

**T.C  
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OZONUN, BAZI YEŞİL YAPRAKLI SEBZELERDE  
ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**Tezi Hazırlayan  
Merve TÜMAY**

**Tez Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Haziran 2019  
NEVŞEHİR**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ danışmanlığında Merve TÜMAY tarafından hazırlanan “Ozonun, Bazı Yeşil Yapraklı Sebzelerde Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

24/06/2019

### JÜRİ

Başkan :Prof. Dr. Mehmet Sertaç ÖZER

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Kemal ŞEN

### ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 10.07/2019 tarih ve 41-411..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.



## TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Merve TÜMAY

## TEŐEKKÖRLER

Yüksek lisans tez çalışmamın en başından itibaren tez konusunun belirlenmesi ve yürütülmesi aşamasında bana yardımcı olan, bu süreç boyunca bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi. Bülent ZORLUGENÇ'e, sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin yönlendirilmesinde önerileriyle bana yol gösteren özellikle verilerin istatistiksel değerlendirilmesi, yorumlanması ve sunulması sırasında her türlü desteği sağlayan Sayın Dr. Öğr. Üyesi. Feyza KIROĞLU ZORLUGENÇ'e,

Tezin laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen canım ikizim Melek TÜMAY'a,

Ve hayatım boyunca yanımda olan, her zaman beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

# **OZONUN, BAZI YEŞİL YAPRAKLI SEBZELERDE ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Merve TÜMAY**

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Haziran 2019**

## **ÖZET**

Meyve, sebze ve ürünlerinde patojen mikroorganizmaların oluşumunu en aza indirmek, birincil gıda güvenliği konusudur. Minimal işlem görmüş gıdalar ve kimyasal koruyucu madde içermeyen gıdalara olan tüketici talebi gün geçtikçe artmaktadır. Ozon bu taleplere karşılık olarak güvenliği ve kaliteyi sağlamak için yaygın kullanım alanına sahiptir. Gıda endüstrisinde ozon, meyve ve sebzelerin yüzey dekontaminasyonu, içme suyu dezenfeksiyonu ve atık su arıtımını da kapsayan geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. Ozon uygulaması ayıklanıp doğranmış taze meyve ev sebzelerde ürün güvenliğinin sağlanması ve raf ömrünün arttırılması amacıyla üzerinde durulan yöntemlerden biridir.

Bu çalışmada; İlk olarak steril saf su (5'er dk) ile sonrasında ozonlu su (2-5,10 ppm) ile 5,10,15 dk sürelerle yıkama uygulamaları yapılmıştır. Bu uygulamanın ayıklanıp doğranmış marul, iceberg marul, ıspanak ve lahana sebzelerine inoküle edilen *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* ve *B. cereus* sayılarının azalması ve ozonlama işlemi sonrası renk değişimleri üzerine etkisi incelenmiştir.

2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonunda ozon ile yıkama suyuna ozonlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Muameleye tabi tutulan sebze örneklerinin tamamında mikrobiyal

yükte bir azalma meydana gelmiştir. Muamele süresi ve ozon konsantrasyonu arttıkça, örneklerdeki mikroorganizma sayısı zamana bağlı olarak azalmıştır. Ozonlu hava ile beslenen suda bekletme işlemlerinde en yüksek mikrobiyal inaktivasyon 10 ppm konsantrasyonunda başlangıç yüküne göre 15 dk'lık uygulamalarda belirlenmiştir. Buna göre en yüksek mikroorganizma sayısındaki azalmalar *L.monocytogenes* için lahanada 0,46 log kob/ml; *S.aureus* için lahanada 0,32 log kob/ml; *E. coli* O157:H7 için ıspanakda 0,65 log kob/ml; *S.typhimurium* için marulda 0,15 log kob/ml; *B.cereus* için iceberg marulda 0,47 log kob/ ml olarak tespit edilmiştir.

5 L/dk akış hızında 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonlarında ve 0, 5, 10 ve 15 dk sürelerle ozonlu su uygulamalarının denemelerde kullanılan sebzeler üzerine renk değişimleri istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).

***Anahtar Kelimeler: Ozon, Antibakteriyel Etki, Dezenfeksiyon, Patojen, Renk***

***Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ***

***Sayfa Numarası: 54***

# DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL EFFECTS OF OZONE ON SOME GREEN LEAFY VEGETABLES

(M. Sc. Thesis)

Merve TÜMAY

NEVSEHİR HACI BEKTAS VELI UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2019

## ABSTRACT

Minimizing the formation of pathogenic microorganisms in fruits, vegetables and products is the primary food safety issue. Consumer demand for minimally processed foods and foods that do not contain chemical preservatives is increasing day by day. In response to these demands, ozone is widely used to ensure safety and quality. In the food industry, ozone has a wide range of applications, including surface decontamination of fruits and vegetables, drinking water disinfection and waste water treatment. Ozone application is one of the methods that are emphasized in order to ensure product safety and increase the shelf life of freshly chopped fruits and vegetables.

In this study; First, sterile pure water (5 minutes each) and then ozone water (2-5,10 ppm) was applied for 5,10,15 minutes washing applications. The effect of this application on the decrease in the number of *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* and *B. cereus*, which were inoculated on chopped lettuce, iceberg lettuce, spinach and cabbage vegetables and the color changes after ozonation process were investigated.

2, 5 and 10 ppm concentration of ozone was applied to the wash water with ozone. A reduction in microbial load occurred in all treated vegetable samples. As the treatment time and ozone concentration increased, the number of microorganisms in the samples decreased with time. The highest microbial inactivation was determined in 15 minute

applications according to the initial load at 10 ppm concentration. Accordingly, the highest reduction in the number of microorganisms *L. monocytogenes* 0.46 log cfu / ml in cabbage; 0.32 log cfu / ml in cabbage for *S.aureus*; 0.65 log cfu / ml in spinach for *E. coli* O157: H7; 0.15 log cfu / ml in lettuce for *S. Typhimurium*; For *B.cereus*, iceberg was found to be 0.47 log cfu / ml in lettuce.

At 5 L / min flow rate, 2, 5 and 10 ppm concentrations and 0, 5, 10 and 15 min periods of ozone water applications were not found to be statistically significant on the color changes of vegetables used in the experiments ( $p > 0.05$ ).

***Keywords: Antibacterial, Ozone, Disinfection, Pathogen, Color***

***Thesis Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ***

***Page Number: 54***



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜRLER .....	iv
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
TABLolar LİSTESİ .....	xiii
RESİMLER LİSTESİ .....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	xvi
BÖLÜM 1 .....	1
GİRİŞ .....	1
1.1.Amaç ve Kapsam .....	1
BÖLÜM.2 .....	4
KURAMSAL TEMELLER .....	4
2.1.Ozon .....	4
2.1.1. Ozonun Tarihçesi .....	4
2.1.2. Ozon hakkında genel bilgiler .....	4
2.1.3.Ozonun üretilmesi .....	9
2.1.4. Dünya otoritelerinin ozona bakışı .....	10

2.1.5. Ozon kullanımının avantaj ve dezavantajları.....	11
2.1.6.Ozonun kullanım alanları.....	13
2.1.7.Ozonun antimikrobiyal aktivitesi.....	14
2.1.8. Gıdalarda ozon uygulaması.....	15
2.1.8.1. Balık ve kabuklu deniz canlılarına ozon uygulamaları.....	15
2.1.8.2. Et endüstrisinde ozon uygulamaları.....	16
2.1.8.3. Tahıl ürünlerinde ozon uygulaması.....	16
2.1.8.4. Meyve sebze ürünlerinde ozon uygulamaları.....	16
BÖLÜM 3.....	19
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	19
BÖLÜM.4.....	24
MATERYAL VE METOD.....	24
4.1. Materyal.....	24
4.1.1. Ürünlerin temini.....	24
4.1.2. Analizde kullanılan besiyerleri.....	24
4.1.3. Analizde kullanılan çözeltiler.....	24
4.1.4. Analizde kullanılan mikroorganizmalar.....	24
4.1.5. Ozon jeneratörü.....	24
4.2. Metod.....	25

4.2.1. Mikroorganizma sayılarının belirlenmesi .....	25
4.2.2. Ozon Uygulaması.....	25
4.2.3. Renk analizi.....	27
4.2.4. İstatistiksel analiz .....	28
BÖLÜM.5 .....	29
BULGULAR VE TARTIŞMA .....	29
5.1. Ozonun Mikroorganizmalar Üzerine Antimikrobiyal Etkisi .....	29
5.1.1. Ozonun marul üzerindeki antimikrobiyal etkisi.....	29
5.1.2. Ozonun ıceberg marul üzerindeki antimikrobiyal etkinliği .....	33
5.1.3. Ozonun Lahana Üzerindeki Antimikrobiyal Etkisi.....	37
5.1.4. Ozonun Ispanak Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinliği .....	41
5.2. Ozonun Renk Değişimi Üzerine Etkisi .....	44
5.2.1. Marul yapraklarındaki renk değişimi .....	44
5.2.2. Iceberg marul yapraklarındaki renk değişimi .....	45
5.2.3. Lahana yapraklarındaki renk değişimi .....	46
5.2.4. Ispanak yapraklarındaki renk değişimi .....	47
BÖLÜM.6 .....	48
SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	48
BÖLÜM.7 .....	50

KAYNAKLAR .....	50
ÖZGEÇMİŞ .....	54



## TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Ozon Uygulamalarının Tarihi ve Düzenlemeler.....	5
Tablo 2.2. Ozon Çözünürlüğü Üzerine Sıcaklık ve Konsantrasyonunun Etkisi .....	6
Tablo 2.3. Ozonun etkinliğini etkileyen faktörler.....	6
Tablo 2.4. Ozonun Oksitleme Gücünün Diğer Dezenfektanlarla Karşılaştırılması .....	8
Tablo 2.5. Taze kesilmiş organik sebzeler için önerilen dezenfeksiyon yöntemlerinin avantajları ve sınırlamaları .....	18
Tablo 5.1. Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi .....	30
Tablo 5.2. Iceberg Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi.....	34
Tablo 5.3. Lahanaya İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi.....	37
Tablo 5.4. İspanağa İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi.....	41
Tablo 5.5. Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Marul Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi .....	44
Tablo 5.6. Iceberg Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Marul Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi .....	45
Tablo 5.7. Lahanaya İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Lahana Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi .....	46

Tablo 5.8. İspanağa İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın İspanak Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi .....	47
---	----



## RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Ozonun Molekül Geometrisi .....	4
Resim 2.2. Ozonun Oluşum Mekanizmaları .....	9
Resim 2.3. Korona Akım Metodu Şeması .....	10



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1. Mikrobiyal Analiz Akış Şeması.....	27
---	----





## **SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**

% w/w: ağırlıkça % konsantrasyon

AES: Asedik Elektrolize Su

BOİ: Biyolojik Oksijen İhtiyacı

FAO: Gıda Tarım Örgütü

FDA: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)

GRAS: Generally Recognised As Safe

HAA: Halo Asetik Asitler

KOİ: Kimyasal Oksijen İhtiyacı

RH: Bağıl Nem

THM: Trihalometan

USDA: United States Department of Agriculture (ABD Tarım Bakanlığı)

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

# BÖLÜM 1

## GİRİŞ

### 1.1. Amaç Ve Kapsam

Tüketici tercihlerinin değişmesi ile gıda endüstrisinde kullanılan teknolojik yöntemler değişiklikler göstermeye başlamıştır. Son zamanlarda daha taze, daha güvenli ve daha az işlem görmüş proses yöntemleri ön plana çıkmaktadır [1,2]. Minimal işlem görmüş gıdalar, özellikle ayıklanıp doğranan taze meyve ve sebzeler, kullanım kolaylığından ötürü her geçen gün tüketicilerin ilgisini daha fazla çekmektedir. Bu gıdalara duyulan talepte sürekli olarak artış görülmektedir. Nitekim bu ilginin ve talebin artmasındaki nedenlerden biri de Gıda-Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gibi kuruluşların kanser ve kalp damar hastalıklarının riskinin azaltılması için mümkün olduğu kadar doğal haldeki meyve ve sebze tüketiminin artırımını önermesi olmuştur [3]. Bu tür gıdalar, ülkemiz piyasasına da hızlı bir şekilde giriş yapmış ve özellikle çalışan kesimin yoğunlukla tercih ettiği ürünler haline gelmiştir.

Enzimatik esmerleşme, ürün renginde değişim, artan etilen üretimi ve solunum gibi faktörler minimal işlem görmüş gıdaların raf ömrünü kısıtlayan etkenlerin başında yer almaktadır. Bu tür ürünlerde devam eden mikrobiyal aktivasyon da ürünün raf ömrünü sınırlamaktadır. Ayrıca taze tüketilen ürünlere, özellikle de sebzelere; bazı bakterilerin (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia* ve *Listeria* gibi) bulaşısı zaman zaman gündeme gelmektedir [4]. Bu durum, gıda kaynaklı hastalıklara yol açarak tüketici sağlığı açısından ciddi bir risk oluşturmaktadır [5].

Gıda endüstrisinde gıdaların mikrobiyal güvenliğini sağlamak için çoğunlukla klor veya klor dioksit kullanılmaktadır. Bununla birlikte, klorun etkinliğinin yetersiz olması ve kalıntılarının sağlığa zarar vermesi gibi nedenlerle alternatif dezenfektanlar araştırılmaktadır.

Özellikle antimikrobiyal ajan olarak yoğun bir şekilde kullanılan bileşiklerin (hipoklorit vb.) sağlık açısından risk oluşturması nedeniyle bu kimyasallara alternatif olarak ozon (O<sub>3</sub>) gazı uygulamaları önem kazanan konulardan biri olmaktadır [1,2]. Son yıllarda

gerek yasal düzenlemeler gerekse ozonun çevre dostu bir teknoloji olması nedeniyle ozona karşı ilgi giderek artmaktadır. Ayrıca ozonun çok fonksiyonluluğu umut verici gıda proses ajanı görülmesine neden olmaktadır [6]. Ozon günümüzde gıda endüstrisinde, gıda yüzey hijyeni, ekipman, ambalaj materyali ve atık suların dezenfeksiyonu gibi kullanım alanları bulmaktadır. Ozon uygulamalarının, düşük konsantrasyon ve kısa uygulama sürelerinde etkili olması ve ozonun parçalandığında zararsız ürünlere dönüşmesi gibi avantajlarıyla geleneksel dezenfektanlara karşı iyi bir alternatif olduğu düşünülmektedir.

Ozon, oksijenin triatomik formu olup kararsız bir bileşiktir. Bu üç atomlu yapıdaki oksijen atomları ayrışarak hidroksil radikaller ve diğer serbest radikalleri oluştururlar veya yüzeylerde bağlantı kurarlar [7].

Ozon, sulu çözeltilerinde nispeten kararsızdır ve sürekli, fakat yavaş bir şekilde oksijene ayrışır. Ozonun 20°C’ de saf su içerisindeki yarılanma ömrü genellikle 20-30 dakikadır. Bununla birlikte Wynn ve arkadaşları (1973) ozonun 20°C’deki saf suyun içerisindeki yarılanma ömrünün 165 dk olduğunu ifade etmişlerdir.

Ozonun su içinde çözünme hızı suyun sıcaklığının azalması ile artmaktadır. Ozonun çözünürlüğü üzerine sıcaklık ve basınç doğrudan etkili olurken, diğer parametreler ozonun suda çözünmesinde kısmen etkili olmaktadır. Ozonun sulu çözeltisi, su içerisinde ozon kabarcıkları ya da baloncukları oluşturularak hazırlanmaktadır. Kabarcık boyutunun küçük olması temas alanını artırdığından ozonun suda çözünürlüğünü artırmaktadır. Ozonun su içerisinde en iyi şekilde çözünmesi için kabarcıkların 1-3 mm çapında olması gerektiği bildirilmektedir [8].

Yüksek oksidasyon potansiyeline bağlı olarak ozon, hava ve su içindeki kontaminantları okside edebilmektedir. Bu anlamda ozon pek çok ülkede sularda koruyucu dezenfektan madde olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde değişik uygulamalarda da kullanılan ozon ABD’nde gıdalarda dezenfektan veya sanitize edici madde olarak GRAS sınıflandırması kapsamında tavsiye edilmiştir. Bu uygulamadan sonra gıda endüstrisinde ozon uygulamalarına olan ilgi artmıştır. Bu çabaların somut sonucu olarak ABD’nde Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ozonun gıdalarda kullanımına dönük bir protokol hazırlamıştır. Ozon taze meyve ve sebzelerin hasat sonrası uygulamalarında depolama

öncesinde, depolama ve ürün nakliye sırasında kullanılmaktadır. Ozon uygulaması hava veya su içerisinde, sürekli veya kesikli olarak yapılabilir. Gerek hava gerekse su içerisinde yapılan ozon uygulaması üründe kalıntı bırakmaması ve ölçülebilir somut sonuçları dolayısıyla ticari yönden de dikkat çekmektedir [9].

Ozon, FDA ve USDA (ABD Tarım Bakanlığı) tarafından onaylanan ve gıda ile temas eden maddeler tebliğinde organik olarak sertifikalandırılmıştır. FDA tarafından gıda katkı maddeleri yönetmeliğinin değiştirilmesi sonucu ozonun antimikrobiyal ajan olarak kullanımına izin verilmiş, bu değişiklik federasyon tarafından 28 Haziran 2001 yılında yayınlanmıştır. Ayrıca et, kümes hayvanları ve diğer gıda üretimlerinde ozonun; ozon gazı veya sulu ozon olarak güvenli ve etkili bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir. WHO'nun 1979 yılında yayınlanan bir raporunda ozon ile dezenfeksiyon önerilmektedir. Ozon gazının 1991'de güvenilir gazlar sınıfına alınması sonucu ozonun gıdalarda kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Nitekim güvenli gıda üretimine yönelik olarak Türk Gıda Kodeksi HACCP standartlarında ozon kullanımı zorunlu hale getirilmiştir.

Bu çalışmada, 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonunda ozon gazı ile beslenen yıkama suyunun 5, 10 ve 15 dakikalık süreyle uygulanmasının yeşil yapraklı bitkilere (marul, iceberg, lahana ve ıspanak) inoküle edilen patojen bakteriler (*S.typhimurium* ATCC 14028, *E.coli* ATCC 8739, *L.monocytogenes* TCC 13932, *B.cereus* ATCC 11778 ve *S.aureus* ATCC 25923) ve bitki doku rengi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## BÖLÜM 2

### KURAMSAL TEMELLER

#### 2.1. Ozon

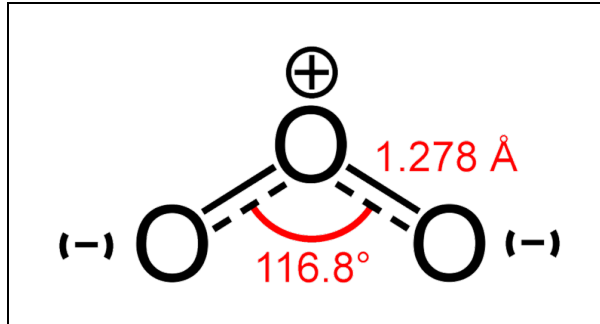
##### 2.1.1. Ozonun Tarihçesi

Ozon moleküler oksijene serbest radikal oksijenin eklenmesiyle oluşan triatomik oksijendir. 1781’de ilk Van Morum isimli araştırmacı ozonun keskin kokusunu tanımlamıştır. 1840 yılında Schonbein “koku” için yunanca “ozein” kelimesine dayanan “ozon” kelimesini kullanmıştır [10]. Tablo.2.1’de ozon uygulamalarının tarihçesi ve ozon gazı ile ilgili yasal düzenlemeler görülmektedir.

##### 2.1.2. Ozon hakkında genel bilgiler

Ozon kuru havadan üretildiği zaman olağan sıcaklıkta mavi bir gazdır fakat yüksek saflıkta oksijenden türetildiği zaman renksizdir. Ozon  $-112\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de koyu mavi renkte bir sıvıdır. Eğer oksijen karışımı % 20 üzerinde oluşursa sıvı ozon yok olabilir [10].

Resim 2.1’ de görüldüğü gibi ozon molekülündeki 2 oksijen atomu  $1.278\text{ \AA}$  bağ uzunluğunda ve yaklaşık  $116,8^{\circ}$  açı ile merkezde bulunan oksijen atomuna bağlanmaktadır. Ozonun kaynama noktası  $-111,9 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ , erime noktası  $192,5 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ , kritik sıcaklık  $-12,1^{\circ}\text{C}$  ve kritik basınç  $54,6\text{ atm}$ ’dir. Ozon,  $0^{\circ}\text{C}$ ’de ve atmosfer basıncındaki hava (1,28 ppm) ile karşılaştırıldığında kısmen daha yoğundur (2,14 ppm) [10].



Resim 2.1. Ozonun Molekül Geometrisi [11]

Tablo 2.1. Ozon Uygulamalarının Tarihi ve Düzenlemeler

YIL	KAZANIMLAR
1839	Schönbein tarafından ozon keşfedilmiştir.
1895	Ozonun moleküler formülü Soret tarafından belirlenmiştir.
1886	Avrupa'da tanınan kirli suyun dezenfekte edilmesi için ozon potansiyeli.
1891	Almanya'dan alınan test sonuçları ozonun bakterilere karşı etkili olduğunu göstermektedir.
1893	Hollanda'da içme suyu için ozon kullanan ilk tam ölçekli uygulama yapılmıştır.
1906	Fransa, ilk belediye ozon tesisini içme suyu için görevlendirmiştir.
1909	Ozon, Almanya'da etin korunması için kullanılmıştır.
1914	Araştırma, ucuz klor gazı üretimine yol açmakta ve su arıtımında ozona olan ilgi azalmaya başlamaktadır.
1936	Ozon, Fransa'da kabuklu deniz hayvanlarını yok etmek için kullanılmıştır.
1939	Ozon, meyvelerin depolanması sırasında maya ve küf gelişmesini engellemek için kullanılmıştır.
1942	Ozon, yumurta saklama odalarında ve ABD'de peynir depolama tesislerinde kullanılmıştır.
1957	Ozon, Alman içme suyunda demir ve manganezin oksidasyonu için uygulanmıştır.
1964	Ozon temas odalarındaki kendiliğinden topaklanma, partiküllerin uzaklaştırılmasını geliştirmek için Fransa'nın bir ozon tesisi inşa etmesine neden olmuştur.
1965	Ozon, İrlanda ve Birleşik Krallık'ta yüzey suyunun renk kontrolü için kullanılıyordu. Ozon, İsviçre'de fenolik bileşikler ve çeşitli pestisitler gibi mikro kirleticileri oksitlemek için kullanılmıştır.
1970	Ozon, Fransa'da yosun kontrolü için kullanılmıştır.
1982	ABD FDA, şişelenmiş suyun ozon dezenfeksiyonu için GRAS (genel olarak güvenli olarak kabul edilir) statüsüne sahiptir.
1987	600 MGD (milyon galon / gün) ozonlama tesisi, yedi yıllık pilot testinden sonra Los Angeles'ta devreye girmiştir.
1995	FDA GRAS onaylı şişelenmiş suyun ozon dezenfeksiyonu için onaylanmıştır.
1997	Elektrik Enerjisi Araştırma Enstitüsü (EPRI) tarafından düzenlenen Uzman Paneli, gıdalarla doğrudan temas için ozonun GRAS olduğunu doğruladı. FDA bu GRAS onayına itiraz etmemektedir. Düzenlemeler daha sonra ozon kullanımı için kontroller ekleme seçeneğine sahiptir.
1999	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA), FDA'nın "başka herhangi bir kullanımın Gıda Katkı Maddesi Davranışı" tarafından düzenlenmesi gerektiğini belirten 1982 GRAS beyanı ile ilgili olarak, et uygulaması için ozon protokolünü reddedmiştir.
2000	PRI tarafından sunulan bir Gıda Katkı Maddesi Dilekçesi (FAP), gıdalarla doğrudan temas için ozonun FDA onayını talep etmiştir.
2001	FDA ozonu doğrudan bir gıda katkı maddesi olan antimikrobiyal ajan olarak onaylar (Federal Register, Cilt 66, no. 123, 26 Haziran). Amerikan Et Enstitüsü, FDA kuralının kapsamı hakkında bir yorum istemek için ABD FSIS (FDA'nın Gıda Güvenliği ve Denetim Servisi) ile bir mektup yazdı. Buna cevaben, FSIS, "Et ve kümes hayvanı ürünleri üzerinde, ozon ve kümes hayvanı ürünlerinin paketlenmeden hemen önce işleme tabi tutulması da dahil olmak üzere, ozonun kullanılmasının kabul edilebilir" olduğunu ve "uygulanan ürünle ilgili etiketleme konusunda bir sorun olmadığını" belirtmiştir.
2004	FDA, patojen azaltma amaçları için ozon kullanımı konusunda elma suyu veya elma şarabı işleyicilerine endüstriyel rehberlik ve tavsiyelerde bulunmaktadır.

Ozonun çözünlürlüğünü büyük ölçüde sıcaklık ve ozonun kısmi basıncı etkilemektedir. Bunun için ozon çözünlürlüğünün artırılmasında;

1. Sıcaklığın düşürülmesi,
2. Havada bulunan ozon konsantrasyonunun artırılması,
3. Hava (oksijen) basıncının artırılması,
4. Etkin hava (oksijen) karışımının/ dağıtımının sağlanması ve
5. Temas süresinin artırılması yöntemlerinden faydalanılmaktadır [12].

Tablo.2.2’de “ozonun suda çözünlürlüğü üzerine sıcaklık ve konsantrasyonun etkisi görülmektedir.

Tablo 2.2. Ozon Çözünlürlüğü Üzerine Sıcaklık ve Konsantrasyonunun Etkisi [13]

%O <sub>3</sub> KONSANTRASYONU (GAZ)	5°C	10°C	15°C	20°C
1.5	11.09	9.75	8.40	6.43
2.0	14.79	13.00	11.19	8.57
3.0	22.18	19.50	16.79	12.86

Ozonun etkinliğine etki eden faktörler tablo 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.3. Ozonun etkinliğini etkileyen faktörler[14]

	Parametreler	Faktörler
<b>Dışsal faktörler</b>	Su kalitesi	pH, sıcaklık, bulanıklık, organik madde, oksitlenebilir inorganik malzemeler (örneğin demir, mangan, sülfid, vb.)
	Ozon Dekontaminasyon uygulaması	Konsantrasyon, temas süresi Uygulama yöntemi (daldırma, püskürtme ve ajitasyon, maruz kalma sırasında sürtünme veya statik durum), ürün / su oranı, tekli veya çoklu gruplar, sanitasyondan sonra durulama, çoklu yıkama
<b>İçsel faktörler</b>	Mikrobiyal yük	Mikrobiyal türün özellikleri, bakteri hücrelerinin fizyolojik durumları, doğal veya aşılansız mikroorganizmalar, popülasyon büyüklüğü
	Gıda ürünü	Meyve ve sebze türü, ürün yüzeylerinin özellikleri (çatlaklar, hidrofobik eğilim ve doku), ilişki ağırlığı ve yüzey alanı

Sıcaklığın ozonun canlılar üzerine öldürücü etkisi konusunda bir fikir birliği yoktur. Örneğin, bir sulu ortamın sıcaklığındaki bir azalma ozon çözünürlüğünü, stabilitesini ve ortamdaki kullanılabilirliğini artırmakta ve sonuç olarak etkinlik de artmaktadır. Bu iki faktörün (çözünürlük/kararlılık ve reaktivite) ozon etkinliğine eş zamanlı katkısı, deneysel koşullara göre değişebilmektedir. Bu da belirli bir uygulamada sıcaklığın etkisini tahmin etmeyi zorlaştırmaktadır [14,15].

Artık ozon, hedef yüzeyine uygulandıktan sonra ortamda tespit edilen ozon konsantrasyonudur. Ozonun belirli koşullar altında kararsızlığı ve ozon tüketen materyallerin varlığı, ortamda mevcut olan artık ozon seviyesini etkiler. Bu nedenle etkili dezenfeksiyon için gerekli ozon ve artık ozon konsantrasyonu arasında ayırım yapmak önemlidir. Pascual ve arkadaşları (2007) işlem sırasında ozon mevcudiyetinin izlenmesini önermişlerdir [14]. Ayrıca ozonun dezenfeksiyon etkisinin ortamda bulunan organik madde yoğunluğuna, metaller ve inorganikler gibi diğer maddelerin varlığına; uygulanan ozon miktarına; mikroorganizmaların tür, sayı, yaş gibi diğer bazı kriterlerine, ortamın bağıl nemine, sıcaklığa vb. özellikler ile ozon uygulaması sırasında kullanılan ekipmanların özelliklerine bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir. Aynı şekilde Xu (1999), su kalitesi, sıcaklık, pH, ve ürün bileşimi gibi faktörlerin ozon uygulamasında etkili olduğunu bildirmiştir [13].

Gıda bileşenleri, ozonun bakteriler üzerine öldürücü etkisi üzerine olumsuz etki etmektedir [16]. Bir ortamda organik maddelerin bulunması ozonun reaktif bir gaz olması sebebiyle mikroorganizmalar üzerine olan etkinliğini azaltacaktır [17]. Bu nedenle, meyve ve sebzelerin yıkanması için kullanılan suda organik madde veya çözünmüş katıların bulunması ozon gereksinimini artıracaktır. Ozonun bu maddelerle reaksiyona girmesi istenmeyen yan ürünlerin oluşmasına neden olabilecektir. Bu durumda bu yan ürünler ürünün raf ömrünü azaltabilecek, duyu özellikleri olumsuz yönde değiştirebilecek veya ürünün güvenilirliğini tehlikeye sokabilecektir [18].

Sulu ortamda sıcaklığın düşmesiyle ozonun çözünürlüğü arttığı için etkinliği de artmaktadır. Bu durumun tam tersi yani ortam sıcaklığının artması da ozon ayrışmasını hızlandırmaktadır. pH'nın azalması ozonun ortamdaki stabilitesini artıracığı için



ozonun etkinliği üzerine pozitif yönde etki edecektir [5]. pH'nın ozonun oksijene ayrışması üzerindeki etkisi, esas olarak, pH'daki değişimle ilgilidir. Yüksek pH'da ozon ayrışması ile açığa çıkan oksijenin, yüksek oksidatif özellikte olması nedeniyle çok sayıda radikal ürün meydana gelmektedir [14].

Ozon oksijen (1,23 V) ve klor (1,36 V) ile karşılaştırıldığında 2,07 V'dan daha yüksek bir oksidasyon potansiyeline sahiptir. Suda ozonun, oksijene ayrışma mekanizması tam olarak çözümlenememiştir. Ancak yapılan araştırmalarda hidroksil radikalleri içinde, oksijen ve hidroksit iyonlarına ayrıştığı bildirilmektedir. Bunun yanı sıra 7,5'un üzerindeki pH'larda hidroksil radikallerinin oluşumunun arttığı tespit edilmiştir. Pehkonen (2001), serbest hidroksil radikallerinin ozondan daha yüksek bir oksidasyon potansiyeline (2,80 V) sahip olduğunu belirtmiştir [10]. Tablo 2.4'te ozonun oksitleme gücü karşılaştırılmıştır.

Tablo 2.4.Ozonun Oksitleme Gücünün Diğer Dezenfektanlarla Karşılaştırılması [12]

Oksidan	Oksidasyon Potansiyeli (mV)	Oksidan	Oksidasyon Potansiyeli (mV)
Ozon	2,07	Oksijen	1,23
Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	1,77	Brom	1,09
Permanganat	1,67	Hipoklorid	0,94
Klordioksit ( ClO <sub>2</sub> )	1,57	Klorür	0,76
Hipoklorik asit ( HOCl)	1,49	İyot	0,54
Klor	1,36		

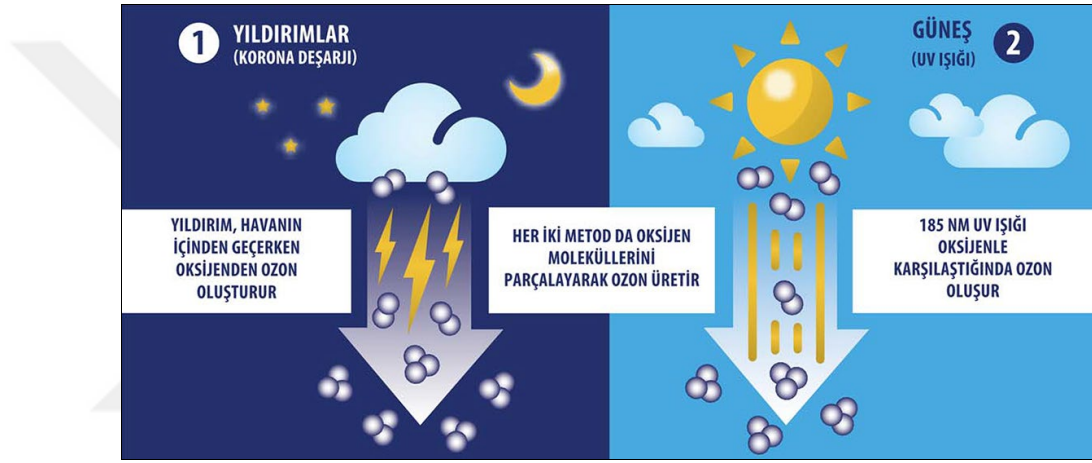
1930'lardan beri yapılan araştırmalarda mikroorganizmaların ozon gazı tarafından etkisiz hale getirilmesi için yüksek oranda bağıl neme gereksinim olduğu bildirilmektedir. Optimum bağıl nem seviyesi %90-95'tir. Bununla birlikte, ozonun, bakterisid etkisi genel olarak %50 bağıl nemin altında ortadan kalkmaktadır. Yüksek bağıl nem içeren ortamlarda, ozon gazının, antimikrobiyal bir ajan olarak etilen oksit ve propilen oksit gibi gaz dezenfektanlardan daha etkili olduğu Wiley (1994) tarafından belirtilmiştir [14].

Ozon toksik bir gazdır ve toksisitesi konsantrasyon ve maruz kalma süresine bağlıdır [15]. 0,1-1,0 ppm oranlarında kısa süreli ozon gazına maruz kalma durumunda baş

ağrısı, burun kanaması, göz kaşınması, boğaz kuruluğu ve solunum yollarının tahriş olması gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır. Daha yüksek düzeylerde (1-100 ppm) maruz kalınması durumunda astım, yorgunluk, iştah kaybı ortaya çıkar [10].

### 2.1.3. Ozonun üretilmesi

Ozon atmosferin katmanlarından biri olan stratosferde kaynağı güneş olan UV ışınlarının oksijenle reaksiyona girmesi sonucu resim 2.2’de görüldüğü gibi doğal olarak oluşmaktadır [19].



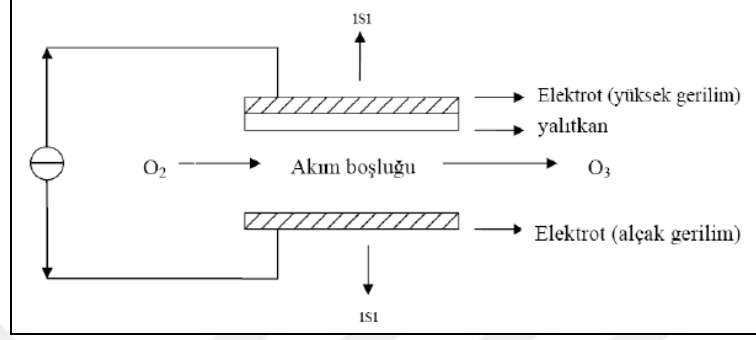
Resim 2.2.Ozonun Oluşum Mekanizmaları [20]

Ozon üretmek için önce diatomik oksijen molekülü bölünmelidir. Böylece elde edilen serbest radikal oksijen triatomik ozon molekülü oluşturmak için diatomik oksijen molekülü ile reaksiyona girmek için serbest hale gelir. Böylelikle diatomik oksijen molekülüne oksijen atomunun bağlanmasıyla ozon oluşur [10].

UV radyasyon (188nm dalga boyu) ve korono akım metodları ozon üretmek ve serbest radikal oksijen oluşumunu başlatmak için kullanılabilir. Ozonun ticari olarak üretilmesinde genellikle resim 2.2’de gösterilen korono akım yöntemi kullanılmaktadır [10].

Korona akım metodunda; seramik dielektrik alanı ve dar bir boşaltım aralığı ile ayrılan biri yüksek akım diğeri, alçak akım elektrotu olan iki elektrot kullanılmaktadır. Yeterli

miktarda kinetik enerji bulunması halinde bu elektrotlar oksijen molekülünü ayrıştırarak her bir oksijen atomundan ozon molekülü oluşturmaktadırlar [13].



Resim 2.3. Korona Akım Metodu Şeması [21]

Korona akım metodu ile çalışan ozon jeneratörlerinde ortam havası kullanılarak yapılan üretimlerde %1-3 düzeylerinde ozon gazı üretilebilirken; saf oksijen kullanıldığında üretilen ozon verimi % 16 seviyelerine kadar çıkmaktadır [10].

#### 2.1.4. Dünya otoritelerinin ozona bakışı

Ozon, FDA ve USDA tarafından onaylanmıştır. Ayrıca gıda ile temas eden maddeler tebliğinde organik olarak sertifikalandırılmıştır.

FDA; gıda katkı maddeleri yönetmenliğinde değişiklik yapmış, ozonun antimikrobiyal ajan olarak kullanımına izin vermiştir. 28 Haziran 2001 tarihinde FDA, ozonun gaz veya su ile birlikte et, kümes hayvanları ve diğer gıda üretimlerinde antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliğini belirtmiştir.

Ozon ile dezenfeksiyon WHO'nun 1979 yılında yayınladığı bir raporunda tavsiye edilmektedir. Ozon gazının 1997 yılında güvenilir gazlar sınıfına girmesiyle ozonun gıdalarda kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır.

Güvenli gıda üretimine yönelik olarak Türk Gıda Kodeksi'nde HACCP standartlarında ozon kullanımı zorunlu kılınmıştır [22].

### 2.1.5. Ozon kullanımının avantaj ve dezavantajları

Ozon uygulamasının avantajları aşağıdaki şekilde sıralanabilir [12,21]

1. İçerisinde kirletici konsantrasyonu az miktarda bulunan ve okside olabilecek maddeler içeren atık sularda ozon kullanımı uygundur. Bu gibi seyreltik sularda çözücü ekstraksiyonu ya da çökeltme gibi arıtma prosesleriyle giderilmesi zor olmaktadır.
2. Ozonlama sisteminin ilk yatırım maliyetlerinin yüksek olmasına karşın işletme masrafları yüksek değildir.
3. Ozon üretiminde gereken enerji fazladır ancak diğer arıtma yöntemleri ile kıyaslandığında bu yöntemlerden fazla değildir.
4. Su arıtmada kullanılan kimyasallara nazaran ozon yüksek reaktivite ve oksitleme gücüne sahiptir.
5. Ozonlama işlemi ile birçok organik ve inorganik kirletici maddeler suda zararsız bileşik ve maddelere ayrışarak sonrasında bazı konveksiyonel yöntemlerle (çöktürme, filtrasyon ve biyolojik prosesler gibi) kolayca ayrıştırılabilmektedir. Ozon ile oksidasyon sonucu kalıntı oluşmamaktadır.
6. Ayrıca ozon uygulaması suda koku ve renk oluşturmamakla birlikte; sudaki rengi, kötü tadı ve kokuyu yok etmektedir.
7. Yüksek oksidatif etkisi sonucu kısa sürede mikroorganizmaları öldürücü etkiye sahiptir.
8. Dezenfeksiyon sonrası suda bulunan oksijen miktarını arttırmakta ve kimyasal reaktif gerektirmemektedir.
9. Demir ve mangan gibi elementleri yükseltgeyerek ortamdan uzaklaştırmaktadır.
10. Organik maddelerle reaksiyona girerek ortamdan uzaklaştırmaktadır.
11. Sudaki kararsız yapısından ötürü hızlı bir şekilde oksijen moleküllerine dönüştüğü için istenmeyen kalıntı oluşumlarına sebep olmamaktadır.
12. Ham suda yapılabilecek ön ve/veya dahili ozonlama işlemi sonrasında kullanılacak olan klor ihtiyacını azaltmakta ve kararlı klor bileşiklerinin oluşmasını sağlamaktadır.
13. Kalsiyum karbonatın oluşmasını engellemektedir. Suyun pH'sını değiştirmemektedir.

14. Soğukta iyodu, hemen hemen tüm metalleri, özellikle cıva ve gümüşü yükseltgeme özelliğine sahiptir.
15. Klor, brom ve iyodu hidrojen veya metallerle oluşturmuş olduğu bileşiklerden açığa çıkarmaktadır.
16. Kükürt, fosfor ve arsenik asitlerini maksimum seviyede yükseltgemekte ve amonyağı, amonyum nitrat ile amonyum nitrite dönüştürmektedir.
17. Organik maddeleri de yükseltgeyerek parçalamaktadır.

Ozonlama işleminin dezavantajları [12,21]:

1. Ozonun içme suyu dezenfeksiyonunda kullanılması ozonun su içinde hızlı bir şekilde bozunmasından ötürü olumsuz etki oluşturabilmektedir. Su tesisatına meydana gelebilecek sızmalar herhangi bir tehlike oluşturabilir. Bu sebepten ötürü ozon uygulamasının ardından klorlamaya ihtiyaç duyulmaktadır.
2. Ozonlama prosesinin tek başına kullanılması ekonomik değildir. Fakat kompleks atık su arıtım tesislerinde arıtma ünitesi olarak kullanılabilir.
3. Suyun kalitesi ozonlama prosesinin verimini etkilemektedir.
4. Yüksek konsantrasyon seviyelerinde organik maddeler içeren ortamda verimi önemli ölçüde düşürebilir ve ozon tüketimini arttırabilir. Çünkü ozonun oksidasyon etkisi spesifik olmadığı için ozonun büyük çoğunluğu hedef dışı bileşiklere gitmektedir.
5. Ozon kararsız bir gaz olduğu için taşınmaması ve depolanmaması durumundan ötürü yerinde üretim gerekmektedir.
6. Ozonlama prosesinin ilk yatırım maliyeti yüksektir.
7. Ozonun bazı organik maddelerle reaksiyona girmesiyle aldehit, keton gibi istenmeyen bileşenler ortaya çıkabilmekte, çözünürlüğü klorla nazaran az olduğu için özel karıştırıcı malzemelere gerek duyulmaktadır.
8. Ozon kullanımı sonucunda meydana gelen biyo-bozunur organik maddeler farklı organizma gelişmesine sebebiyet verebilir. Bu durum filtrasyon işlemi (biyo aktif filtrasyon gibi) yapılmadığı takdirde dağıtım sisteminde korozyon hızının artmasına neden olabilmektedir.
9. Ayrıca bazı gıdalarda (et, yeşil sebzeler gibi ) yüzey oksidasyonuna; askorbik asit ve B<sub>1</sub> vitamininin azalmasına sebep olabilir.

10. Yağ oksidasyonu sonucu istenmeyen tat ve koku oluşmasına, yüksek dozlarda kullanılmasında gıdaların kalite parametrelerinde istenmeyen sonuçların çıkmasına neden olabilmektedir.

#### **2.1.6. Ozonun kullanım alanları**

Ozon birçok faydalı uygulamaları bulunan etkili bir oksidan olup; suyun dezenfeksiyonu, koku, tat ve rengin giderilmesinde, suda bulunan pestisitlerin, bazı bileşiklerin (organik ve inorganik bileşikler) uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır [23]. Siyanid, nitrit, amonyanın, metallerin uzaklaştırılmasında, soğuk hava depolarında, veterinerlik ve hayvancılıkta oluşabilecek enfeksiyonların önlenmesinde, zirai ilaç kalıntılarının temizlenmesinde, yüzme havuzlarında, klima sistemlerinin kullanıldığı hava alanı, hastane, otel, hamam gibi alanlarda ozon kullanılmaktadır. İnsan sağlığı konusunda insan kanında olan virüslerin yok edilmesinde, virüslerin sebep olduğu hastalıkların önlenmesinde, cilt hastalıkları, dolaşım bozuklukları migren gibi nörolojik hastalıklarda ve zayıflamada kullanılmaktadır. Ayrıca virüs ve bakterilerin dezenfeksiyonunda, akvaryumda, balık üretim çiftliklerinde, et, tavuk işleme tesislerinde, üniversite ve araştırma kurumlarında yapılan Ar-Ge çalışmaları da ozonun kullanım alanlarındandır [21].

Gaz formundaki ozon güçlü bir fumigasyon ve sanitasyon ajanıdır. Depo odalarında ve nakliye anında gıda yüzeyinde mikroorganizma (bakteri, küf ve maya gibi) gelişimini engellemede ve böcek kontrolünde kullanılabilir [23].

XU (1999), Demir, manganez ve sülfürün uzaklaştırılmasında ozon kullanılmasının tatlı-taze-yumuşak sularda tat ve koku kontrolün sağlandığını ve bu uygulamanın üretim endüstrisinde mikroorganizma ve toksik kimyasal içermeyen yüksek kaliteli su üretimine imkan sağladığını bildirmiştir [23].

Ozonlama işlemi soğuk depolarda çok düşük konsantrasyonlarda, havadaki ve ürün yüzeyindeki küf ile bakterilerin giderilmesinde ayrıca istenmeyen kötü kokuların uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır [23].

### 2.1.7. Ozonun antimikrobiyal aktivitesi

Hücre bileşenlerinden enzim ve nükleik asitler, hücre membranı ve hücre duvarında bulunan doymamış yağlar ile ozon arasında meydana gelen karmaşık reaksiyonlar sonucunda mikroorganizmalar inaktive olmaktadır. Ozon membran glikoproteinlerini ve/veya glikolipitleri [16], membrana bağlı enzimleri [24] ve hücre içinde bulunan tekli oksijen ile çift bağların oksidasyonunu etkilemekte, proteinlere ve DNA'ya zarar vermektedir [25]. Aynı zamanda, nikleik asitlerde ozon tarafından önemli düzeyde hasar görmektedir [10].

Ozonun mikroorganizmalar üzerine etkisi iki farklı mekanizma ile açıklanmıştır. Bunlar:

1. Ozon, sülfhidril grupları ve enzimleri, peptitleri ve proteinleri oluşturan amino asitleri daha küçük peptidlere oksitleyerek mikroorganizmalar üzerine etki etmektedir.
2. Çoklu doymamış yağ asitlerini, asit peroksitlere oksitleyerek [26] hücrelerin parçalanmasına veya hücre zarının zarar görmesi sonucunda mikroorganizmalar üzerine etki etmektedir.

Young ve Setlow (2004), ozonun bakteri sporlarını DNA hasarı ile öldürmediğini, sporların çimlenme kabiliyetine zarar verdiğini ifade etmişlerdir. Sporların çevreleyen tabakanın hasar görmesi ile sporun çimlenme kabiliyetinin azalttığını öne sürmüşlerdir.

Ozonla hücre duvarlarının (muhtemelen oksidatif tahribatla) parçalanması veya bozulması, diğer dezenfektanlardan daha hızlı bir inaktivasyon yöntemidir [15]. Scott ve Leshner (1963), ozonun hücrelerin parçalanmasına ve hücre içeriğinin ortama sızması sonucunda hücrelerin öldüğünü bildirmiştir. Ozonun mikroorganizmalar üzerine etkisinde mikroorganizma cinsi türü ve suşuna göre farklılık göstermektedir. Bakteriler, maya ve küflere göre hassas; Gr(+) bakteriler Gr(-) organizmalara göre duyarlı ve sporlar ise bitkisel hücrelere göre daha dirençlidir [10]

Srey ve arkadaşları, (2013)'de ozonun bakteri, virüs, protozoa ve bakteriyel ve fungal sporlara karşı etkili bir antimikrobiyal ajan olduğunu bildirmişlerdir. Ozonun düşük

konsantrasyonlarda ve kısa süreli uygulamalarda dahi bakterilerin saf kültürlerini, mayaları, parazitleri, küfleri ve virüsleri inaktif hale getirdiğini belirtmişlerdir [27].

### **2.1.8. Gıdalarda ozon uygulaması**

1900'lu yılların başlarında içilebilir su üretiminde antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ozon, klor ve diğer dezenfektanlara göre mikroorganizmalara karşı daha etkilidir. Ozonun oksitleyici özelliği, klor ile karşılaştırıldığı zaman %52 daha fazladır. Ozonun gıda sanayinde etkili bir şekilde kullanılmaya başlanmasında önemli bir faktör olmuştur [28]. Ozon GRAS sınıfına alınmadan önce sadece içme sularının dezenfeksiyonu için kullanılırken, daha sonra atık suların dezenfeksiyonu, şarap üretimi, sofralık zeytin ve zeytinyağı üretimi, gibi farklı gıda endüstrilerinde dezenfektan olarak gaz ve sıvı formda kullanılmıştır. Ozonun, gıda işletmelerinde yüzey hijyen ve sanitasyonunda; atık suyun yeniden kullanılması, bitkisel gıda atıklarının biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ) ve kimyasal oksijen ihtiyacını (KOİ) azaltıcı gibi uygulamalarda kullanılması önerilmektedir. Birden fazla etkiyi bir arada göstermesi sayesinde ozon geleceğin umut vaat edici dezenfeksiyon araçlarından birisi olarak görülmektedir [28].

#### **2.1.8.1. Balık ve kabuklu deniz canlılarına ozon uygulamaları**

Deniz suyuna inoküle edilen farklı bakteri kültürlerinin (*Bacillus*, *E. coli*) sterilizasyonu ile ilgili çalışmalar Voille (1929) tarafından yapılan denemelerde başarılı sonuçlar vermiştir. Ozonlanmış su ile yıkanan deniz kabuklularının duyuşal özelliklerinde herhangi bir olumsuzluk gözlenmemiştir. Salmon ve Le'Gall (1936), Voille (1929) tarafından yapılan çalışmada taze buz kullanılarak 12 günde yenilmez duruma gelen balıkların ozonlu suyun dondurulması ile elde edilen buzun kullanılması ile 16 güne kadar tazeliğini koruduğunu saptamışlardır. Balık tazeliğinin korunması neredeyse tamamıyla mikrobiyal etkilere bağılı olmaktadır. Ozon, su ürünleri işleme tesislerinde canlı balıkların ve diğer yüzey ve alet ekipman temizliğinin yanı sıra, son yıllarda su ürünlerine bulaşabilecek mikroorganizmaların inaktivasyonunda, balık etinin bazı özelliklerinde (renk, parlaklık ve arzu edilmeyen kokusunun düzeltilmesi gibi) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [28].



#### **2.1.8.2. Et endüstrisinde ozon uygulamaları**

Ozon kullanımını son yıllarda et işletmelerinde çalışma alanlarının, işletme zemininin ve ekipmanlarının periyodik olarak dezenfeksiyonunda yaygınlaşmaktadır. Bunun yanı sıra kesim hattında karkasların duşlanma aşamasında, et ve et ürünlerinin ambalajlanmasında ve depolanmasında da ozon kullanım alanı bulmaktadır. Tavuk etlerinin muhafazasında gaz ve sıvı formda değişik amaçlarla ozon gazı uygulanmış ve bu konuda olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Tavuk işletmelerinde ozonlama işlemi atmosferde gaz karışımı içinde yada değişik çözeltilerde sıvı formda kuluçka makinelerinin, follukların dezenfeksiyonunda, tavuk karkaslarında, karkas soğutma sularında ve bulaşı olan yumurtaların dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır [28].

#### **2.1.8.3. Tahıl ürünlerinde ozon uygulaması**

Ozon uygulamaları mikroorganizma popülasyonunun azaltılmasında olduğu kadar mikotoksinlerin azaltılmasında da başarılı sonuçlar vermiş, tahıllarda daha çok fungal bulaşmaların azaltılması amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Hamur reolojisi özellikleri üzerinde olumlu etkilerinin olduğu, düşük randımanlı unlardan yapılan ekmeklerde ekmek hacmini artırdığı araştırmalarda tespit edilmiştir. Ozon uygulaması sonucunda daha hacimli, ve daha beyaz iç özelliklerine sahip ekmekler elde edilmiştir [28].

#### **2.1.8.4. Meyve sebze ürünlerinde ozon uygulamaları**

Taze doğranmış meyve ve sebzeler herhangi koruyucu işlem yapılmaksızın tüketime sunulan gıdalardır. Özellikle kök sebzelerde hasat esnasında ve sonrasında oluşan mekanik hasarlar ürüne mikroorganizma bulaşmasına neden olabilmektedir. Taze doğranmış meyve ve sebzelerin duyusal ve besleyici özellikleri korunarak, raf ömrünü uzatacak her uygulama, büyük önem taşımaktadır [28]. Tablo 2.5'te taze doğranmış meyve ve sebze işleme endüstrilerinde kullanılan çeşitli dezenfektanların avantaj ve dezavantajları gösterilmektedir [14].

Meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonu için kullanılan bazı kimyasalların, mikrobiyal inaktivasyonda yetersiz kalması ve insan sağlığı açısından zararlı bileşiklerin oluşmasına neden olmaları gibi bazı olumsuzları bulunmaktadır. Bu yüzden gıda

endüstrisi, gıdalarda yaygın olarak bulunabilen patojenlerin aktivitesinin önlenmesinde etkili olabilecek, ürün kalitesinde kayıplara yol açmayacak, mevcut gıda proseslerine kolay bir şekilde adapte edilebilecek çevre dostu uygulamaların arayışındadır. Ozon bu noktada bütün bu beklentilere cevap niteliğinde bir uygulama potansiyeline sahiptir [5].

Meyve ve sebzeler ozonlama işleminin en çok uygulandığı ürün grubudur. Ozon uygulaması meyve ve sebzelerdeki bozulma ve çürümelere en çok sebep olan küflerin oluşmasını önlemek, gelişmelerini durdurmak yada öldürmek amacıyla kullanılmaktadır. Sebzelerin yüzey dezenfeksiyonu için ozon kullanımı yaygınlaşmakta; birçok meyve ve sebzenin (üzüm, turunçgil, böğürtlen, kiraz, elma, erik, patates, sarımsak gibi) yüzey dezenfeksiyonunda başarılı bir şekilde ozonlama işleminden yararlanılmaktadır [21].

Barth ve arkadaşları (1995), ozon kullanımının yaygınlaşmasındaki en önemli etkenin meyvelerde bozulmalara neden olan mikroorganizmaların gelişimini etkili bir biçimde önlemesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin aksine antosiyaninleri parçalayıcı bir etki göstermemesi olduğunu belirtmişlerdir [29].

Meyve ve sebzelerin muhafazasında ozon uygulamaları, ürün çeşidine ve ozonun uygulama biçimine göre farklılıklar göstermektedir. Meyve ve sebzelerde ozonlanmış su ile yıkama, ozon atmosferinde depolama ve belli sürede ozon gazına maruz bırakma yoluyla ozon uygulamaları yapılmakta; taze meyve ve sebzelerin koruma süresini uzatma, kuru meyve ve sebzelerin dezenfeksiyonunda, mikotoksinleri ve pestisitleri indirgeme ve enzim aktivasyonunu elimine etme amaçlarıyla ozonlama işlemi kullanılmaktadır [30].

Tablo 2.5. Taze kesilmiş organik sebzeler için önerilen dezenfeksiyon yöntemlerinin avantajları ve sınırlamaları [6,31]

Dezenfektan maddesi	Avantajları	Dezavantajları/Sınırlama
Klor (Hipoklorit)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Düşük maliyetli</li> <li>✓ Kolayca mevcut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Yüksek düzeyde tehlikeli DBP</li> <li>✓ Organik maddeyle reaksiyona girer,</li> <li>✓ bazı durumlarda toksik bileşiklerin üretimine yol açar.</li> <li>✓ Etkinlik organik maddenin varlığından etkilenir</li> <li>✓ Aşındırıcı</li> <li>✓ Aktivite pH'ye bağımlı</li> <li>✓ Organik ürünler için izin verilmez</li> </ul>
Ozon	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Yüksek antimikrobiyal aktivite</li> <li>✓ Kısa iletişim süresi</li> <li>✓ GRAS madde</li> <li>✓ Kalıntı problemi yok</li> <li>✓ Tehlikeli DBP oluşumu yok</li> <li>✓ Tehlikeli maddeleri depolamaya gerek yok</li> <li>✓ Düşük işletme maliyeti</li> <li>✓ Yerinde üretim gerektirir</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Solunduğunda toksiktir</li> <li>✓ Yanlış uygulamalarda izleme gerektirir</li> <li>✓ 4 ppm'in üstünde aşındırıcı</li> <li>✓ Daha yüksek başlangıç yatırımı maliyeti</li> </ul>
Klor dioksit	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Nötr pH'ta klordan daha yüksek antimikrobiyal etkinlik</li> <li>✓ Etkinlik klorunkinden daha az pH bağımlıdır</li> <li>✓ Klordan daha az potansiyel DBP oluşumu</li> <li>✓ Klor ve ozondan daha az aşındırıcıdır</li> <li>✓ Yerinde üretim gerektirir</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Taze ürün için izin verilen seviyelerde verimli değil</li> <li>✓ Patlayıcı</li> <li>✓ Sadece tüm ürünlerde izin verilir</li> <li>✓ Son suyla durulama işleminden sonra gereklidir.</li> <li>✓ İyodür iyonu suda mevcutsa klordan daha fazla iyotlu DBP oluşumu</li> <li>✓ Spesifik yan ürünler, klorit ve klorat oluşumu</li> <li>✓ İç mekan uygulamalarında izleme gerektirir</li> <li>✓ Organik ürünler için izin verilmiyor</li> </ul>
Organik asitler	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Kullanımı kolay</li> <li>✓ Toksikite yok</li> <li>✓ Organik ürünler için izin verilir</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Uzun temas süresi, endüstri ile ilgili değil</li> <li>✓ Duyusal kaliteye müdahale eder</li> <li>✓ Nispeten düşük antimikrobiyal etkinlik</li> </ul>
Peroksiasetik asit	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Etkinlik suyun organik yükünden etkilenmez</li> <li>✓ Etkinlik sıcaklık değişimlerinden etkilenmez</li> <li>✓ Zararlı DBP oluşumu yok</li> <li>✓ İzin verilen seviyelerde aşındırıcı değil (&lt;80 ppm)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Sebzeler için izin verilen seviyelerde düşük antimikrobiyal etkinlik</li> <li>✓ Organik ürünler için izin verilmiyor</li> </ul>
Hidrojen peroksit	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Kalıntı problemi yok</li> <li>✓ Kullanımı kolay</li> <li>✓ Düşük maliyetli</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Düşük antimikrobiyal etkinlik</li> <li>✓ Uzun temas süresi</li> <li>✓ Fitotoksik, genel kalite üzerinde olumsuz etkisi</li> <li>✓ İşlemden sonra kalıntı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaldırılmasını gerektirir</li> <li>✓ Organik ürünler için izin verilmiyor</li> </ul>

## BÖLÜM 3

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ozonun bitkisel ürünler üzerinde uygulanması ile ilgili araştırmalardan bazıları; aşağıda özetlenmiştir.

Ewell (1940) günde birkaç saat süreyle 2-3 ppm ozon uygulamasının çilek, ahududu, kuş üzümü ve üzümün raf ömrünün iki kat uzamasına neden olduğunu bildirmiştir[23].

Kuprianoff (1953) birkaç hafta boyunca günde birkaç saat süreyle 2-3 ppm düzeyinde ozon uygulamasının elmaların raf ömrünü artırdığını, ozon konsantrasyonunun 10 ppm olması durumunda ise elmalarda ozondan kaynaklanan olumsuz değişimler meydana geldiğini bildirmiştir [23].

Spalding (1966, 1968) tarafından yapılan çalışmalarda 0.5 ppm'lik ozon uygulamasının şeftaliye aşılaman *M. fructicola* ve *R. stolonifer*'in gelişimini etkilemediğini; ancak ozon konsantrasyonundaki artışın küf gelişiminin önlediğini ifade etmiştir [23].

Hall ve Sobsey (1993), hepatit A virüsünün 5 saniye 0,4 ppm'lik ozon uygulaması ile inaktive olduğunu belirlemişlerdir [10].

Williams ve arkadaşları (1995) ozonlanmış su ile yıkanan havuçların bakteri sayısında 3 logaritmik azalma olduğu bildirilmiştir [23].

Barth ve arkadaşları (1995), 2°C'de 0.3 ppm ozona maruz bırakılan dikensiz böğürtlenleri depoladıkları çalışmada kontrol grubu meyvelerin %20'si bozulduğunu, ozonla muamele edilen örneklerde küf gelişiminin görülmediğini tespit etmişlerdir. Ozon uygulamasının örnekler üzerinde görünür bir hasara neden olmadığını ve meyve yüzey renginin 12 gün korunduğunu belirtilmiştir [23].

Kim ve arkadaşları. (1999), kıyılmış marulları ozonlu su ile yıkadıkları araştırmada toplam bakteri (mezofilik aerob mikroorganizma) sayısında 2 logaritmik azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir [33].

Perez ve arkadaşları. (1999), ozon uygulamasının çileğin hasat sonrası kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada, çilek meyveleri 0.35 ppm ozon içeren atmosferde 2°C'de depolanmıştır. Ürün 2°C'de 3 gün bekletildikten sonra, 20°C'de depolanmıştır. Araştırmada raf ömrü süresince çileklerde küf çürüğü, renk, şeker ve asit dağılımı ve aroma değişimi incelenmiştir. Ozon uygulaması 20°C'de, 4 gün sonunda küf bozulmasını önlemede etkisini yitirmiştir. Diğer yandan ozonla muamele edilen çileklerin şeker ve askorbik asit içeriğinde önemli değişimler tespit edilmiştir. Soğukta depolama sonunda ozonla muamele edilen çileklerin C vitamini içeriği kontrol örneklerden 3 kat daha fazla bulunmuştur. Ozon uygulamasının çilek aroması üzerine olumsuz etkisi olduğu belirlenmiş ve ozonlanmış meyvelerin uçucu esterlerinde % 40 oranında bir azalma görülmüştür [23].

Hwang ve arkadaşları. (2001), yaptıkları çalışmada klor, klor dioksit, ozon ve hidrojen peroksyasetik asit (HPA) uygulamalarının elmalarındaki mancozeb ve bu pestisidin sıcaklık ve nemin artmasıyla oluşan bir parçalanma ürünü olan etilen thiourea'nın (ETU) degradasyonu üzerine etkilerini belirlemişlerdir. Taze elmalar iki farklı düzeyde mancozeb (1-10 ppm) ile muamele edilmiştir. Mancozeb kalıntıları uygulama süresi ve konsantrasyona bağlı olarak klorla % 56-99, klor dioksit ile %36-87, HPA ile % 44-99 ve ozon ile % 56-97 oranında azalmıştır. Elde edilen sonuçlar, ozonun meyvelerden ve işlenmiş ürünlerden pestisid kalıntılarının uzaklaştırılmasında iyi bir potansiyele sahip olduğu göstermiştir [23].

Palou ve arkadaşları (2002)' nin yaptıkları bir çalışmada, Elegant Lady çeşidi şeftalilere *Monolinia fructicola*, *Botrytis cinerea*, *Mucor priformis* ve *Penicillium expansum* sporları meyve zedelenecek (prob ucuyla 1 mm genişliğinde ve 2 mm uzunluğunda) aşılansın ve ürün 5°C'de %90 bağıl nem içeren depoda 4 hafta süreyle depolanmıştır. 0.3 ppm'lik (v/v) sürekli ozon uygulaması misel gelişimini ve spor oluşumunu önlemiştir. Ancak fertil hif gelişimi ve spor oluşumu ürün dışarı alındıktan sonra yeniden başlamıştır. Ozon uygulaması kahverengi çürüme dışında, bu küflerin neden olduğu bozulmanın gerçekleşme oranını ve şiddetini önemli derecede azaltmamıştır. Thompson çekirdeksiz sofralık üzümder üzerinde gelişen gri küfler 5°C'de 7 hafta süreyle depolanan ve 0.3 ppm ozona maruz kalan meyvelerde tamamen önlenmiştir. 0.3 ppm'lik sürekli ozon uygulaması, 5°C'de ve %90 bağıl nemde 5 hafta depolanma sonrası

"Zee Lady" çeşidi şeftalilerde su kaybını artırmış, fakat 4 hafta depolama sonrası "Flame" çekirdeksiz üzümde bu olay gerçekleşmemiştir. "O Henry" çeşidi şeftalilerin solunum ve etilen üretim hızı 0.3 ppm'lik ozon uygulamasından etkilenmemiştir. Yapılan her denemede, ozon veya modifiye atmosfer uygulamalarında meyve dokusunda fitotoksik hasarlar gözlenmemiştir [9,23].

Öztekin ve arkadaşları (2006) ozon gazının (1, 5 ve 10 ppm) ve uygulama süresinin (3 ve 5 saat) kuru incirlerin mikrobiyal florası üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada; ozon konsantrasyonunun ve uygulama süresinin artmasına bağlı olarak mikrobiyal yükte azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Kuru incirlerde *E. coli* bulunmamış olup koliform bakterilerin tamamının yok edilmesi için 3 saat süreyle 5 ppm ozon uygulamasının yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Beş saat süreyle 10 ppm ozon gazı uygulaması maya/küf sayısında %72'lik bir azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir [23].

Selma ve arkadaşları (2007), ozon uygulamalarının 1,6 ve 2,2 ppm seviyelerinde 1 dk süreyle suda *Shigella sonnei* popülasyonunu sırasıyla 3,7 ve 5,6 log kob/ml ile azalttığını bildirmiştir. Ayrıca *Shigella sonnei* sayısının 5 dk, 5 ppm ozonla muamele edilmiş marulda 1,8 log kob/g düzeyinde azaldığını saptamışlardır [14].

Bialka ve Demirci (2007), ozon gazı, basınçlı ozon gazı ve ozon gazı-vakum uygulaması ile vurgulu UV ışık uygulamalarının böğürtlenmiş mikrobiyal yük üzerine etkinliği karşılaştırmışlardır. Basınçlı ozon gazı (0,34 m<sup>3</sup>/saat; 83 kPa; 64 dakika) uygulaması ile 3 log kob/g *Salmonella* için azalma ve 2,2 log kob/g *E. coli* için azalmanın gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Vurgulu UV ışık uygulamasında (60 saniye, 8 cm uzaklık) ise; *Salmonella*' da 4,3 log kob/g, *E. coli*' de 2,9 log kob/g azalma neden olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları duyu analize göre ozon ve UV ışık uygulanan ve kontrol örnekleri arasında renk, koku ve görünüş açısından belirgin bir farka rastlanmadığını ve bu uygulamaların böğürtlenmiş gibi üzüm meyvelerinin dezenfeksiyonunda kullanılabilecek alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir [30,34].

Fan ve arkadaşları (2007), gaz halindeki ozonun, hem 5°C hem de 20°C'de kısa süreli maruz kalma süreleri boyunca, 50 ve 100 ppm düzeyinde katı ortamda *L.innocua*'yı etkili bir şekilde inaktif hale getirdiğini bildirmişlerdir [35].

Akbaş ve Özdemir (2008), kurutulmuş incirlerde *E.coli*, *B.cereus* ve *B.cereus* sporlarını azaltmak için ozonun etkilerini araştırmışlardır. Tüm ozon konsantrasyonlarında ozonlama işleminin ilk 60 dk'sında *B.cereus* sayısındaki azalmanın *E.coli* sayısındaki azalmadan daha yüksek olduğunu, *B.cereus*'un *E.coli* den daha hassas olduğunu göstermiştir. Hazırlanan örnekler yaklaşık %70 nem ve 20°C'lik odada; *E.coli* ve *B.cereus* 0,1; 0,5 ve 1,0 ppm konsantrasyonlarında 360 dk süreyle; *B.cereus* sporları ise 1,0-5,0-7,0-9,0 ppm konsantrasyonlarında 360 dk süreyle ozonlama işlemi yapılmış ve önemli ölçüde azalmalar kaydedilmiştir. *E.coli* ve *B.cereus* 0,1 ve 0,5 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla 0,9-1,4 ve 2,7-2,9 log kob/g azalma gösterirken 1,0 ppm konsantrasyonunda 3,5 log kob/g azalma meydana gelmiştir. *B.cereus* sporları ise 1,0 ppm ozon konsantrasyonunda 1,0, 5 ppm'de 1,5, 7,0 ve -9,0 ppm konsantrasyonlarında ise 2 log kob/g azalma saptamışlardır [36].

Zorlugenç ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada, ozon gazının (13.8 ppm O<sub>3</sub>) ve ozonlu suyun (1.7 ppm O<sub>3</sub>) kuru incirlerin mikrobiyal florası ve aflatoksin B<sub>1</sub>'in degradasyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Otuz dakikalık ozon gazı uygulamasıyla aerobik mezofil bakteri sayısında 1.42 log kob/g'lık azalma görülürken aynı süre ozonlu su ile muamele edilen kuru incirlerde 2.42 log kob/g'lık bir azalma kaydedilmiştir. 7.5 dakika süren ozon gazı ve ozonlu su uygulamaları incirlerdeki *E. coli*'nin tamamının öldürülmesi için yeterli olduğunu saptamışlardır. Ozon gazı uygulaması koliform bakterilerin 30 dakika sonunda 1.84 log kob/g'lık azalmasına neden olmakla birlikte 7.5 dakikalık ozonlu su uygulaması bu bakterilerin tamamının yok edilmesinde etkili olmuştur. Ozon gazı ile muamele edilen incirlerin maya sayılarında 30 dakika sonunda 2.09 log kob/g'lık bir azalma belirlenirken 15 dakikalık ozonlu su uygulaması ile mayalar tamamen yok edilmiştir. Ozon gazı ve ozonlu su ile 15 dakika süreyle muamele edilen kuru incirlerde küf tespit edilememiştir. İncirlerin aflatoksin içerikleri 180 dakikalık ozon gazı ve ozonlu su uygulaması sonrasında 21.00 mg/kg'dan sırasıyla 1.01 ve 2.39 mg/kg'a düştüğünü belirlemişlerdir [23].

Tiwari ve arkadaşları (2009), meyve sularının mikrobiyal yükünü azaltmaya yönelik olarak uygulanan ozonlamadan sonra işlemin ürünlerin kalitesi üzerindeki etkilerinin araştırılmasını önermişler ve mikroorganizmaları inhibe edecek dozda ozonlanan çilek suyunun antosiyanin ve askorbik asit içerikleri ile renginde önemli kayıpların oluştuğunu bildirmişlerdir [37].

Najafi Ve Khodaparast (2009), 5 ppm'de minimum 1 saatlik ozonlama işleminin, hurma meyvelerinde hem koliform hem *Staphylococcus aureus* sayısını azaltmak için başarılı bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Fakat mevcut maya/küfün yanı sıra toplam mezofilik bakterilerin elimine edilmesi için daha uzun maruz kalma sürelerinin gerekli olduğunu belirtmişlerdir [38].

Ramos ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmada modifiye ambalajlamada ozon kullanımının ıspanak kalitesi üzerine etkilerini incelemişler ve sonuçlar ozon gazının *E. coli* O157: H7 inaktivasyonu için oldukça etkili olduğunu ve bu uygulamanın modifiye atmosfer paketlemede ürünlerin raf ömrünün artırılmasında kullanılabileceğini göstermiştir [39].



## BÖLÜM 4

### MATERYAL VE METOD

#### 4.1. Materyal

##### 4.1.1. Ürünlerin temini

Çalışmada kullanılan iceberg marul, normal marul, lahana ve ıspanak örnekleri Nevşehir ilinde manav ve marketlerden temin edilmiştir.

##### 4.1.2. Analizde kullanılan besiyerleri

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların sayılarını belirleyebilmek için Nutrient agar besiyeri; mikroorganizmaları canlandırmak ve kullanılacak örneklere inokülasyon işlemlerin Nutrient broth besiyeri kullanılmıştır.

##### 4.1.3. Analizde kullanılan çözeltiler

Mikrobiyal ekim işlemleri sırasında seyreltme sıvısı olarak %0,1 sodyum klorür içeren izotonik çözelti kullanılmıştır.

##### 4.1.4. Analizde kullanılan mikroorganizmalar

Araştırmada ozonun mikroorganizmalar üzerine belirleyebilmek amacıyla gıdalarda tehlike oluşturan patojen bakteriler (S.typhimurium ATCC 14028, E.coli ATCC 8739, L.monocytogenes ATCC 13932, B.cereus ATCC 11778 ve S.aureus ATCC 25923) Mersin ilinde faaliyet gösteren özel bir gıda kontrol laboratuvarından temin edilmiştir

##### 4.1.5. Ozon jeneratörü

Çalışmada yerli üretim teknozone marka korona akım metodu prensibine dayalı gösterilen ozon jeneratörü (Tekno3zone seri no: 150511-1261) (Resim.2.2) kullanılmıştır.

## **4.2. Metod**

### **4.2.1. Mikroorganizma sayılarının belirlenmesi**

Araştırmada kullanılan mikroorganizmalar nutrient broth besiyerleri içerisinde 37°C’de 24 saat süre ile canlandırma işlemine tabi tutulmuştur ve tüm denemeler süresince taze genç kültürler ile sebze örneklerine inokülasyon yapılmıştır.

Nutrient broth besiyerinde canlandırma işlemi yapılan bakteriler denemelerden 24 saat önce nutrient broth besiyerlerine aktarılmıştır. Ozonlama işleminde inoküle edilen ve kurutma işlemi uygulanan kontrol örneklerinin bakteri yükünü belirlemek amacıyla sebze örneklerinden ve ozonlama işlemi sonrasında 10’ar g örnek tartılarak seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu seri dilüsyonlardan nutrient agar besiyerine üç paralelli olacak şekilde yayma ekim yöntemi ile ekim yapılmış takiben petri kutuları 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda koloniler sayılmış ve inokülasyonda kullanılacak sıvı besiyeri içerisinde bulunan canlı bakteri sayıları kob/g olarak belirlenmiştir.

### **4.2.2. Ozon uygulaması**

Çalışmada kullanılan sebzeler günlük olarak yerel manav ve marketlerden temin edilmiş olup sebze yaprakları paslanmaz çelik bir bıçak yardımıyla 5x5 cm boyutlarında kesilerek 10’ar gram olarak porsiyonlanmıştır. Porsiyonlanan örnekler 0, 5 10 ve 15 dk ozon uygulaması yapılabilmesi için 4 grup halinde ayrılarak hazırlanmıştır. Sebze örnekleri toprak, çamur, böcek vs. kirlerinden arındırılması için önce musluk suyundan geçirilmiş takiben kesilip porsiyonlanarak gruplar halinde ayrılmıştır.

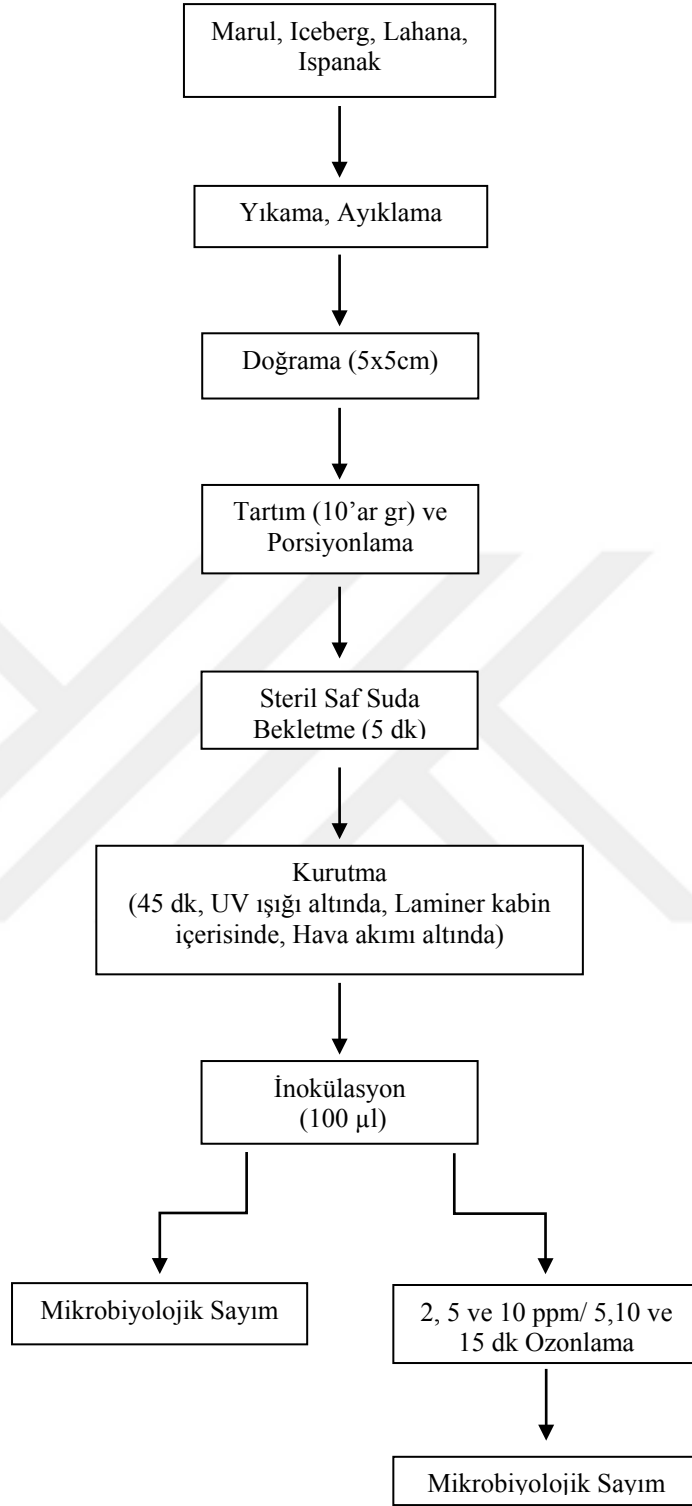
Ozon uygulamasına tabii tutulacak sebze numuneleri gruplama işleminin ardından laminer akış kabini içerisinde steril cam kaplar içerisinde bitkilerde bulunabilecek mikroorganizma yükünün azaltılması amacıyla 5’er dk süre daha önceden hazırlanmış steril saf su içerisinde bekletilmiştir. İşlem sonrasında örnekler laminer kabin içinde UV ışığı altında steril filtre kağıtları üzerinde 45 dakika kurumaya bırakılmıştır.

Kurutma işlemini takiben sebze örnekleri üzerine 100 µL bakteri inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. İnoküle edilen kültürde bulunan sıvı fazın kuruması amacıyla

örnekler bu defa UV ışını olmaksızın 45 dk süre aynı laminar kabinde steril hava yardımıyla kurutulmuştur.

Süre sonunda örneklerin başlangıç mikrobiyal yükünün belirlenmesi amacıyla ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Kalan örnekler 5, 10 ve 15 dakika ozonlama işlemine tabi tutulması amacıyla steril pens yardımıyla steril çay süzgeçler içerisine alınıp ozonlama işlemine tabi tutulacakları 5 L hacimli kavanoz içerisinde 5 L/dk akış hızında 2, 5 ve 10 ppm düzeyinde ozon içeren ozon gazı ile beslenen su içerisine daldırılmıştır. Süre sonunda ozonun bakteri yüküne etkisini belirlemek amacıyla mikrobiyolojik ekim işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.1’de ozonlama işlemi akış şeması gösterilmektedir.



Şekil 4.1. Mikrobiyal Analiz Akış Şeması

#### **4.2.3. Renk analizi**

2, 5 ve 10 ppm 5 L/dk akış hızında ozon gazı ile beslenen su içerisinde 5, 10 ve 15 dakika bekletilen sebzelerin rengi üzerine ozonun etkisini belirlemek amacıyla Konika Minolta marka CR 400 model renk ölçüm yapılmış ve örneklere ait L, a, b, C ve h tespit edilmiştir.

Ozonlama işlemi öncesinde ve uygulanan süreler sonunda aynı sebze yaprağı üzerinden değişimin belirlenebilmesi için rastgele olarak 5 farklı noktadan ölçüm yapılmıştır.

#### **4.2.4. İstatistiksel analiz**

Elde edilen veriler varyans analizi (ANOVA) tekniği ile 0.05 önem düzeyinde değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile tespit edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS (14.0) paket programı kullanılmıştır.

## BÖLÜM 5

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Marul, iceberg marul, lahana ve ıspanağa inoküle edilen *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S.Typhimurium* ve *B.cereus* üzerine 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonunda ozon gazı ile beslenen yıkama suyunun etkisi araştırılmıştır. Ayrıca ozon gazının kullanılan sebzelerin rengi üzerinde etkisini belirlemek amacıyla L\*, a\*, b\*, C\* ve h değerleri ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

#### 5.1. Ozonun Mikroorganizmalar Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

##### 5.1.1. Ozonun marul üzerindeki antimikrobiyal etkisi

Çalışmamızda marula inoküle edilen *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S.Typhimurium* ve *B.cereus*'un zamana ve konsantrasyona bağlı olarak gösterdiği logaritmik azalmalar tablo 5.1'de görülmektedir.

Tablo 5.1. Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi

Mikroorganizma	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
<i>L.monocytogenes</i>	0	6,47a	6,29a	6,19a
	5	6,43a	6,27b	6,18a
	10	6,37b	6,25b	6,14b
	15	6,34b	6,22c	6,08c
<i>S.aureus</i>	0	6,40a	6,30a	6,21a
	5	6,36b	6,29a	6,19a
	10	6,35b	6,25b	6,16b
	15	6,33b	6,24c	6,14c
<i>E.coli</i>	0	6,52a	6,41a	6,33a
	5	6,47b	6,38b	6,28b
	10	6,44bc	6,37c	6,21c
	15	6,42c	6,35d	6,16d
<i>S.Typhimurium</i>	0	6,47a	6,38a	6,31a
	5	6,45a	6,37b	6,29a
	10	6,41b	6,34c	6,23b
	15	6,39b	6,32d	6,16c
<i>B.cereus</i>	0	6,36a	6,25a	6,16a
	5	6,33ab	6,24a	6,14a
	10	6,31bc	6,21b	6,11b
	15	6,29a	6,18c	6,09b

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Marul örneklerine uygulanan 5, 10 ve 15 dakikalık ozonlu su uygulamasının *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S.Typhimurium* ve *B.cereus*'un üzerine antimikrobiyal etkisi, zamana bağlı olarak artmıştır. Buna bağlı olarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- L.monocytogenes* aşılınmış marul örneklerinde minimum azalma 10 ppm düzeyinde 5 dk'lık ozon uygulamasında 0,01 log kob/g olarak saptanırken maksimum azalma 2 ve 10 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla 10 dk ve 15 dk'lık ozonlama işlemlerinde 0,06 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozonlu su ile yıkama uygulamalarının tarımsal ürünlerdeki *L. monocytogenes* sayısında meydana gelen azalmalardaki etkisi önceki çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Selma ve arkadaşları ozonlu su ile (5 ppm) 1 dakika muamele edilen bütün haldeki patateslerde 0,8 log'lık [40], Rodgers ve arkadaşları 5 dakika ozonlu suyla yıkanan marullarda ise yaklaşık 5 birimlik [41] *L. monocytogenes* sayısında azalma olduğunu bildirilmiştir. Ölmez ve Akbaş (2009) marullardaki *L. monocytogenes* sayısı üzerine ozon konsantrasyonunun (0,5–4,5 ppm) ve uygulama süresinin (0,5–3,5 dk) etkisini incelemiştir. Araştırmacılar uygulama süresine bağlı olarak 4,5 ppm ozon dozuyla 1,5–2,4 logaritmik ve 0,5 ppm ozon dozuyla 0,2–0,8 logaritmik birimlik azalmalar gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Araştırmada elde edilen bulgular, önceki araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

- b) *S.aureus* ile inoküle edilen marul örneklerinde örneklerinde minimum azalma 2 ve 5 ppm düzeyindeki konsantrasyonlarda sırasıyla 10 ve 5 dk'lık ozon uygulamalarında 0,01 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Maksimum azalma ise 2 ppm ve 5 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla 5 dk ve 10 dk'lık ozonlama işlemlerinde 0,04 log kob/g olarak bulunmuştur.
- c) *E.coli* inoküle edilen marul örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 10 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,01 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozon uygulaması sonucu meydana gelen maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 10 dk'lık uygulamada 0,07 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Singh ve arkadaşları ozonlu suyla (9,7–16,5 ppm) 10 dakikalık yıkama uygulaması sonunda marul ve havuçlardaki *E. coli* O157:H7'nin 1,41–1,80 logaritmik birim azaldığını bildirmiştir [38]. Benzer şekilde *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş marulların 10 ppm'lik ozonlu suyla 10 dakika yıkanması ile 2,15 logaritmik birimlik bir azalma gerçekleştirdiğini ifade etmişlerdir [39].
- d) *S.Typhimurium* ile inoküle edilen marul örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 5 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,01 log kob/g olarak bulunurken; meydana gelen maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 10 dk'lık uygulamada 0,07 log kob/g olarak saptanmıştır.
- e) *B.cereus* ile aşılanan marul örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 10 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,01 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozonlama işlemi sonucu meydana gelen maksimum azalma ise 2, 5 ve 10 ppm



konsantrasyonlarında sırasıyla 5,10-15 ve 10 dk'lık uygulamalarda 0,03 log kob/g olarak bulunmuştur.

Araştırmada kullanılan sebzelerin belirlenen süre ve konsantrasyonlarda ozon uygulaması sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- a) *L.monocytogenes* aşılınmış marul örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonunda 0 ve 5 dk ile 10 ve 15 dk'lık ozon uygulaması kıyaslanmış ve bu ikili süreler arasında farklılık önemsizken; genel anlamda uygulama süreleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ). 5 ppm konsantrasyonunda genel olarak tüm sürelerdeki logaritmik azalmalar anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ancak 5 ve 10 dk'lık ozonlama işlemi için logaritmik azalma önemsiz olarak tespit edilmiştir. 10 ppm konsantrasyonundaki ozon muamelesinde; 0 ve 5 dk süreleri arasındaki uygulama sonuçları arasındaki fark önemsizken; 5,10 ve 15 dk'lık ozon maruzu sonucu elde edilen sonuçlar anlamlı olduğu ortaya konulmuştur ( $p<0,05$ ).
- b) *S.aureus* ile inoküle edilen marul örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonu için 0 ve 5 dk ozon uygulaması arasındaki fark anlamlı olarak kaydedilirken ( $p<0,05$ ) diğer süreler arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. 5 ppm konsantrasyonunda 0 ve 5 dk'lık maruz süreleri sonucunda bu iki süre arasında anlamlı bir fark olmadığı, 5,10 ve 15 dk ozon muamelesi sonucunda elde edilen sonuçlar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonu için 0 ve 5 dk'lık maruz süreleri sonucunda ulaşılan veriler arasındaki farkın önemsiz olduğu, 5, 10 ve 15 dk ozon maruzu sonucunda elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).
- c) *E.coli* ile inoküle edilen marul örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonunda 5, 10 ve 15 dk'lık ozon maruzunun sonucunda elde edilen değerler her ne kadar birbirine yakın olsa da aradaki fark anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 5 ppm konsantrasyonunda 0, 5, 10 ve 15 dk'lık ozon uygulaması sonucu elde

edilen veriler arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonu da aynı şekilde tüm uygulama süreleri arasındaki farklılıkların önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).

- d) *S.Typhimurium* ile aşılamanın marul örneklerinde genel olarak anlamlı farklılıklar kaydedilmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonunda 0 ve 5 dk ile 10-15 dk'lık ozon uygulaması karşılaştırılmış ve bu ikili süreler arasında farklılık önemsiz görülürken; genel anlamda uygulama süreleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ). 5 ppm konsantrasyonunda 0-5-10 ve 15 dk'lık ozon uygulaması sonucu elde edilen veriler arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonu için 0-5 dk'lık maruz süreleri sonucunda kaydedilen veriler arasındaki farklılık önemsiz bulunurken, 5,10 ve 15 dk ozon maruzu sonucunda elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).
- e) *B.cereus* ile inoküle edilmiş marul örneklerinde uygulanan konsantrasyon ve süreler değerlendirildiğinde genel olarak anlamlı farklılıklar görülmektedir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonunda uygulanan süreler için sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). 5 ppm konsantrasyonunda 0 ve 5 dk'lık maruz süreleri sonucunda veriler arasındaki farklılık önemsiz olarak belirlenirken, 5, 10 ve 15 dk ozonlama sonucunda elde edilen sonuçlar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 10 ppm düzeyindeki konsantrasyon sonucu elde edilen veriler arasında 0 ve 5 dk ile 10 ve 15 dk'lık ozon uygulaması karşılaştırılmış ve bu ikili süreler arasındaki farklılıklar önemsizken; genel anlamda uygulama süreleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

### **5.1.2. Ozonun iceberg marul üzerindeki antimikrobiyal etkinliği**

Araştırmada iceberg marula inoküle edilen *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S.Typhimurium* ve *B.cereus*'un zamana ve konsantrasyona bağlı olarak gösterdiği logaritmik azalmalar tablo 5.2'de görülmektedir.

Tablo 5.2. Iceberg Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi

Mikroorganizma	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
<i>L.monocytogenes</i>	0	6,42a	6,31a	6,24a
	5	6,39b	6,30ab	6,20b
	10	6,34c	6,30b	6,17b
	15	6,33c	6,28c	6,07c
<i>S.aureus</i>	0	6,38a	6,21a	6,15a
	5	6,32b	6,19ab	6,06b
	10	6,28b	6,18bc	6,03b
	15	6,23c	6,16c	5,99c
<i>E.coli</i>	0	6,43a	6,23a	6,14a
	5	6,35b	6,21ab	6,09b
	10	6,30c	6,20b	6,04c
	15	6,27c	6,17c	6,00d
<i>S. Typhimurium</i>	0	6,46a	6,38a	6,29a
	5	6,45a	6,37a	6,27ab
	10	6,42b	6,34b	6,24b
	15	6,39b	6,30c	6,19c
<i>B.cereus</i>	0	6,40a	6,22a	6,13a
	5	6,34b	6,21b	6,12a
	10	6,31b	6,2b	6,11a
	15	6,25c	6,18c	5,66b

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Iceberg marul örneklerine uygulanan 5, 10 ve 15 dakikalık ozonlu su uygulamasının *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *B.cereus*'un üzerine antimikrobiyal etkisi, zamana bağlı olarak artmıştır. Buna bağlı olarak aşağıdaki verilere ulaşılmıştır;

1. *L.monocytogenes* aşılınmış iceberg marul örneklerinde 5 ppm düzeyinde 10 dk'lık ozon uygulamasında hiçbir değişim görülmemiştir. Ancak maksimum azalma 10 ppm düzeyindeki konsantrasyonda 15 dk'lık ozonlama işleminde 0,1 log kob/g olarak belirlenmiştir.

2. *S.aureus* ile inoküle edilen iceberg marul örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 10 dk'lık ozon uygulamasında 0,01 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 5 dk'lık ozonlama işleminde 0,09 log kob/g olarak bulunmuştur.
3. *E.coli* inoküle edilen iceberg marul örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 10 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,01 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozon uygulaması sonucu meydana gelen maksimum azalma ise 2 ppm konsantrasyonunda 5 dk'lık uygulamada 0,08 log kob/g olarak tespit edilmiştir.
4. *S. Typhimurium* ile inoküle edilen iceberg marul örneklerinde minimum azalmalar 2 ve 5 ppm düzeyinde 5'er dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,01 log kob/g olarak bulunurken; meydana gelen maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 15 dk'lık uygulamada 0,05 log kob/g olarak saptanmıştır.
5. *B.cereus* ile aşılanan iceberg marul örneklerinde minimum azalma 5 ve 10 ppm düzeyinde sırasıyla 5'er ve 10'ar dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,01 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozonlama işlemi sonucu meydana gelen maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda sırasıyla 15 dk'lık uygulamada 0,45 log kob/g olarak bulunmuştur.

Araştırmada kullanılan sebzelerin belirlenen süre ve konsantrasyonlarda ozon uygulaması neticesinde elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak incelenmiş ve bu verilere göre aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır:

- a) *L.monocytogenes* aşılansmış iceberg marul örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm'de 0-5 ve 10 dk'lık ozon uygulamaları arasında anlamlı bir farklılık görülürken ( $p<0,05$ ), 10 ve 15 dk ozon uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. 5 ppm düzeyindeki ozon konsantrasyonunda tüm uygulama süreleri arasında değişikliklerin anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 10 ppm'lik konsatrasyon düzeyindeki ozon maruzu sonucu 0-5 ve 15 dk'lık işlem sonuçları arasındaki farklılık anlamlı olarak tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Ancak 5-10 dk'lık ozonlanmış yıkama suyu uygulaması arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

- b) *S.aureus* ile inoküle edilen iceberg marul örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonunda ozonla muamele sonucu 0-5 ve 15 dk'lık işlem sonuçları arasındaki farklılık anlamlı olarak kaydedilmiştir ( $p<0,05$ ). Ancak 5-10 dk arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. 5 ppm'lik konsantrasyonda 0, 5, 10 ve 15 dk'lık ozon uygulamaları sonucu elde edilen değerler arasındaki değişimler anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 10 ppm seviyesindeki konsantrasyonda ozonlama işleminde genel anlamda anlamlı farklılıklar saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Ama 5-10 dk'lık işlem sonuçları arasındaki farklılıklar önemsizdir.
- c) *E.coli* inoküle edilen iceberg marul örneklerinde genel olarak ozonla muamele sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değerler arasında anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Ozonlama işleminin 2 ppm konsantrasyonunda 0, 5 ve 10 dk'lık ozon uygulamaları arasında anlamlı bir farklılık görülürken ( $p<0,05$ ), 10 ve 15 dk ozon uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu, 5 ve 10 ppm düzeylerindeki konsantrasyonlarında 0, 5, 10 ve 15 dk'lık ozon uygulamaları sonucu elde edilen değerler arasındaki değişimler istatistiksel anlamda önemli görülmüştür ( $p<0,05$ ).
- d) *S. Typhimurium* ile aşılanan iceberg marul örneklerinde ozonla muamele sonucunda meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve değerler arasındaki değişimlerin önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ppm konsantrasyonunda 0 ve 5 dk ile 10 ve 15 dk'lık ozonlama işlemleri kendi aralarında karşılaştırılmış ve bu ikili süreler arasında farklılık önemsiz bulunmuştur. 5 ppm konsantrasyonunda logaritmik azalma 0 ve 5 dk'lık ozonlanmış yıkama suyu uygulamaları arasındaki değişikliklerin önemsiz olduğu saptanırken, 5, 10 ve 15 dk ozon uygulaması sonucunda elde edilen sonuçlar arasında meydana gelen bu farklılıkların önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Ozonlama işleminin 10 ppm konsantrasyonundaki 0, 5, 10 ve 15 dk'lık uygulama süreleri arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).
- e) *B.cereus* ile inoküle edilen iceberg marul örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda incelenmiştir. 2 ve 5 ppm konsantrasyonlarında

ozonlu su uygulamasının 0, 5 ve 15 dk'lık işlem sonuçları arasındaki farklılık önemli ( $p<0,05$ ) iken, 5 ve 10 dk arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. 10 ppm düzeyindeki ozonlu su uygulamasında ise 0, 5 ve 10 dk sürelerinde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemsiz olarak bulunurken, 15 dk'lık uygulama neticesinde elde edilen sonucun anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ).

### 5.1.3. Ozonun lahanaya üzerindeki antimikrobiyal etkisi

Araştırmada lahanaya inoküle edilen *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *B.cereus*'un zamana ve konsantrasyona bağlı olarak gösterdiği logaritmik azalmalar tablo 5.3'de görülmektedir.

Tablo 5.3. Lahanaya İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi

Mikroorganizma	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
<i>L.monocytogenes</i>	0	6,36a	6,26a	6,19a
	5	6,33b	6,24ab	6,18a
	10	6,30c	6,23bc	6,12b
	15	6,29c	6,21c	5,73c
<i>S.aureus</i>	0	6,43a	6,35a	6,29a
	5	6,40b	6,33b	6,24ab
	10	6,38b	6,32c	6,15b
	15	6,36c	6,30d	5,97c
<i>E.coli</i>	0	6,34a	6,10a	5,91a
	5	6,27b	6,03b	5,85b
	10	6,23b	5,95c	5,78c
	15	6,17c	5,93c	5,68d
<i>S. Typhimurium</i>	0	6,40a	6,30a	6,23a
	5	6,39a	6,30a	6,20a
	10	6,36b	6,28b	6,14b
	15	6,34c	6,25c	6,10c
<i>B.cereus</i>	0	6,29a	6,14a	5,9a
	5	6,22b	6,10b	5,9ab
	10	6,19bc	6,06c	5,88b
	15	6,17c	6,01d	5,83c

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Lahana örneklerine uygulanan 5, 10 ve 15 dakikalık ozonlu su uygulamasının *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *B.cereus*'un üzerine antimikrobiyal etkisi, zamana bağlı olarak artmıştır. Buna bağlı olarak aşağıdaki verilere ulaşılmıştır;

- a) *L.monocytogenes* aşılansmış lahana örneklerinde 2, 5 ve 10 ppm düzeyindeki konsantrasyonlarda sırasıyla 15, 10 ve 5 dk'lık ozon uygulamalarında 0,01 log kob/g azalma saptanırken, maksimum azalma 10 ppm düzeyindeki konsantrasyonda 15 dk'lık ozonlama işleminde 0,39 log kob/g olarak belirlenmiştir.
- b) *S.aureus* ile inoküle edilen lahana örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 10 dk'lık ozon uygulamasında 0,01 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 15 dk'lık ozonlama işleminde 0,18 log kob/g olarak bulunmuştur.
- c) *E.coli* inoküle edilen lahana örneklerinde minimum azalma 5 ppm düzeyinde 15 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,02 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozon uygulaması sonucu meydana gelen maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 15 dk'lık uygulamada 0,1 log kob/g olarak tespit edilmiştir.
- d) *S. Typhimurium* ile inoküle edilen lahana örneklerinde 5 ppm düzeyinde 5 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda azalma olmamıştır. Fakat maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 10 dk'lık uygulamada 0,06 log kob/g olarak saptanmıştır.
- e) *B.cereus* ile aşılansan lahana örneklerinde minimum azalma 2 ppm düzeyinde sırasıyla 15 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,02 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozonlama işlemi sonucu meydana gelen en yüksek azalma ise 2 ppm konsantrasyonunda 5 dk'lık uygulamada, 5 ve 10 ppm konsantrasyonlarında sırasıyla 15'er dk'lık ozon muamelesinde 0,05 log kob/g düzeyinde azalma meydana gelmiştir.

Araştırmada kullanılan sebzelerin belirlenen süre ve konsantrasyonlarda ozon uygulaması neticesinde elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak incelenmiş ve bu verilere göre aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır:

- a) *L. monocytogenes* ile inoküle edilen lahana örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda incelenmiştir. 2 ppm'de 0, 5 ve 10 dk'lık ozon uygulamaları arasında anlamlı bir farklılık görülürken ( $p<0,05$ ), 10 ve 15 dk ozon uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. 5 ppm seviyesindeki ozon uygulamasında 0, 5, 10 ve 15 dk'lık sürelerde meydana gelen değişimler istatistiksel bağlamda önemli olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonundaki ozon muamelesinde; 0-5 dk süreleri arasındaki uygulama sonuçları arasındaki fark önemsizken; 5-10-15 dk'lık ozon maruzu sonucu elde edilen sonuçlar anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ).
- b) *S.aureus* ile inoküle edilen lahana örneklerindeki logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda değerlendirilmiştir. 2 ppm konsantrasyonlarında genel olarak tüm sürelerdeki logaritmik azalmalar anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ancak 5 ve 10 dk'lık ozonlama işlemi için logaritmik azalma önemsiz olarak tespit edilmiştir. 5 ve 10 ppm'lik konsantrasyonlarında ise 0, 5, 10 ve 15 dk'lık ozonlama işlemi neticesinde elde edilen veriler arasındaki değişikliklerin önemli olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ).
- c) *E.coli* ile inoküle edilen lahana örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda değerlendirilmiştir. 2 ppm konsantrasyonunda genel olarak tüm sürelerdeki logaritmik azalmaların önemli olduğu belirlenirken ( $p<0,05$ ), 5 ve 10 dk'lık ozonlama işlemi için logaritmik azalmanın önemsiz olduğu ortaya konulmuştur. 5 ppm'de 0-5 ve 10 dk'lık ozon uygulamaları arasında anlamlı bir farklılık olduğu ( $p<0,05$ ), 10 ve 15 dk ozon uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu kaydedilmiştir. Lahana örneklerinin 10 ppm düzeyindeki 0, 5, 10 ve 15 dk'lık süreleri ile ozonlu suya maruz bırakılması sonucu kaydedilen tüm değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).
- d) *S. Typhimurium* aşılanan lahana örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda değerlendirilmiştir. 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonlarında ozonlama işleminin; 0 ve 5 dk süreleri arasındaki uygulama sonuçları arasındaki farkın önemsiz olduğu belirlenirken; 5, 10 ve 15 dk'lık ozon maruzu sonucu elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ).



e) *B.cereus* ile aşılanan lahana örneklerindeki logaritmik azalmalar istatistiksel olarak incelenmiştir. 2 ve 5 ppm konsantrasyon düzeylerinde 0, 5, 10 ve 15 dk'lık sürelerdeki ozonlu su ile uygulamalarında meydana gelen logaritmik azalmalar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonundaki değerlerde genel olarak tüm sürelerdeki logaritmik azalmalar anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Fakat 5 ve 10 dk'lık ozonlama işlemi için logaritmik azalma önemsiz olarak tespit edilmiştir.



#### 5.1.4. Ozonun ıspanak üzerindeki antimikrobiyal etkinliği

Araştırmada lahanaya inoküle edilen *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *B.cereus*'un zamana ve konsantrasyona bağlı olarak gsterdiği logaritmik azalmalar tablo 5.4'de verilmiştir.

Tablo 5.4. Ispanağa İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Etkisi

Mikroorganizma	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
<i>L.monocytogenes</i>	0	6,29a	6,15a	5,99a
	5	6,23b	6,12b	5,94ab
	10	6,19c	6,07c	5,81b
	15	6,17c	6,03d	5,65c
<i>S.aureus</i>	0	6,30a	6,19a	6,09a
	5	6,25b	6,16b	6,03b
	10	6,23c	6,14c	6,00b
	15	6,21d	6,13d	5,95c
<i>E.coli</i>	0	6,17a	5,94a	5,80a
	5	6,11a	5,92a	5,76a
	10	6,01b	5,89b	5,44b
	15	5,97b	5,86b	5,15c
<i>S. Typhimurium</i>	0	6,25a	6,09a	5,97a
	5	6,21b	6,05b	5,94a
	10	6,19b	6,02c	5,92a
	15	6,15c	5,98d	5,83b
<i>B.cereus</i>	0	6,33a	6,18a	6,07a
	5	6,26b	6,16b	6,02b
	10	6,22c	6,14c	5,96c
	15	6,19c	6,11d	5,89d

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Ispanak örneklerine 5, 10 ve 15 dakika süre ile 2, 5 ve 10 ppm düzeyinde ozonlu su uygulamasının *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E. coli*, *S.typhimurium* ve *B.cereus*'un üzerine antimikrobiyal etkisi, zamana bağlı olarak artmıştır. Buna bağlı olarak sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

- a) *L.monocytogenes* aşılantmış ıspanak örneklerinde 2, ppm düzeyinde 15 dk'lık ozonlama sonucunda 0,02 log kob/g azalma meydana gelmiştir. 10 ppm düzeyindeki konsantrasyonda 15 dk'lık ozonlama işleminde 0,16 log kob/g düzeyinde azalma olduğu belirlenmiştir.
- b) *S.aureus* ile inoküle edilen ıspanak örneklerinde en az etki 2 ppm düzeyinde 15 dk'lık ozon uygulamasında 0,01 log kob/g olarak saptanmıştır. Maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 5 dk'lık ozonlama işleminde 0,06 log kob/g olarak bulunmuştur.
- c) *E.coli* inoküle edilen ıspanak örneklerinde meydana gelen minimum azalma 5 ppm düzeyinde 5 dk'lık ozon uygulaması sonucunda 0,02 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ozon uygulaması sonucu meydana gelen maksimum azalma ise 10 ppm konsantrasyonunda 10 dk'lık uygulamada 0,32 log kob/g olarak tespit edilmiştir.
- d) *S. Typhimurium* ile aşılanan ıspanak örneklerinde en düşük azalma 2 ppm ve 10 ppm düzeylerinde 10 dk boyunca ozonlama işlemi sonucunda 0,02 log kob/g olarak saptanmıştır. 10 ppm düzeyinde 15 dk'lık uygulamada 0,05 log kob/g olarak tespit edilmiştir.
- e) *B.cereus* ile inoküle edilen ıspanak örneklerindeki minimum azalma 2 ppm düzeyinde sırasıyla 5 ve 15 dk'lık ozonlama işlemi sonucunda 0,02 log kob/g olarak belirlenmiştir. En yüksek azalma ise 2 ppm düzeyinde 5 dk'lık sürede, aynı zamanda 10 ppm düzeyindeki 15 dk'lık sürede 0,07 log kob/g olarak gerçekleşmiştir.

Araştırmada kullanılan sebzelerin belirlenen süre ve konsantrasyonlarda ozon uygulaması neticesinde elde edilen veriler istatistiksel olarak incelenmiş ve bu verilere göre aşağıdaki değerlendirmeler yapılmıştır:

- a) *L. monocytogenes* ile inoküle edilen ıspanak örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda incelenmiştir. 2 ppm'de 0, 5 ve 10 dk'lık ozon uygulamaları arasında anlamlı bir farklılık görülürken ( $p<0,05$ ); 10 ve 15 dk ozon uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. 5 ve 10 ppm düzeyindeki ozon konsantrasyonunda tüm uygulama süreleri arasında değişikliklerin anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

- b) *S.aureus* ile inoküle edilen ıspanak örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ve 5 ppm konsantrasyonlarında uygulama sürelerine bağlı olarak meydana gelen logaritmik azalmaları arasındaki değişimler anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ancak 10 ppm konsantrasyonunda genel anlamda değerler arası farklılıkların önemli olduğu saptanırken ( $p<0,05$ ); 5 ve 10 dk uygulama süreleri arasında anlamlı bir fark kaydedilmemiştir.
- c) *E.coli* ile inoküle edilen ıspanak örneklerinde genel olarak tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 2 ve 5 ppm konsantrasyonları için ozonlu suyla muamelesinde 0 ve 5 dk ile 10 ve 15 dk'lık ozon uygulaması kıyaslanmış ve bu ikili süreler arasında farklılıklar önemsizken; genel anlamda uygulama süreleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonunda ozon uygulamasında; 0 ve 5 dk süreleri arasındaki uygulama sonuçları arasında anlamlı bir farklılık görülmezken; 5, 10 ve 15 dk'lık ozon maruzu sonucu elde edilen sonuçlar anlamlı olduğu ortaya konulmuştur ( $p<0,05$ ).
- d) *S. Typhimurium* aşılana ıspanak örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda değerlendirilmiştir. 2 ppm konsantrasyonunda genel anlamda değerler arası farklılıkların önemli olduğu saptanırken ( $p<0,05$ ); 5 ve 10 dk uygulama süreleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. 5 ppm düzeyinde ozon muamelesinde uygulama süreleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 10 ppm konsantrasyonunda 0, 5 ve 10 dk'lık ozon maruzu işlemleri arasında anlamlı bir değişim görülmezken, 15 dk'lık uygulamada meydana gelen değişimin önemli olduğu ortaya konulmuştur ( $p<0,05$ ).
- e) *B.cereus* ile inoküle edilen ıspanak örneklerinde meydana gelen logaritmik azalmalar istatistiksel anlamda değerlendirilmiştir. 2 ppm'de 0, 5 ve 10 dk'lık ozon uygulamaları arasında anlamlı bir farklılık görülürken ( $p<0,05$ ); 10 ve 15 dk ozon uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. 5 ve 10 ppm konsantrasyonlarında uygulama sürelerine bağlı olarak meydana gelen logaritmik azalmalar arasındaki değişimler anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

## 5.2. Ozonun Renk Değişimi Üzerine Etkisi

### 5.2.1. Marul yapraklarındaki renk değişimi

2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonundaki ozon gazı ile beslenen yıkama suyu bulunan cam kavanoz içerisinde marul yaprakları 5, 10 ve 15 dakika muameleye tabi tutulmuş ve işlem sonrası örneklerde renk ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen renk ölçüm sonuçları tablo 5.5’ de verilmiştir.

Tablo 5.5. Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Marul Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi

Renk Değeri	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
L*	0	60,5a	60,5a	60,5a
	5	56,9a	60,7a	59,8a
	10	62,9a	63,4a	58,7a
	15	56,0a	60,5a	57,4a
a*	0	-20,2a	-20,2a	-20,2a
	5	-21,2a	-21,1a	-20,7a
	10	-20,2a	-19,7a	-20,5a
	15	-21,0a	-20,4a	-20,4a
b*	0	39,9a	39,9a	39,9a
	5	40,5a	42,6a	41,4a
	10	41,2a	40,7a	41,8a
	15	40,3a	41,5a	41,4a
C*	0	44,7a	44,7a	44,7a
	5	45,7a	47,6a	46,3a
	10	45,8a	45,3a	46,6a
	15	45,4a	46,3a	46,1a
h	0	116,8a	116,8a	116,8a
	5	117,7a	116,5a	116,5a
	10	116,1a	115,9a	115,8a
	15	117,7a	116,3a	116,3a

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Tablo 5.5 incelendiğinde uygulanan süre ve konsantrasyon kombinasyonlarında renk değerlerindeki değişikliklerde anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

## 5.2.2. Iceberg marul yapraklarındaki renk değişimi

2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonundaki ozon gazı ile beslenen yıkama suyu bulunan cam kavanoz içerisinde iceberg marul yaprakları 5, 10 ve 15 dakika muameleye tabi tutulmuş ve işlem sonrası örneklerde renk ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen renk ölçüm sonuçları tablo 5.6' de verilmiştir.

Tablo 5.6. Iceberg Marula İnoküle Edilen Mikroorganizmalar zerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Marul Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi

Renk Değeri	Sre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
L*	0	55,6a	55,6a	55,6a
	5	69,4a	65,7a	68,5a
	10	68,4a	67,4a	65,2a
	15	68,3a	68,4a	67,7a
a*	0	-18,0a	-18,0a	-18,0a
	5	-18,6a	-19,4a	-19,2a
	10	-17,7a	-18,6a	-19,7a
	15	-19,1a	-18,7a	-17,7a
b*	0	31,4a	31,4a	31,4a
	5	38,7a	40,3a	40,5a
	10	37,3a	39,6a	41,7a
	15	40,4a	40,2a	38,2a
C*	0	36,2a	36,2a	36,2a
	5	42,9a	44,8a	44,9a
	10	41,3a	43,8a	46,1a
	15	44,7a	44,4a	42,1a
h	0	119,8a	119,8a	119,8a
	5	115,6a	115,7a	115,3a
	10	115,3a	115,1a	115,3a
	15	115,3a	115,0a	114,7a

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Tablo 5.6 incelendiğinde uygulanan süre ve konsantrasyon kombinasyonlarında renk değerlerinde meydana gelen değişimlerdeki farklılıkların önemsiz olduğu belirlenmiştir.

### 5.2.3. Lahana yapraklarındaki renk değişimi

2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonundaki ozon gazı ile beslenen yıkama suyu bulunan cam kavanoz içerisinde lahana yaprakları 5, 10 ve 15 dakika muameleye tabi tutulmuş ve işlem sonrası örneklerde renk ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen renk ölçüm sonuçları tablo 5.7' de verilmiştir.

Tablo 5.7. Lahanaya İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Lahana Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi

Renk Değeri	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
L*	0	75,1a	75,1a	75,1a
	5	71,3a	73,3a	72,4a
	10	72,2a	71,4a	74,8a
	15	70,9a	72,7a	78,2a
a*	0	-16,9a	-16,9a	-16,9a
	5	-17,8a	-17,4a	-17,4a
	10	-18,0a	-17,4a	-16,5a
	15	-18,1a	-17,7a	-14,0a
b*	0	33,6a	33,6a	33,6a
	5	35,4a	35,2a	35,2a
	10	35,7a	35,0a	35,7a
	15	36,5a	36,1a	30,4a
C*	0	37,6a	37,6a	37,6a
	5	39,6a	39,3a	39,3a
	10	40,0a	39,1a	39,4a
	15	40,7a	40,2a	33,5a
h	0	116,7a	116,7a	116,7a
	5	116,6a	116,3a	116,0a
	10	116,7a	116,3a	114,7a
	15	116,4a	116,1a	114,6a

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Tablo 5.7 incelendiğinde uygulanan süre ve konsantrasyonlarda renk değerlerindeki değişimlerde oluşan farklılıkların önemli olmadığı saptanmıştır.

#### 5.2.4. Ispanak yapraklarındaki renk değişimi

2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonundaki ozon gazı ile beslenen yıkama suyu bulunan cam kavanoz içerisinde ıspanak yaprakları 5, 10 ve 15 dakika muameleye tabi tutulmuş ve işlem sonrası örneklerde renk ölçümleri yapılmıştır. 5,10 ve 15. dakikalarda renk ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen renk ölçüm sonuçları tablo 5.8' de verilmiştir.

Tablo 5.8. Ispanağa İnoküle Edilen Mikroorganizmalar Üzerine Farklı Konsantrasyon Ve Sürelerle Ozonlanmış Su İle Yıkamanın Ispanak Yapraklarındaki Renk Değişimine Etkisi

Renk Değeri	Süre (dk)	Konsantrasyon (ppm)		
		2	5	10
L*	0	60,5a	60,5a	60,5a
	5	56,9a	60,7a	59,8a
	10	62,9a	63,4a	58,7a
	15	56,0a	60,5a	57,4a
a*	0	-20,2a	-20,2a	-20,2a
	5	-21,2a	-21,1a	-20,7a
	10	-20,2a	-19,7a	-20,5a
	15	-21,0a	-20,4a	-20,4a
b*	0	39,9a	39,9a	39,9a
	5	40,5a	42,6a	41,4a
	10	41,2a	40,7a	41,8a
	15	40,3a	41,5a	41,4a
C*	0	44,7a	44,7a	44,7a
	5	45,7a	47,6a	46,3a
	10	45,8a	45,3a	46,6a
	15	45,4a	46,3a	46,1a
h	0	116,8a	116,8a	116,8a
	5	117,7a	116,5a	116,5a
	10	116,1a	115,9a	115,8a
	15	117,7a	116,3a	116,3a

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen değerler arasındaki fark 0,05 güven sınırında önemsizdir.

Tablo 5.8 incelendiğinde uygulanan süre ve konsantrasyonlarda renk değerleri üzerinde istatistiksel olarak fark yoktur.



## BÖLÜM 6

### SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ayıklanıp doğranmış marul, iceberg marul, ıspanak ve lahanada üzerine inoküle edilmiş *L.monocytogenes*, *S.aureus*, *E.coli*, *S. Typhimurium* ve *B.cereus* inaktivasyonunda 5, 10, ve 15 dk süreleri ile sisteme saatte sırasıyla 2, 5 ve 10 ppm ozon gazlaması yoluyla yıkama uygulamasının etkinliği ve bu işlem sonrası söz konusu sebzelerdeki renk değişimleri incelenmiştir. Araştırmadan elde edilen aşağıda sonuçlar maddeler halinde özetlenmiştir:

- a) 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonunda ozon ile yıkama suyuna ozonlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Muameleye tabi tutulan sebze örneklerinin tamamında mikrobiyal yükte bir azalma meydana gelmiştir. Muamele süresi ve ozon konsantrasyonu arttıkça, örneklerdeki mikroorganizma sayısı zamana bağlı olarak azalmıştır. Ozonlu hava ile beslenen suda bekletme işlemlerinde en yüksek mikrobiyal inaktivasyon 10 ppm konsantrasyonunda başlangıç yüküne göre 15 dk'lık uygulamalarda belirlenmiştir. Buna göre en yüksek mikroorganizma sayısındaki azalmalar *L.monocytogenes* için lahanada 0,46 log kob/ml; *S.aureus* için lahanada 0,32 log kob/ml; *E. coli* O157:H7 için ıspanakda 0,65 log kob/ml; *S. Typhimurium* için marulda 0,15 log kob/ml; *B.cereus* için iceberg marulda 0,47 log kob/ ml olarak tespit edilmiştir.
- b) 2, 5 ve 10 ppm konsantrasyonlarında ozonlu su uygulamalarının denemelerde kullanılan sebzeler üzerine renk değişimleri istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir.
- c) Gerek mikrobiyal yükteki azalmaların beklenen düzeyin altında olması gerekse renk ölçümlerinde elde edilen bulgularda istatistiksel olarak önemsiz olarak saptanması aşağıdaki sebeplerden kaynaklanabilir:
- d) Ozonun renk üzerine ağartıcı ya da olumsuz etki yaptığına dair literatürde birçok makale vardır. Ancak araştırmada ozon gazının ozon jeneratörü tarafından belli bir konsantrasyon da üretilmesi bu konsantrasyondaki gazın su içerisine baloncuklar halinde verilmesi sonucunda su içinde çözülmüş olan ozonun istenen düzeylere ulaşamamış olmasına bağlanabilir.

- e) Bununla birlikte ozon gazının yarılanma ömrü sıcaklığın artmasına bağlı olarak azalmaktadır. Ozonun denemede kullanılan materyaller üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan deneyler oda koşullarında gerçekleştirilmesinden dolayı sıcaklığın ozonun etkinliği üzerine olumsuz etki etmesinden kaynaklandığı düşünülebilir.
- f) Örneklerin ozonla muamelesi sırasında örnekler paslanmaz çelik çay süzgeçleri içerisinde ozonlu suya daldırılmıştır. Literatüre göre sadece 316 paslanmaz çelik ozondan etkilenmemektedir. Kullanılan süzgeçlerde denemeler sırasında korozyona benzer deformasyonlar oluşması nedeniyle bu süzgeçlerin 316 paslanmaz çelikten üretilmediği kanaatine varılmıştır. Bu nedenle ortama su içerisinde verilen ozonun bir kısmının süzgeç ile reaksiyona girmesi dolayısıyla etkinliğinin azaldığı düşünülmektedir.
- g) Sisteme verilen ozon kabarcıkları ne kadar küçük olursa ozonun suda çözünürlüğü de o denli artmaktadır. Dolayısı ile daha düşük gözenek çapına sahip ozonla reaksiyona girmeyen difüzerlerin kullanılması önerilmektedir.
- h) Ozonun sudaki çözünürlüğü ve yarılanma ömrü sıcaklık ve pH ile değişkenlik gösterebilmektedir. Bu durum göz önünde bulundurularak uygun pH ve sıcaklıkta çalışmalar yapılırsa daha verimli sonuçlar elde edilebilir.

## BÖLÜM 7

### KAYNAKLAR

- [1] Kuşçu, A., Pazır, F., “Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları,” *Gıda*, 29, (2), 123–129, 2004.
- [2] Çavuşoğlu, G., “Farklı Doz Ozon Gazı Uygulamalarının Hasat Sonrası Soğukta Saklama Sırasında Brokoli, Salatalık ve Domates Kalitesi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi,” *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans*, 2014.
- [3] Allende, A., Barberán, A. T., Francisco, A., Gil, M. I., “Minimal processing for healthy traditional foods,” *Trends Food Sci. Technol.*, 17 (9), 513–519, 2006.
- [4] G. O. Scifò, C. L. Randazzo, C. Restuccia, G. Fava, C. Caggia, “Listeria innocua growth in fresh cut mixed leafy salads packaged in modified atmosphere,” *Food Control*, 20 (7), 611–617, 2009.
- [5] Karaca, H., “Ozonlamanın Marul, Ispanak ve Maydanozlarda Mikrobiyel İnaktivasyon ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi,” *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 2010.
- [6] G. Tiwari, B.K., Rice, R., “Regulatory and Legislative Issues,” *Ozone in Food Processing*, Editörler R. G. Donnell, Colm O;Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Rice, A John Walley & Sons, Ltd., Publication, India 2012.
- [7] Pe´rez, A. G., Sanz, C., Rios, J.J., Olias, R., Olias, J. M., “Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality,” *LWT - Food Sci. Technol.*, 90, 53–60, 2017.
- [8] Lezcano, I., Rey, R. P., Baluja, Ch., Sánchez, E., “Ozone inactivation of Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Shigella sonnei and Salmonella typhimurium in water,” *Ozone Sci. Eng.*, 21 (3), 293–300, 1999.
- [9] Palou, L., Crisosto, C. H., Smilanick, J. L., Adaskaveg, J. E., Zoffoli, J. P., “Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage,” *Postharvest Biol. Technol.*, 24 (1), 39–48, 2002.
- [10] Greene A.K., Seydim Z.B.G., Seydim A.C., “Chemical and Physical Properties of Ozone,” *Ozone in Food Processing*, Editörler R. G. Donnell, Colm O;Tiwari,

- B.K., Cullen, P.J., Rice, A John Walley& Sons,Ltd., Publication, India 2012.
- [11] “Skelatal formula of ozone.” [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/Ozone>.
- [12] Aslansoy, Z., “Ozonlama İşleminin Limondaki Pestisit Kalıntıları Üzerine Etkisi,” *Çukurova Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans*, 2012.
- [13] Ekici, L.O., Sağdıç, Kesmen, Z., “Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan-Ozon,” *Gıda Teknol. Elektron. Derg.*, 1 (1), 47–57, 2006.
- [14] Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., “Ozone in Fruit and Vegetable Processing,” Editörler R. G. Donnell, Colm O;Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Rice, A John Walley& Sons,Ltd., Publication, India 2012
- [15] Pascual, A., Llorca, I., Canut, A., “Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities,” *Trends Food Sci. Technol.*, 18 (1), 29–35, 2007.
- [16] Seydim, Z. G., Bever, P. I., Greene, A. K., “Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components,” *Food Microbiol.*, 21 (4), 475–479, 2004.
- [17] Khadre, M. A., Yousef, A. E., Kim, J. G., “Microbiological aspects of ozone applications in food: A review,” *J. Food Sci.*, 66 (9), 1242–1252, 2001.
- [18] Restaino, L., Frampton, E. W., Hemphill, J.B., Palnikar, P., “Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms,” *Appl. Environ. Microbiol.*, 61 (9), 3471–3475, 1995.
- [19] Gürsoy, N. C., “Negatif İyon ve Ozon Uygulamasının Çeşitli Bakteriler Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, Soğutma Kulesi ve Hastane Atık Sularının Dezenfeksiyonunda Kullanımının Değerlendirilmesi,” *İnönü Üniversitesi,Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 2009.
- [20] “Ozonun Oluşumu ve Üretimi,” 2019. [Online]. Available: <http://borasco.net/tr/ozon/ozonun-olusumu-ve-uretimi/>.
- [21] Yıldız, P. O., Yangılar, F., “Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları,” *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilim. Derg.*, 3 (1), 94–101, 2015.
- [22] “Dünya Otoritelerinin Ozona Bakışı,” 2011. [Online]. Available: <http://www.deodorizerdes.com/2011/04/dunya-otoritelerinin-ozona-bakisi>.

- [23] Öztekin, S., Işıkber, A. A., Zorlugenç, B., Zorlugenç, F.K., Ulusoy, R., Satar, S., Evliya, B., Fenercioğlu, H., “Ozon Uygulamasının Kuru İncirde Mikrobiyel Flora, Aflatoksin B1 ve Değirmen Güvesi (*Ephestia kühniella* Zeller) Üzerine Etkileri,” *Tarım Makinaları Bilim. Derg.*, 3 (3), 169–177, 2007.
- [24] Murray, R. G. E., Steed, P., Elson, H. E., “The Location of the Mucopetide in Sections Of The Wall Of *Escherichia coli* and Other Gram-Negative Bacteria,” *Can. J. Microbiol.*, 11 (December 1963), 547–560, 1965.
- [25] Komanapalli, I. R., Lau, B. H. S., “Ozone-induced damage of *Escherichia coli* K-12,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 46 (5–6), 610–614, 1996.
- [26] Victorin, K., “Review of the genotoxicity of ozone,” *Mutat. Res. Genet. Toxicol.*, 277 (3), 221–238, 1992.
- [27] Alexandre, E. M. C., Santos-Pedro, D. S. M., Brandão, T., R., Silva, C. L. M., “Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress,” *J. Food Eng.*, 105 (2), 277–282, 2011.
- [28] Savaş, E., Tavşanlı, H., Gökğözoğlu, İ., “Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları,” *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknol. Derg.*, 2 (3), 122–127, 2014.
- [29] Cemeroglu, B., “Gıdaların Başlıca Dayandırılma Yöntemleri,” Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, *Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti*, 2011.
- [30] Tabakoğlu, N., “Ozon Uygulamasının Karadutun (*Morus nigra* L.) Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi Üzerine Etkisi,” *Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans*, 2016.
- [31] Ölmez, H., Kretschmar, U., “Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact,” *LWT - Food Sci. Technol.*, 42 (3), 686–693, 2009.
- [32] Öztekin, S., Zorlugenç, B., Zorlugenç, F. K., “Kuru İncirde Ozon Uygulamasının Mikrobiyel Flora, Aflatoksin ve İncir Sineği Üzerine Etkileri,” 2005.
- [33] Kim, J. G., Yousef, A. E., Chism, G. W., “Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce,” *J. Food Saf.*, 19 (1), 17–34, 1999.
- [34] Bialka, K.L., Demirci, A., “Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and

- Salmonella enterica on blueberries using ozone and pulsed UV-light,” *J. Food Sci.*, 72 (9), 391–396, 2007.
- [35] Fan, L., Song, J., McRae, K. B., Walker, B. A., Sharpe, D., “Gaseous ozone treatment inactivates *Listeria innocua* in vitro,” *J. Appl. Microbiol.*, 103 (6), 2657–2663, 2007.
- [36] Akbas, M. Y., Ozdemir, M., “Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs,” *Food Microbiol.*, 25 (2), 386–391, 2008.
- [37] Patil, S., Bourke, P., Frias, J. M., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., “Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using ozone,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 10 (4), 551–557, 2009.
- [38] Habibi Najafi, M. B., Haddad Khodaparast, M. H., “Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits,” *Food Control*, 20 (1), 27–30, 2009.
- [39] Ramos, B., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., Teixeira, P., Silva, C. L. M., “Fresh fruits and vegetables—An overview on applied methodologies to improve its quality and safety,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 20, 1–15, 2013.
- [40] Selma, M.V., Beltran, D., Chacon, V. E.,m Gil, M. I., “Effect of Ozone on the Inactivation of *Yersinia enterocolitica* and the Reduction of Natural Flora on Potatoes,” *J. Food Prot.*, 69 (10), 2357–2363, 2006.
- [41] Rodgers, S. L., Cash, J. N., Siddiq, M., Ryser, E. T., “A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe,” *J. Food Prot.*, 67 (4), 721–31, 2004.

## ÖZGEÇMİŞ

Merve TÜMAY 1992 yılında Nevşehir’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Nevşehir’de tamamladı. 2010’da İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne başladı. 2014 yılında lisans eğitimini tamamlayarak mezun oldu. 2015 yılında Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümünde lisansüstü eğitimine başlamıştır.

Adres: 15 Temmuz Mahallesi 102.Sokak Elmacı Sitesi B Blok No:29  
Merkez/NEVŞEHİR

Telefon: 0 506 829 4183

e-posta: [merve.tumay.4450@gmail.com](mailto:merve.tumay.4450@gmail.com)