +% 2 Sanitizer D (50 °C)	4.0	2.7	2.7

^a Başlangıç *E. coli* seviyesi yaklaşık 10⁷ kob/ml'dir.

Sapers ve ark. (58) yaptıkları bir çalışmada elmalar üzerine 1 cm derinliğinde ve 3-7 mm çapında delikler açmış ve bunlara *E. coli* ATCC 25922 inoküle etmişlerdir. Çalışmada elmaların yüzeyi ilk olarak ticari bir asidik surfektant veya trisodyum fosfat ile yıkanıp ardından durularak kirin uzaklaştırılması sağlanmış, sonra da % 5 H₂O₂ çözeltisi uygulanarak yüzeydeki *E. coli* sayısının azalması belirlenmiştir. Normal

elmalarda % 5 H₂O₂ uygulaması sonucunda *E. coli* populasyonunda yaklaşık 2.7 log kob/g azalma görülürken, üzerinde delikler açılmış elmalarda bu azalma 0.58 kob/g düzeyinde kalmıştır. Çalışmada meyve yüzeyinin yaralı olmasının sanitasyon işlemlerinin etkinliğini azaltabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı çalışmada % 5 H₂O₂ uygulaması sonunda durulama yapılarak H₂O₂ etkinliği durulama yapılmayan işleme karşılaştırılmış ve durulama yapılmayan durumda *E. coli* populasyonunda yaklaşık 2.7 log kob/g azalma görülürken, durulama yapılan örneklerde azalma 1.9 log kob/g olarak bulunmuştur. Durulamanın kalıntı H₂O₂ etkinliğini azalttığına işaret edilmiştir. Pao ve ark. (14) tarafından yapılan diğer bir çalışmada; *E. coli* ATCC 2922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları ile inoküle edilen portakalların yüzeyini alkali çözelti ile yıkamanın etkinliği incelenmiştir. Bu amaçla; alkali temizleyici (sodyum ve potasyum hidroksit karışımı; pH 11,8), % 2 SOPP çözeltisi (sodyum ortofenilfenat; pH 11,8) ve NaOH çözeltisi (pH 11,8) denenmiştir. Bu çözeltiler içerisinde en etkili olanın *E. coli* sayısını 3,5 log kob/cm² düzeyinde azaltan % 2 SOPP çözeltisi olduğu belirlenmiştir.

Pao ve Davis (10)'nun portakal yüzeyini çeşitli sanitizerlerle yıkayarak taze sıkılmış portakal suyunun mikrobiyolojik güvenliğini arttırmayı hedefleyen bir çalışmada klor, klordioksit, asit anyonik sanitizer, % 2 trisodyum fosfat ve deiyonize su yüzey yıkama çözeltileri olarak denenmiştir. Kullanılan çözeltiler içerisinde *E. coli* sayısında en fazla azalmayı 3,1 log düzeyinde klordioksit ile yüzey yıkama yöntemi sağlamıştır. Souza ve ark. (59) pastörize edilmemiş şişelenmiş portakal suyu stabilitesini 4 °C , 8 °C ve 12 °C'de depolama süresince incelemişlerdir. Çalışmada 72 saat sonunda askorbik asit miktarının başlangıç miktarına göre % 72-85 oranında korunduğu bulunmuştur. Askorbik asit miktarı 41 ile 46 mg/100g olarak bulunmuş ve bu miktarın ticari portakal sularında belirtilen referans miktardan (38mg/100g) daha yüksek olduğu belirtilmiştir. pH, toplam titre edilebilir asitlik ve toplam çözünen madde miktarında 72 saat sonunda önemli bir değişim gözlenmemiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda 12 °C'de 72 saat sonunda küf ve maya sayısının önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Pastörize edilmemiş şişelenmiş portakal suyu örneklerinde *Salmonella* ve fekal koliform varlığına rastlanmadığı belirtilmektedir. Çalışma sonucunda duyu analizi sonuçları ve askorbik asit miktarındaki azalma göz önüne alınarak 48 saat raf ömrü önerilmiştir. Başlangıçtaki küf ve maya miktarının azaltılması ve kontrolü ile bu sürenin 72 saate çıkarılabileceği belirtilmiştir.

Pao ve Davids (12) yaptıkları çalışmada doğal floralı ve *E. coli* ATCC 2922, ATCC 35218, ATCC 11229 ve SP1-97 suşları inoküle edilmiş portakallardan elde edilen portakal sularını incelemişlerdir. Toplam aerobik mikroorganizma yükü portakalda 3.6±0.3 log kob/ml bulunurken ekstraksiyon sonucunda portakal suyunda toplam aerobik mikroorganizma sayısı 2.0±0.4 log kob/ml olarak belirlenmiş ve meyveden portakal suyuna % 2.6±1.9 oranında mikroorganizma geçtiği tespit edilmiştir (Çizelge 7). Farklı bir model ekstraktörde yapılan çalışmada ise sonuçlar sırasıyla 2.2±0.6 log kob/ml, 0.7±0.2 log kob/ml ve % 1.7±0.3 olarak bulunmuştur. Kullanılan test kültürüne portakal suyunun etkisi 15 dakika süresince incelenmiş ve *E. coli* sayısında bu süre boyunca değişme olmadığı bulunmuştur. Aynı çalışmada başlangıç inokülasyon seviyesinin % transfer oranına etkisi incelenmiş ve 3.4 log kob/ml ve 1.5 log kob/ml miktarında *E. coli* inoküle edilen portakallarda meyve suyundaki *E. coli* sayısı 2.2±0.7 log kob/ml ve 0.3±0.5 log kob/ml olarak bulunmuş ve % transfer oranları sırasıyla % 9.9±9.4 ve % 8.6±1.4 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 8). Bu sonuçlara göre % transfer oranının inokülasyon miktarı ile değişmediği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda

portakal yüzeyindeki kontaminantların yaklaşık % 90-99'unun portakal suyunun ekstraksiyonu sırasında elimine edildiği ve portakal suyuna geçen miktarın % 1-10 oranında olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 7. Meyve yüzey mikroflorasının ekstraksiyon işlemi ile meyve suyuna transferi (12)

Eksraktör	Toplam Aerobik Mikroorganizma (log kob/ml)		% Transfer
	Meyve	Meyve suyu	
A	3.6±0.3	2.0±0.4	2.6±1.9
B	2.2±0.6	0.7±0.2	1.7±0.5

Çizelge 8. İnokülasyon miktarının meyve suyu ekstraksiyonu sırasında mikrobiyal transfere etkisi (12)

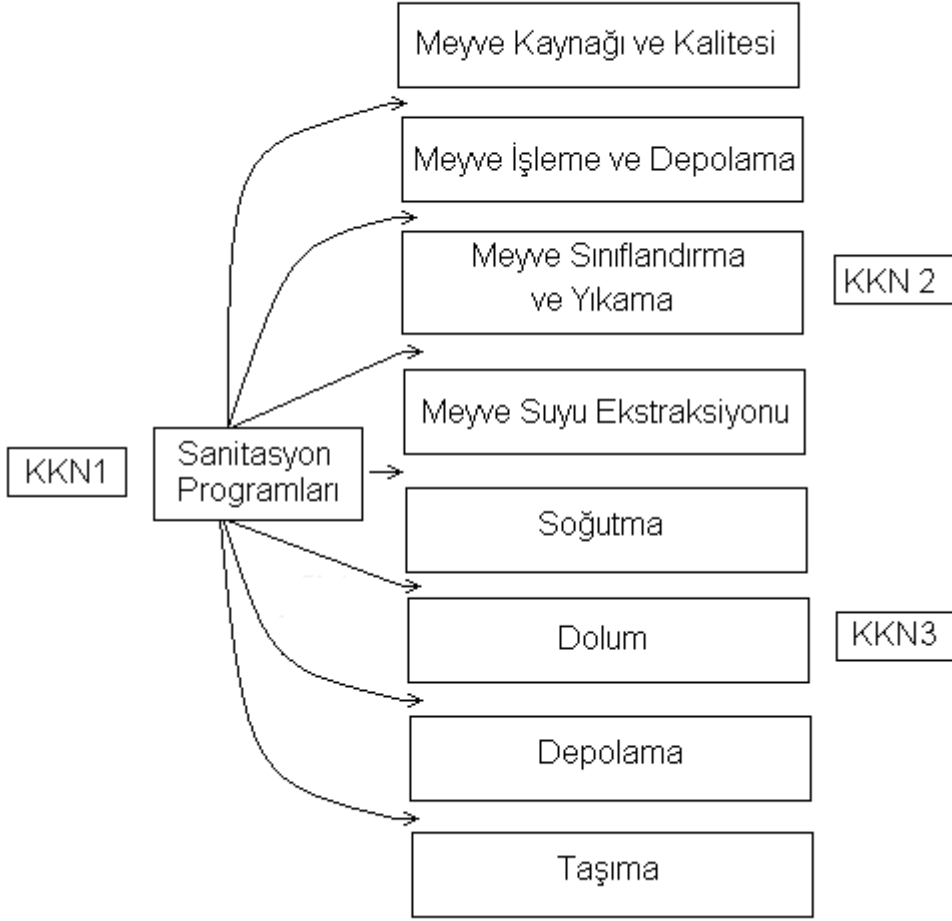
Ekstraktör	Test kültürü	Mikrobiyal yük (kob/ml)		% Transfer
		Meyve	Meyve suyu	
A	<i>L. plantarum</i>	5.5±0.2	4.4±0.2	8.0±3.2
B		4.2±0.3	3.1±0.2	6.7±4.0
A	<i>E. coli</i>	3.4±0.3	2.2±0.7	9.9±9.4
B		1.5±0.1	0.3±0.5	8.6±1.4

FDA, 28 Ağustos 1997'de meyve suyu kaynaklı hastalıkların artmasına cevap olarak ve NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods)'nin tavsiyesi üzerine meyve suyu üreticileri için bir HACCP programı geliştirilmesi, etiketlerde uyarı getirilmesi ve üreticiler için eğitim programları geliştirilmesi gerektiğini belirtmiştir. FDA bunu takiben Temmuz 1998'de uyarı durum kurallarını yayınlamış ve bu yayında gerekli görülen en dirençli patojenlerde 5 log'luk düşüş konusunda işlem uygulanmamış (pastörizasyon gibi) meyve sularının etiketlenmesi gerektiğini bildirmiştir (60).

Schmidt ve ark. (61) küçük ölçekli taze sıkılmış pastörize edilmemiş meyve suyu üreten işletmeler için model HACCP planı üzerine çalışmışlardır. HACCP açıklamaları Şekil 1'de, üretimde kullanılması önerilen kritik kontrol noktaları (KKN) ise Çizelge 9'da gösterilmiştir. KKN olarak sanitasyon programları, meyvelerin yıkanması ve sınıflandırılması ile dolum aşaması belirlenmiştir. Yere düşen meyvelerin kullanımından kaçınılması ve meyve kalitesinin sürekli takip edilmesi önerilmiş, geç dönemde toplanan meyvelerin düşük asitliğe sahip olacağı (pH 4.0 üzerinde) ve bu ortamın mikroorganizma gelişimi için daha uygun bir ortam yaratacağı için dikkatli olunması gerektiğine değinilmiştir. Meyvelerin 0 – 1 °C'de % 80-85 bağıl nem ortamında depolanmasının mikrobiyal gelişme ve kontaminasyonu engellemesi için yararlı olacağı; ekstraksiyondan önce meyvelerin uzun süre depolanmaması gerektiği, depoya ilk girenin ilk çıkması prensibine göre çalışılması gerektiği belirtilmiştir. Meyvelerin büyüklüklerine göre ayrılması işlemi sırasında tüm hatalı (kesilmiş, küf gelişimi olan vb.) meyvelerin uzaklaştırılması gerektiği ve bunun ardından fırçalı makinalarda asit-yıkama ile kirlerin uzaklaştırılmasından sonra 200 ppm klor içeren su ile minimum 2 dakika yıkanması ve durulanması tavsiye edilmiştir. Meyve suyunun elde edildiği ekstraktörlerin düzenli olarak sanitize edilmesi, meyve

suyunun elde edildikten hemen sonra soğutulması ve soğukta (0 °C veya altında) depolanması da vurgulanmıştır.

**Akış Diyagramı
(Kritik Kontrol Noktaları İle)**



Şekil 1. Taze sıkılmış portakal suyu üretim akış diyagramı ve kritik kontrol noktaları (61)

Çizelge 9. Taze sıkılmış meyve suyu üreten işletmeler için model HACCP planı (61)

Proses Basamağı	Tehlike / Uyarı	CCP / Tipi	Kritik Limit / Kriterler
Sanitasyon Programı	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma Kimyasal <ul style="list-style-type: none"> • Uygunsuz depolama ve kullanım 	CCP1/ Koruma	Temiz, sanitize edilmiş, uygun ekipman kullanılması Kontaminasyonun önlenmesi, Personel hijyeni Uygun kullanım ve depolama, 200 ppm klor veya eşleniği dezenfektan kullanımı
Meyve Kaynağı ve Kalitesi	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma Kimyasal <ul style="list-style-type: none"> • Tarımsal Kimyasallar 		Yüksek kalitede uygun meyve kullanımı Uygun tarımsal kimyasalların kullanımı
Hammadde İşleme ve Depolama	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 		Temiz, sanitize edilmiş kasaların kullanımı ve 4.4°C veya altı sıcaklıkta depolama
Meyve Ayırma ve Yıkama	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma Kimyasal <ul style="list-style-type: none"> • Uygunsuz depolama ve kullanım 	CCP2/ Koruma	Meyve reddetme standartlarının belirlenmesi Minimum çevre kontaminasyonu Uygun yıkama ve durulama prosedürleri
Meyve Suyu Ekstraksiyonu	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 		Temiz, sanitize edilmiş ekipman kullanılması
Soğutma / Dolum	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 	CCP3/ Koruma	Temiz, sanitize edilmiş ekipman ve ambalaj kullanılması 4.4°C'ye soğutma
Depolama	Mikrobiyolojik <ul style="list-style-type: none"> • Patojenler • Bozulma 		4.4°C veya altı sıcaklıkta depolama

Kaynaklar

1. Temiz, A., 2001, Gıda işletmelerinde Hijyen ve Sanitasyon. Gıda Denetçisi Eğitim Semineri. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 7-9 Şubat 2001, Ankara. 19s.
2. Acar, J., Bahçeci, K.S., 2001, Microbiological safety of fresh-squeezed juices, Fruit Processing, 10, 410-412.
3. Mazzotta, A.S., 2001, Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juices, Journal of Food Protection, 64(3): 315-320.

4. Acar, J., Bahçeci, K.S., 2002, Taze sıkılmış meyve sularında patojenlerin önemi, Gıda Teknolojisi, 4, 62-64.
5. Parish, M.E., Narciso, J.A., Friedrich, L.M., 1997, Survival of Salmonellae in orange juice, Journal of Food Safety, 17, 273-281.
6. Steele, B.T., Murphy, N., Rance, C.P., 1982, An outbreak of the hemolytic uremic syndrome associated with ingestion of apple juice. J.Pediatr, 101, 963.
7. Cook, K.A., 1998, Outbreak of *Salmonella* serotype hartford infections associated with unpasteurized orange juice. JAMA, 280(17), 1504.
8. Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N., Busta, F.F., 2003, Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2, 161-172.
9. Anonymous, 2000, <http://www.cdc.gov>
10. Pao, S., Davis, C.L., 1999, Enhancing the microbiological safety of fresh orange juice by fruit immersion in hot water and chemical sanitizers, Journal of Food Protection, 62(7), 756-760.
11. Anonymous, 2005, <http://www.zumex.com>.
12. Pao, S., Davis, C.L., 2001, Transfer of natural and artificially inoculated microorganisms from orange fruit to fresh juice during extraction, Lebensm.-Wiss. u-Technol., 34, 113-117.
13. Fellers, P.J., 1988, Shelf life and quality of freshly squeezed, unpasteurized, polyethylene- bottled citrus juice, Journal of Food Science, 53(6), 1699-1703.
14. Pao, S., Davis, C.L., Kelsey, D.F., 2000, Efficacy of alkaline washing for the decontamination of orange fruit surfaces inoculated with *Escherichia coli*, Journal of Food Protection, 63(7), 961-964.
15. Wisniewsky, M.A., Glatz, B.A., Gleason, M.L., Reitmeier, C.A, 2000, Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 counts on whole fresh apples by treatment with sanitizers, Journal of Food Protection, 63(6), 703-708.
16. Parish, M.E., 1998, Coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars associated with a citrus-processing facility implicated in a salmonellosis outbreak, Journal of Food Protection, 61(6), 667-671.
17. Halkman, A.K., 2005, Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Birinci Baskı, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri, Ankara, s. 141-193.
18. Karapınar, M. ve Gönül, Ş.A. 1998, Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar. Gıda Mikrobiyolojisi. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (edt.), Birinci baskı, Mengi Tan Basımevi, 140, 112-122, 134-135.
19. Temiz, A., 1999, Gıdalarda İndikatör Mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi. A. Ünlütürk ve F. Turantaş (edt.), İkinci Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir, s. 83-106.
20. Bell, C. And Kyriakides, A., 2002, Pathogenic *Escherichia coli*. Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis and controls, Blackburn, C.W. and McClure, P.J. (eds), CRC Press, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, England, pp. 279-307.
21. Buchanan, R.L., Doyle, M.P., 1997. Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Food Technology, 51 (10), 69-76.
22. Koohmaraie, M., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Guerini, M., Shachelford, S.D., and Wheeler, T.L., 2005, Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef, Meat Science, xx, xxx-xxx (basımda).

23. Rijal, K., Leung, A., Shankar, P.M. and Mutharasan, R., 2005, Detection of pathogen *Escherichia coli* O157:H7 at 70 cells/ml using antibody-immobilized biconical tapered fiber sensors, *Biosensors and Bioelectronics*, xx, xxx-xxx (basımda).
24. Halkman, A.K., Noveir, M.R., Doğan, H.B., 2001, *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Müh. Bölümü. Ankara, 46 s.
25. Slonczewsky, J.L., T.N. Gonzalez, F.M. Bartholomew, and N.J. Holt. 1987. Mu d-directed *lacZ* fusions regulated by low pH in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 169(7):3001-3006.
26. Brundzinski, R.L., Harrison, M.A., 1998, Influence of incubation conditions on survival and acid tolerance response of *E. coli* O157:H7 and non-O157:H7 isolates exposed to acetic acid, *J. of Food Protection*, 61(5), 444-450.
27. Ryu, J.H., Deng, Y., Beuchat, L.R., 1999, Behavior of acid-adapted and unadapted *E. coli* O157:H7 when exposed to reduced pH achieved with various organic acids, *Journal of Food Protection*, 62(5), 451-455.
- Lin, J., Smith, M.P., Chapin, K.C., Baik, H.S., Bennet, G.N., Foster, J.W., 1996, Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic *E. coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(9), 3094-3100.
- Pao, S., Davis, C.L., Parish, M.E., 2001, Microscopic observation and processing validation of fruit sanitizing treatments for the enhanced microbiological safety of orange juice, *Journal of Food Protection*, 64(3), 310-314.
30. Uljas, H.E. and S.C. Ingham. 1998. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in synthetic gastric fluid after cold and acid habituation in apple juice or trypticase soy broth acidified with hydrochloric acid or organic acids. *J. Food Prot.* 61(8):939-947.
31. Linton, M., J.M.J. McClements, and M.F. Patterson. 1999. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during storage in pressure-treated orange juice. *J. Food Prot.* 62(9):1038-1040.
32. Benjamin, M.M., Datta, A.R., 1995, Acid tolerance of enterohemorrhagic *E. coli*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(4), 1669-1672.
33. Halkman, A.K., Doğan, H.B., Noveir, M.R., 1994, Gıda Maddelerinde *Salmonella* ve *E. coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Armoni Matbaacılık, Ankara, s.4-15, 26-35.
34. Jay, J.M., 1996, *Modern Food Microbiology*, Fifth Edition, Chapman and Hall, New York.
35. Anonymous, 2005, <http://www.Salmonella.org/info.html>
36. Bean, N.H., and P.M. Griffin. 1990. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends. *J. Food Prot.* 53(9):804-817.
37. Ferreira, M.A.S.S. and B.M. Lund. 1987. The influence of pH and temperature on initiation of growth of *Salmonella* spp. *Lett. Appl. Microbiol.* 5:67-70. Lin, J. M.P. Smith, K.C. Chapin, H.S. Baik, G.N. Bennett, and J.W. Foster. 1996.
38. Wallace, D.J., Gilder, T.V., Shallow, S., Fiorentino, T., Segler, S.D., Smith, K.E., Shiferaw, B., Etzel, R., Garthright, W.E., Angulo, F.J., FoodNet Working Group. 2000. Incidence of Foodborne illnesses reported by the foodborne diseases active surveillance network (foodNet)-1997. *Journal of Food Protection*, 63 (6), 807-809.
39. Block, S.S. 2001. *Disinfection, Sterilization and Preservation*, Fifth Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 135-146, 185-191.
40. Marriot, N.G., 1989, *Principles of Food Sanitation*, Second edition, An avi book, pp. 101-113.

41. Beuchat, L.R., 1998, Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review, FOOD SAFETY UNIT-WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO/FSF/FOS/98.2.
42. Acar, J., Gökmen, V., 2005, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi-Cilt 1 Meyve ve Sebze Suları Üretimi, Birinci Baskı, Hacettepe Üniversitesi Basımevi, Ankara, s.510-529.
43. Hayes, P.R. 1992. Food Microbiology and Hygiene, Second Edition, Chapman & Hall, 34 p, pp. 360-369.
44. Sander, J.E., Wilson, J.L., 1999, Effect of Hydrogen Peroxide disinfection during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity, Avian Diseases, 43, 227-233.
45. Grönholm, L., Wirtanem, G., Ahlgren, K., Nordström, K., Sjöberg, A., 1999, Screening of antimicrobial activities of disinfectants and cleaning agents against foodborne spoilage microbes, Z. Lebensm. Unters. Forsch A, 208, 289-298.
46. Juven, B.J. and M.D. Pierson. 1996. Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantitation. J. Food Prot. 59(11):1233-1241.
47. Ünlütürk, A. and F. Turantas. 1986. Bactericidal effect of hydrogen peroxide on *Salmonella typhimurium* in liquid whole egg. J. Appl. Bacteriol. 62:25-28.
48. Baldy, M.G.C. 1983. The bactericidal, fungicidal, and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. J. Appl. Bacteriol. 54:417-423.
49. Anzai, K., Kunitaka, O., Goto, Y., Yamamoto, H., Ozawa, T., 1999, Oxidation dependent changes in the stability and permeability of lipid bilayers, Atioxid. Redox Signal., 1(3), 339-347.
50. Lück, E., Jager, M., 1997, Antimicrobial Food Additives: characteristics, uses, effects. 2nd ed., Springer-Verlag, Germany.
51. Anonymous, 2001, Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations. 21 CFR 178.1005.
52. Anonymous, 2001, Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations. 21 CFR 181.1366.
53. Pao, S., Davis, C.L., Kelsey, D.F., Petracek, P.D., 1999, Sanitizing effects of fruit waxes at high pH and temperature on orange surfaces inoculated with *Escherichia coli*, Journal of Food Science 64(2):359-362.
54. Kenney, S.J., Beuchat, L.R., 2002, Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Muenchen on apples as affected by application of commercial fruit waxes, International Journal of Food Microbiology, 77: 223-231.
55. Pao, S., Brown, G.E., 1998, Reduction of microorganisms on citrus fruit surfaces during packinghouse processing, Journal of Food Protection, 61(7), 903-906.
56. Fleischman, G.J., Bator, C., Merker, R., Keller, S.E., 2001, hot water immersion to eliminate *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of whole apples: thermal effects and efficacy, Journal of Food Protection, 64(4), 451-455.
57. Sapers, G.M., Miller, R.L., Mattrazzo, A.M., 1999, Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in golden delicious apples, Journal of Food Science, 64(4), 734-737.
58. Sapers, G.M., Miller, R.M., Mattrazzo, A.M., 2000, Factors limiting the efficacy of hydrogen peroxide washes for decontamination of apples containing *Escherichia coli*, Food Microbiology and Safety, 65(3), 529-532.

59. Souza, M.C.C., Benassi, M.T., Meneghel, R.F.A., Silva, R.S.S.F., 2004, Stability of unapsterized and refrigerated orange juice, Brazillian Archives of Biology and Technology, 47(3), 391-397.
60. Anonymous, 1998, Food and Drug Administration, Food Labeling: Warning and Notice Statement: Labeling of Juice Products; Final Rule. Fed. Regist. 63:37029-37056.
61. Schmidt, R.H., Sims, C.A., Parish, M.E., Pao, S., Ismail, M.A., 1997, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, CIR1179.
62. Zhao, T., M.P. Doyle, and R.E. Besser. 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. Appl. Environ. Microbiol. 59:2526-253