



Taze Meyvelerin Ozon Uygulaması ile *E. coli* O157:H7' den Arındırılması



Mihriban Korukluoğlu, Gökşen Gülgör
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği
Bölümü, Bursa



E.coli O157:H7

- Yetiřtirme
- Hasat
- Tüketime hazırlama

Fekal kontaminasyon

Vitamin C



Elektrolize edilmiş
okside (EO) su



Gıdaları Muhafaza Etme Teknikleri



Belirtilen raf ömrü süresince fiziksel, kimyasal ve biyolojik risk taşımayan gıdalar **güvenli gıda** olarak tanımlanmaktadır.

* Gıda güvenliği ve kalitesi açısından biyolojik ve kimyasal aktivitelerin kontrol altına alınması gerekmektedir.



<http://www.ozonoks.com.tr/meyve-ve-sebzelerde-ozon-uygulamasi>

- Günümüzde gıda üreticileri;
 - Gıdanın raf ömrünü uzatabilmek ve besin değerini koruyabilmek için yeni teknolojik yöntem arayışı içerisine girmiştir.
 - Seramik, genetik mühendisliği ve tıp gibi alanlarda kullanılmakta olan bazı teknolojileri gıdalarda uygulamaya başlamışlardır.
 - Işınlama
 - **Ozonlama**
 - UV (ultraviyole)
 - Atımlı ışık
 - **Elektrolize okside su**
 - Yüksek basınç işlemleri

Gıdaları Muhafaza Etme Teknikleri

- * Elektrolize olmuş okside su teknolojisi
 - * hayvan yemlerinde,
 - * içme suyunda,
 - * tıp ve dişçilik sektöründe

bakterileri yok etmek için kullanılan, taze ve işlenmiş gıdalarda FDA (Food and Drug Administration)'nın da kullanıma uygun bulunduğu bir sterilizasyon işlemidir.
- * Elektroliz uygulanmış okside su teknolojisi üzerinde, araştırmacılar 30 yıldan uzun süredir çalışmakta ve bu yöntemle çeşitli patojenleri kontrol altına almayı amaçlamaktadırlar.
- * Teknolojinin uygulanmasının çok kolay ve ekonomik olması büyük avantaj sağlamaktadır. Elektrolize olmuş okside su yöntemiyle insanlarda hastalığa neden olan pek çok mikroorganizma inaktive edilebilmektedir.
 - * Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio parahaemolyticus*.
- * Ayrıca bu yöntemle birçok maya ve küf türlerinin sporlarının çimlenmesi engellenebilmektedir.
 - * Örneğin; *Alternaria spp.*, *Bortrytis spp.*, *Cladosporium spp.*, *Colletotrichum spp.*, *Curvularia lunata*, *Didymella bryoniae*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium spp.*, *Helminthosporium spp.*, *Pestalotia spp.*, *Phomopsis longicolla*, *Rhodosporidium toruloides*, *Stagonospora nodorum*, *Thielaviopsis basicola*, *Trichoderma spirale*, *Acidovorax avenae sub sp.*, *Erwinia chrysanthemi*, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas syringae*, *Aspergillus spp.*, *Botryosphaeria berengeriana*, *Monilinia fructicola*, *Penicillium expansum* ve *Tilletia indica* (Huang ve diğ., 2008).

Elektrolize olmuş okside su teknolojisi

- * *Elektrolize olmuş okside su seyreltilmiş tuz çözeltisinin elektrolit bir membran ile bileşenlerine ayrılarak artı ve eksi iyonlarının geçişi prensibine dayanmaktadır (Hsu, 2005).*
- * Pozitif kutup : $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}^+ + \text{O}_2\uparrow + 4\text{e}^-$
 - * $2\text{NaCl} \rightarrow \text{Cl}_2\uparrow + 2\text{e}^- + 2\text{Na}^+$
 - * $\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCl} + \text{HOCl}$
- * Negatif kutup : $2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{OH}^- + \text{H}_2\uparrow$
 - * $2\text{NaCl} + 2\text{OH}^- \rightarrow 2\text{NaOH} + \text{Cl}^-$

Elektrolize olmuş okside su teknolojisi

- Kanada Lethbridge Araştırma Merkezi'nde yapılan ön çalışmalarda basit bir su elektroliz işleminin, sudaki *E.coli* O157:H7'yi tamamen temizleyebileceği anlaşılmıştır.



* EO su teknolojisinin antimikrobiyel bir yöntem olarak tercih edildiği alanlar:

- * Kümes hayvanları
- * Kırmızı et
- * Su ürünleri
- * Hayvan yemleri
- * Çeşitli sebze ve meyveler (şeftali, elma, çilek, domates, ıspanak vs.)
- * Bazı bitki tomurcukları
- * Gıda üretim ekipmanları
- * Tıbbi malzemeler



Elektrolize olmuş okside su teknolojisi

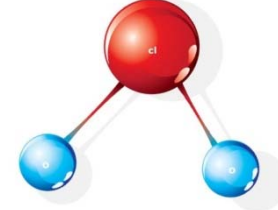
- * Protein, vitamin, mineral ve besleyici gıdalar yönünden zengin olan **Alfalfa** bitki tomurcuklarına ve lahana yapraklarına ***E.coli* O157:H7** inokule edilip elektrolize okside su yöntemi uygulanmıştır (Ratna ve Demirci, 2003).
- * **Alfalfa** bitki tomurcuklarında ***E.coli* O157:H7** 'nin 0.2-1.6 log₁₀ kob azaldığını, lahana yapraklarında ise 1.1-2.7 log₁₀ kob azalma olduğu saptanmıştır (Ratna ve Demirci, 2003).



Gıdaları Muhafaza Etme Teknikleri

* Gıda endüstrisinde gıdaların mikrobiyel güvenliği için çoğunlukla klorin veya klorin dioksit kullanılmaktadır.

* Bununla birlikte, klorinin etkisinin yetersizliği ve kalıntılarının sağlığa zarar vermesi gibi nedenlerle alternatif dezenfektanlar araştırılmaktadır.



- Ozon (O_3) ise gıda endüstrisinde gıdaların yüzey hijyeni, ekipman, ambalaj materyali ve atık suların dezenfeksiyonu gibi alanlarda kullanılmaktadır.
- Sonuç olarak ozon uygulamalarının, düşük konsantrasyon ve kısa uygulama sürelerinde etkili olması ve ozonun parçalandığında zararsız ürünlere dönüşmesi gibi nedenlerle geleneksel sanitizelere iyi bir alternatif olduğu düşünülmektedir.

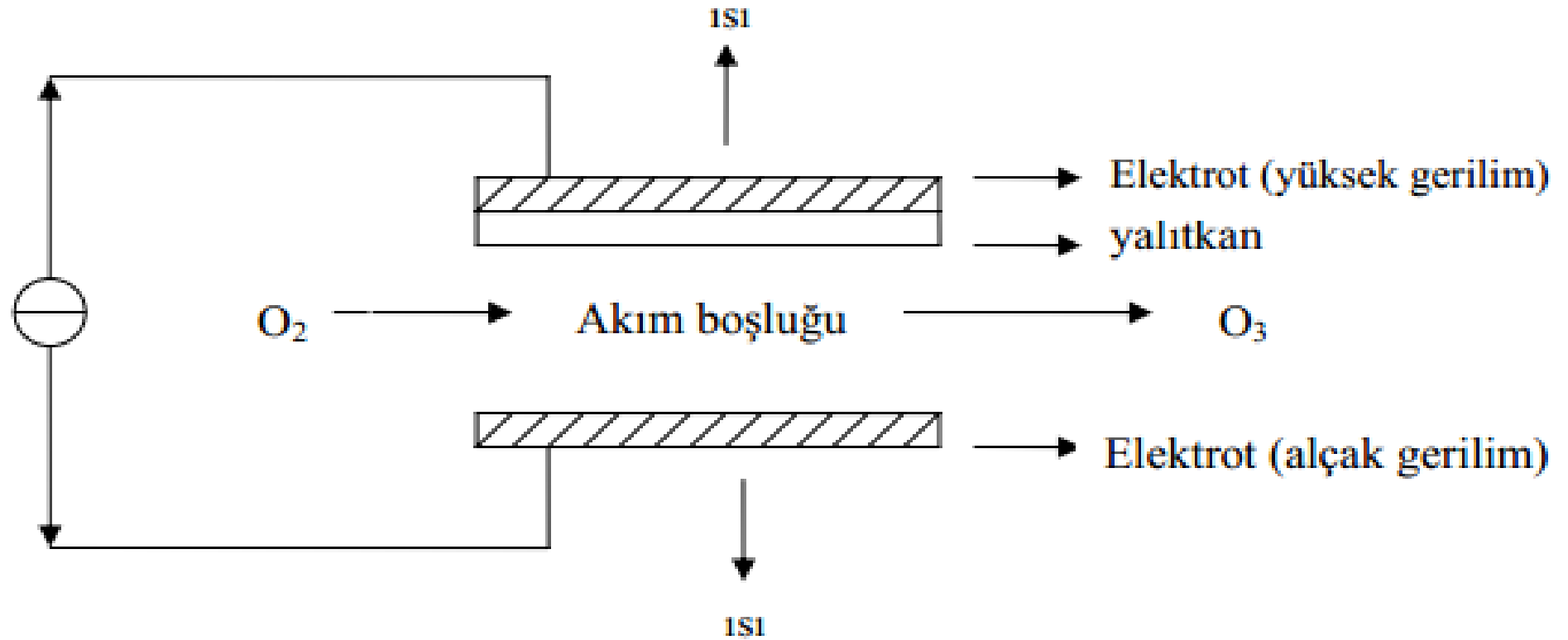
Ozon Nedir?

- * ***Ozon yani aktif oksijen O₃, bilinen en etkili mikrop öldürücü ve koku gidericidir.***
 - * Soluk mavi renkte
 - * Havadan ağır
 - * Aşırı reaktif ve dengesiz bir gazdır.
- * Ozon doğada güneşin ultraviyole ışınları veya yıldırımlar aracılığı ile oluşur.
- * Ozon havaya veya oksijene verilen yüksek voltajla yapay olarak da üretilmektedir.
- * 3 Hacim oksijenden 2 hacim ozon üretilir.
- * Ozonun oluşması endotermik bir reaksiyondur.
- * Ozon termodinamik olarak dengesizdir ve hemen yeniden oksijene dönüşür.
- * Bu yüzden depolanamaz ve nakledilemez.
- * Gerektiği yerde üretilmelidir.
- * Ozon yüksek reaktivitesi nedeni ile inorganik ve organik maddelerle pek çok reaksiyona girebilir.

Ozon Nedir?

- * Ozonla yapılan çalışmalar sonucunda ozonun güçlü bir oksidan olması sayesinde genel kullanım alanları;
- * Dezenfeksiyon
- * İnorganik bileşiklerin oksidasyonu
- * Organik bileşiklerin oksidasyonu (tat , koku , renk arıtımı)

Ozon Teknolojisi



Ozon Teknolojisi

Ozonun Özellikleri

- * Ozon suda kısmen çözünür ve diğer gazlarda olduğu gibi sıcaklık arttıkça çözünürlüğü azalır (Anon, 2005).
- * Yüksek enerjili bir molekül olan ozonun oda sıcaklığında yarılanma süresinin 20 dakika olduğu ve bu süre sonunda kalıntı bırakmadan oksijene parçalandığı belirtilmektedir (Xu, 1999).

Ozon Teknolojisi

Ozonun Özellikleri

- * Ozon -112°C 'de koyu mavi renkte bir sıvıya dönüşmektedir.
- * Sıvı ozon %20'den fazla oksijen-ozon karışımı olduğunda kolayca patlayabilmektedir.
- * Patlamalar elektrik kıvılcımları, ani sıcaklık ve basınç değişimleri sonucunda da gerçekleşebilmektedir.

Saf ozonun bazı özellikleri

Özellik	Ozon
Formülü	O ₃
Molekül ağırlığı	48
Renk	Açık mavi
Koku	Kendine has
Sudaki çözünürlük (0°C)	0.64
Yoğunluk (g/L)	2.144
Kaynama noktası	-111.9±0.3°C
Erime noktası	-192.5±0.4°C
Kritik sıcaklık	-12.1°C
Kritik basınç	54.6 atm

Ozonun suda çözünürlüğü üzerine sıcaklık ve konsantrasyonun etkisi

%O ₃ konsantrasyonu (gaz)	5°C	10°C	15°C	20°C
1.5	11.09	9.75	8.40	6.43
2	14.79	13.00	11.19	8.57
3	22.18	19.50	16.79	12.86

Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları

- * Et ve tavuk işleme tesislerinde
- * Balık üretim ve işleme tesislerinde
- * Hayvan çiftliklerinde (tavuk, balık)
- * Gıda depolarında
- * Meyve ve sebze işleme tesislerinde
- * Baharat işleme tesislerinde
- * Yemek fabrikalarında
- * Aflatoksin arıtımında
- * Gıdaların renginin düzeltilmesinde
- * Tarımsal ilaç kalıntılarının gideriminde



Gıda endüstrisinde kullanılan diğer dezenfektanlar

- * Gıda endüstrisinde en çok kullanılan dezenfektanlardan birisi **klor** olmasına rağmen mikroorganizmalar üzerine etkisinin sınırlı olduğu belirtilmektedir.
- * Klor izin verilen konsantrasyonlarında kullanıldığında mikroorganizma popülasyonunda sadece 1 veya 2 logaritmik azalma gerçekleşmektedir.
- * Ayrıca, çevre ve sağlık örgütleri trihalometanlar gibi zararlı klorin kalıntılarının atık su ile çevreye yayıldığına dikkat çekmektedir.
- * Ozonun oksitleme gücünün klorinden 1.5 kat daha güçlü olması ve etki spektrumunun daha geniş olması nedeni ile gıda endüstrisinde potansiyel bir dezenfektan olarak görülmektedir (Xu, 1999).
- * Gıda endüstrisinde içme suları, balık üretim ve işleme tesisleri, meyve ve sebze işleme tesisleri, kuru gıdalar, piliç karkaslarının dezenfeksiyonu ile işletme sularının yeniden kullanımı gibi çok farklı alanlarda ozon uygulamaları yapılmaktadır (Anon., 2005).



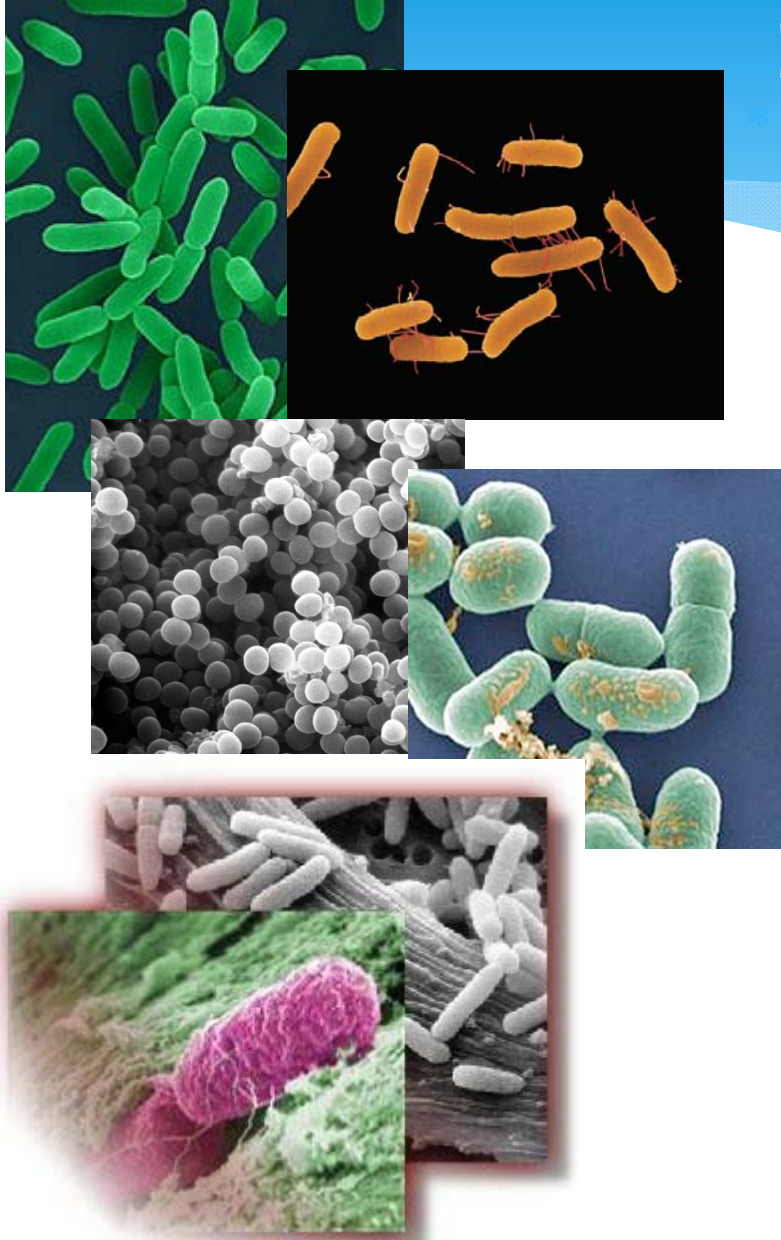
Ozon ve hipokloritin sudaki kullanımları ile ilgili bazı özelliklerinin karşılaştırması

Özellik	Hipoklorit	Ozon
Mikrobiyal etki	Bitki patojenleri ve saprofitler üzerine oldukça etkili. Bazı insan patojenleri ile sporlu protozoalar dirençli	Bitki patojenleri, saprofitler ve sporlu protozoalar üzerine oldukça etkili
Maliyet	Kimyasalın maliyeti düşük. Bazen pH ve konsantrasyon kontrol sistemlerine ihtiyaç duyar, bakım ve enerji maliyeti düşüktür, kullanılan suyun orta kalitede olması yeterlidir	Değişken: Kimyasal maliyeti yok, fakat jeneratörler pahalıdır. Yeniden kullanılan su sistemlerinde filtreye ihtiyaç duyar, bakım ve enerji maliyetleri düşüktür. Yüksek kalitede su kullanılmalıdır
pH'nin etkisi	pH arttıkça etkinliği azalır, özellikle pH'nın 8'in üzerinde olması durumunda pH'nın ayarlanması gerekir. Klorin gazı pH 4 ve altında serbest kalır	Etkisi pH'ya bağlı olarak pek değişmemekle birlikte, pH'nın 8'in üzerinde olması ile bozunması hızlanır
Yan ürünleri	Tri-halo bileşenleri	Aldehit, ketonlar, alkollerin miktarı çok az artar, organik bileşenlerden karboksilik asitler, brominden ise bromat oluşabilir
Sudaki ömrü	Temiz suda saatlerce bozunmadan kalırken, kirli sularda dakikalarla sınırlı olarak bozunmadan kalır	Bozunması temiz suda dakikalarca sürerken, kirli sularda saniyeler sürer
Kullanım oranları	Uygulamaya bağlı olarak 25-600 µg/mL düzeylerinde kullanımına izin verilmektedir	Kullanım miktarı sınırlandırılmamıştır, fakat Henry'nin limit kanununa göre sudaki maksimum ozon dozu 30 ppm (µg/mL 20°C' de)'dir.
Ilık suda kullanımı	Etkinliğini arttırırken, bazı buhar çıkışının arttırmaktadır	Ozon bozunumu hızlanır, ozon çözünürlüğü azalır.
Ürün kalitesine etkileri	200 µg/mL veya daha düşük konsantrasyonlarda kullanımında çok az risk söz konusu olmaktadır	Ozonun suya ve düşük konsantrasyonlarında uygulaması halinde turuncgillerde az da olsa bir zararlanma olmakla birlikte daha çok değerlendirmeye ihtiyaç duyulmaktadır
Korozif etkileri	Yüksektir, özellikle demir ve hafif çeliklere zarar verir	Daha yüksektir, özellikle kauçuk, bazı plastikler, sarı metaller, alüminyum, demir, çinko ve hafif çelikleri aşındırır

Mikroorganizma kontrolü

- * Ozon gıda endüstrisinde önemli bir patojen olan **E. coli**'ye karşı **özellikle** etkilidir.
- * Taze meyve ve sebzeler ilk olarak ozonlu su ile yıkanabilir.
- * Virüsler son derece küçük boyutları ile parazitik bir biyolojik yapı grubu oluşturmaktadır.
- * Virüslerin, bakteri filtreleri ile tutulmaları mümkün olmadığı gibi santrifüjle çökeltilmeleri de mümkün değildir.
- * Virüs hastalıklarının yayılmasında, suların virüslerle kirlenmesinin büyük payı olduğu kesindir.
- * Mevcut su arıtma yöntemleri, şebekeye taşınan suyun virüslerden arınmasında yeterli olmayabilir.
- * Virüsleri yok etmede ozonlamanın diğer yöntemlere kıyasla daha etkin olduğu belirtilmektedir.
- * Maya ve küflerin kontrolünde de etkili olduğu bilinmektedir.

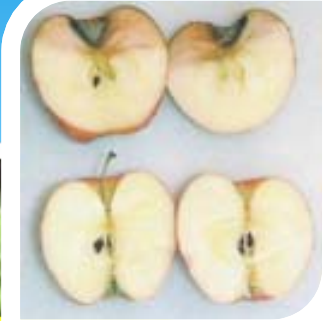
Ozonun Meyve ve Sebze Endüstrisinde Kullanımı



* Ozonlu su, mikrobiyel yükü azaltması nedeniyle meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzatmak amacı ile başarı ile kullanılmaktadır.

- * Ozonun *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 gibi patojenleri inhibe ettiği bildirilmektedir (Beltran ve ark., 2005).
- * 20 dakika süreyle 8 mg/L ozon uygulanan üzümlerde bakteri, küf ve maya sayısının azaldığı belirlenmiştir (Sarig ve ark., 1996).
- * *E. coli* O157: H7 ile aşılanan elmalar ozonlu su ile yıkandığında uygulama sıcaklığındaki artışa bağlı olarak ölüm hızının arttığı belirtilmektedir (Achen ve Yousef, 2001).

Ozonun Meyve ve Sebze Endüstrisinde Kullanımı



- * Yüksek dozda ozon kullanımının gıdaların renk ve lezzet gibi duyuşal özelliklerini olumsuz etkilediğı aktarılmaktadır.



- Ozon konsantrasyonundaki artışa bağılı olarak domateslerin renginin kırmızıdan sarıya döndüğü aktarılmaktadır.

Ozon ile yapılan alışmalar

- * Sığır etleri üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda %0.5 düzeyinde veya 2.3 ppm ozon gazı uygulamasının renk ve kokuyu değiştirmeden aerobik mezofil bakterilerin ve patojenlerin sayısını önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır.
- * Domuz etlerinde de ozonun bakteriyel aktiviteyi önemli ölçüde baskıladığı belirtilmektedir (Jaksch ve ark., 2004).



Ozonun Kuru Gıdalarda Kullanımı

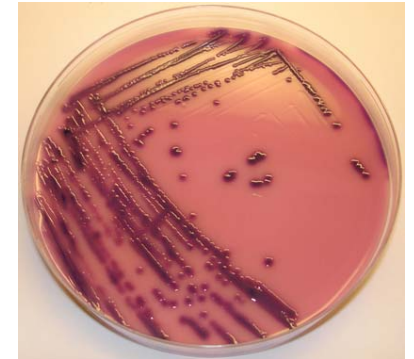
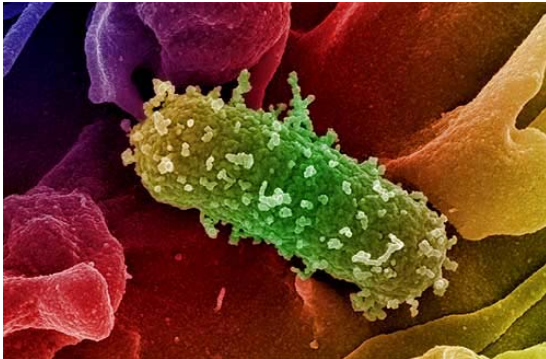
- * Akbas ve Ozdemir (2006), yaptıkları arařtırmada ise 200°C' de ve %70 nisbi nemde depolanan fıstıklara ařılanan *E. coli* ve *B. cereus*'un 1.0 ppm' den dűřűk ozon uygulamasıyla űnemli oranda azaldıđını belirlemişlerdir.



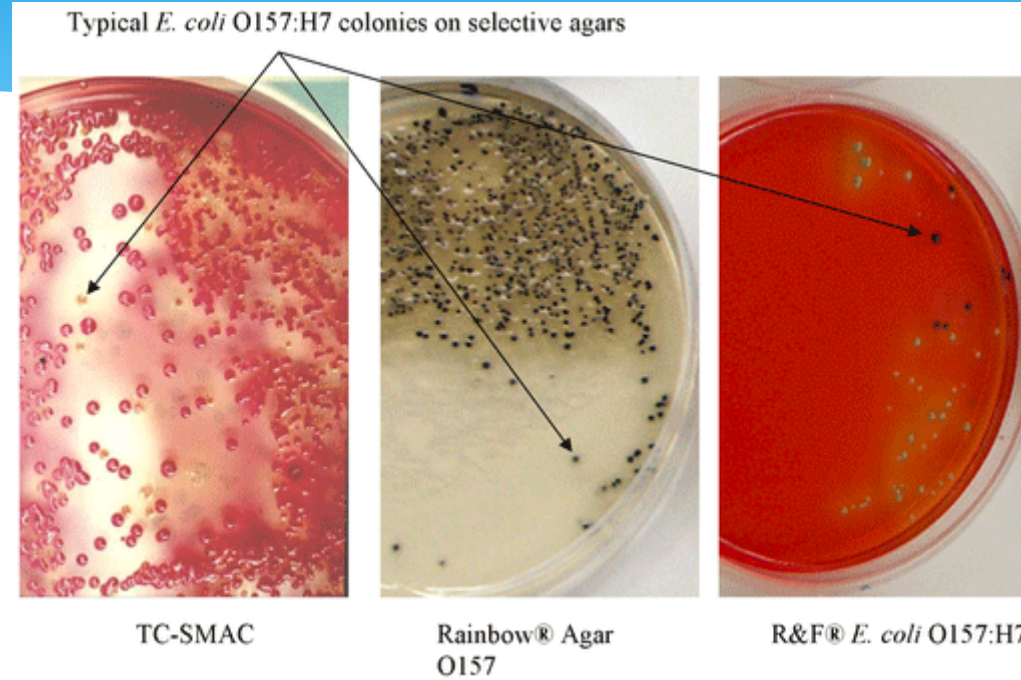
Gıdaların Ozon Uygulaması ile Patojenlerden Arındırılması

E.coli

- * ***Escherichia coli*** sağlıklı insan ve çoğu sıcak-kanlı hayvanların bağırsakları içinde yaşayan birçok grup bakteriden sadece biridir. *E. coli* normal bağırsak florasının (bakterilerinin) dengesini korumak ve bazı vitaminleri üretmek ve sentezlemek ile görevlidir.
- * Ancak, *E. coli*'nin yüzlerce çeşit ırkı veya suşları vardır. *E. coli* suşları farklı ayırt edici özelliklere sahiptir.



E. coli O157:H7



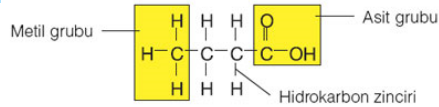
- * Bu suş insanlarda ciddi bir bağırsak enfeksiyonuna neden olur ve insanlarda hastalığa neden olan en yaygın türdür.
- * Güçlü bir toksin üreterek bağırsak duvarı zarına zarar verir ve kanlı ishale neden olması (**Enterohemorrhagic *E. coli*** enfeksiyonu) ile diğer *E. coli* bakterilerinde ayırt edilebilirler.

Ozonun *E. coli* O157:H7'ye Karşı Etki Mekanizması

Nükleik materyal
Enzimler
Hücre zarı
Sporlar
Virüs kapsülleri

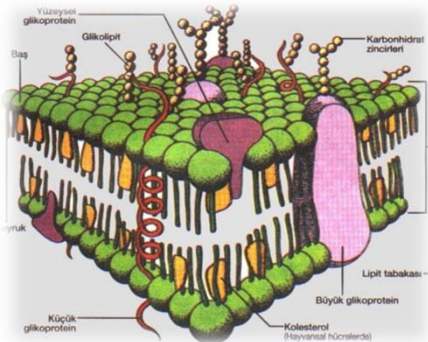
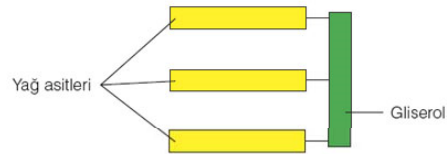
OKSİDASYON

Hücre zarındaki doymamış yağ asitleri



H = hidrojen C = karbon
O = oksijen

Bir yağ asidi yapısının basitleştirilmiş şeması.

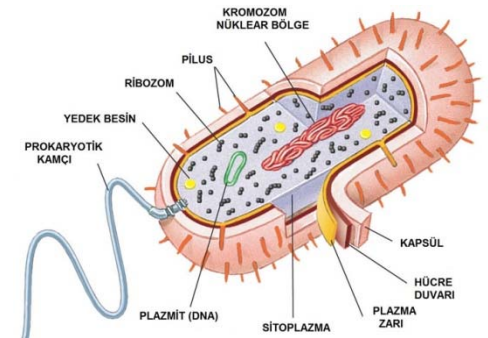
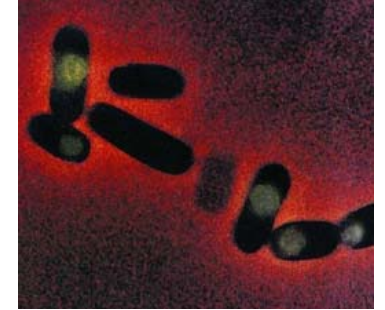


YAPININ BOZULMASI

HÜCRE GEÇİRGENLİĞİNİN
BOZULMASI

Ozonun Etkinlik Derecesi

- * Ozonun vejetatif mikroorganizmalar üzerine sporlardan daha etkili olduğu belirtilmektedir (Khadre ve ark., 2001).
- * Broadwater ve ark. (1973),
 - * *Bacillus cereus* için letal ozon dozunu (LD) 0.12 mg/L;
 - * *Escherichia coli* ve *B. megaterium* için 0.19 mg/L olarak belirlerken,
 - * *B. cereus* ve *B. megaterium* sporlarının inhibisyonu için 2.29 mg/L ozon olarak saptamışlardır.
- * Kim ve Yousef (2000), bir grup bakterinin ozon direncini inceledikleri çalışmada
 - * en çok direnç gösteren bakterinin *E. coli* O157:H7 olduğunu,
 - * bunu sırasıyla *Pseudomonas fluorescens*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Listeria monocytogenes*'in izlediğini belirlemişlerdir.




Etkinlik derecesini belirleyen faktörler

- * Mikroorganizma suşu
- * Kültür yaşı
- * Mikroorganizma konsantrasyonu
- * Ozonla reaksiyona girebilecek madde varlığı
- * Ozonun uygulanma şekli
- * Ozon konsantrasyonu
- * Sıcaklık
- * pH
- * Farklı yöntemlerle kombinasyon



Ozon ile dezenfeksiyonun avantajları

- * Ozonun CO₂, N₂ ve O₂ gibi gazların kullanımından daha güvenli olduğu belirtilmektedir. Bunun nedenleri şöyle sıralanabilir:
 - * Düşük konsantrasyon
 - * Temas süresi kısa
 - * Yüksek konsantrasyonlarda serbest kalmaz
 - * Yarılanma süresi kısa
 - * Keskin koku
 - * Son ürün zararsız
 - * Kanserojen, mutajen değil
 - * Yağ dokusunda birikmez
 - * Uzun süren kronik etkileri yok

- 
- * Ozon gerektiği yerde üretildiğinden tehlikeli kimyasalları depolama, kullanım ve taşıma gibi sorunları yoktur.
 - * Verimlilik açısından, ozon en güçlü ve en verimli mikrobiyolojik kontrol spektrumuna sahiptir.

Hassas meyvelerde ozonlanmış su ile dezenfeksiyon

- * Ahududu ve çilekte yapılan bir çalışmada (Bialka ve Demirci 2007) patojen inokule edilen meyveler 1.7-8.9 mg/L arası konsantrasyonlarda ozonlanmış su ile muamele edilmiştir.



- * *Escherichia coli* O157:H7 yükünde 2.9-3.3 log birimlik azalma tespit edilmiştir.



Elmada yapılan bir çalışma



- * Briks değeri sırasıyla 16, 36 ve 72 olan elma sularında *Escherichia coli* O157:H7 inaktivasyonunda ozon gazının etkisi incelenmiştir.



- * Briks değerine göre antimikrobiyel etkinin derecesi değişse de istatistiksel olarak da anlamlı bir inaktivasyonun olduğu tesit edilmiştir.

Elma cider'ı ve Portakal suyunda yapılan bir çalışma

5.4 log kob/mL



E. coli O157:H7



10^7 oranında inokulasyon



4.8 log kob/mL



Hassas meyvelerde kombine dezenfeksiyon yöntemleri

- Yabanmersininin besinsel değeri nedeniyle, tüketici tarafından tercihi her geçen gün artmaktadır.
- * Yabanmersini, hiç bir işlem görmeden çiğ olarak tüketilen bir meyve olduğu için mikrobiyel yükü ve dolayısıyla da riski yüksektir.
- * *Escherichia coli* O157:H7 ile kontamine edilen yabanmersini elektrolize su ile muamele edilerek, mikrobiyel yükteki değişim incelenmiştir.
 - * 0.13-0.14 log kob/g oranında azalma tespit edilmiştir.
- * **4000 mg/L oranında ozonlanmış su ile muamele edilen yabanmersininde ise *Escherichia coli* O157:H7 yükünün, 0.66-0.72 log kob/g oranında azaldığı saptanmıştır.**
- * En yoğun azalma (4.05 log kob/g) ise UV ışın ile muamele sonucunda görülmüştür.
- * **Bu üç yöntemin kombinasyonu denendiğinde ise 1-2 logaritmalık bir azalma tespit edilmiştir.**



? Kullanılabilirlik ?

Dezavantaj

Avantaj

Renk ?

Maliyet ?

Toksik değil

Güçlü
antimikrobiyel etki

Düşük sıcaklıkta
çözünürlük





TEŞEKKÜRLER