

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEYTİNDE MİKRODALGA İLE *PENICILLIUM CITRINUM*
İNHİBİSYONUNA ETKİ EDEN FAKTÖRLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çevre Müh. Gözde DALKILIÇ

Anabilim Dalı: GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

HAZİRAN 2003

**ZEYTİNDE MİKRODALGA İLE *PENICILLIUM CITRINUM*
İNHİBİSYONUNA ETKİ EDEN FAKTÖRLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Çevre Müh. Gözde DALKILIÇ
506991122

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05 Mayıs 2003
Tezin Savunulduğu Tarih : 28 Mayıs 2003

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Dilek HEPERKAN (İ.T.Ü.)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Özgül EVRANUZ (İ.T.Ü.)
Prof. Dr. Muammer UĞUR (İ.Ü.)

Haziran 2003

ÖNSÖZ

Çalışmamın tüm aşamalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, fikirleriyle beni yönlendiren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Dilek HEPERKAN'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam sırasında sıcaklık ölçümleri için sağladığı katkılar ve gösterdiği ilgi nedeniyle Sayın Prof. Dr. Hasan HEPERKAN'a ve deneysel çalışmalarımın elde ettiğim sonuçların değerlendirilmesi aşamasında değerli fikirleri ve eleştirileri ile yol gösteren Sayın Prof. Dr. Onur DEVRES'e ve tüm diğer hocalarıma teşekkür ederim.

Desteklerini her zaman hissettiğim Araştırma Görevlisi arkadaşlarım Funda K. GÜLER, Esra ÇAPANOĞLU, Neşe ŞAHİN, Aybars GÜVEN, Ebru F. DURMUŞ, Aslı CAN ve Dilara NİLÜFER ile Gıda Yük.Müh. Nalan DEMİR ve Tek. Levent DİNÇER'e teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Değerli arkadaşlarım Serhat KAYA ve Canan ULUTAŞ'a zorlu tez dönemimde bana gösterdikleri destek ve anlayış için çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmamı, tüm hayatım boyunca bana destek olan ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili annem İnci, babam Ceyhan ve ablam Hande'ye ithaf ediyorum.

Haziran 2003

Gözde DALKILIÇ

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Zeytinin Genel Özellikleri	3
2.1.1. Zeytin Çeşitleri	4
2.1.2. Zeytinin Sınıflandırılması	4
2.2. Zeytinin Ekonomik Önemi	6
2.3. Sofralık Siyah Zeytin Üretim Teknolojileri	8
2.3.1. Salmuralı Fermantasyon Yöntemi	8
2.3.2. Konserve Yöntemi (Oksidasyonla Karartma veya Kostikleme)	11
2.4. Zeytinlerde Görülen Bozulmalar	14
2.4.1. Gaz Cebi Oluşumu	14
2.4.2. Kötü Koku Oluşumu	15
2.4.3. Yumuşama	15
2.4.4. Maya Benekleri	16
2.4.5. Mavileşme	16
2.4.6. Ambalaj Hataları Sonucunda Oluşan Bozulmalar	16
2.4.7. Biyojenik Aminler	17
2.4.8. Küf Florası ve Mikotoksin Varlığı	17
2.5. Zeytinin Kimyasal Koruyucularla Muhafazası	20
2.6. Mikotoksin Oluşumu ve Gıdalarda Bulunuşu	20
2.6.1. Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	21
2.6.2. <i>Penicillium</i> Türlerinin Genel Özellikleri	22
2.6.3. <i>Penicillium citrinum</i> 'un özellikleri	23
2.6.4. Sitrinin	26
2.6.4.1. Sitrinin Üreten Küfler	26
2.6.4.2. Sitrinin Oluşumu İçin Gerekli Optimum Koşullar	26
2.6.4.3. Sitrininin Kimyasal Özellikleri	26
2.6.4.4. Sitrininin Toksisitesi	28
2.6.4.5. Sitrininin Gıdalarda Bulunuşu	29
2.6.5. Mikotoksinler İle İlgili Yasal Düzenlemeler	31
2.6.6. Mikotoksinlerin Parçalanması İçin Kullanılan Yöntemler	31
2.6.6.1. Sitrininin Detoksifikasyonu	32
2.7. Gıdalarda mikrodalga uygulamaları	37
2.7.1. Mikrodalga ısıtmanın temel ilkeleri	37

2.7.2.	Mikrodalga Isıtmanın Avantaj ve Dezavantajları	39
2.7.3.	Mikrodalga ile Isıtmayı Etkileyen Faktörler	40
2.7.4.	Mikrodalga Fırınlrın Sağlık Üzerine Etkileri	43
2.7.5.	Mikrodalgalrın Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması	44
2.7.6.	Gıdalarda Mikrodalga Uygulamaları ve Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri	47
3.	MATERYAL VE METOT	50
3.1.	Materyal	50
3.2.	Metot	50
3.2.1.	Zeytin Örneklerinde Duyusal Analizler	51
3.2.2.	Zeytinde Yapılan Kimyasal Analizler	51
3.2.3.	Cam Malzemelerin Hazırlanması	52
3.2.4.	Zeytin Örneklerinin Hazırlanması	53
3.2.5.	<i>P. citrinum</i> Spor Süspansiyonunun Hazırlanması	53
3.2.6.	Zeytinlerin Aşılması	53
3.2.7.	Zeytinlerin Mikrodalga İle Muamelesi	53
3.2.8.	<i>P. citrinum</i> Sporlarının Mikrodalga İle Muamelesi	55
3.2.9.	Sıcaklık Ölçümleri	55
3.2.10.	pH ve İletkenlik Ölçümleri	56
3.2.11.	Zeytinde Örneklerinde Küf Sayımları	56
3.2.12.	İstatistiksel Analizler	56
3.2.13.	Zeytinde Mikotoksin Analizleri	57
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	59
4.1.	Zeytin Numunesinin Bileşimi	59
4.2.	Mikrodalga İşlemi Görmüş Zeytin Örneklerinde Duyusal Analizler	59
4.3.	Mikrodalga ile Muamele Süresi ve Su Miktarının Zeytinde <i>P. citrinum</i> İnhibisyonuna Etkisi	60
4.4.	Farklı pH Değerlerinin Mikrodalga İşleminde <i>P. citrinum</i> İnhibisyonuna Etkisi	63
4.4.1.	Farklı Organik Asitlerin Mikrodalga İnhibisyonuna Etkisi	63
4.4.2.	Sıcaklık Değerleri	65
4.4.3.	Küf Sayımları	68
4.5.	Mikrodalga İşleminde Yağ-Su Karışımı Kullanımının İnhibisyona Etkisi	73
4.6.	Örneklerin Mikrodalga İçindeki Konumunun İnhibisyona Etkisi	75
4.7.	Küf Konsantrasyonundaki Farklılığın Mikrodalga ile İnhibisyona Etkisi	77
4.8.	Çekirdekli Zeytin Örneklerinde Mikrodalga İle <i>P. citrinum</i> İnhibisyonu	79
4.9.	Küf Sporlarının Zeytinsiz Ortamda Mikrodalga İle İnhibisyonu	80
4.10.	Mikrodalga İşleminin Sitrinine Etkisi	81
5.	SONUÇ	82
	KAYNAKLAR	86
	EKLER	94
	ÖZGEÇMİŞ	97

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Ham Zeytinin Bileşimi (Fernandez ve diğ., 1997).....	4
Tablo 2.2. Dünyada ve Türkiye’de Zeytin İstatistikleri (Gökçe, 2003)	6
Tablo 2.3. Zeytin Ağacı Sayısı ve Zeytin Üretimi (Anon, 2001).....	7
Tablo 2.4. Türkiye’nin ham ve işlenmiş zeytin ihracat miktarları ve ekonomik değeri (Anon, 2003a).....	8
Tablo 2.5. Satışa sunulan zeytinlerde <i>Penicillium</i> türlerine rastlanma sıklığı (Şahin ve diğ., 1999).....	18
Tablo 2.6. <i>Penicillium</i> cinslerinin genel biyoloji ve ekolojisi (Pitt, 2002).....	23
Tablo 2.7. Endüstriyel, tıbbi ve bilimsel kullanım için izin verilen mikrodalga frekans ve dalgaboyları (Datta ve Davidson, 2001)	37
Tablo 2.8. Mikrodalga ısıtmanın mikroorganizma ve toksinlere etkisi (Stolle ve Schalch, 2000)	49
Tablo 3.1. Arçelik ARMD 560 ev tipi mikrodalga fırının teknik özellikleri	54
Tablo 3.2. Zeytinlere uygulanan mikrodalga işlemleri	55
Tablo 3.3. Zeytinde sitrininin parçalanması için uygulanan mikrodalga işlemleri ...	57
Tablo 4.1. Zeytin numunesinin bileşimi.....	59
Tablo 4.2. Farklı süre ve su miktarları kullanılarak mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örneklerinin duyuşal panel sonuçları	60
Tablo 4.3. Süre ve su miktarının zeytinde mikrodalga ile küf inhibisyonuna etkisi .	61
Tablo 4.4. pH ayarlamada kullanılan farklı organik asitlerin 75 ml su ilave edilerek 240 saniye süreli mikrodalga işleminde <i>P. citrinum</i> inhibisyonuna etkisi	64
Tablo 4.5. Farklı pH değeri ve su miktarına sahip örneklerin mikrodalga işlemi sırasında ölçülen sıcaklık değerleri.....	65
Tablo 4.6. 75 ml su ilave edilen zeytin örneklerinin 3 farklı pH değerindeki iletkenliği.....	67
Tablo 4.7. 240 saniyelik mikrodalga işleminde termokapıl ile belirlenen sıcaklık değişimi	68
Tablo 4.8. 20 ml su ilavesi ve farklı pH koşullarında yapılan 240 saniyelik mikrodalga işleminin <i>P. citrinum</i> sayısında meydana getirdiği azalma....	69
Tablo 4.9. 75 ml su ilavesi ve farklı pH koşullarında yapılan 240 saniyelik mikrodalga işleminin <i>P. citrinum</i> sayısında meydana getirdiği azalma....	69
Tablo 4.10. 150 ml su ilavesi ve farklı pH koşullarında yapılan 240 saniyelik mikrodalga işleminin <i>P. citrinum</i> sayısında meydana getirdiği azalma....	69
Tablo 4.11. Yağ ve su karışımı ilavesinin mikrodalga ile inhibisyona etkisi.....	73
Tablo 4.12. Mikrodalga içinde farklı konumda uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin inhibisyona etkisi	75
Tablo 4.13. 240 saniyelik 75 ml su ilavesi ve örneklerin mikrodalga içerisinde farklı yerlerde tutulması ile uygulanan mikrodalga işlemi sırasında ölçülen sıcaklık değerleri.....	77

Tablo 4.14. Farklı konsantrasyonlarda aşıl原因an zeytin örneklerine uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin sonuçları	78
Tablo 4.15. Çekirdekli zeytin örneklerine farklı sürelerde uygulanan mikrodalga işleminin sonuçları.....	79
Tablo A.1. 20 ml su ilave edilerek mikrodalga işlemin uygulanmış zeytin örneklerinin duysal panel sonuçları.....	94
Tablo A.2. 75 ml su ilave edilerek mikrodalga işlemin uygulanmış zeytin örneklerinin duysal panel sonuçları.....	95
Tablo A.3. 150 ml su ilave edilerek mikrodalga işlemin uygulanmış zeytin örneklerinin duysal panel sonuçları.....	96

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Salamura yöntemi ile siyah zeytin üretim akış şeması (Aktan ve Kalkan, 2000).....	9
Şekil 2.2. Kaliforniya yöntemi ile siyah zeytin üretim akış şeması (Borcaklı ve diğ., 1994; Aktan ve Kalkan, 2000).....	12
Şekil 2.3. <i>P. citrinum</i> 'un MEA ve CYA'da gelişen kolonilerin görüntüleri (Anon., 2003d).....	24
Şekil 2.4. <i>P. citrinum</i> 'un mikroskop altındaki görünüşü (Samson ve diğ, 1996).....	25
Şekil 2.5. <i>P. citrinum</i> 'un yapısı (Samson ve diğ, 1996)	25
Şekil 2.6. Sitrinin kimyasal yapısı (Frank, 1992)	27
Şekil 3.1. Duyusal panelde kullanılan değerlendirme formu.....	51
Şekil 3.2. Sıcaklık ölçüm düzeneği.....	56
Şekil 4.1. 180, 240 ve 300 saniye süreli, 75 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma.....	62
Şekil 4.2. 180, 240 ve 300 saniye süreli, 150 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma.....	63
Şekil 4.3. pH ayarlamada kullanılan farklı organik asitlerin 240 saniye süreli mikrodalga işleminin <i>P. citrinum</i> inhibisyonuna etkisi.....	64
Şekil 4.4. 20 ml su ilavesi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi sırasındaki sıcaklık değişimi	66
Şekil 4.5. 75 ml su ilavesi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi sırasındaki sıcaklık değişimi	66
Şekil 4.6. 150 ml su ilavesi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi sırasındaki sıcaklık değişimi	67
Şekil 4.7. 240 saniyelik mikrodalga işleminde termokapıl ile belirlenen sıcaklık değişimi	68
Şekil 4.8. 240 saniyelik 20 ml su ilavesi ve farklı pH değerlerinde yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma.....	70
Şekil 4.9. 240 saniyelik 75 ml su ilavesi ve farklı pH değerlerinde yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma.....	70
Şekil 4.10. 240 saniyelik 150 ml su ilavesi ve farklı pH değerlerinde yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma.....	71
Şekil 4.11. Yağ ve su karışımı ilavesinin mikrodalga ile inhibisyona etkisi	74
Şekil 4.12. Mikrodalga içinde farklı konumda uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin 20, 75 ve 150 ml su ilavelerinde inhibisyona etkisi	76
Şekil 4.13. 240 saniyelik 75 ml su ilavesi ve örneklerin mikrodalga içerisinde farklı yerlerde tutulması ile uygulanan mikrodalga işlemi sırasındaki sıcaklık değişimi	76

Şekil 4.14. Farklı konsantrasyonlarda aşılanan zeytin örneklerine uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin sonuçları	78
Şekil 4.15. Çekirdekli zeytin örneklerine farklı sürelerde uygulanan mikrodalga işlemi sonuçları.....	80

ZEYTİNDE MİKRODALGA İLE *PENICILLIUM CITRINUM* İNHİBİSYONUNA ETKİ EDEN FAKTÖRLER

ÖZET

Zeytin tüketiminde dünyada birinci sırada olan Türkiye, dünyada zeytin üretimindeki payı %4'dür. Uzun süreli fermantasyon işlemi ile üretilen sofralık siyah zeytinlerde, üretim aşamasında yüzeyde küf gelişimi gözlenmektedir. Zeytinlerin küf florasını ağırlıklı olarak, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsine ait küfler oluşturmaktadır.

Küfler mikotoksin oluşturma risklerinin yanı sıra, içerdikleri enzimler nedeniyle zeytinlerin dokularının yumuşayıp parçalanmasına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Zeytinler tüketime sunulmadan önce mikrobiyal gelişmeyi engellemek amacıyla, paketlenip pastörizasyon işlemine tabi tutulur veya kimyasal koruyucu ilave edilerek paketlenir.

Zeytinde küf gelişmesinin önlenmesi amacıyla yapılan az sayıda çalışma vardır. Küf inhibisyonu için uygulanan yöntemlerin karşılaştırılmasında küf sayısındaki azalma belirlenerek yöntemin etkinliği değerlendirilmektedir. Uygulanan işlem sırasında tamamen inhibe olmayan fakat mevcut yöntemlerle o anda sayısı belirlenemeyen, hasar görmüş mikroorganizmalar bulunmaktadır. Uygulanan inhibisyon işlemi ticari olarak gerçekleştirildiğinde mikroorganizma sayısındaki azalma standart değerleri sağlasa bile tüketime sunulduğunda hasarlı mikroorganizmalar gelişerek, insan sağlığını ve ürün kalitesini bozabilir. Yapılan tez çalışmasında mikrodalga işleminin küf inhibisyonunu sağlayabileceği düşüncesiyle, zeytinlere farklı proses koşullarında ve farklı parametreler kullanılarak mikrodalga işlemi uygulanmış, küf sayısında meydana gelen azalma ve işlem sonrasında meydana gelen küf sayısının değişimi incelenmiştir. Çalışmada ayrıca *Penicillium citrinum* tarafından üretilen sekonder bir metabolit olan ve zeytinde mevcudiyeti belirlenen sitrinin toksini miktarının, mikrodalga işleminden ne ölçüde etkilendiği araştırılmıştır.

Çalışmada materyal olarak kullanılan Memecik tipi çekirdeksiz zeytin, 2002 yılında piyasadan temin edilmiştir. 45 g zeytine *P. citrinum* aşıl原因arak aşağıda verilen parametrelerin küf inhibisyonuna etkisi belirlenmiştir: işlem süresi (180, 240 ve 300s), su miktarı (20, 75 ve 150 ml), pH değeri (4.6, 5.5 ve 6.0), pH ayarlamada kullanılan organik asit türü (asetik, laktik ve sitrik asit), örneklerin mikrodalga içindeki konumu, yağ ve su karışımı ilavesi, küf konsantrasyonu, örnek olarak çekirdekli zeytin kullanımı.

Kullanılacak optimum süre ve su miktarını belirlemek amacıyla, üç farklı su miktarı (20, 75 ve 150 ml) ve sürede (180, 240 ve 300s) zeytinler mikrodalga ile muamele edilerek örneklerin duysal özellikleri değerlendirilmiştir. Duysal değerlendirme sonucunda 300 saniyelik işlemin lezzet ve görünüş açısından diğer işlemlere göre farklı ve duysal özelliklerin kabul edilebilirliğinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, 180 ve 240 saniyelik mikrodalga uygulamasının kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Duysal özellikleri göz ardı ettiğimizde, 300 saniyelik mikrodalga işleminin meydana getirdiği toplam inhibisyon, tüm su miktarlarında 180 ve 240 s'lik işleminden daha fazladır. 180, 240 ve 300 saniyelik mikrodalga işleminde elde edilen azalma ve toplam azalma değerleri Tablo 1.'de verilmiştir.

Tablo 1. Süre ve su miktarının zeytinde mikrodalga ile küf inhibisyonuna etkisi

Süre (s)	Su miktarı (ml)	Logaritmik azalma	Toplam Logaritmik azalma
180	75	5.74	0.52
180	150	5.26	0.84
240	75	5.77	1.08
240	150	5.74	1.92
300	75	6.20	1.79
300	150	5.78	2.49

Tablo 1.'de görüldüğü gibi tüm süreler için, logaritmik azalma 75 ml su ilavesinde, toplam logaritmik azalma ise 150 ml su ilave edildiği koşullarda en fazladır.

Farklı ortam koşullarının mikrodalga'nın inhibisyon miktarı üzerindeki etkisi göz önünde bulundurularak, farklı pH'lardaki inhibisyon oranları araştırılmıştır. pH ayarlamada kullanılacak asit çözeltisini belirlemek amacıyla %5'lik laktik, sitrik ve asetik asit çözeltileri kullanılarak zeytin örneklerinin pH'ları 4.6 ya ayarlanmış ve 240 saniye mikrodalga ile muamele edilmiştir. Asetik asit çözeltisi ilave edilen örneklerle mikrodalga işlemi uygulandığında, 2.62 log'luk toplam azalma, diğer asit çözeltilerinde ise ortalama 1.87 log'luk toplam azalma gerçekleşmiştir. Bu sebeple asetik asit çözeltisi ile pH'ların ayarlanmasına karar verilmiştir.

20 ml su ilavesinde farklı pH değerleri için logaritmik azalma 5.77 ile 5.74 arasında, toplam logaritmik azalma ise 1.08 ile 1.70 arasında değişmektedir. 75 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde ise logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma 6.66 ile 5.77 ve 1.08 ile 2.62 arasında değişmektedir. 150 ml su ilavesinde ise logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma 6.57 ile 5.74 ve 1.06 ve 2.13 arasında değişmektedir.

Logaritmik azalma 20 ml su ilave edildiğinde 5.22, 75 ml'de 5.77 ve 150 ml'de 5.74 ile en az pH 6'da gerçekleşmiştir. 20 ve 75 ml su ilave edilen örnekte en düşük toplam inhibisyon pH 6'da, 150 ml su ilave edilen örnekte ise pH 5.5'de meydana

gelmiştir. 20 ml su ilave edilip 240 saniye süre ile mikrodalga işlemine tabi tutulan örneklerden pH'sı 4.6 ve 5.5 olanlar arasında toplam inhibisyon açısından fark olmamıştır. 75 ve 150 ml su ilaveli örneklerde ise pH değeri düşükçe inhibisyon artmıştır.

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen azalma ve toplam azalma sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulandığında, $\alpha=0.05$ önem düzeyinde, farklı su miktarlarının ve farklı pH değerlerinin *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

İki farklı su-yağ karışımının ve yalnızca suyun ilave edilmesinin, mikrodalga ile inhibisyon üzerindeki etkisi incelendiğinde, en fazla toplam inhibisyonun zeytinyağı-su karışımı ile sağlandığı tespit edilmiştir.

Örneklerin mikrodalga içindeki konumunun etkisi incelendiğinde tüm su miktarları için, toplam logaritmik azalmanın mikrodalga içerisinde yükseltelen örneklerde ortalama olarak 0.5 log daha fazla gerçekleştiği belirlenmiştir.

Daha düşük miktarlarda mikroorganizma bulunan zeytin örneklerinde mikrodalga'nın sağladığı inhibisyonu belirlemek amacıyla zeytin örnekleri farklı konsantrasyonda *P. citrinum* spor süspansiyonu ile aşılanarak 75 ml su ilavesi ile 240 saniye mikrodalga ile muamele edilmiş, 10^5 ve 10^8 cfu/g aşılama için logaritmik azalma değerleri arasındaki fark 3 log, toplam logaritmik azalma değerleri arasındaki fark 1.5 log olarak belirlenmiştir. Küflerin onarımının yüksek konsantrasyonlarda daha az gerçekleştiği görülmüştür.

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulandığında $\alpha=0.05$ önem düzeyinde, *P. citrinum*'un mikrodalga ile inhibisyonunda zeytin çeşidinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Mikrodalga işleminin, zeytinde *P. citrinum* tarafından oluşturulan sitrinin miktarına etkisini belirlenmek amacıyla farklı koşullarda mikrodalga işlemi uygulanmış ve sitrinin miktarına etki etmediği belirlenmiştir.

FACTORS AFFECTING THE INHIBITION OF *PENICILLIUM CITRINUM* WITH MICROWAVE IN OLIVES

SUMMARY

Turkey is number first in total olive consumption and its production rate is 4% in the whole world. Black olives are produced with long fermentation periods, mould development is observed during production. *Penicillium* and *Aspergillus* are two commonly occurring genera of moulds on black olives.

Besides their risk of mycotoxin production, moulds cause softening and deformation of the texture of the olives and economic losses by the way. Olives are packed and pasteurized or chemical preservatives are added and packed before offering to the market.

There are few number of studies on the prevention of mould growth on olives in the literature. Decrease in the number of moulds is determined for the comparison of the effectiveness of the methods used for mould inhibition. There might be injured microorganisms that are not inhibited completely and can not be detected with the present methods. When inhibition is performed commercially, even though the reduction in the number of microorganisms can be repaired and affect human health and product quality.

In this study, since it can be used for mould inhibition, microwave treatment was applied to olives under different process conditions and parameters, and reduction in the number of moulds was observed.

Moreover, the effect of microwave treatment on citrinin, which is a secondary metabolite that is produced by *Penicillium citrinum*, was investigated in the study.

Memecik type olive without seed, which was chosen as a raw material in our study, was obtained from market in 2002. 45 gr olives were inoculated with *Penicillium citrinum* and the effect of following parameters on mould inhibition was observed: treatment time (180, 240 and 300 s); water content (20, 75 and 150 ml); pH value (4.6, 5.5 and 6.0); organic acid type used to adjust the pH (acetic, lactic and citric acid); position of the samples in the microwave; olive and water mixtures; spore concentration and usage of olive with seed as material.

To determine the optimum treatment time and water content, olives were treated with microwave for three different water contents (20, 75 and 150 ml) and treatment times (180, 240 and 300s), and sensory properties of the samples were investigated.

Results obtained from sensory evaluation of the samples that were treated for 300 s were found to have lower acceptability when compared with other treatments. Regarding these results, it was supposed that microwave treatment for 180 and 240 s can be used.

Ommiting the results of sensory evaluation, total inhibition with 300 s was higher than other time applications for all water content ratios. Reduction and total reduciton values are given in Table 1.

Table 1. Effect of time and water content on the inhibition of mould wth microwave

Time (s)	Water content (ml)	Logarithmic reduction	Total Logarithmic reduction
180	75	5.74	0.52
180	150	5.26	0.84
240	75	5.77	1.08
240	150	5.74	1.92
300	75	6.20	1.79
300	150	5.78	2.49

As seen in Table 1, for all treatment times, highest values of logarithmic reduction were obtained with the samples in which 75 ml water was added and it was found to be 150 ml for the total logarithmic reduction.

Mould inhibiton with microwave is thought to be effected with many different processing conditions. That is why, effect of different pH values on inhibition rates was investigated in this study. 5% lactic acid, citric acid and acetic acid solutions were used to adjust the pH of the samples to 4.6 and those samples were treated for 240 seconds. When microwave treatment was applied to samples in which acetic acid was added, total reduction was found to be 2.62 log, while addition of other acid solutions provided an average total reduction of 1.87 log. That is why, pH adjustment was decided to be performed with acetic acid solution.

For water addition of 20 ml, logarithmic reduction and total logarithmic reduction was in between 5.77-5.74 and 1.08-1.70 respectively for different pH values. For water addition of 75 ml logarithmic reduction and total logarithmic reduction was in between 6.66-5.77 and 1.08-2.62 respectively for different pH values. For water addition of 150 ml logarithmic reduction and total logarithmic reduction was in between 6.57-5.74 and 1.06-2.13 respectively for different pH values.

Logarithmic reduction, which was found to be minimum at pH 6.0, was determined as 5.22, 5.77, 5.74 for addition of 20 ml, 75 ml, 150 ml water respectively. For 20 and 75 ml water added samples, minimum total reduction values were observed at pH 6.0 but for 150 ml water added samples it was found to be at pH 5.5. There was no difference found in the total inhibition values between the samples with pH 4.6

and 5.5 that were treated for 240 seconds with an added water content of 20 ml. However, as the pH value decreased, inhibition was increased in 75 and 150 ml water added samples.

When statistical analysis (ANOVA) was applied on the results of reduction and total reduction values, it was found that different water contents and pH values effect the inhibition of *P. citrinum* significantly ($\alpha=0.05$).

When the effect of addition of two different water-oil mixtures and only water was compared, it was proved that maximum total inhibition was obtained with olive oil-water mixture. When the effect of the position of the samples in the microwave was investigated, the results showed that total logarithmic reduction was 0.5 log more in average with compared to the samples with higher position in the microwave.

To observe the effect of microwave for olive samples with lower rates of microorganisms, samples were inoculated with *P. citrinum* spores, 75 ml water was added and treated for 240 seconds with the microwave. It was observed that, the difference between the logarithmic reduction values with an inoculation of 10^5 and 10^8 cfu/g was 3 log and the difference was found to be 1.5 log for the total logarithmic reduction. It was determined that repair of moulds was lower at high concentrations.

When statistical analysis (ANOVA) ($\alpha=0.05$) was applied on the microbiological data, effect of the type of the olive on the inhibition of *P. citrinum* with microwave, was found to have no significance statistically.

Effect of microwave treatments on citrinin was investigated for different conditions and it was found that microwave treatment has no effect on citrinin.

1. GİRİŞ

Dünyadaki zeytin üretiminde İspanya'nın zeytin üretimi için ayırdığı alansal pay %30, Türkiye'nin ise %7'dir. 2001 yılında İspanya'nın işlenmiş zeytin ihracatının mali değeri 367.700.000 \$ iken Türkiye'nin yaptığı ihracatın değeri 32.100.000 \$'dır. İspanya Türkiye'den yaklaşık olarak 4 kat daha fazla alanı zeytin üretimine ayırmıştır. Fakat sofralık zeytin ihracatında Türkiye'den 10 kat daha fazla gelire sahiptir (Anon, 2003a; Gökçe, 2003).

Ülke ekonomisinde önemli bir yer tutan ve tüketim oranı yüksek bir ürün olan zeytin, hasattan sofraya ulaşmaya kadar geçen süre içinde kaliteyi olumsuz etkileyen fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişikliklere uğrayabilmektedir (Korukoğlu ve diğ., 2000).

İşleme, depolama ve satıştan tüketime kadar en fazla küf gelişimi olan besinlerden biri salamura siyah zeytindir (Şahin ve diğ., 1999). Ülkemizde geleneksel siyah salamura zeytin üretiminde küf gelişmesiyle oluşan "kefeke" adı verilen bir zara rastlanmaktadır. Küfler mikotoksin oluşturma risklerinin yanı sıra, içerdikleri enzimler nedeniyle zeytinlerin dokularının yumuşayıp parçalanmasına ve tüketilemez duruma gelmesine sebep olmaktadır (Korukoğlu ve diğ., 2000).

Yapılan araştırmalar sonucunda zeytinlerin küf florasını ağırlıklı olarak, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsine ait küflerin oluşturduğu belirlenmiştir (Kıvanç ve Akgül, 1990; Eltem ve Öner, 1995; Şahin ve diğ., 1996; Fernandez ve diğ., 1997; Şahin ve diğ., 1999; Göçmen ve diğ., 2000; Arıcı, 2001, Meriç, 2001).

İstanbul'daki çeşitli marketlerden temin edilen 50 adet zeytin numunesinde sitrinin taramasının yapıldığı çalışmada örneklerin 41 adetinde sitrinin toksininin bulunduğu tespit edilmiştir. Sitrinin miktarı ortalama olarak 139 ppb bulunmuştur (Meriç ve Heperkan, 2003). Hayvanlarda böbrek tübüllerine zarar veren bir bileşen olarak bilinen sitrininin 10 ppm konsantrasyonunda köpeklerde böbrek tübüllerinde yaralara neden olduğu belirlenmiştir (Leszkowicz ve diğ., 2002). Bulgaristan, Romanya ve

eski Yugoslavya halkında görülen Balkan Endemik Nefropati (BEN) hastalığına, bu bölgede yetişen hububat ürünlerinde oluşan okratoksin A ve sitrininin neden olduğu tespit edilmiştir. Yılda yaklaşık 200 000 kişi bu hastalığa maruz kalmaktadır. Akut etkisi görülmeyen hastalığın, belirli bir periyot sonrasında ilk semptomları baş ağrısı, kilo kaybı, yorgunluk olarak belirlenmiş ve ölüm vakaları gözlenmiştir (Vrabcheva ve diğ., 2000).

Gıdalarda bulunan tüm mikotoksinlerin kontrolü imkansız ve gereksizdir. Bu nedenle yüksek konsantrasyon ve düşük toksisite ile düşük konsantrasyon ve yüksek toksisiteye sahip mikotoksinlerin gıdalardan uzaklaştırılması gereklidir (Trivedi ve ark., 1993). Mikotoksinlerin detoksifikasyonunda uygulanan işlem tüm aktif toksini yok edebilmeli ve kalan kimyasal kalıntılar sağlık açısından zararlı olmamalıdır (Sinha, 1998).

Zeytinde küf gelişmesinin önlenmesi ile ilgili çalışma sayısı çok azdır. Küf inhibisyonu için uygulanan yöntemlerin karşılaştırılmasında küf sayısındaki azalma belirlenerek yöntemin etkinliği değerlendirilmektedir. Uygulanan işlem sırasında tamamen inhibe olmayan fakat mevcut yöntemlerle o anda sayısı belirlenemeyen, hasar görmüş mikroorganizmalar bulunmaktadır. Uygulanan inhibisyon işlemi ticari olarak gerçekleştirildiğinde mikroorganizma sayısındaki azalma standart değerleri sağlasa bile tüketime sunulduğunda hasarlı mikroorganizmalar gelişerek, insan sağlığını ve ürün kalitesini bozabilir. Yapılan tez çalışmasında mikrodalga işleminin küf inhibisyonunu sağlayabileceği düşüncesiyle, zeytinlere farklı proses koşullarında ve farklı parametreler kullanılarak mikrodalga işlemi uygulanmış, küf sayısında meydana gelen azalma hasarlı küf sayıları da dikkate alınarak incelenmiştir. Literatürde sitrininin ısıl işlem ile parçalanmasının incelendiği çalışmalar saf toksinle yapılmış olup, toksinin gıda matriksinde bulunduğu parçalanma özellikleri ile ilgili az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Zeytinde küf inhibisyonu için uygun bulunan işlem koşullarının sitrinin miktarına etkisi de incelenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Zeytinin Genel Özellikleri

Oleacea ailesinden, *Olea* cinsi ve *Olea europaea* türü olan zeytin, eski çağlardan günümüze ticari değerini koruyan bir üründür. *Olea europaea sativa* (kültür zeytini) ve *Olea europaea oleaster* (yabani zeytin-delice) olmak üzere iki alt türü mevcuttur (Aktan ve Kalkan, 2000). Zeytin, 30 - 45 paralelleri arasında, deniz seviyesinden 300 ile 1200 metre yükseklikte ılık ve subtropikal bölgelerde ticari olarak yetiştirilir (Macrae ve diğ., 1993).

Zeytinler hasattan sonra içerdikleri fenolik maddeler nedeni ile acı bir lezzete sahip olduklarından hemen tüketilememektedirler. Acılığın giderilmesi amacıyla çeşitli işlemler uygulanmaktadır. Zeytini işlemenin esas amacı kısmi olarak meyvenin doğal acılığını uzaklaştırmaktır, bundan sonra ürün gıda olarak tüketilebilir ve lezzet açısından uygun tada gelir (Borcaklı ve diğ., 1994; Fernandez ve diğ., 1997).

Sofralık zeytin TS 774 nolu Sofralık Zeytin Standartında; “Kültüre alınmış zeytin ağacı (*Olea europaea sativa*, Hoffg, Link) meyvelerinin tekniğine uygun olarak acılığı giderilip, laktik asit fermentasyonuna tabi tutularak veya tutulmayarak gerektiğinde laktik asit ve / veya diğer katkı maddeleri ilave edilen, pastörizasyon veya sterilizasyon işlemine tabi tutularak veya tutulmadan elde edilen mamüldür.” şeklinde tanımlanmıştır (TS 774, 1997).

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi (International Olive Oil Council, IOOC), Uluslararası Ticarete Sofralık Zeytin için Kullanılan Birleşmiş Kalitatif Standart’ında (Unified Qualitative Standard Applying to Table Olives in International Trade) sofralık zeytinler “Yetiştirilen zeytin ağacının (*Olea europaea sativa*, Hoffg, Link) uygun olgunluk aşamasında hasat edilen, spesifik varyetelerinin sağlam meyveleri bu standartta belirtildiği gibi işlenerek üretilirler. Bu gibi prosesler

iyi sofralık kalitesi için değişik baharatların ve katkıların ilavesini içerebilir” şeklinde tanımlanmıştır (Fernandez ve diğ., 1997).

2.1.1. Zeytin Çeşitleri

Türkiye’de 88 çeşit zeytin vardır ve bunlardan sadece 17’sinin ticari değere sahip olduğu bildirilmektedir. Memecik, Ayvalık (Edremit), Gemlik, Domat, Uslu, Memeli, Manzanilla, Yamalak, Edincik su, İzmir sofralık, Çelebi, Halhalı, Tavşan yüreği, Karamürsel su, Çilli, Kaba ve Erkence Türkiye’de ticari değere sahip zeytin çeşitleri olarak bilinmektedir (Fernandez ve diğ., 1997; Aktan ve Kalkan, 2000).

1998 yılında meyve veren zeytin ağacı sayısı 85 850 000 adet iken Memecik zeytin sayısının %45’ini, Ayvalık %39’unu, Gemlik %11’ini ve geri kalan %5’lik bölümünü ise diğer zeytin çeşitleri oluşturmaktadır (Aktan ve Kalkan, 2000; Anon, 2003b). Ham zeytinin bileşimi Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Ham Zeytinin Bileşimi (Fernandez ve diğ., 1997)

Bileşim	%
Nem	60-65
Yağ	10-25
İndirgen şeker	3-6
İndirgen olmayan şeker	<0.3
Mannitol	0.5-1.0
Lif	1-4
Ham protein	1-2
Kül	<1.0
Organik asit ve tuzları	1-2
Fenolik maddeler	2-3
Pektik maddeler	<0.6
Diğer bileşenler	3-7

2.1.2. Zeytinin Sınıflandırılması

Zeytinin sınıflandırılması geleneksel ve modern yöntemlerle elde edilen son ürünün rengine ve ham zeytinin olgunluk derecesine bağlıdır. Yeşil, renk değişimine uğrayan, doğal siyah ve siyah zeytin olmak üzere dört temel sınıflandırma

yapılmıştır. Kaliforniya’da olgunlaşmış (ripe) veya siyah-olgunlaşmış zeytin olarak bilinen siyah zeytin çeşidi, renk değiştirme aşamasında hasat edilen ürünlerin alkali içerisinde oksidasyonla siyahlaştırılması ile üretilmektedir (Fernandez ve diğ., 1997).

İspanyol Standartları’na göre sofralık zeytin çeşitlerinin tanımlanması şu şekildedir (Fernandez ve diğ., 1997):

1. Yeşil zeytinler: Olgunlaşma evresinde normal boyutuna erişmiş renklenme işlemi gerçekleşmemiş zeytin meyveleri kullanılarak üretilir. Meyve rengi yeşil ile saman sarısı arasında çeşitlilik gösterir.
2. Renk değişimine uğrayan zeytinler: Kırmızı, şarap kırmızısı veya kahve renkli meyvelerin tam olgunlaşmadan önce toplanarak alkali ile işlem uygulanarak veya uygulanmadan tüketime hazır hale getirilmesiyle elde edilirler. Kaliforniya tipi yeşil olgunlaşmış zeytinler de bu sınıfa girebilir.
3. Doğal siyah zeytinler: Zeytin meyvesi olgunlaştığında veya olgunlaşmadan hemen önce hasat edilen zeytinlerden elde edilirler. Üretim bölgesi veya hasat zamanına göre koyu mor, kırmızımsı siyah, morumsu siyah, yeşilimsi siyah veya koyu kestane renginde olurlar.
4. Siyah zeytinler: Tam olarak olgunlaşmamış zeytinler, hasattan sonra oksidasyonla siyahlaştırılır ve acıklıklarının giderilmesi için alkali ile muamele edilirler. Salamura içerisinde saklanan bu zeytinlere ısı sterilizasyon uygulanır (Fernandez ve diğ., 1997).

IOOC sadece üç çeşidi göz önünde bulundurur: yeşil, renk değişimine uğrayan ve siyah zeytinler. Bu üç çeşit arasında, kullanılan hammadde, hasat zamanı ve uygulanan işlemler açısından farklılık bulunmaktadır. Acılığın alkali muamelesi ile giderildiği yöntemlerde “işlem görmüş (pickled)” (İspanyol standartlarında “treated” kelimesi ile aynı anlamdadır) ifadesi yöntemin adında yer almaktadır. Fermantasyondan önce hiçbir alkali muamelesi yapılmayan ve doğrudan salamura içine konan veya kuru tuzlanan zeytinlerde acılığın asit fermantasyonu boyunca yavaş ve kısmi olarak uzaklaştırıldığı ürünlere “salamura zeytinler” veya “kuru tuzlanmış zeytinler” adı verilir ve tanımlarda “işlem görmemiş” ibaresi yer alır (Fernandez ve diğ., 1997).

2.2. Zeytinin Ekonomik Önemi

Türkiye doğal siyah zeytin tüketiminde dünyada ilk sıradadır (Fernandez ve diğ., 1997). Sofralık zeytin ihracatı yapan ülke %55 gibi yüksek bir payla İspanya, en fazla ithalat yapan ülke %44'lik pay ile Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'dir. Türkiye %4'lük ihracat oranıyla İspanya, Fas (%16), Yunanistan (%11) ve Arjantin (%9)'den sonra gelmektedir (Hui, 1992). Dünyada ve Türkiye'deki zeytin istatistikleri Tablo 2.2'de verilmiştir (Gökçe, 2003).

Tablo 2.2. Dünyada ve Türkiye'de Zeytin İstatistikleri (Gökçe, 2003)

Ülkeler	Alan (Ha)	Alansal Pay (%)	Üretim (Ton)	Üretimdeki Pay (%)	Verim (kg/ha)
Dünya	7 664 602	100	13 551 830	100	1704
Cezayir	165 000	2	300 000	2	1818
Yunanistan	765 000	10	2 000 000	15	2614
İtalya	1 120 470	16	2 775 000	21	2477
Tunus	1 200 000	16	600 000	4	500
Portekiz	358 470	5	280 000	2	781
İspanya	2 300 000	30	4 943 800	37	2149
Fas	458 000	6	400 000	3	873
Türkiye	600 000	7	600 000	4	1035
Diğerleri	717 462	9	1 653 030	12	2304

Tablo 2.2'den görüleceği gibi Türkiye alansal olarak zeytin üretiminde dünyada %7'lik bir payla beşinci sırada yer almaktadır. Buna karşılık üretim olarak dünyada %4'lük bir paya sahiptir. Dünyada ortalama verim 1704 kg/ha iken Türkiye'de 1035 kg/ha'dır. Yani dünya ortalamasından %40 daha düşüktür. Bu rakam dünyada önemli zeytin ithalatçısı olan ülkelere Yunanistan'da 2614, İtalya'da 2477 ve İspanya'da 2149 kg/ha'dır (Gökçe, 2003). Türkiye'de yıllara göre zeytin ağacı sayısı ve zeytin üretimi Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Zeytin Ağacı Sayısı ve Zeytin Üretimi (Anon, 2001)

	Yıllar							
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Meyve veren yaşı ('000)	81 703	82 192	81 437	83 200	85 780	85 850	87 130	89 200
Meyve vermeyen yaşı ('000)	5 460	5 955	6 144	6 540	9 950	7 600	8 370	8 570
Zeytin üretimi ('000ton)	500	1 400	515	1 800	510	1 650	600	1 800
Yemeklik ('000ton)	200	350	206	435	200	430	250	490
Yağlık zeytin ('000ton)	350	1 050	309	1 365	310	1 220	350	1 310

Tablo 2.3’de görüleceği gibi her yıl meyve veren ağaç sayısında değişiklik olmamasına rağmen, zeytin üretim miktarları bir yıl artarken diğer yıl azalmaktadır.

Birleşmiş Milletlerin Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından dünyadaki ham ve işlenmiş zeytin ihracatı ve ithalatı ülkelere göre belirlenmiştir. Türkiye ham zeytin ithalatını 1998 yılından itibaren yapmamaktadır. 1996 yılında 345, 1997’de 111 ve en son 1998 yılında 2 ton ham zeytin ithalatı yapılmıştır. İşlenmiş zeytin ithalatı ise 2001 yılında 93 ton olmuştur. Türkiye’nin ham ve işlenmiş zeytin ihracat miktarları ve ekonomik değeri Tablo 2.4’de verilmiştir (Anon, 2003a).

Dünyadaki zeytin üretiminde İspanya’nın zeytin üretimi için ayırdığı alansal pay %30, üretimdeki pay %37 iken Türkiye’nin ise alansal payı %7 ve üretimdeki payı %4’dür. 2001 yılında İspanya’nın işlenmiş zeytin ihracatının mali değeri 367.700.000 \$ iken Türkiye’nin yaptığı ihracatın değeri 32.100.000 \$’dır. İspanya Türkiye’den yaklaşık olarak 4 kat daha fazla alanı zeytin üretimine ayırmıştır. Fakat sofralık zeytin ihracatında Türkiye’den 10 kat daha fazla gelire sahiptir (Anon, 2003a; Gökçe, 2003).

Tablo 2.4. Türkiye'nin ham ve işlenmiş zeytin ihracat miktarları ve ekonomik değeri (Anon, 2003a)

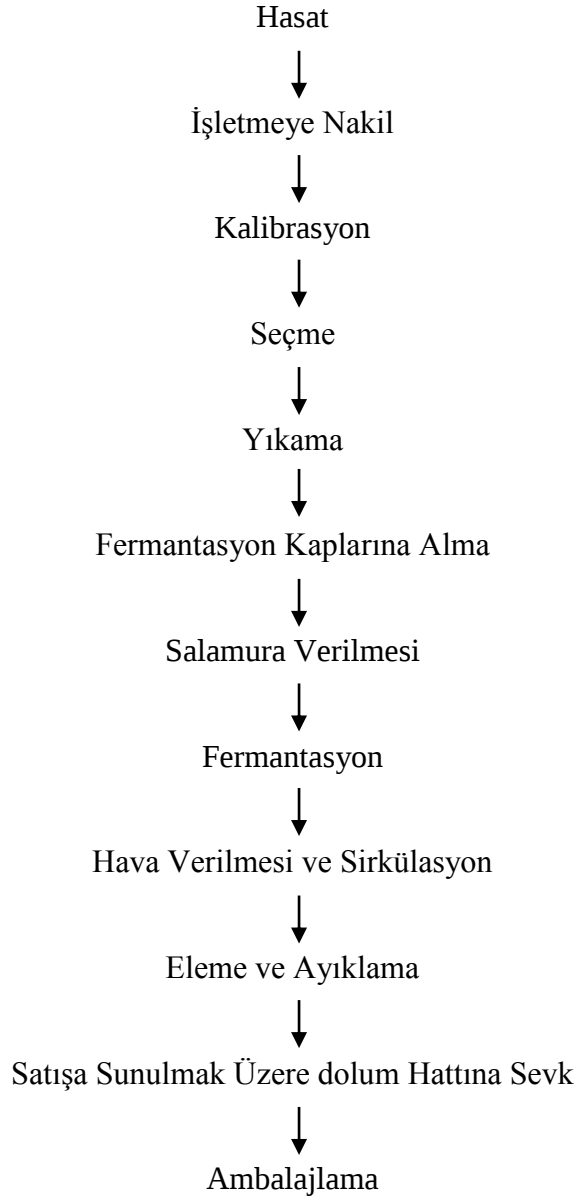
Türkiye'nin İhracatı	Yıllar							
	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Ham zeytin (ton)	630	45	584	288	81	0	12	91
Ham zeytin (1000\$)	187	94	598	291	100	0	21	63
İşlenmiş zeytin (ton)	11 919	21 028	11 177	20 177	18 853	20 172	21 179	43 233
İşlenmiş zeytin (1000\$)	12 144	28 455	24 327	25 541	19 703	22 082	20 870	32 100

2.3. Sofralık Siyah Zeytin Üretim Teknolojileri

Sofralık zeytin üretiminde piyasanın talepleri, zeytinin olgunluk durumu ve hasat şekli dikkate alınır. Piyasaya arz edilen ürünün rengi dikkate alınarak siyah ve yeşil zeytin üretim yöntemleri olarak iki ana grupta toplanır (Aktan ve Kalkan, 2000).

2.3.1. Salamuralı Fermantasyon Yöntemi

Ülkemizde 1980'li yıllara kadar tek başına uygulanmıştır. Yöntemin esası; ağaçta kararmış ve olgunlaşmış zeytinlerin çeşitli yöntemlerle toplanarak uzun süre laktik asit fermantasyonuna tabi tutulmasına dayanır. Yöntem zeytinlerin hasatı ile başlamaktadır. Zeytinler kıvılcıdan siyaha dönme aşamasında ve yapısında kırıksıklıklar oluşmaya başlamadan önce hasat edilmelidir. Hasat edilen zeytinlerin işletmeye nakli gerçekleştirilir ve ön eleme, ayıklama ve yıkama yapılarak fermantasyon tanklarına veya beton havuzlara alınır (Aktan ve Kalkan, 2000). Salamura yöntemi ile siyah zeytin üretim akış şeması Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Salamura yöntemi ile siyah zeytin üretim akış şeması (Aktan ve Kalkan, 2000)

Hasat

Tabii siyah zeytin salamuracılığında kaliteye etki eden en önemli faktörler hasat zamanı ve toplama şeklidir. Olgun meyvede renk kabukta ve ette çeşitlere göre mor, siyah, kahverengi tonlarında değişebilir. Ancak dikkat edilmesi gereken kriter sadece kabuk renginin koyulaşması değil, rengin ete de çekirdeğe 2mm kalıncaya kadar işlemesidir. Hasat zamanı tarih olarak bölgelere, çeşide ve iklim şartlarına göre değişmekle birlikte Kasım-Şubat aylarında olur. Hasat elle yapılmalı, sırık asla vurulmamalıdır (Anon., 2003c).

Taşıma

Toplanan zeytinler 15-20 kg'lık plastik kasalarla taşınır, kasaların alt köşeleri 3-5cm kadar yükseltilerek zeytin kasaları arasında hava sirkülasyonu yaratılır, böylece zeytinlerin bozulmaları önlenir (Anon., 2003c).

Seçme ve Sınıflandırma

Salamurhaneye gelen zeytinler dal ve yapraklarından ayrılarak hasarlı, kusurlu, hastalıklı ve farklı olgunluktaki daneler ayıklanır. Sağlam daneler boyutlarına göre sınıflandırılır (Anon., 2003c).

Yıkama

Yıkama, zeytinin üzerindeki toz ve toprağın atılmasıyla ileride oluşabilecek herhangi bir bozulma tehlikesinin önlenmesi gibi temizlik açısından olduğu kadar, zeytinde bulunan acılık maddesinin (oleuropein) atılması nedeniyle de önemlidir. Yıkama ya zeytin dolu havuzlara üstten su verilerek alttan belirli zamanlarda bu suyun uzaklaştırılması veya zeytine su püskürtülmesi ile yapılabilir. Yıkama süresinin fazla uzun olması, şekerin fazla harcanması, daha sonra gaz cebi oluşması gibi sakıncalar nedeniyle 1-2 saatlik yıkamalar yeterlidir (Anon., 2003c).

Tuzlu Suya Koyma, Fermantasyon

Kullanılan fermantasyon kaplarına ayrı bir yerde hazırlanan % 10'luk tuzlu su kabın hacminin 1/3 oranında konur, üzerine zeytin boşaltılır. Kabın ağzı zeytinlerin yüzmesi için kafes şeklinde delikli kapla kapatılır. Sonra en üste zeytinin hava ile temasını kesen tipte uygun kapaklar kapatılır. Başlangıçta gaz çıkışı dolayısıyla kapaklar hafif, sonra sıkıca kapatılır. Zeytin ve salamura arasında bir osmoz olur. Zeytin bünyesindeki suda eriyen maddeler salamuraya geçerken bünyesine tuz alır. Salamuranın tuz oranı düşer, salamura ile tuz oranı arasındaki denge salamura konulduktan 1-1.5 ay içinde kurulur. Bu nedenle başlangıçta haftalık sonra aylık tuz kontrolleri ile tuz ölçülmelidir. Tuz ağırlığı nedeniyle dibe çöker. Sirkülasyon ile salamurada tuz konsantrasyonu homojen hale getirilmelidir (Anon., 2003c).

Fermantasyon için en uygun sıcaklık 20°C'dir. pH'ında 4.5 civarında olması istenir. pH değeri düştükçe zeytinin rengi açılır, yüksek pH'da bozulma ihtimalleri olabilir.

Fermantasyon esnasında kapların üst yüzeyleri açık bırakılmaz, çünkü üstte gelişen maya ve küfler asitliği tüketir ve zeytinde bozulma ve yumuşamalara yol açarlar (Anon., 2003c).

Havalandırma

Fermantasyonu sona eren zeytinler sudan çıkarılır. Havalandırmaya tabi tutularak karartılır. Havalandırma işlemi kompresörlerle veya kerevetlere serilen zeytinlerin doğrudan hava ile temas ettirilmesiyle gerçekleştirilir (Anon., 2003c).

Seçme ve Sınıflandırma

Kararan zeytinler sınıflandırma şeridine girer, yaralı, ezik, özürlü ve açık renkliler ayrılarak, zeytin elevatörlerle sınıflandırma kemerine gelerek burada sınıflara ayrılır (Anon., 2003c).

Ambalajlama

Seçilip boylanan zeytinler kuru ve sulu olarak iki şekilde ambalajlanır. Sulu ambalajlamada zeytinler %8-9 tuzlu su içinde laklı tenekelere konur. Eğer zeytinlerde küflenme sorunu varsa muhafaza amacıyla potasyum veya sodyum sorbat ya da benzoatlardan faydalanılır. Ayrıca istenirse pastörizasyon yapılır (Anon., 2003c).

Kuru ambalajlamada zeytinlerin suyu hava verilerek veya ısı uygulanarak nem miktarı %20'nin altına düşülür. Nemi azalan zeytinler varaklı polyester polietilen torbalarda havası alınarak veya azot gazı verilerek ambalajlanabilir (Anon., 2003c).

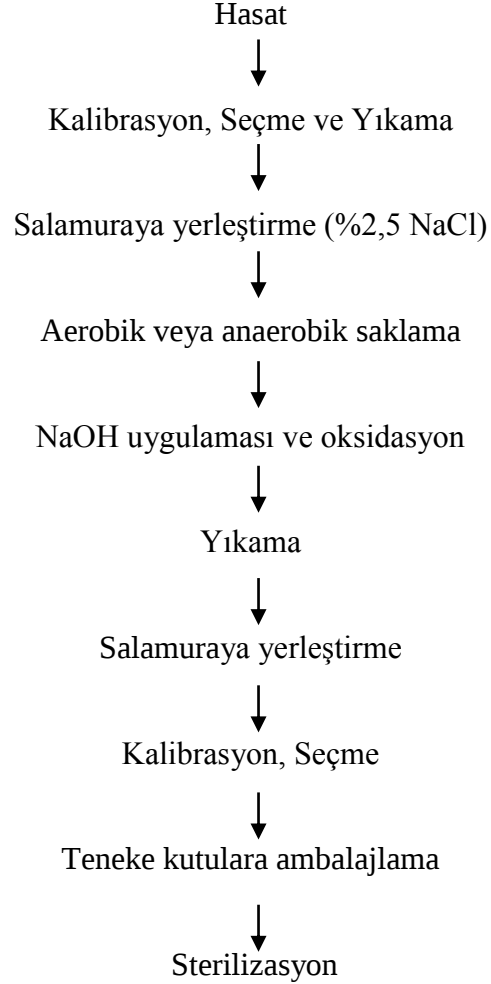
2.3.2. Konserve Yöntemi (Oksidasyonla Karartma veya Kostikleme)

Ripe Olive Yöntemi

Literatürde Kaliforniya Yöntemi olarak da belirtilmektedir. Bu yöntemde zeytinler yeşil olgunlukta iken hasat edilir, alkali uygulanarak acılık maddesi hidrolize edilir ve oksidasyon işlemi ile zeytinlerin rengi karartılır (Aktan ve Kalkan, 2000).

Ripe olive tipinde zeytin üretimine bütün çeşitler uygun değildir. Türkiye’de bu yöntem ile zeytin üretilmesine en uygun çeşit Memecik’tir. Diğer ülkelerde ise Manzanilla kullanılmaktadır (Fernandez ve diğ., 1997).

Ripe olive yöntemi ile siyah zeytin üretim akış şeması Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Kaliforniya yöntemi ile siyah zeytin üretim akış şeması (Borcaklı ve diğ., 1994; Aktan ve Kalkan, 2000)

Hasat

Zeytinler yeşil olgunlukta iken hasat edilmelidir. Kızıla dönerken hasat edilmesi durumunda zeytinler proses sonunda yeterli sertlikte olmaz, yumuşak görünür. Daha önce hasat edilirse zeytinde dokular sert olur ve selülozlu bir yapı görülür ve bu durumdaki işlenmiş zeytinler aşırı sert ve odunsu olur (Aktan ve Kalkan, 2000).

Kalibrasyon, Seçme ve Yıkama

Zeytinler çeşitli boyutlara ayrılarak sap, çöp, taş, toprak ve diğer yabancı maddelerden arındırılır. Zeytinler istenilen boyutlarda sınıflandırıldıktan sonra yıkama işlemi gerçekleştirilir (Aktan ve Kalkan, 2000).

Salamuraya Yerleştirme

Kalibrasyon işleminden sonra zeytinler hemen işlenmeyecek ise bozulmalarını önlemek amacıyla düşük tuz (% 2.5) içeren salamuraya konulmaktadır. Sıcak havalarda bu oran % 8-10 oranına çıkarılmaktadır (Borcaklı ve diğ., 1994).

NaOH Uygulaması ve Oksidasyon

Kostikle muamele üç defa yapılır. Her işlemde alkali oranı farklıdır. Kostik oranı birinci kostiklemede %2, ikinci kostiklemede %1-1.5 ve üçüncü kostiklemede ise %0.5-1 oranında olmalıdır. Bu oranlar kullanılan zeytin çeşidine göre farklılık gösterebilmektedir. Birinci işlemde zeytinin kabuğunda deliklerin açılması sağlanır 24-36 saat süren bu işlem sonunda yıkama işlemi yapılır. İkinci kostikleme işleminde ise kostik zeytin danesinin etli kısmında %50 oranında işletilir ve yıkama işlemi gerçekleştirilir. Bu işlem yaklaşık 36 saat sürer ve birinci işlemde olduğu gibi kostikleme ve yıkama aşamalarında ortamın havalandırılması sağlanır (Aktan ve Kalkan, 2000).

Üçüncü kostikleme işleminde ise %0.5 veya %1 oranındaki sodyum hidroksit çözeltisinin çekirdeğe kadar işlemesi sağlanır (Aktan ve Kalkan, 2000). Sodyum hidroksit çözeltisi ve havalandırma işlemi zeytindeki ortodifenol, hidroksitirosol ve kafeik asidin oksitleyerek zeytinin renginin kararmasını sağlamaktadır. Bu renk ürünün raf ömrü boyunca sabit kalmamaktadır. Yıkama sırasında zeytinde oluşan siyah rengin korunması amacıyla demir tuzları ilave edilerek stabil bir renk eldesi sağlanır. Bu amaçla, demir glukonat, demir sülfat ve demir laktat kullanılmaktadır (Garcia ve diğ., 2001a). Demir tuzları ilave edildikten sonra havalandırma işlemi durdurulmalıdır. Üçüncü kostikleme işlemi yaklaşık 36 saat, toplam kostikleme işlemi ise 5 ile 9 gün arasında sürer (Aktan ve Kalkan, 2000).

Yıkama ve Salamuraya Yerleştirme

Demir tuzlarının fazlasının giderilmesi için zeytinler yıkanır ve zeytinler teneke kutulara konularak % 3-5 oranında tuz içeren 80-90 °C'deki salamura ilave edilir. Genel olarak ripe olive tipinde tuz oranının % 2.5 dolayında olması istenir (Aktan ve Kalkan, 2000).

Sterilizasyon

Zeytinlere uygulanan alkali işleminden ötürü zeytinlerin pH'sı yükselmiştir ve salamuranın düşük tuz içermesi ile ortam mikrobiyal gelişmeye uygun olur. Mikrobiyal gelişmenin engellenmesi amacıyla zeytinler teneke kutulara alınarak ısıtılabilir (Aktan ve Kalkan, 2000). Isıl işlem sıcaklık ve süresi ambalaj büyüklüğüne göre değişmektedir. 1 kg ve daha küçük kutular için sterilizasyon sıcaklık ve süresi 115.6 °C'de 1 saattir (Macrae ve diğ., 1993).

2.4. Zeytinlerde Görülen Bozulmalar

Zeytinler hasattan sofraya ulaşıncaya kadar geçen süre içinde kaliteyi olumsuz etkileyen fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişikliklere uğrayabilmektedir (Korukoğlu ve diğ., 2000). Doğal siyah zeytinler meyvenin fazla olgunlaşmış olması, yağmur gibi kötü koşullar altında hasat edilmesi, üretim işlemlerinin tecrübeye dayanarak hatalı yapılması gibi üç temel nedenle bozulurlar. İstenmeyen koku, gaz cebi oluşumu, bütirik ve propiyonik asit fermentasyonları, renk bozuklukları, yumuşama ve küf gelişimi zeytin kalitesine etki eden problemlerdir (Fernandez ve diğ., 1997).

2.4.1. Gaz Cebi Oluşumu

Zeytinler salamuraya konulduğu andan, fermentasyon tamamlanıncaya kadar veya alkaliyle işlem sırasında ve sonrasındaki aşamalarda gazlı bozulma ile karşı karşıya kalabilirler. Karakteristik özelliği zeytinin etinde, içinde gaz birikmesi sonucu et ile kabuğun arasında kabarcık oluşmasıdır. Gaz cebine, balık gözü ve İspanyolca “alambrado” adları da verilmiştir. İspanyol tipi yeşil zeytinde gram negatif basillerin bazı türleri ve siyah zeytinlerde bazı maya cinsleri bu tip bozulmaya neden

olmaktadır. Gaz cebi oluşumunun önlenmenin yolu özellikle fermantasyonun birinci aşamasından itibaren laktik asit bakterilerin gelişmesini teşvik edecek önlemlerin alınmasını sağlamaktır. pH'nın 4.5'in altına düşürülmesi için dışarıdan asit ilavesi veya pH'nın kontrol altında tutulması ile toplam asit miktarı arttırılarak bozulma etkeni mikroorganizmaların gelişmesi engellenebilir (Korukuglu ve diğ., 2000).

2.4.2. Kötü Koku Oluşumu

Bütirik asit bozulması ve zapateria adı verilen bu tip bozulmalarda kötü koku oluşumu ortaktır. Bütirik asit bakterilerinin sorumlu tutulduğu bütirik asit bozulmasında fermantasyonun ilk aşamalarında koku acılaşıp tereyağı kokusunu andırırken, daha sonraki aşamalarda koku daha da kötüleşir. Etken mikroorganizmalar *Clostridium* cinslerine ait türlerden *Clostridium butyricum* ve *C. tertium*'dur. Zapetaria'lı zeytinden çıkan koku bütirik asit fermantasyonundaki gibi ekşimiş ve kötü bir koku değildir. Bu bozulma salamura pH'sı 4.5'in altına düşmediğinde görülmektedir. Sorumlu bakterilerin *Propionibacterium zeae* ile *P. pentosaceum* olduğu bildirilmektedir. Fermantasyonun son aşamasında saptanan bu bozulma *Clostridium* ve *Propionibacterium* cinsi bakterilerin ürettikleri kaprik asit, bütirik asitle beraber olduğunda tipik kokunun ortaya çıktığı belirlenmiştir (Aktan ve Kalkan, 2000; Korukuglu ve diğ., 2000).

Düşük tuz konsantrasyonu ve yüksek pH seviyelerinde de bu bozulma oluşabilir. Genel olarak kötü kokuya neden olan bozulmaları engellemenin en etkili yolu pH ve tuz konsantrasyonunun kontrolüdür. Tuz konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda laktik asit fermantasyonunu teşvik etmek amacıyla pH'yı asetik asit ile 4'e düşürmek uygundur. Kademeli tuz artışı ile beraber yapılan bu işlem ürün muhafazasını sağlar. Doğal siyah zeytinlerin son ürünlerdeki % 8 veya daha yüksek tuz içeriği tüketici tarafından kabul edilebilir limitler arasındadır (Fernandez ve diğ., 1997).

2.4.3. Yumuşama

Zeytinin fazla ısınması gibi çevre koşulları, enzim ve mikrobiyal etkiler nedeniyle zeytinlerde yumuşama görülür (Aktan ve Kalkan, 2000). Zeytine sertlik veren pektik maddelerin parçalanması, yumuşamaya neden olmaktadır. Maya, bakteri ve küflerin

salgıladığı kuvvetli pektolitik enzimler yumuşamaya neden olur (Korukoğlu ve diğ., 2000). Yumuşamaya neden olan pektolitik enzimleri *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* cinsi küfler, *Bacillus mesentericus*, *B. polymyxa*, *B. megatherium*, *B. macerans* veya *Saccharomyces oleaginosus*, *S. kluyveri*, *Hansenula anomala* üretir (Fernandez ve diğ., 1997).

2.4.4. Maya Benekleri

Daha çok yeşil zeytinlerde görülmektedir. Zeytinlerde kabuk ile et arasında beyaz beneklerin oluşumuyla kendini göstermektedir. Bu küçük beyaz benekler, fermantasyon sırasında gelişen bakteri ve maya kolonileridir. Yapılan çalışmalar sonucu bu bozulmaya *Lactobacillus plantarum*'un neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca zeytinlerde acılaşmayı gidermek amacıyla uygulanan NaOH çözeltisinin sıcaklığı nedeniyle maya benekleri oluşumu artmaktadır (Korukoğlu ve diğ., 2000).

2.4.5. Mavileşme

Siyah zeytinlerde görülen tipik bir mavimsi siyah renk olup zeytinlerin tuzlu suya basıldığında olgunluk derecesine göre kötü bir koku yayar. Önlenmesi, küçük zeytinlerde tuz konsantrasyonunun %8'in üzerine çıkarılması, pH'nın 4.5'in altına indirilmesi ve zeytinlerin yıkanması ile sağlanır (Aktan ve Kalkan, 2000).

2.4.6. Ambalaj Hataları Sonucunda Oluşan Bozulmalar

Uygun olmayan ısı işlemlerin meydana getirdiği problemler ile ambalajlama kusurları da, sıkça görülen bozulma şekilleridir. Isıtma işleminin yetersiz kalması veya sterilize edilmiş ürünlerin ambalajlarının kusurlu ve bozuk kapatılması sonucu siyah zeytinlerde gaz oluşumu görülür. Isıl işlemde geçirilmemiş zeytinlerin ambalajlarında tamamlanmamış fermantasyondan kalan, fermente olabilir maddeleri kullanabilen mikroorganizmaların gelişmesi ile gazlı şişmeler görülmektedir. Bunun dışında laktik asidi kullanabilen asetik asit, propiyonik asit ve karbondioksit üreten bakterilerin fermantasyonu da ambalaj kusurlarına neden olmaktadır. Ambalaj kusurlarını engellemek için, zeytinlerde fermente olabilir şekerlerin kalmasına izin verilmemeli ve fermantasyon kontrollü koşullarda gerçekleştirilmelidir. Bunun dışında ısı işlem uygulamasından sonra kullanılan soğutma suyunun bakteriyolojik

yüküne dikkat etmek gerekmektedir (Aktan ve Kalkan, 2000; Korukoğlu ve diğ., 2000).

2.4.7. Biyojenik Aminler

Biyojenik aminler içeren gıdaların tüketilmesi halinde tüketicilerde kısa sürede toksik etkileri görülebilmektedir. Gıdalardaki üreticileri genel olarak Enterobacteriaceae ailesi üyeleri *Enterococcus*'dur. Çoğu laktik asit bakterisi de fermente gıdalarda biyojenik amin üretebilir. Gıdalarda 1000 ppm oranında toplam biyojenik amin varlığı, toksik etkilerinin görülmesine neden olur. İyi üretim kuralları gereği toplam olarak 100 ila 200 ppm arasındaki değerleri aşmaması gerekmektedir. İşlem görmemiş zeytinlerde putreskin (50ppm) ve histamin (38 ppm) varlığı belirlenmiştir. Alkali ile işlem gören zeytinlerde biyojenik amine rastlanmamıştır (Garcia ve diğ., 2001b).

2.4.8. Küf Florası ve Mikotoksin Varlığı

Besinlerde küf bulaşması ve gelişmesi tarlada iken başlamakta, işleme ve depolama sırasında ileri düzeylere ulaşabilmektedir. İşleme, depolama ve satıştan tüketime kadar en fazla küf etkisi altında kalan besinlerden biri de salamura siyah zeytindir (Şahin ve diğ., 1999). Küfler mikotoksin oluşturma risklerinin yanı sıra, içerdikleri enzimler zeytinlerin dokularının yumuşayıp parçalanmasına ve tüketilemez duruma gelmesine sebep olmaktadır. Ülkemizde geleneksel siyah salamura zeytin üretiminde küf gelişmesiyle oluşan “kefeke” adı verilen bir zara rastlanmaktadır (Korukoğlu ve diğ., 2000).

Yapılan araştırmalar sonucunda zeytinlerin küf florasını ağırlıklı olarak, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsine ait küflerin oluşturduğu belirlenmiştir (Kıvanç ve Akgül, 1990; Eltem ve Öner, 1995; Şahin ve diğ., 1996; Fernandez ve diğ., 1997; Şahin ve diğ., 1999; Göçmen ve diğ., 2000; Arıcı, 2001; Meriç ve Heperkan, 2003)

Zeytinden yağ üretimi için işletmede bekletilen zeytinlerin mikrobiyal florası belirlenmiş ve *Penicillium*, *Aspergillus*, *Spicaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* ve *Rhizopus* cinsleri izole edilmiştir (Akbulut, 1980).

Bursa yöresindeki zeytin işletmelerini (17 adet işletme) kapsayacak şekilde zeytinin küf florası belirlenmeye çalışılmış ve 163 küf izole edilmiştir. 7 cins ve 37 türü olduğu belirlenen bu küflerin %84.86'sını *Penicillium*, %6.67'sini *Aspergillus* ve diğer yüzdeyide *Cladosporium*, *Alternaria*, *Rhizopus* ve *Ulocladium* cinsi küfler oluşturmuştur. %3 oranında *P. citrinum*'a rastlanmıştır (Şahin ve diğ., 1996).

Piyasada satılan salamura siyah zeytinlerin küf florasını ve mikotoksin varlığını belirlemek amacıyla Şahin ve diğ. (1999) yaptıkları çalışmada 32 salamura örneğinden 63, 20 zeytin örneğinden 33 olmak üzere toplam 96 küf suşu izole edilerek identifikasyonu yapılmıştır. Salamuradan izole edilen küflerin %68.25'i *Penicillium* cinsine, %15.87'si *Aspergillus* cinsine, %15,88'lik kısmın ise *Ulocladium*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Eurotium*, *Rhizopus* ve *Thamnidium* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. *P. citrinum*'a rastlanma sıklığı salamurada %6.35 iken, zeytinlerde %9.09'dur. Satışa hazır zeytinlerin küf florasını sadece *Penicillium* cinsine ait türler oluşturmuş ve 11 farklı tür izole edilmiştir. Satışa sunulan zeytinlerde *Penicillium* türlerinin göre rastlanma sıklığı Tablo 2.5.'de verilmiştir.

Tablo 2.5. Satışa sunulan zeytinlerde *Penicillium* türlerine rastlanma sıklığı (Şahin ve diğ., 1999)

<i>Penicillium</i> türü	Rastlanma sıklığı (%)
<i>P. aurantiogriseum</i>	3.03
<i>P. chrysogenum</i>	3.03
<i>P. citrinum</i>	9.09
<i>P. corylophilum</i>	3.03
<i>P. decumbens</i>	3.03
<i>P. duclaxii</i>	3.03
<i>P. echinulatum</i>	21.21
<i>P. expansum</i>	3.03
<i>P. griseofulvum</i>	3.03
<i>P. ropuefortii</i>	39.40
<i>P. verrucosum</i>	9.09

Meriç ve Heperkan (2003) İstanbul piyasasından temin ettiği siyah zeytinlerde küf florasını belirlemiştir. Bu amaçla 42 adet siyah zeytin örneğinden küf izolasyonu ve

identifikasyonu yapılmıştır. İncelenen örneklerin %23.8 'inde *P. crustosum*, %9.5'inde *P. viridicatum*, %2.4 ünde *P. roquefortii* tespit edilmiştir.

Türk tipi doğal siyah zeytinlerde *A. niger*, *P. clavigerum* ve *P. expansum* küflerinin de izole edildiği bildirilmiştir (Fernandez ve diğ.,1997).

Ege ve Marmara Bölgeleri'nden temin edilen 1987 ve 1988 yıllarına ait 55 farklı salamura siyah zeytin örneğinin küf florasının incelendiği bir çalışmada farklı morfolojilere sahip 30 küf suşu izole edilmiştir. Bunların 15'i *Penicillium*, 12'si *Aspergillus*, 2'si *Alternaria*, 1'ide *Cladosporium*'dur. Örneklerdeki ortalama küf sayısı 5.80×10^4 cfu/gr ve enfekte olmuş zeytinlerin oranı %41 olarak bulunmuştur. Zeytin örneklerindeki küf sayısı 1.06×10^6 cfu/gr ile 1.00×10 cfu/gr arasında değişmiştir. Çalışmanın sonucunda zeytinlerin küf kontaminasyonu ve gelişmesine duyarlı olduğu ve zeytinlerde dominant tür olarak *Penicillium* saptanmıştır (Eltem ve Öner, 1995).

Türk tipi sofralık zeytinlerin küf florasının incelendiği bir çalışmada 32 küf türü izole edilmiştir. Bunlardan 4'ü *A. ochraceus*, 2'si *A. niger*, 16'sı *P. clavigerum* ve 10'u *P. expansum* olarak identifiye edilmiştir (Kıvanç ve Akgül, 1990).

Şahin ve diğ. (1999) zeytinlerde yaptıkları mikotoksin taramasında 20 örneğin tamamının mikotoksinlerle kirli olduğunu belirlemişlerdir. Tespit edilen mikotoksinler; aflatoksin (B₁, B₂, G₁, G₂), sitrinin, okratoksin A , sterigmatosistin, patulin, penisilik asit, luteoskrin ve siklopiasonik asittir. Zeytin örneklerinin 13'ünde sitrinine rastlanmıştır.

Gourama ve Bullerman (1988) zeytinden *A. flavus*, *A. petrakii* ve *A. ochraceous* identifiye ederek *A. flavus*'un zeytin ezmesinde aflatoksin üretmediğini, 5 *A. ochraceous* suşundan 2'sinin penisilik asit (11.4-30.2 mg/g) ürettiği fakat okratoksin, patulin veya sitrinin üretmediği belirlenmiştir (Fernandez ve diğ., 1997).

Zeyin ve salamurada artan tuz konsantrasyonunun ve starter kültür olarak kullanılan *Lactobacillus plantarum*'un, *P. crustosum* ve *P. citrinum* cinsi küflerin gelişimine ve mikotoksin oluşumuna etkisinin incelendiği bir çalışmada *P. crustosum*'un zeytin ve salamurada penisilik asit, *P. citrinum*'un sitrinin ürettiği belirlenmiştir. %0, 3, 6 ve

12'lik tuz konsantrasyonunun ve *L. plantarum*'un küf gelişmesine ve mikotoksin üretimine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Oral ve Heperkan, 1999; Oral, 1999).

Korukoğlu ve diğ.'nin (2000) yaptığı bir çalışmada Bursa ili çevresinden temin edilen 20 salamura zeytin örnekleri mikotoksin varlığı incelenmiş 1 örnekte sitrinine, 3 örnekte patuline, 4 örnekte sterigmatosistine ve 7 örnekte penisilik asite rastlanmıştır. 1'er örnekte aflatoksin B₂, G₁, 3 örnekte B₁ ve 4 örnekte G₂ bulunmuştur.

İstanbul'daki çeşitli marketlerden temin edilen 50 adet zeytin numunesinde sitrinin taramasının yapıldığı çalışmada örneklerin 41 adetinde sitrinin toksininin bulunduğu tespit edilmiştir. Sitrinin miktarı ortalama olarak 139 ppb bulunmuştur (Meriç ve Heperkan, 2003).

6 zeytin örneğinin küf florasının ve mikotoksin varlığının incelendiği bir çalışmada sadece *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsi küflere rastlanmış ve mikotoksin varlığı belirlenememiştir (Arıcı, 2001).

2.5. Zeytinin Kimyasal Koruyucularla Muhafazası

Ülkemizde sofralık zeytin ile ilgili gıda kodeksi henüz yayınlanmamıştır. Ancak Türk Gıda Mevzuatı (1999) “Koruyucular Bölümü”nde zeytin ve zeytin bazlı ürünler için sorbik asit ve sorbatların (potasyum sorbat ve kalsiyum sorbat) en çok 1000 ppm olarak katılabileceği bildirilmiştir. Benzoik asite izin verilmemiş, laktik asit, asetik asit ve askorbik asite GMP sınırlarında izin verilmiştir (Anon, 1999).

2.6. Mikotoksin Oluşumu ve Gıdalarda Bulunuşu

Mikotoksinler küfler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Birincil metabolitler küflerin gelişmeleri için gerekli olan bileşenleri içerir. Sekonder metabolitler ise sentezleyen organizmanın metabolizması ya da gelişimi üzerine belirgin bir öneme sahip değildir ve eksponansiyel büyüme fazı sonunda oluşmaktadır. Küflerde ikincil metabolitlerin sentezlenme yolları poliketit, terpenoid ve temel amino asitlerin kullanımı şeklindedir. Mikotoksinler, poliketit yoluyla sentezlenmektedirler (Jay, 1992).

1977 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Birleşmiş Milletlerin Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Birleşmiş Milletler Çevre Programı'nın beraber düzenlediği konferansta yedi mikotoksinin gıda ve yemlerde önemli düzeylerde bulunduğu belirtilmiştir. Bu mikotoksinler: aflatoksinler, okratoksin A, patulin, zeralenon, tichothecenler, sitrinin ve penisilik asittir (Jelinek ve diğ., 1989). Bu mikotoksinlerden bazıları mutajenik, bazıları kanserojenik iken bazıları belirli organlar üzerine toksik etkiye sahiptir. Yaklaşık 14 mikotoksinin kanserojenik olduğu bildirilmektedir ve mikotoksinler arasında kanserojen etkisi en fazla olan aflatoksindir (Jay, 1992).

Mikotoksinlerin sağlığa olan etkileri mikotoksiz olarak adlandırılır. İlk olarak *Claviceps purpurea* tarafından üretilen ergot toksini 9. ve 14. yüzyıllar arasında Orta Avrupa'da, çavdar ekmeğinin tüketilmesiyle kollarda şişkinlik, kızarıklık ve sıcaklık değişimlerine hassasiyetle kendini gösteren, kangren ve kolun kaybı ile sonuçlanan hastalığa sebep olmuştur. *Claviceps purpurea* ile kontamine olan tahıllardan üretilen ekmeğin tüketilmesi sonucu bu hastalık meydana gelmiştir. Japonyada 17. Yüzyılda *Penicillium* cinsi küflerinin neden olduğu “sarı pirinç” toksininin akut kardiyak beri beri hastalığına neden olduğu ve karaciğer kanseri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. 1960 yılında İngiltere’de, Güney Amerika ve Afrika’dan ithal edilen Aflatoksin B₁ içeren yerfıstığı küspesi ile beslenen 100 000 hindi ölmüştür ve bu hastalığa “Turkey X” adı verilmiştir (Moorman, 1990; Jones, 1993; Sweeney ve Dobson, 1998; Atkins ve Norman, 1998).

Gıda ve yemlerin mikotoksinlerle kontamine olması dünya çapında ekonomik ve sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Birleşmiş Milletlerin Gıda ve Tarım Örgütü dünyadaki gıdaların %25’inin mikotoksinlerle kontamine olduğunu tahmin etmektedir. Avrupa Birliğindeki ülkeler, gıda tedarikçilerine yüksek standartlar uygulaması nedeniyle gelişmekte olan ülkelere göre daha az risk altındadırlar (Atkins ve Norman, 1998).

2.6.1. Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Küfler optimum gelişme sıcaklıkları 25-30°C arasında değişen mezofilik mikroorganizmalardır. Genel olarak nem içeriği % 13.5-14.5’den düşük olduğunda

mikotoksin oluşumu gözlenmemektedir. %18-25 nem içeriğinde mikotoksin oluşumu maksimumdur (Moorman, 1990).

Mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler 3 grup altında toplanmaktadır (Erzurum, 2001):

1. Fiziksel Faktörler: Nem, sıcaklık, mekanik zararlanma, süre
2. Kimyasal Faktörler: Ortamdaki CO₂ ve O₂ konsantrasyonu, substratın kimyasal yapısı, substrata yapılan kimyasal uygulamalar, gübreleme
3. Biyolojik Faktörler: Küf konsantrasyonu, bitki dayanıklılığı, küf suşlarındaki genetik farklılık, mikroorganizmaların değişim ilişkileri

2.6.2. *Penicillium* Türlerinin Genel Özellikleri

Penicillium türlerinin çoğu saprofitir. Türlerin çoğu optimum gelişmeyi orta ve düşük sıcaklıklarda ve su aktivitesi (a_w) 0.9'un altında gösterirler. Bir çoğu toprak orijinlidir, bitki örtülerinin parçalanmasına ve gıdaların bozulmasına sebep olurlar (Pitt, 2000). *Penicillium* tanımlanmış 150 türüyle en geniş cinstir. Sınıflandırması öncelikle mikroskopik özelliklerine dayanır. *Penicillium* türü Pitt tarafından yapılan sınıflandırmaya göre *Aspergilloides*, *Furcatum*, *Biverticillium* ve *Penicillium* olarak dört alt türe ayrılmıştır. Önemli toksijenik ve gıda bozulmalarına neden olanlar *Penicillium* alt türünde bulunmaktadır. *Penicillium* cinsinin genel biyolojisi ve ekolojisi Tablo 2.6.'da verilmiştir. (Doyle ve diğ., 1997b; Pitt, 2002).

Tablo 2.6. *Penicillium* cinslerinin genel biyoloji ve ekolojisi (Pitt, 2002)

Tür veya alt tür	Geliştikleri substratlar	Gelişmeleri için gerekli minimum su aktivitesi (a_w)	Gelişmeleri için gerekli sıcaklık aralığı	Mikotoksin oluşumu
<i>Eupenicillium</i>	Toprak ve çok az sayıdaki gıdalarda	Yapılan çalışmalar az sayıdadır: çoğu >0.85 , bir kısmı kserofildir	Değişken, çoğu 37°C 'de	Seyrek
<i>Talaromyces</i>	Toprak	Bilinmiyor, <0.85 'in altında gelişemez	Min. $>5^{\circ}\text{C}$ Maks. Çoğu $> 37^{\circ}\text{C}$	Çok seyrek
<i>Aspergilloides</i> Alt türü	Toprak, gıdalar	Bazı türler kserofilik	Belli türler psikrotrofik, nadiren $>37^{\circ}\text{C}$ 'de gelişme gözlenir	Beklenmez
<i>Furcatum</i> Alt türü <i>Furcatum</i> bölümü	Toprak, bitki ve gıdaların çürümesi	Çoğu tür kserofilik	Genellikle psikrotrofik, nadiren $>37^{\circ}\text{C}$ 'de gelişme gözlenir	Bazı türleri toksijenik
<i>Furcatum</i> Alt türü <i>Divaricatum</i> bölümü	Toprak	Bazı türler kserofilik	Genellikle psikrotrofik, nadiren $>37^{\circ}\text{C}$ 'de gelişme gözlenir	Türlerin yarısı toksijenik
<i>Penicillium</i> Alt türü	Gıdalar	Çoğu tür kserofilik	Psikrotrofik, 37°C 'de gelişme istisnai olarak gözlenir	Çoğu tür bir veya daha fazla mikotoksin oluşturur
<i>Biverticillium</i> Alt türü	Toprak, bitki çürümesi ve çok az sayıdaki gıdalarda	<0.85 'in altında gelişemez	Min. $>5^{\circ}\text{C}$ Maks. Çoğu 37°C veya daha yüksek sıcaklıklarda	Beklenmez

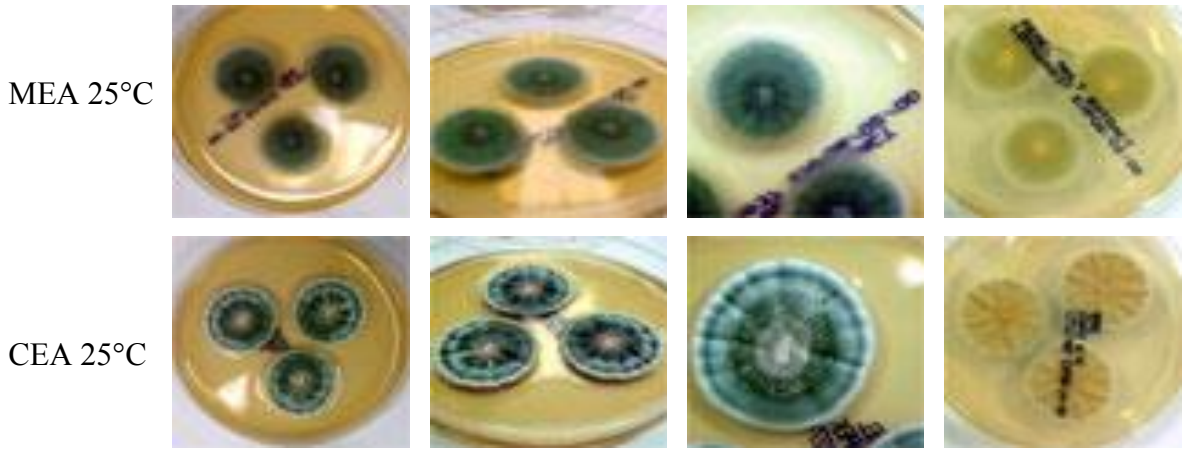
2.6.3. *Penicillium citrinum*'un özellikleri

P. citrinum, *Furcatum* alt türü ve *Divaricatum* bölümü içinde yer alır (Pitt, 2002). *Penicillium citrinum* 5 ile 40°C arasında gelişme gösterebilen bir mezofildir. Optimum gelişme aralığı $26-30^{\circ}\text{C}$ arasındadır. pH 2 ile 10 arasındaki ortamlarda gelişebilir. Gelişmesi için optimum pH aralığı 5-7'dir (Sweeney ve Dobson, 1998). *P. citrinum* kserofilik bir küf olup 25°C 'de minimum 0.80-0.84 su aktivitesi değerinde gelişebilir (Pitt ve Hocking, 1985). *P. citrinum* toksijenik küfler arasında en kserofilik olanlardan birisidir. Yapılan bir çalışmada $a_w = 0.775$ değerine kadar buğdayda varlığını sürdürebilmiştir (Camerio ve diğ, 1998).

Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda *P. citrinum*'a hemen hemen her türlü gıda maddesinde rastlanmıştır. Zeytin, fermente ve işlenmiş etler, kakao çekirdeği, peynir, kurutulmuş baklagil, şekerlemeler, baharatlar, pastacılık ürünleri, ekmek, soya sosu, yer fıstığı, fındık, mısır, hububatlar, soya fasulyesi gibi bir çok üründe *P. citrinum*

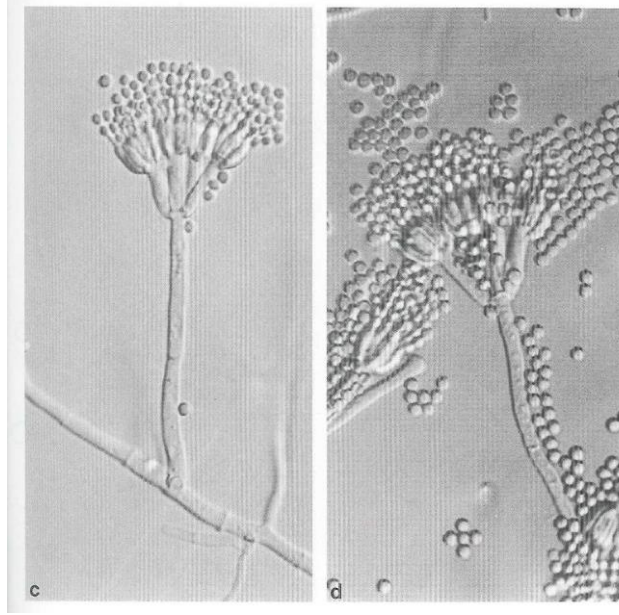
gelişme gösterebilmektedir (Pitt ve Hocking, 1985; Samson ve diğ., 1996; Doyle ve diğ., 1997b; Comerio ve diğ., 1998; Meriç, 2001, Meriç ve Heperkan, 2003).

P. citrinum'un Czapek Yeast Extract Agar (CYA)'da oluşturduğu koloniler 25-30 mm, Malt Extract Agar (MEA)'da oluşturduğu koloniler 14-18 mm, %25 Gliserol Nitrat Agar (G25N)'da oluşturduğu koloniler 13-18 mm çapındadır. 37°C'de gelişme olur fakat koloniler nadiren 7 günden sonra 10 mm'yi aşar. CYA'da 25°C'de oluşturduğu koloniler, merkezde sarı veya kahverengidir. MEA ise gelişmesi CYA'ya göre daha yavaştır (Doyle ve diğ., 1997b; Pitt, 1988). Şekil 2.3.'de *P. citrinum*'un MEA ve CYA besiyerindeki görüntüleri verilmiştir (Anon., 2003d).

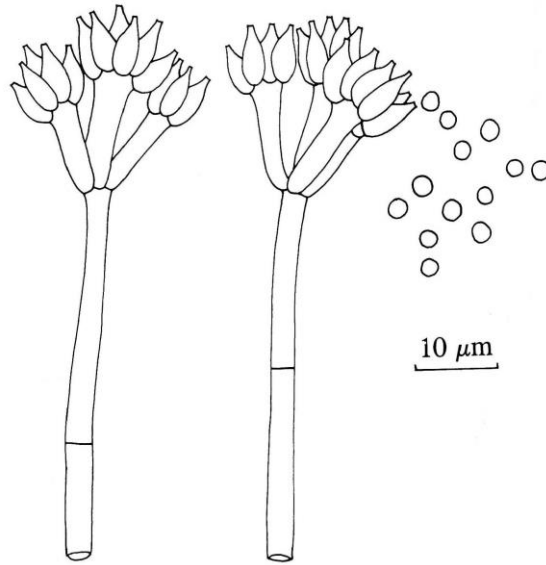


Şekil 2.3. *P. citrinum*'un MEA ve CYA'da gelişen kolonilerin görüntüleri (Anon., 2003d)

P. citrinum, hiflerinden kolaylıkla tanınabilir. Hifler 3-5 adet birbirinden uzak ve konidaları taşıyan metuladan oluşur (Pitt, 1988). Şekil 2.4.'de *P. citrinum*'un mikroskop altındaki görünüşü, Şekil 2.5'de yapısı gösterilmiştir (Samson ve diğ., 1996).



Şekil 2.4..*P. citrinum*'un mikroskop altındaki görünüşü (Samson ve diğ, 1996)



Şekil 2.5. *P. citrinum*'un yapısı (Samson ve diğ, 1996)

P. citrinum toksijenik bir kültür ve literatürde sitrinin toksini oluşturduğu belirtilmektedir (Frisvad, 1981; Frisvad, 1988; Trivedi ve diğ., 1993; Moss, 1996; Comerio ve diğ., 1998; Sweeney ve Dobson, 1998).

2.6.4. Sitrinin

Sitrinin ilk olarak 1931 yılında *P. citrinum*'dan izole edilmiştir. Antibakteriyal etkisi nedeniyle antibiyotik olarak kullanımı araştırılmış fakat toksikolojik çalışmalar sonucunda bu sekonder metabolitin, böbrek tübüllerine verdiği hasar nedeniyle nefrotoksin olduğu belirlenmiştir (Montani ve diğ., 1988; Comerio ve diğ., 1998).

2.6.4.1 Sitrinin Üreten Küfler

Literatürde sitrinin üreten küfler olarak *P. citrinum*, *P. lividium*, *P. implicatum*, *P. velutinum*, *P. fellutanum*, *P. citreovidine*, *P. jenseni*, *P. canescens*, *P. steckii*, *P. notatum*, *P. expansum*, *P. claviforme*, *P. citreonigrum*, *P. viridicatum*, *P. palitans*, *Aspergillus terreus*, *A. candidus*, *A. niveus*, *A. carneus*, *Clavariopsis aquatica*, *Blennoria sp.* olarak belirtilmiştir. Ayrıca Avusturalya'da bulunan tropikal bir bitki olan *Crotalaria crispata* tarafından da üretilmektedir (Scott, 1978; Frank, 1992; Samson ve diğ., 1996). Sitrininin en az 22 küf türü tarafından üretildiği rapor edilmiştir fakat gerçek sayının 5'den az olduğu bu sayılardaki farklılığın ise identifikasyonda yapılan hatalardan kaynaklandığı belirtilmiştir (Pitt, 2002). *P. citrinum*'dan farklı olarak sadece *P. expansum* ve *P. verrucosum* kesin sitrinin üreticisidir (Doyle ve diğ., 1997b; Pitt, 2002).

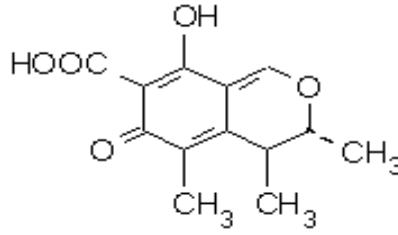
2.6.4.2 Sitrinin Oluşumu İçin Gerekli Optimum Koşullar

P. citrinum 15°C'den 37°C'ye kadar değişen sıcaklık sınırlarında sitrinin üretir. Sitrinin oluşumu için optimum sıcaklık 30°C'dir. Buğdayda sitrinin oluşumunun incelendiği bir çalışmada su aktivitesi (a_w) 0.80'dan düşük olduğunda sitrinin oluşmamaktadır. a_w değeri arttıkça oluşan sitrinin miktarının arttığı ve miktar olarak maksimuma ulaştıktan sonra aniden azaldığı belirlenmiştir (Montani ve diğ., 1988; Comerio ve diğ., 1998). Yapılan literatür taraması sonucunda buğday dışında diğer gıdalarda sitrinin oluşumu için gerekli minimum a_w değerinin belirlenmediği tespit edilmiştir.

2.6.4.3 Sitrininin Kimyasal Özellikleri

Moleküler formülü $C_{13}H_{14}O_5$ 'dir. Alkolden kristalize edildiğinde sarı renkli iğne şeklini alan bir bileşiktir. Erime noktası 170-179 °C'dir. Seyreltik NaOH, Na_2CO_3 ve

sodyum asetat çözeltilerinde, etanol, dioksan, seyreltik alkali çözeltilerde, aseton, benzen ve kloroformda çözünabilir özelliktedir. Kaynayan suda çözünürlüğü azdır fakat soğuk suda çözünmez. Aynı şekilde sıcak alkolde çözünür özellikte iken soğuk alkolde çözünmez. Çözelti ve katı formunda floresan ışığı altında bozunur. Isıl işlemlere diğer mikotoksinlere göre daha hassastır. Poliketid yapıdadır. Kimyasal yapısı Şekil 2.6.'da verilmiştir (Yang, 1991; Frank, 1992; Trivedi ve diğ., 1993; Scoo, 1994).



Şekil 2.6. Sitrininin kimyasal yapısı (Frank, 1992)

Sitrininin *Penicillium citrinum* tarafından biyosentezinin incelendiği bir çalışmada 5 asetat/malonat ve 3 karbon 1 ünitesinden, enzim reaksiyonuna bağlı poli-β-keton zinciri boyunca oluşturulduğu belirlenmiştir. Tioester enziminden ayrılan ve enzim içermeyen aromatik ketoaldehitin sitrinin oluşumunu başlatmaktadır (Barber ve diğ., 1981). Sitrininin yapısının incelendiği bir çalışmada sulu kloroform çözeltilerinde pH 7.4'te sitrinin, hidrat formunda bulunduğu ve hücre membranından geçen sitrininin bu hidratlarına dönüştüğü ve sitrininin antibakteriyal özelliği olarak bilinen DNA'ya etkisinin ikinci derece olduğu belirlenmiştir (Barber, ve diğ., 1987).

Chalam ve Stahr (1979) sitrininin oda sıcaklığında tutulması sonucunda parçalandığını bildirmişlerdir. Mısıra aşılanan *P. citrinum*'dan elde edilen sitrininin buhar ile işlem görmesi sonucunda parçalanması nedeniyle sitrininin ısıl işleme karşı hassas olduğu düşünülmüştür. Fakat toksisitesinde bir değişiklik gözlenmemiştir (Jackson ve Ciegler, 1978). Bu sonuçlar Chu'nun (1946) sitrininin otoklavlanmasından sonra antibiyotik özelliğini koruduğunu bulması ile paralellik göstermektedir. Jackson ve Ciegler (1978) sitrininin ısıl işlemle dekarboksile olduğunu ve dekarboksisitrinin veya dekarboksidihidrositrinine dönüştüğünü bu sebepten antibiyotik etkisini koruduğunu belirtmişlerdir. Sitrinin brot içerisinde oda sıcaklığında, buzdolabında ve asidik pH'larda stabil iken yüksek pH'larda daha az stabildir. Jordan ve diğ. (1977) Dimetilsülfoksit ve %50 oranında etanol içeren

Çözeltide eşit oranda   z ld    ve biyolojik aktivitesinin buzdolabında bir ay süre ile korunduğunu fakat aktivitesinin 90 C’de 10 dakika ısıtıldığında kaybolduğunu tespit etmişlerdir (Yang, 1991).

Sitrinin analizi ince tabaka kromatografisi (TLC) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılabilir. TLC yönteminde tespit limiti 1-20  g/kg, HPLC ile 0.1-0.001  g/kg’dır. Hububat ve yemlerde sitrinin varlığının tespiti amacıyla floresans sıvı kromatografisi ve ELISA yöntemi kullanılabilir. Bu yöntemle 30-60 dk arasında 15ng/g hassasiyetinde analiz yapılabilir. R-Biopharm (Almanya) firması tarafından RidaScreen  Hızlı Sitrinin Kiti adıyla piyasaya sürülmüştür. Toksisitesinin belirlenmesinde *Bacillus thuringensis*’in gelişmesinin inhibisyonu, *Serratia marcescens*’in pigment sentezlemesinin inhibisyonu ve *Azospirillum brasilense* ve *Proteus mirabilis*’in hareketliliğinin engellenmesi prensipleri kullanılmaktadır. HeLa hücrelerinin inhibisyonu da toksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. (Wilson ve di ., 1976; Frisvad, 1988; Frank, 1992; Trivedi ve di ., 1992; Abramson, 1999; Trucksess, 2000).

2.6.4.4 Sitrininin Toksisitesi

P.citrinum Thom tarafından üretilen sitrininin farelerdeki toksisitesi (LD₅₀:%50  ld r c  doz) injeksiyon ile 35 mg/kg, oral yolla 110 mg/kg’dır (Doyle ve di ., 1997b, Robinson ve di ., 2000).

Sitrininin toksikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan HeLa hücreleri için öldürücü toksisite değeri 25 ppm iken 1-10 ppm konsantrasyonundaki sitrinin hücrelerin çoğalmasını düşük oranda engellemektedir (Trivedi ve di ., 1992).

Sitrinin ortamda kanserojen ajanlar bulunduğunda laboratuvar hayvanlarında tümör oluşumunu arttırmaktadır. Sitrinin tek başına karsinojenik özellikte olmamasına rağmen, 25 ppm konsantrasyonunda okratoksin A ve 200 ppm sitrininin böbreklerde tümör oluşumunu arttırdığı belirlenmiştir. Yapılan deneylerde sitrinin verilen denek hayvanlarında dı kının kontrole göre 2.5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Leszkowicz ve di ., 2002).

Mikotoksinlerin kümes hayvanlarının vücudunda birikimi ve yumurtalarının mikotoksin içeriğini incelemek amacıyla 100 ppb konsantrasyonunda aflatoksin,

sitrinin, patulin 6 hafta süreyle hayvanlara, yemlerine karıştırılarak verilmiştir. Hayvanların vücudunun ve yumurtanın sarısının 10 ppb, beyazının 6 ppb konsantrasyonda sitrinin içerdiği tespit edilmiştir (Abdelhamid ve Dorra, 1990). Yemlerin sitrinin içermesi durumunda onu tüketen hayvanlarında sitrinin içerebileceği belirlenmiştir. Bu nedenle yemlerde de sitrinin oluşumu önlenmelidir.

10 ppm sitrininin köpeklerde böbrek tübüllerinde yaralara neden olduğu belirlenmiştir (Leszkowicz ve diğ., 2002).Yapılan çalışmalarda sitrininin okratoksin A ile sinerjistik etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bulgaristan, Romanya ve eski Yugoslavya halkında görülen Balkan Endemik Nefropati (BEN) hastalığına, bu bölgede yetişen hububat ürünlerinde oluşan okratoksin A ve sitrininin neden olduğu tespit edilmiştir. Yılda yaklaşık 200 000 kişinin bu hastalığa maruz kalmaktadır. Akut etkisi görülmeyen bu hastalığın, belirli bir periyot sonrasında ilk semptomları baş ağrısı, kilo kaybı, yorgunluk olarak belirlenmiş ve ölüm vakaları gözlenmiştir (Vrabcheva ve diğ., 2000).

1965 ve 1974 yılları arasında Bulgaristan'da 10⁵ kişiden 506 erkek ve 315 kadında BEN hastalığı gözlenmiştir. Daha sonraları BEN ve ürünler sistemde tümör oluşumu arasında bağlantı tespit edilmiştir. Dolayısıyla BEN hastalığı sadece nefrolojik değil aynı zamanda onkolojik bir problemdir. BEN hastalığı ile birlikte tümör oluşumu, genellikle 50-60 yaşlar arasında ve nadiren daha erken yaşlarda görülmektedir (Leszkowicz ve diğ., 2002).

2.6.4.5 Sitrininin Gıdalarda Bulunuşu

Sitrinine; buğday, çavdar, yulaf, fındık, baharat, et, yumurta, zeytin, pirinç, arpa, mısır, hububat ve süt ürünleri gibi geniş bir gıda yelpazesinde rastlanmıştır (Chelkowski ve Golinski, 1982; Jay, 1992; Sweeney ve Dobson, 1998; Oral ve Heperkan, 1999; Pugazhenti ve diğ., 2000; Bailly ve diğ., 2002).

1975-1980 yılları arasında hububat ve yemlerde yapılan mikotoksin taramasında 735 örnekten 3'ünde sitrinine 6 mg/kg konsantrasyonunda rastlanmıştır. 1981 yılında yapılan bir çalışmada ise 100 örnekten hiçbirinde bu toksine rastlanmamıştır. %30 nem içeriğinde 15°C'de 4 hafta süre ile depolanan tahıllarda 145 örnekten 12'sinde

en fazla 24 mg/kg konsantrasyonunda sitrinine rastlanmıştır (Chelkowski ve Golinski, 1982).

Kpodo ve diğ.(1996) tarafından fermente mısır ürünlerinde 584 µg/ kg oranında sitrinin tespit edilmiştir. Bulgaristan'daki buğday ve yulaf örneklerinde yapılan araştırmada en yüksek sitrinin konsantrasyonu 420 ng/g olarak belirlenmiş ve okratoksin A'nın 2-200 katı miktarlarda tespit edilmiştir (Vrabcheva ve diğ., 2000)

32 adet peynir örneğinden izole edilen 87 küfün 36'sı *P. citrinum*'dur. İzole edilen suşların 12'si besiyerinde, 5'i peynirde sitrinin oluşturmuştur (Pugazhenti ve diğ., 2000). Peynirde 20°C'de 10 gün inkübasyon sonucunda 600 mg/kg konsantrasyonunda sitrinin oluşumu belirlenmiş, peynir dilimlendikten sonra iç tabakalarında %33 oranında, 8 günlük inkübasyon sonucunda peynirlerde sitrininin başlangıç konsantrasyonunun %50'sinden fazlasının bozunmadan kaldığı ve stabilitesinde sıcaklığın bir etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir (Bailly ve diğ., 2002).

Abrunhosa ve diğ. (2001) tarafından yapılan çalışmada şarap üretiminde kullanılan üzüm sularında sitrinin oluşumu araştırılmış ve *P. expansum*'un 51 suşundan sadece bir tanesinin üzüm suyunda sitrinin oluşturduğu belirlenmiştir. Sitrinin oluşturan küflere kakao ve kahve tanelerinde gelişmelerine rağmen bu mikotoksini ve diğer mikotoksinleri sentezleyememektedirler. Bunun nedeni ise, kafeinin *P. citrinum*'un sitrinin sentezini inhibe etmesidir (Jay, 1992).

Oral ve Heperkan (1999) yaptıkları çalışmada *P. citrinum* ile aşılanan zeytin örneklerinde sitrinin oluşumunu tespit etmişlerdir. Meriç ve Heperkan (2003) İstanbul'da piyasadan temin ettikleri 42 zeytin örneğinin %80'ininde sitrinin (73-375 ppb) varlığını belirlemiştir.

İtalya'da doğal yolla üretilen fermente et ürününde olgunlaşma aşamasında ürün yüzeyinin mikoflorası incelenmiş ve 2 hafta sonra yüzeyde gelişen *P. verrucosum*'un sitrinin ve okratoksin oluşturduğu tespit edilmiştir (Andersen, 1995).

Portekiz'de yapılan bir araştırmada çürük içeren elmalarda %68.6 oranında patulin, %3,9 oranında sitrinin tespit edilmiştir. Patulin ve sitrininin aynı anda bulunma oranı

%19,6'dir. Elmalardaki sitrinin konsantrasyonu 0.32 ile 0.92 mg/kg arasında değişmektedir (Martins ve diğ., 2002)

Orta Asya'da pirincin *Monascus ruber* ile fermentasyonu sonucu angkak adı verilen kırmızı, sarı ve turuncu gıda boyası elde edilmektedir. Bu gıda boyasının Almanya'da kullanımı yasaklanmıştır. Angkak boyasının 50 mg/kg sitrinin içerdiği belirlenmiştir. Bu boyanın Almanya'da vejeteryanlar için üretilen sosis tipi ürünlerde kullanıldığı saptanmıştır (Wild, 2000).

2.6.5. Mikotoksinler İle İlgili Yasal Düzenlemeler

Ülkemizde sitrinin için henüz kabul edilmiş bir yoktur. Ancak gıda maddelerinde aflatoksin için kabul edilebilir en yüksek değer 0,01 ppm iken bebek gıdaları ve hazır karışımlarda 0,00001 ppm'dir (Anon., 1999).

Genelde sitrinin ile beraber bulunan okratoksin A için Brezilya'da mısır, pirinç, arpa ve baklagiller için 50 ppb, Çekoslovakya'da gıdaların tümü için 20 ppb ve çocuk maması için 1ppb, Romanya'da tüm gıdalar ve yemler için 5ppb olarak limit konulmuştur (Karadeniz ve Ekşi, 2002).

2.6.6. Mikotoksinlerin Parçalanması İçin Kullanılan Yöntemler

Mikotoksinlerin detoksifikasyonu; fiziksel, kimyasal veya biyolojik olarak toksinin inaktivasyonu veya gıda maddesinden kontamine olan bölümün ayrılması ile gerçekleştirilir (Doyle ve diğ., 1982; Sinha, 1998; Smith, 2001).

Başarılı bir detoksifikasyon yöntemi (Sinha, 1998);

- Ekonomik olmalı: toksini uzaklaştırılmış ürünler diğer ürünlerden fiyatı fazla olmamalı
- Uygulaması kolay, zaman almayan ve yetişmiş eleman ihtiyacı olmamalı
- Tüm aktif toksini yok edebilmeli ve kalan kimyasal kalıntılar sağlık açısından zararlı olmamalı
- Gıdanın besin değerini azaltmamalıdır.

2.6.6.1 Sitrininin Detoksifikasyonu

Gıdalardan sitrininin uzaklaştırılması:

1. Üründen ayırma

2. Kimyasal yapının parçalanması (ısıl işlem ve kimyasal maddeler) ile gerçekleştirilebilmektedir (Trivedi ve diğ.,1992).

Sitrininin aflatoksinler kadar güçlü floresan yayma özelliği olmadığı ve gıdalarda yayılı bir şekilde bulunduğundan, direkt olarak tespit edilmesi ve gıdalardan uzaklaştırılması zordur. Alternatif bir yöntem olarak gıdaların işlem görmesi veya pişirilmesi ile sitrininin detoksifikasyonuna çalışılmıştır. Sitrinin ısıl işlemle parçalanabilme özelliğine sahipse detoksifikasyon işlemi için sıcaklık uygulamalarının kullanılabileceği bildirilmiştir (Trivedi ve diğ, 1992).

Okratoksin ve aflatoksin ile yapılan çalışmalarda kaynatma, kızartma veya fırında pişirme gibi ısıl işlemlerin toksinin tamamını detoksifiye edilmesi için yeterli olmadığı bulunmuştur. Sprey kurutma ve otoklavlama gibi diğer işlemlerin bu toksinlerin %80'inden fazlasını parçalayabilir. Detoksifikasyon için gerekli olan sıcaklık ürünün nem içeriğine göre değişiklik göstermektedir. Tahıl ürünleri ile yapılan bir çalışmada başlangıçtaki okratoksin A'nın 3 saatlik otoklavlama işlemi sonucunda %12.5-17'lik kısmı, %50 oranında su ilave edildiğinde %35-50'lik kısmı gıdada kalmıştır (Scott, 1984; Trivedi ve diğ., 1992).

Kpodo ve diğ.(1996) tarafından mısır ürünlerinin fermantasyonu ve pişirilmesi sırasında sitrininin değişimi incelenmiş ve fermantasyonun sitrinin miktarını etkilemediği fakat pişirme işlemi sonrasında sitrininin tamamının yok olduğu belirlenmiştir. Fakat toksisitesindeki değişiklikler ve parçalandığı bileşiklerin araştırılması gerektiği bildirilmiştir.

Sitrinin ile yapılan detoksifikasyon çalışmaları sınırlıdır. %2 oranında amonyak içeren sulu çözelti sitrinini 30°C'de 6 günde detoksifiye etmiştir. % 0.5 NaOH ile 100-110°C'lik ısıl işlem ile arpadaki, % 2-14 propiyonik asit ile depolama sırasında mısırdaki sitrinin giderilmiştir. Sitrininin depolanan ürünlerdeki stabilitesi incelendiğinde mısırdaki 12 aylık bir sürede bozulmadan bulunduğu, ürünün su aktivitesi değerinin yarılanma ömrüne etki ettiği belirlenmiştir. Su aktivitesi değeri

(aw) 0.9 olan arpada 25°C 'de yarılanma ömrü 1.8 gün iken, aw = 0.7 olan mısırdaki 15.5 gündür. *Penicillium citrinum* ile kontamine olmuş esmer pirinçte öğütme işleminin etkisi incelenmiş ve kepek kısmında diğer kısımlara göre sitrinin miktarında artış görülmüştür. Tayland'daki mısır unlarında 10-98 ppb oranında sitrinin varlığı tespit edilmiştir (Scott, 1991).

Penicillium citrinum aşıl原因 olarak sitrinin oluşumu sağlanan mısırlarda, 121°C'de 20 dakika süre ile otoklavlama işleminden sonra sitrinin % 90 oranında azaldığı bildirilmiştir. Fakat farelere olan toksisitesinde bir azalma görülmemiştir. 132°C'de otoklavlanan arpada sitrinin tamamen parçalanmıştır (Scott, 1991).

Bira üretimi sırasında okratoksin A %2-7 ile %14-28 arasında değişen oranlarda son üründe kalmaktadır fakat sitrinin bira üretimi sırasında parçalanmaktadır (Scott, 1984). Sitrinin bira üretiminde ezme işlemi sırasında parçalandığı bildirilmiştir (Odhav ve Naicker, 2002). Elma suyunda ise stabil olmadığı belirlenmiştir (Scott, 1984).

Meyvelerdeki mikotoksin oluşumunun önlenmesinde gama radyasyonunun etkisinin incelendiği bir çalışmada üzüm, incir ve elmada sırasıyla 70, 60 ve 50 µg/kg oranında sitrinin tespit edilmiştir. 1.5 kGy ve 3.5 kGy dozlarında gama radyasyonu ile işlem gören meyvelerde 14 ve 28 gün inkübasyon sonunda sitrinin oluşumu gözlenmemiştir (Aziz ve Moussa, 2002). Peynirlerde *Penicillium citrinum* inhibisyonu ve sitrinin oluşumunun engellenmesi amacıyla karanfil yağının temel bileşeni olan eugenol ve kekik yağından elde edilen thymol kullanılmış fakat ikisinde sitrinin oluşumunda inhibitör etkisi belirlenmemiştir (Vazquez ve diğ., 2001).

Alkali ve asidik koşullarda pirinçteki sitrininin ısıt işlem görmesi sonucunda floresan özelliği azalmıştır. Fakat bu bozunmanın sitrininin tamamını detoksifiye edip etmediği ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Asit çözeltilerde kararsız bir bileşik olan sitrinin; asidik ve alkali koşullarda ısıt işleme karşı hassastır (Trivedi ve diğ., 1992).

Saf sitrinin toksininin ısıt işlem ile değişiminin incelendiği bir çalışmada saf sitrinin ortamda farklı su miktarları bulunduğunda değişen toksisitesi incelenmiştir. Detoksifikasyon için gerekli olan sıcaklık ürünün nem içeriğine göre değişiklik göstermektedir. Sitrinin detoksifiye etmek için gerekli sıcaklık kuru ortamda; 160°C,

çok az su ilavesi ile; 130°C; su içeren ortamda; 100°C'dir. Az miktarda su ilavesi ile detoksifikasyon sıcaklığında 30 °C'lik düşüş görülmüştür. Sitrinin su içeren ortamda 140°C'ye ısıtıldığında daha toksik yeni bir bileşen ortaya çıkmıştır. Bu bileşik 150°C'nin üzerinde ayrılmıştır. Nem oranı azaldıkça sitrininin detoksifiye edilmesi için gerekli sıcaklık artmaktadır (Trivedi ve diğ., 1992).

Trivedi ve diğ. (1993a) sulu koşullarda sitrininin parçalanmasını ve sitrininden oluşan diğer bileşiklerin toksisitesini incelemişlerdir. İnce tabaka kromatografisinde (TLC) sitrinin standartının Rf değeri 0.35-0.45 arasında değişmektedir. Isıtma süresi arttıkça; 80, 100 ve 120°C'lerde sitrinin spotu azaldığı ve 100-120°C'de süre uzadığında tamamen yok olduğu belirlenmiştir. Isıtma sıcaklığı 80 °C'den 130°C'ye çıkarıldığında spotun kaybolma hızı artmıştır. 100°C'de 60 dakika'da, 120°C'de 20 dakika'da, 130°C'de 10 dakika'da spot tamamen kaybolmuştur. 90°C'nin üzerinde Rf'leri 0.85'ten büyük olan 4 farklı grup bulunmuştur ve Grup I olarak tanımlanmıştır. 110, 120 ve 130 °C'lerdeki sıcaklıklarda Rf değeri 0.5-0.8 olan spotlar ortaya çıkmıştır ve Grup II olarak tanımlanmıştır. Grup I sitrininden oluşmuştur sıcaklık veya süre arttıkça Grup II'ye dönüşmüştür. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan analizler sonucunda sitrininin; 80°C 30 dk'da; %45 oranında; 60 dk'da; %50 oranında azaldığı belirlenmiştir. 90°C 10 dk'da sitrinin miktarı %55'e düşmüştür. 100°C ve 110°C'de sıfırıncı dakikada sitrinin miktarında %50-55 oranında azalma görülmüştür. Daha sonraki 20 dakika'da sitrinin miktarında bir değişme görülmemiştir. 110°C için ise sadece %10 oranında değişim görülmüştür, 20 dk sonrasında sitrinin azalması hızlanmış ve 60 dk sonunda 100°C'lik için %25, 110°C için %18 oranında sitrinin kalmıştır. 120°C sıfırıncı dakikada %58 oranında azalma, 120°C 20 dakikada %80 azalma görülmüştür. İlerleyen sürelerde miktarlarda bir değişiklik görülmemiştir. 130°C'de %90 oranında azalma görülmüş ve zamanla bu miktarda değişme görülmemiştir.

Sitrinin standart konsantrasyonunun (2,7 µg/ well) %49 sitotoksitesi vardır. 80°C'de 20-60 dakika işlem gören sitrininin, standart solüsyon ile benzer toksisitesi mevcuttur. 90, 100 ve 110 °C'lerde 10 dakika işlem gören örneklerin toksisitesinde %35'ten %75'e bir artış görülmüştür. Bu miktarın 2,7 µg/ well konsantrasyonundaki sitrinin standartından %25 daha fazla toksisitesi var demektir. 90-110°C arasındaki bu artan toksisite Grup I'in sitrininden daha toksik olduğu sonucuna varılmaktadır.

120°C'lik işlemde ilk 30 dk'da sitrinin standartından daha fazla sitotoksositeye sahip olmuştur. 30 dakika sonra yaklaşık olarak başlangıç değerine yakın bir değere kadar azalmıştır. 130°C'lik işlemde ilk 10 dk'da %11'e 40 dk sonra ise sitotoksitesi belirlenememiştir. 90-110°C sıcaklığı arasındaki sitrinin parçalanması sırasında, sitrininden daha toksik bir bileşen olan başka bir bileşen ortaya çıkmaktadır. 120°C'de de bu toksik bileşen oluşmuştur fakat 60dk sonunda toksisite baştaki değere dönmüştür. Bu değerlerin TLC sonuçları ilede ilişkili olduğu belirlenmiştir. TLC sonuçlarında Grup I'in birçok spotu olduğu belirlenmiştir. Düşük Rf değerli spot 90, 100 ve 110°C'lik işlemlerde 10 ila 60 dakika ısıtma işlemi sonucunda oluşmuştur. Bu spot 120°C'de 0, 10 ve 20 dakikada da oluşmuş ve 30 dakika sonrasında azalmaya başlayıp kaybolmuştur. 130°C'de ise 0. dakikada görülmüş 10 dakikadan sonra azalmıştır. 0. dk; 130°C'lik işlemde sitrinin daha yüksek toksisiteye sahip Grup I bileşenlerine çevrilmiştir. 130°C 1. Grup'u detoksifiye edip Grup 2'ye çevirmiştir, bu bileşen ise 130°C 10 dk'dan sonra hiç toksisite göstermemiştir (Trivedi ve diğ., 1993a).

Sitrininin farklı su miktarlarında sıcaklık ile parçalanmasının incelendiği bir başka çalışmada, 1 ml (200 µg) sitrinin kuru, 8 µl distile su ve 150 µl distile su içeren ortamlarda ısıtma işlemi tabi tutulmuştur. Kuru koşullarda sitrininin 160°C'de parçalanmaya başlamış ve 175°C'de sitrinin tamamen kaybolmuştur. Yarı nemli ortamda ise 140°C'de sitrinin tamamen parçalanmıştır. Nemli ortamda 160°C'de parçalanmıştır. Isıtma işleminin sitrininin toksisitesine olan etkisi incelendiğinde nemli ortamda 140°C'de sitrininden daha toksik bileşenler ortaya çıkmıştır (Kitabake ve diğ.,1991).

Trivedi ve diğ. (1993 b) daha önce sitrininin detoksifikasyonunu inceledikleri çalışmalarda 140°C'de sitrininden daha toksik bileşenler ortaya çıktığını belirterek bu bileşenleri araştırmışlardır. Ağırlık bazında sitrininden 10 kat daha toksik bir bileşen olan sitrinin H1, sitrininin 100°C'de 30 dakika ısıtılması sonucunda da oluşmaktadır. 4 mg sitrinin H1, 500 mg sitrininden oluşmaktadır. Sitrinin H1, sitrinin molekülünden türetilen iki konjuge halka sistemi ile oluşmuştur. Sitrinin H1 oluşumu iki farklı yolla gerçekleşir ve düşük sıcaklıklardaki işlemlerde sitrinin H2 adı verilen daha az toksik bir bileşen oluşumu söz konusudur.

Hirota ve diğ. (2002) sitrinin H₂'nin oluşumu ve toksisitesini incelemişlerdir. Sitrinin molekülünün birinci karbonuna su eklenmesi, dekarboksilasyon ve halka yapısının açılımı ile oluşmaktadır. 140-160°C'de 200 µg sitrinin 30-45 µg sitrinin H₂'ye dönüşmektedir. Sitrininin yaklaşık olarak %20'si sitrinin H₂'ye dönüşmektedir. Isıtma sürelerinin 60 dakikaya kadar uzaması bu oranı değiştirmemektedir. 120-130°C'de 20 dakikada, 100°C'de 40-60 dakikada aynı dönüşüm yüzdesi elde edilmektedir. 80°C'de 60 dakika işlem sonucunda 200 µg sitrininden, 12 µg sitrinin H₂ oluşmuştur. Toksikolojik çalışmalarda kullanılan HeLa hücrelerinin inhibisyonuna dayanan sitotoksiste testleri sonucunda sitrinin ile sitrinin H₂'nin toksisiteyi karşılaştırıldığında sitrininin sitotoksitesi %73 iken, sitrinin H₂'nin sitotoksitesi %39'dur.

Sitrinin % 0.05 konsantrasyonunda hidrojen peroksit ilavesi ile 60dk'da oda sıcaklığında detoksifiye edilmiştir. Sitrinin 100°C 30 dk tutulmuş ve sitrinin H₁ oluşumu sağlanmış, sonra H₂O₂ ile oda sıcaklığında bekletilmiştir. Oluşan sitrinin H₁ nedeniyle işlem gören toksinin toksisitesi azalmamıştır. Çözelti ikinci kez 100°C 30 dk %0.05 H₂O₂ ile ısıtılmış ve sitrinin yok olmuştur. Diğer kimyasalların sitrinin üzerine etkisi araştırılmış glukoz, fruktoz, D-glukoronik asit, d-galaktronik asit, L-glutamik asitin monosodyum tuzu, pektin, alginik asit'in sitrininin toksisitesinde bir değişikliğe yolaçmadığı, 2-merkaptetanöl ve ditihioetiol'un sitrinin toksisitesini azalttığı fakat hidrojen peroksit kadar etkili olmadığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda hidrojen peroksitin sitrinini detoksifiye ettiği ve daha toksik diğer bileşiklere dönüştürmediğinden, sulu ortamlarda ısıtmak yerine hidrojen peroksit ile detoksifikasyon işleminin gerçekleştirilebileceği belirlenmiştir (Fouler ve diğ., 1994).

Trivedi ve ark.(1993) ifade ettiği gibi gıdalarda bulunan tüm mikotoksinlerin kontrolü imkansız ve gereksizdir. Bu nedenle yüksek konsantrasyon ve düşük toksisite ile düşük konsantrasyon ve yüksek toksisiteye sahip mikotoksinlerin gıdalardan uzaklaştırılması gereklidir. Gerçekleştirilen detoksifikasyon işlemi sırasında yeni toksik bileşiklerin oluşumundan kaçınılması gerekmektedir.

2.7. Gıdalarda mikrodalga uygulamaları

2.7.1. Mikrodalga ısıtmanın temel ilkeleri

Mikrodalgalar elektromanyetik enerjidir. Mikrodalga enerjisi iyonların yer değiştirmesi ve dipollerin dönüşüyle moleküler harekete neden olan iyonize olmayan radyasyondur. Mikrodalga enerjisi moleküler yapıda herhangi bir değişikliğe sebep olmamaktadır. Mikrodalgaların dalgaboyları 0.5-50 cm arasında olup frekansları 300-300.000 MHz arasındadır. Federal Haberleşme Komisyonu (FCC) tarafından endüstriyel, tıbbi ve bilimsel olarak kullanılmasına izin verilen mikrodalga frekans ve dalgaboyları Tablo 2.7.'de verilmiştir. Gıda endüstrisinde genellikle 2450 ve 915 MHz frekans bandı kullanılmaktadır (Datta ve Davidson, 2001; Rosenthal, 1992; Curnutte, 1980).

Tablo 2.7. Endüstriyel, tıbbi ve bilimsel kullanım için izin verilen mikrodalga frekans ve dalgaboyları (Datta ve Davidson, 2001)

Frekans (MHz)	Merkezi dalgaboyu (cm)
915±25	32,8
2450±50	12,2
5800±75	5,2
24125±125	1,4

Isı molekül hareketi sonucu kinetik enerjinin ısı enerjisine dönüşmesi ile oluşur. Isı iletim, taşınım ve ışıınım ile iletilmektedir. Mikrodalga fırınlar enerjiyi ışıınımla yaymaktadırlar. Konvansiyonel ısıtmada gıdanın dış yüzü fırın içerisindeki sıcak hava ile taşınım yolu ile ısınır. Farklı ısı kaynakları tarafından yayılan kızılötesi dalgalar gıda maddesi tarafından absorplanır ve böylece gıdanın yüzeyi ince bir tabaka halinde ısınır. Isınmamış geri kalan bölümler ise yüzey iletimi ile ısınır. Fakat gıda içinde ısı iletimi çok yüksek olmadığından gıdanın tamamının ısınması için gerekli olan süre uzundur. Gıdaların mikrodalga fırınlar kullanılarak ısıtılmasında dalgalar gıdaya penetre olur ve belli bir sıcaklığa ulaşmak için gerekli olan süre konvansiyonel yöntemlere göre daha kısadır (Curnutte, 1980).

Mikrodalgalar ile ısı oluşumun açıklayan iki önemli mekanizma iyonik polarizasyon ve dipol rotasyondur. İyonik polarizasyon mekanizmasına göre; iyon içeren gıda

solüsyonlarına bir elektrik alan uygulandığında iyonlar hızla hareket etmeye başlarlar ve kinetik enerjinin ısı enerjisine dönüşmesi ile ısı açığa çıkar. Dipol rotasyon mekanizması polar moleküller ile açıklanmaktadır. Gıdalar yönleri rasgele olan polar moleküller içermektedirler. Elektrik alan uygulandığında bu moleküller kendilerini elektrik alanın kutupsallığına uygun olarak yönlendirmektedir. Mikrodalgalarda kutupsallık 2450 MHz'de 2.45 milyar kez değişmektedir. Kutupsal moleküller, düzenlerini korumak için hızla değişen kutupsallıkla birlikte dönmektedirler. Moleküllerin dönüşleri etraflarını çevreleyen ortam ile aralarında sürtünmeye sebep olmakta ve ısı oluşmaktadır (Rosenthal, 1992; Annis, 1980).

Yağ gibi polar olmayan maddelerde mikrodalganın tutulması ise şu şekilde olmaktadır. Bu maddelerde elektrik yükleri simetrik olarak dağıtılmıştır. Böyle bir maddeye elektrik alanı uygulandığında, pozitif yükler alan yönünde bir kuvvetin, negatif yükler de alana ters yönde bir kuvvetin etkisinde kalırlar. Bu durum yüklerin orijinal simetrik konumlarından yer değiştirmelerine yol açar ve molekül polarize olur. Bu dolaylı polarizasyon, elektromanyetik dalga elektrik alanının moleküller etkileşmesini sağlar (Curnutte, 1980).

Mikrodalgalar temas ettikleri madde tarafından absorbe edilmekte, yansıtılmakta veya hiçbir değişikliğe uğramadan maddenin içinden geçerek hareketine devam etmektedir. Cam, seramik ve birçok termoplastik maddeden yapılmış ambalaj malzemeleri mikrodalgaları absorplamaz veya çok az absorplayarak içlerinden geçmesine izin verirler (Annis, 1980; Rosenthal, 1992).

Ev tipi mikrodalgalar ile endüstriyel kullanım için dizayn edilen mikrodalgalarda genel olarak aynı ekipmanlar bulunmaktadır. Mikrodalgalar katod ve anoddan oluşan bir jeneratör tarafından oluşturulmaktadır. Magnetron tarafından oluşturulan bu elektromanyetik alan dalga yayıcı ile gıdanın pişirileceği bölgeye yönlendirilir (Stolle ve Schalch, 2000). Magnetronda enerji üretildiğinde, katottaki elektron yayıcı faaliyete geçer ve elektronları katot ve anot arasındaki vakum boşluğa gönderir. Anot, titreşmeyi sağlayarak elektrik alan üreten boşluklardan oluşmaktadır. Manyetik alan magnetronu çevreleyen mıknatıs tarafından üretilir. Elektronun enerjisi alanlar tarafından tutularak magnetrondan antene doğru dalgalar şeklinde gitmektedir. Anten titreşen dalgaları fırın boşluğuna iletmeleri için dalga yönlendiricisine göndermektedir. Dalgalar fırın boşluğuna girdiklerinde karıştırıcı tarafından

dağıtılmaktadır. Mikrodalga'nın içerisinde farklı yoğunlukta enerji alanları oluşur. İdeal halde bu alanlar arasındaki uzaklık yaklaşık 7cm'dir. Yüksek yoğunluklu enerji alanlarına "sıcak noktalar", düşük enerjili alanlara ise "soğuk noktalar" denir. Karıştırıcının hareketi ile fırın boşluğunda oluşabilecek sıcak ve soğuk noktalar en aza indirilir. Ayrıca ısınan besinin yaydığı sıcaklık sonucu ısınan havanın fırın içerisinde birikmesini önlemek amacıyla bir havalandırma sistemi bulunur (Rosenthal, 1992; Stolle ve Schalch, 2000).

2.7.2. Mikrodalga Isıtmanın Avantaj ve Dezavantajları

Mikrodalga kullanımının avantaj ve dezavantajları Rosenthal (1992) tarafından özetlenmiştir.

Avantajları:

1. Birçok mikrodalga ile ısıtma işlemi konvansiyonel ısıtma işlemine göre daha hızlı, ekonomik ve kontrolü kolay bir ısı kaynağıdır.
2. Paketlenmiş ürünlerinde ısıtılmasına olanak sağlar.
3. Temiz bir prosesdir.
4. Konvansiyonel ısıtma ekipmanlarından daha az yer kaplar.
5. Gıdaların istenilen şekilde pişirilebilmesi için diğer ısı kaynakları ile beraber kullanılabilir. Örneğin mikrodalga kullanılarak pişirilen ekmeklerde istenilen rengin ve kabuğun oluşumu için konvansiyonel yöntemlerde beraber kullanılır.
6. Proses kayıplarında azalma sağlar.
7. Mikrodalgalarda pişme süresince fırın ve ortamın ısınması için enerji ve zaman harcanmaz. Mikrodalga fırınlar kullandıkları elektrik enerjisinin %40-50'sini besinlerin ısıtılması için kullanırken bu oran konvansiyonel fırınlarda %10'lara kadar düşmektedir (Ökmen, 2003).

Dezavantajları:

1. Mikrodalgalar gıdanın içerisinde bir ısıtma sağladığından sıcaklık dağılımı daha homojen olur ve yüzeyin fazla ısınması engellenebilir. Fakat mikrodalgaların emilimi gıdaların elektromanyetik özelliklerine bağlıdır ve bazı gıda bileşenleri ısıyı diğer bileşenlerinden daha hızlı iletirler (Rosenthal, 1992). Termal etkilerin aynı olmaması mikrodalgaların mikrobiyal inaktivasyonda kullanımını sınırlamaktadır (Doyle ve diğ., 1997a)
2. Keskin köşeli şekle sahip gıda maddelerinde köşelerde ısınma fazla olur ve büyük gıdalarda beklenenden düşük ısıtma meydana gelebilir.
3. İlk yatırım maliyeti konvansiyonel yöntemlere göre yüksektir.
4. Güvenlik kuralları konvansiyonel yöntemlerden farklıdır.
5. Gelişmiş bir teknoloji olduğundan endüstriyel uygulamalarında kalifiye personel ihtiyacı doğurur.
6. Konvansiyonel yöntemlerde ısınmaları uzun süre alan katı ve yarı katı gıdaların mikrodalga ile pastörizasyon ve sterilizasyonunda istenilen proses sıcaklıklarına kısa sürede ulaşılır. Bakteriyal inhibisyonun hedeflendiği yüksek sıcaklık kısa süre uygulamalarında mikrodalga kullanımının avantajları vardır. Fakat istenen bileşenlerin termal parçalanması için bu süreler yeterli olamamaktadır (Datta ve Davidson, 2001).

2.7.3. Mikrodalga ile Isıtmayı Etkileyen Faktörler

Gıda maddelerinin mikrodalgada ısıtılmasını etkileyen faktörler; gıdanın özellikleri, paketleme materyalinin özellikleri, proses koşulları ve kullanılan ekipmanın özellikleri olarak dört ana grupta toplanabilir. Gıdanın boyutu, şekli, fiziksel hali, bileşenleri, paketleme materyalinin özellikleri, proses ortamında gıdanın etrafında su, yağ veya hava bulunması, kullanılan ekipmanın boyutları, şekli, elektromanyetik özellikler, frekansı, karıştırıcının özellikleri mikrodalgada ısıtma işlemini etkileyen temel faktörlerdir (Rosenthal, 1992; Datta ve Davidson, 2001).

Gıdanın su içeriği mikrodalganın gıdayı ısıtabilmesi için çok önemli bir parametredir. Birçok gıdanın su içeriği %50-90 arasında değişmektedir. Yüksek su içerikleri daha fazla mikrodalganın absorpsiyonuna ve etki kalınlığının azalmasına sebep olur. Genellikle su miktarı yüksek olduğunda büyük dielektrik kayıp faktörü nedeniyle daha fazla ısınır. Fakat nem içeriği düşük olan gıdalar da, düşük ısı kapasitesi nedeniyle fazla ısınabilirler. Bunun nedeni nem içeriği azaldıkça dalga etki kalınlığının artmasıdır. (Heddleson ve Doores, 1994).

Isıtmada etkili diğer bir faktör kullanılan mikrodalganın frekansıdır. Kullanılmasına izin verilen frekanslarda 2450 MHz'in dalgaboyu 0.12 iken 915 MHz'de 0.33'dür. Etki kalınlığı mikrodalga enerjinin materyal tarafından absorplanıp başlangıçtaki değerinin %37'sine düşmesi için gerekli materyal kalınlığıdır. Dalga boyu ve etki kalınlığı arasındaki bağlantı 2.1 eşitliğinde verilmiştir (Heddleson ve Doores, 1994).

$$D = \lambda_0 \times (\epsilon')^{1/2} / (2\pi \times \epsilon'') \quad (2.1.)$$

D=Etki kalınlığı

λ_0 =Boşlukta dalga uzunluğu (cm)

π = 3,1415

ϵ' =relatif dielektrik sabiti

ϵ'' =relatif dielektrik kaybı

Dalgaboyu arttığında veya frekans azaldığında etki kalınlığı artmaktadır. Dielektrik kayıp faktörü de frekanstan etkilenmektedir. Sulu çözeltiler için düşük frekans küçük dielektrik kayıplarına sebep olmaktadır. Çözeltide serbest iyonlar bulunması durumunda ise düşük frekanslarda kayıp faktörü artmaktadır. Yapılan bir çalışmada yüzey veya merkezi ısınma modellerinin kullanılan mikrodalga frekansından direkt olarak etkilendiği belirlenmiştir. Genel olarak yüzeyin ürünün geometrik merkezinden daha sıcak olmasını sağlayan yüzey ısınma etkileri 2450 MHz'de geçerlidir. Bu ürünün şekline, boyutuna ve tuz içeriğine bağlı olan merkezi ısıtma etkileri ile zıtlık yaratmaktadır (Heddleson ve Doores, 1994).

Isıtma için kullanılan enerji miktarı ile materyalin toplam kütlesi veya gıda parçalarının boyutları arasında direkt bir ilişki vardır. Mikrodalga ısıtmada en önemli

faktör etki kalınlığı ve ısı iletkenliği olduğundan ısıtılacak materyalin boyutları da önem kazanmaktadır. Eğer gıda parçalarının boyutları dalga uzunluğuna göre çok büyük ise yüzeysel ısınma görülmekte, dalga uzunluğuna yakın boyutlarda ise sıcaklık merkezde daha yüksek olmaktadır. Gıdanın şekli burada önem kazanmaktadır. Uygun şekilli gıdalar homojen ısıtılabilirken, gıdaların ince bölgelerinde kalın bölgelere göre aşırı ısınma görülebilmektedir. Mikrodalga enerjisi azaltılarak ve ısıtma süresi arttırılarak bu aşırı ısınma kontrol edilebilir. Mikrodalga ısıtmada küre, enerji merkeze odaklanıp homojen bir ısıtma gerçekleştiğinden en uygun şekil olarak belirtilmiştir. Dikdörtgen şekilli gıdalarda köşelerde aşırı ısınma görülür bu bölgelerin alüminyum folyo ile kaplanmasıyla bu etki önlenabilir. Sadece mikrodalgalara özgü bir kavram olan merkezi ısınma etkilerine göre, yuvarlak hatlı gıdalarda köşelerin ısınması azalır ve merkezi ısınmayı etkileyen faktörler ürünün çapı, iletkenliği ve mikrodalga frekansıdır. Ürünün yoğunluğunun da ısınma üzerine etkisi büyüktür. Düşük yoğunluklu gıdalar, aynı bileşime sahip daha yoğun gıdalara göre eşit enerji absorpsiyon seviyesinde daha hızlı ısınmaktadırlar. Hava düşük dielektrik sabiti nedeniyle mikrodalgalara geçirgendir. Bu sebeple ortamda hava varlığında absorplanan mikrodalga enerji miktarı azalmakta ve etki kalınlığı artmaktadır. Ekmek hamuru gibi hava içeren gıdaların iletim ile geleneksel ısıtılmaları havanın ısı izolasyonu yapması nedeniyle yavaştır. Bu tür gıdaların mikrodalga ile ısıtılması yüksek etki kalınlığı sayesinde daha hızlı olmaktadır (Rosenthal, 1992; Heddleson ve Doores, 1994).

Düşük özgül ısılı bileşikler mikrodalgalar ile kolaylıkla ısıtılabilirler. Buna verilen en iyi örnek yağın relatif dielektrik sabiti ($\epsilon' < 3,1$) ve kayıp faktörü ($\epsilon'' < 0,1$) suya (20°C 'de $\epsilon' = 81$) göre küçük olmasına rağmen, ısı kapasitesi ($2\text{kJ/kg}^{\circ}\text{C}$), suyun ısı kapasitesinin ($4,2\text{ kJ/kg}^{\circ}\text{C}$) hemen hemen yarısı olması nedeniyle suya göre daha hızlı ısınmasıdır (Rosenthal, 1992; Heddleson ve Doores, 1994; Datta ve Davidson, 2001).

Bir gıda maddesinin sıcaklığını arttırmak için gerekli olan güç (P) 2.2. formülünde verilmiştir (Stolle ve Schalch, 2000):

$$P = 2 \times \pi \times f \times E^2 \times \epsilon' \times \epsilon'' \times \tan \delta \quad (2.2)$$

P= Absorbe edilen güç

$$\pi= 3.1415$$

ϵ^l =relatif dielektrik sabiti

ϵ^o =elektrik alan sabiti

f= mikrodalga frekansı

E= dielektrik alan şiddeti

$\tan \delta$ = kayıp faktörü

Bu formülden görülebileceği gibi dielektrik katsayısı düşük olduğunda absorbe edilen güç ve mikrodalga işlemi uygulanan gıda maddesindeki sıcaklık artışı azalmaktadır. Bunun yanında mikrodalga frekansı, su miktarı, başlangıç sıcaklığı ve gıdanın veya ortamın dielektrik sabiti sıcaklık değişimlerinde dikkate alınmalıdır (Stolle ve Schallch, 2000).

2.7.4. Mikrodalga Fırınların Sağlık Üzerine Etkileri

Bütün elektromanyetik ışınlar foton adı verilen parçacıklar halinde yayılır. Fotonların sahip olduğu enerji dalga boyları ile ters orantılıdır. Mor ötesi ışınlar, X-ray ışınları ve Gamma-ray ışınları sahip oldukları kısa dalga boylarına bağlı olarak yüksek enerji düzeylerine sahiptir. Bu yüksek enerji düzeylerine maruz kalan organik moleküllerin yapısında oluşan kimyasal değişiklikler organizmalarda mutasyonlar ve kanserli hücre oluşumları ile sonuçlanabilir. Ancak mikrodalga fotonlarının enerji düzeyleri o denli düşüktür ki ancak bir su molekülünün artı eksi kutupları arasında titreşmesine neden olabilir. Bu nedenle mikrodalga ile pişirilen gıdalarda sağlığa zararlı kimyasal değişimler oluşması beklenmemektedir. Mikrodalgalar ışık ışınları gibi çok hızlı hareket ettiklerinden besin tarafından kısa bir süre için soğurulduktan sonra geri yayılır. Besinin içindeki su tarafından soğurularak ısıya dönüşmeyen kısım gıda maddesi içinde birikime neden olmadan besin maddesini terk eder. Mikrodalga fırında pişmiş bir gıdada mikrodalga radyasyonu birikmiş olma ihtimali yoktur. Mikrodalga ile pişirilen gıdalarda serbest radikal bulunma ihtimali diğer yöntemlerle pişirilen gıdalardaki ile aynıdır. Çünkü oluşabilecek serbest radikaller mikrodalga radyasyonu sonucu değil, mikrodalga enerjisinin ısı enerjisine dönüşmesi ile pişirme için kullanılan yüksek sıcaklık sonucu oluşmuştur. Mikrodalga enerji kullanıldığında

pişirme süresi konvansiyonel yöntemlerden daha kısa olduğundan bazı uygulamalarda besin değeriindeki kayıpların azaldığı gözlenmiştir (Ökmen, 2003).

Yapılan araştırmalarda direkt olarak mikrodalgalarla aşırı maruz kalan kişilerde yanıklar oluştuğu, sperm hücrelerinin öldüğü, hatta iç organlarda haşlanma pişme gibi sonuçlar görülebileceği saptanmıştır. Ancak kan dolaşımının hızlı olduğu kaslı bölgelerde oluşan ısı kan akışı ile hızla vücuda yayılacağından ciddi hasarlar görülmeden kaslarda oluşan ısıнын uyarıcı olabileceği kaydedilmiştir. Gözlerin mikrodalgalarla maruz kalması sonucunda katarakta ve ciddi göz hasarlarına neden olabilmektedir. Ancak mikrodalga fırınlarda sızıntıya karşı alınan tedbirler sonucu fırın kullanımına bağlı kazalar veya olumsuz sağlık sonuçları kayda geçmemiştir. 1971 yılında ABD’de Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) mikrodalga fırınların sızıntı radyasyonları için limit bir değer açıklamıştır. FDA’ya göre bu limit mikrodalga fırının yüzeyinden 5 cm mesafede 5 miliwatt/cm²’dir. Bu limit mikrodalgaların insan için zararlı olan limitin altındadır. Günümüzde mikrodalga fırın kapaklarına yerleştirilen ve üzerinde mikrodalga dalgaboyundan daha küçük çapta açıklıklar bulunan plakalar bu sızıntının da önlenmesini sağlamaktadır. Ayrıca FDA, fırınlarda, mikrodalga fırının kapağı açıldığında mikrodalga üretimin otomatik olarak kesen birbirinden bağımsız iki kilit sisteminin bulunmasını şart koşmuştur (Lambert, 1980; Ökmen, 2003).

2.7.5. Mikrodalgaların Mikrobiyal İnaktivasyon Mekanizması

Mikrodalgalar ile mikroorganizmaların inaktivasyonunda etkili olan mekanizma henüz kesin bir açıklık kazanmamıştır (Fung ve Cunningham, 1980; Heddleson ve Doores, 1994; Kuchma, 1998; Stolle ve Schalch, 2000; Datta ve Davidson, 2001). Mikrodalgaların mikroorganizmaları inaktivasyonunda ısı etkileri ve ısı olmayan etkiler olmak üzere iki mekanizma tanımlanmıştır. Birinci mekanizmaya göre mikrodalgalar mikroorganizmaları tümüyle ısı etkisi ile inaktive ederler. Bu ısı etkileri hücre için hayati bileşen olan enzim, protein, nükleik asit ve membranların parçalanmasını kapsar. Diğer mekanizmaya göre mikroorganizmaların inhibisyonunda ısı olmayan etkiler rol oynar (Heddleson ve Doores, 1994; Kozempel ve diğ., 1998).

Dört önemli teori mikrodalgalar ile ısıl olmayan inaktivasyonu (soğuk pastörizasyon) açıklamak için öne sürülür. Bunlar, seçici ısıtma, elektroporasyon, hücre membranının yırtılması ve elektromanyetik alanla molekül arasındaki enerji transferi olarak bilinen manyetik alan eşleşmesidir. Seçici ısıtma teorisine göre mikroorganizmalar elektromanyetik enerjisi seçici olarak absorbe ederler. Katı mikroorganizma etrafını çeviren sıvı ortamdan daha etkili ısıtılır ve mikroorganizma pastörizasyon için gerekli sıcaklığa ulaşır ve ölürken ortam sıcaklığı pastörizasyon sıcaklığından daha düşük kalmaktadır. Elektroporasyon, membrandan geçen elektriksel potansiyel nedeniyle mikroorganizmaların membranlarında oluşan porların sızıntıya neden olmasıyla meydana gelir. Hücre membranının yırtılması membrandan geçen voltaj nedeniyledir. Dördüncü teori, hücre içindeki DNA ve protein gibi kritik moleküllerle elektromanyetik alan arasındaki enerji transferi ile oluşur ve hücrenin iç bileşenlerini bozar (Kozempel ve diğ., 1998).

Yapılan 5 çalışmada mikrodalganın ısıl olmayan etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Culkin ve Fung (1975) 2450 MHZ’de mikrodalga ısıtmanın, gıdalardaki *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Salmonella*, *Proteus* ve aerobik mikroorganizmalarda yalnızca ısıtmadan daha fazla inhibisyon meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Çorba içerisine aşıl原因 *Salmonella thyphimurium* ve *E. coli* ’yi 915 MHz’de mikrodalga işlemine tabi tutmuşlar ve ürünün tepe, orta ve taban bölmelerinde canlı kalan mikroorganizmaları belirlemişlerdir. İşlem sırasındaki sıcaklık değişimleri hassas bantlarla belirlenmiştir. Çorbadaki en büyük inhibisyon yüzey kısmında görülmüştür. Sıcaklık ölçümlerine bakıldığında ise yüzey sıcaklığının en düşük, merkez sıcaklığının en yüksek, taban sıcaklığının ise orta olduğu belirlenmiştir. Yüzeyde düşük sıcaklığa rağmen inhibisyonun fazla olması mikrodalgaların ısıl olmayan etkilerine bir örnektir. Araştırmacılar mikrodalganın sağladığı ısıнын mikroorganizma inhibisyonu için yeterli olmayacağını diğer etkininde göz önünde bulundurulması gerektiğini belirtmişlerdir. Heddleson ve Doores (1994) ise kullanılan hassas bantların sıcaklık değişimlerini belirlemede yeterli olmayabileceği üzerinde durarak, mikrodalga içerisindeki sıcaklık değişimlerinin 1 cm’den daha kısa mesafelerde bile gerçekleşebileceğini belirtmişlerdir. Khalil ve Villota (1998 ve 1989) yaptıkları çalışmalarda mikrodalganın ısıl olmayan etkilerinden söz etmişlerdir. Değişik ortamlar içerisindeki (su, sukroz, NaCl ve fosfat tamponu) *Bacillus stearothermophilus* sporlarının 2450 MHz frekanslı dalga kullanıldığında

su banyosu uygulamasına göre daha düşük D_{100} değerine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Heddleson ve Doores (1994) sıcaklık ölçümlerindeki yetersizlikler nedeniyle bu sonucu kabul etmemişlerdir. Khalil ve Villota (1988) 2450 MHz frekanslı dalgaların *Staphylococcus aureus* üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Hücreler öldürücü sıcaklığın altında olan 50°C'ye ısıtılmış ve mikrodalga sıcaklığı sabit tutulmuştur. Mikrodalga işleminin daha fazla hücresel zarara neden olduğu belirlenmiştir. Mikrodalga işlemi anaerobik koşullarda yapıldığında hücreler kendilerini daha çabuk bir sürede onarabilmişlerdir. Mikrodalgaın membran lipidlerindeki oksidatif reaksiyonları katalizlediği, böylece mikrodalga ile işlem görmüş hücrelerin onarılmasının geciktiği tahmin edilmiştir. Khalil ve Villota 1989 yılında yaptıkları bir çalışmada geleneksel ısıtma ve mikrodalga işlemi ile ısıtmayı kıyaslamışlardır. Öldürücü olmayan sıcaklıklarda *S. aureus*'un RNA'sının bozulan kısmının sadece mikrodalga işlemi uygulanan kısmından farklı olduğunu belirlemişlerdir. Buna göre mikrodalga işlemi ile RNA'ya daha fazla hasar verilmiştir. Heddleson ve Doores (1994) yapılan bu çalışmada diğer çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da sıcaklık ölçümleri ile ilgili veri eksikliği söz konusu olduğunu belirtmişlerdir. Mikrodalga işlemi uygulanan gıdaların sıcaklık profilinde 1 cm uzaklıkta 20°C'lik farklılıklar olabilmektedir ve sıcaklık ölçümleri için termokapıl veya fluoroptik termometre kullanımı tavsiye edilmektedir. Cıvalı termometreler ürünün son sıcaklığını belirlemede kullanılabilir (Fung ve Cunningham, 1980; Heddleson ve Doores, 1994; Datta ve Davidson, 2001).

Olsen (1965) 2450 MHz frekansında mikrodalga işleminin ekmek dilimlerindeki *Aspergillus niger*, *Rhizopus* ve *Penicillium spp.* üzerine etkisini araştırmış, büyük oranda sağlanan inhibisyonun 2 dakikalık işlem sonunda gerçekleştiğini belirterek, kaydedilen en yüksek sıcaklığın 65,6°C olduğunu belirlemiştir. Bu mikroorganizmaların inhibisyonu için gerekli süre ve sıcaklığın 68-71°C'de 20 dakika olduğunu belirterek, sağlanan inhibisyonun mikrodalgaın ısıl olmayan etkilerinden kaynaklandığı sonucuna varmıştır (Fung ve Cunningham, 1980).

Mikrodalgaların mikroorganizmalar üzerine ısıl olmayan etkileri ile ilgili çalışmalar yetersiz olduğundan sadece termal etkiler kabul edilmektedir. Bu nedenle mikrobiyal inaktivasyon kinetiğinin konvansiyonel ısıl işlemlerde ve mikrodalga işlemlerinde aynıdır. Isıl olmayan etkiler inhibisyona ek olarak belirtilir. Bu sebepten ısıl olmayan

muhtemel etkiler sadece ek bir güvenlik faktörü sağlamaktadır (Datta ve Davidson, 2001).

Şu andaki bilgilere dayanarak mikrodalgaya dirençli hiçbir gıda kaynaklı patojen mikroorganizma bulunmamaktadır. Mikrodalgaların diğer yöntemlerle beraber kullanıldığında oluşabilecek sinerjistik etkilerle ilgili bir veri bulunmamaktadır (Datta ve Davidson, 2001).

2.7.6. Gıdalarda Mikrodalga Uygulamaları ve Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri

Mikrodalgalar gıda endüstrisinde haşlama, kurutma, pastörizasyon, sterilizasyon, çözme, buz eritme ve temperleme gibi işlemlerde kullanılmaktadır (Rosenthal, 1992). Gıdaları mikrodalga ile pastörize veya sterilize ederek ticari üretim yapan iki firma Otsuka Kimya Sanayii (Japonya) ve Top Foods (Belçika) bulunmaktadır. Top Foods 1998 yılında 13 milyon porsiyondan fazla hazır yemek üretmiştir (Datta ve Davidson, 2001).

Mikrodalga ısıtmanın gıda hijyeni için öneme sahip olan gram-negatif mikroorganizmaları inhibe ettiği bilinmektedir. Fakat yetersiz mikrodalga ısıtma yüzünden ortaya çıkan salmonellosis vakaları mikrodalgaların mikroorganizmaları öldürmeye yetecek sürede kullanılması gerektiğine dikkat çekmektedir. Gram pozitif bakterilerden enterokoklar, laktobasiller ve *Listeria*'nın alt türleri ve sporlar mikrodalga ısıtmaya karşı hassas değildir. Tablo 2.8.'de mikrodalga ısıtmanın mikroorganizma ve toksinleri üzerine rapor edilen potansiyel etkileri verilmiştir (Stolle ve Schalch, 2000).

Cunningham (1980), mikrodalganın psikrotrofik bakteriler üzerine etkisini incelemek amacıyla, tavuk etine 0,15,20 ve 30 sn 2450 MHz'lik mikrodalga işlemi uygulamış ve daha sonra 1 hafta süre ile buzdolabında bakteri sayısının değişimini incelemiştir. 7 günlük inkübasyon sonunda işlem görmemiş örnek ile arasında mikroorganizma yükü açısından 2 log'luk bir fark olduğu belirlenmiştir. Başlangıç mikroorganizma sayısı 10^4 iken 30 sn'lik işlem sonunda 6.10^2 'ye düşmüş ve 7 gün buzdolabında inkübasyon sonunda mikroorganizma sayısı 4.10^3 'e yükselmiştir.

Delany ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 915 ve 2450 MHz'lik mikrodalga işleminin kurutulmuş *A. niger* ve *B. stearrowthermophilus*'un sporlarının canlılığını etkilemediği belirlenmiştir. *E. coli*, *S. aureus* ve *B. subtilis* hücreleri bir film tabakası halinde kurutulmuş ve 10 dakika süre ile 2450 MHz'lik mikrodalga işlemine tabi tutulmuştur. Sırasıyla 5, 2 ve 0 log'luk azalma sağlanmıştır. Page ve Martin bu azalmayı mikrodalga çalışırken magnetronun korunması amacıyla ortamın nemlendirilmesi sırasında ortaya çıkan ısıya bağlamışlardır. Yeniden nemlendirilen örneklerden *S. aureus* 30 saniyede, *E. coli* 45 saniyede ve *B. subtilis* sporları 10 dakikada 10 log azalmıştır (Fung ve Cunningham, 1980).

Shekarforoush ve arkadaşları (2002) *L. monocytogenes*'in mikrodalga ile inhibisyonunda pH ve tuz konsantrasyonunun etkisi ayrı ayrı ve birlikte incelemişlerdir. Bu amaçla 50 ml nütriye brotunda 1.5×10^8 cfu/ ml konsantrasyonundaki bakteri süspansiyonu % 0.5, 1.5 ve 3 oranlarındaki tuz konsantrasyonlarında ve farklı pH (4.5, 5.5 ve 6.5) değerlerinde 5 saniye aralıklarla mikrodalga işlemine (2450 MHz) tabi tutularak her işlem sonunda inhibisyon belirlenmiştir. 20 ila 30 saniye sonunda etkili bir bakterisidal etki belirlemiştir. En fazla inhibisyon % 0.5 ve 1.5 tuz konsantrasyonunda ve pH 5.5'da elde edilmiştir. pH 4.5'e düşürüldüğünde ise tüm tuz konsantrasyonları için inhibisyon oranı artmıştır. *L. monocytogenes* ile yapılan başka bir çalışmada ise ortamdaki şeker ve gelişme fazının mikrodalga ile uygulanan ısısal işlemdeki inhibisyona etkisi incelenmiş ve ortamdaki şekerin inhibisyonu arttırdığı belirlenmiştir. Ortamda %50 oranında disakkarit (sukroz ve laktoz) bulunduğunda monosakkarit (glukoz ve fruktoza) göre daha fazla inhibisyon gözlenmiştir. İnhibisyondaki bu artışın ortamdaki şekerlerin fermantasyonu sonucu düşen pH nedeniyle olduğunu ifade etmişlerdir. Durağan fazdaki mikroorganizmanın logaritmik fazdakilere göre mikrodalga işlemine daha dirençli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2.8. Mikrodalga ısıtmanın mikroorganizma ve toksinlere etkisi (Stolle ve Schalch, 2000)

Mikroorganizma veya toksin	Rapor edilen etkiler
<i>Staphylococcus aureus</i>	Enzim ve RNA'da hasar; 30 dk 50°C'de bakteriyostatik etki, NaCl'e bağlı olarak hassasiyet artışı, toksin oluşumunda azalma, aşılanan köftelerde 70.6 °C'de inhibisyon, D ₅₅ değerinde 17.8 dk'dan (KI) 11.6 dk'ya (MI) düşüş, D ₆₀ değerinde 3 dk'dan (KI) 4.3 dk'ya (MI) artış.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Mikrodalga ile 70°C'ye ısıtma ile 10 ⁶ oranında inhibisyon
<i>Salmonella</i>	D ₅₅ değerinde 2,4 dk'dan (KI) 2.3 dk'ya (MI) düşüş, D ₆₀ değeri her iki ısıtma yöntemi içinde 0.2 dk, 2450MHz frekanslı işlemde 76.6°C hindi etinde canlılığının korunması
<i>Escherichia coli</i>	D ₅₅ değerinde 3 dk'dan (KI) 2.9dk'ya (MI) düşüş, D ₆₀ değerinde 1.3 dk'dan (KI) 1.9 dk'ya (MI) artış. Fosfat tamponu içerisindeki azalma kinetiği her iki ısıtma yöntemi için benzer
<i>Enterococci</i>	Aynı son sıcaklığın elde edildiği mikrodalga işlemi konvansiyonel yöntem kadar etkili değil
Psikrotrofik mikroorganizmalar	60°C'de mikrodalga ile <i>Achromobacter</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Alcaligenes</i> sayısında azalma Mikrodalga ısıtmaya dirençli: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Mikrodalga ısıtmaya dirençli
<i>Clostridium perfringens</i>	70°C'nin üzerinde spor sayısında azalma; 190.5°C'de kızartma işleminde sporların inaktivasyonu
<i>Bacillus subtilis</i>	Fosfat tampon çözeltisinde 103°C'de, kuru ısıtmada 137°C'de spor sayısında azalma
Sporlar	100°C'nin üzerinde konvansiyonel yöntem ile aynı oranda inaktivasyon
Aflatoksin	Ev tipi mikrodalgalar ile mümkün olmayan yüksek güç ve uzun sürelerde muhtemel bir parçalanma

KI: konvansiyonel ısıtma

MI: Mikrodalga ile ısıtma

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak 2002 yılı mahsülü memecik tipi çekirdekli ve çekirdeksiz oksidasyonla karartılmış konserve siyah zeytin kullanılmıştır.

Zeytinlerin aşılmasında kullanılan *Penicillium citrinum* suşu (92.1205) Hollanda'daki Kültür Koleksiyonu Merkezinden temin edilmiştir. Küf kültürü analizlerde kullanılıncaya kadar saf kültür halinde yatık agarda +4°C'de muhafaza edilmiştir. Mikotoksin analizinde kullanılan sitrinin standartı bir ithalatçı firmadan (İnterlab) temin edilmiştir.

3.2. Metot

Konserve zeytinler açıldıktan sonra steril saf su ile yıkanmış ve *P.citrinum* ile aşılansak 7 gün 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda zeytin örnekleri üzerine farklı miktarlarda su ilave edilmiş, farklı pH değerlerinde ve farklı sürelerde mikrodalga ile muamele edilmiştir. Analize alınan örneklerde mikrodalga uygulamasından önce ve sonra küf sayımları yapılarak inhibisyon miktarı belirlenmiştir. Mikrodalga ile muamele edilen örnekler bir hafta süre ile 25°C'de inkübe edilmiş ve daha sonra küf sayısı tekrar belirlenmiştir. Bu işlemle toplam inhibisyon belirlenmiştir. Farklı konsantrasyondaki küfler üzerine mikrodalgaın etkisini belirlemek amacıyla zeytinlere farklı konsantrasyonlarda *P. citrinum* aşılansmış ve mikrodalga işlemine tabi tutulmuştur. *P. citrinum*'un ürettiği sitrinin mikotoksininin mikrodalga işlemi ile değişimi incelenmiştir. Uygulanacak mikrodalga işlem süresinin belirlenmesi amacıyla, farklı sürelerde (180, 240, 300 s) mikrodalga ile muamele edilen zeytinin duysal özelliklerindeki değişiklik duysal panel ile belirlenmiştir. Kullanılan yöntemler aşağıda ayrıntılı şekilde verilmiştir.

3.2.1. Zeytin Örneklerinde Duyusal Analizler

Zeytinlere uygulanan farklı su miktarları ve değişik sürelerdeki mikrodalga işleminin örneklerin duysal özelliklerinde meydana getirdiği farklılığı belirlemek amacıyla çoklu kıyaslama testlerinden sıralama testi kullanılmıştır (Altuğ, 1993). Kullanılan form Şekil 3.1’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar Altuğ (1993)’a göre değerlendirilerek mikrodalga işleminde kullanılacak su miktarı ve süre belirlenmiştir.

Şekil 3.1. Duyusal panelde kullanılan değerlendirme formu

Ürün: Çekirdeksiz Zeytin		Set No:	
İsim:		Tarih:	
Size verilen örnekleri lütfen aşağıdaki tablolarda lezzet ve görünüş kalitesine göre sıralayınız.			
<u>LEZZET</u>		<u>GÖRÜNÜŞ</u>	
Sıra	Örnek kodu	Sıra	Örnek kodu
En fazla	1. _____	En fazla beğenilen	1. _____
	2. _____		2. _____
En az	3. _____	En az beğenilen	3. _____
Yorumlar:			

3.2.2. Zeytinde Yapılan Kimyasal Analizler

Zeytinin kimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla aşağıdaki analizler yapılmıştır.

Nem miktarı AOAC (1990)’nin 925.40 no.lu metoduna göre, Memmert UM400 model etüv kullanılarak tayin edilmiştir.

Kül miktarı tayin için, Sistek-ST 20000 marka kül fırını kullanılmıştır. Örnekler 550°C’deki fırında karbon kalıntıları görülmeyinceye ve sabit tartıma ulaşincaya kadar yakılmış ve elde edilen kül tartılarak miktar tayini yapılmıştır (TSE, 1987).

pH ölçümü Jenway marka pH metre kullanılarak yapılmıştır. Ölçümlerden önce pH metre kalibrasyonu yapılmıştır. Örnekler 1:1 oranında sulandırılarak pH'ları ölçülmüştür.

Tuz tayini için zeytinler ise 5 gr tartılıp üzerine 100 ml saf su ilave edilmiş ve ağzı kapatılarak su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Soğuduktan sonra kaba filtre kağıdından süzülerek, süzüntüden 10 ml alınmış, %10'luk K₂CrO₄ indikatörlüğünde 0.1 N AgNO₃ ile titre edilmiştir. Sonuç NaCl cinsinden % tuz miktarı olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Fernandez ve diğ., 1997).

$$\% \text{ Tuz} = V \times E \times 100 / M \quad (3.1)$$

V: Harcanan 0.1 N AgNO₃ miktarı, ml

E: 0.00585 (1 ml 0.1 ml N AgNO₃, 0.005844 g NaCl'ye eşdeğerdir.)

M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı, g.

Yağ miktarı, AOAC (1990)'nin 948.22 no.lu metoduna göre Soxhlet yöntemiyle tayin edilmiştir. Zeytin örnekleri, 16 saat süreyle hekzanla ekstrakte edilmiştir. Hekzan döner buharlaştırıcıyla uçurulduktan sonra tartım yapılmış ve ürünlerdeki yağ miktarı hesaplanmıştır.

Protein tayini, AOAC (1990)'nin 950.48 no.lu metoduna göre Kjeldahl yöntemiyle VELP SCIENTIFICA-UDK 126 A marka protein tayin cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak, yöntemde kullanılan katalizörler, bakır sülfat ve potasyum sülfat olarak modifiye edilmiştir. 420°C'de 30 dakika süre ile yakılan örnekler destile edilmiş ve daha sonra da hidroklorik asit ile titre edilerek sarfiyat bulunmuştur. Sarfiyattan yola çıkılarak azot miktarı, bulunan değer, çevirme faktörü ile çarpılmasıyla da protein miktarı hesaplanmıştır.

3.2.3. Cam Malzemelerin Hazırlanması

Cam malzemeler kullanılmadan önce saf su ile durulanmış ve kurutulduktan sonra, 160°C'de iki saat Heraeus Ins. (D-6450 Hanav) marka sterilizatör kullanılarak sterilize edilmiştir.

3.2.4. Zeytin Örneklerinin Hazırlanması

Zeytinler konserve kutusundan aseptik şartlarda çıkarılarak steril saf su ile iki defa yıkanmıştır. Kavanoz tabanına aseptik şartlarda 45 g olacak şekilde bir sıra zeytin tartılmıştır. Bu aşamadan sonra 3.2.5’de belirtildiği gibi *P. citrinum* ile aşılanmıştır.

3.2.5. *P. citrinum* Spor Süspansiyonunun Hazırlanması

Küfler stok kültürden yatık Malt Ekstrakt Agar (MEA)’a aşılanarak, 7 gün 25°C’de geliştirildikten sonra, aseptik şartlarda her bir tüpe 5 ml peptonlu su ilave edilerek steril bir öze yardımıyla agar yüzeyi kazınmış ve küf sporlarının sıvıya geçmesi sağlanmıştır. Tüpler tüp karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra, tüp içeriği başka bir boş steril tüpe aseptik koşullarda aktarılmıştır. Bu şekilde toplanan küf süspansiyonu karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra, çözeltiden 0.1 ml alınarak Thoma lamına aktarılmış ve mikroskop altında x 40 objektif ile küf sporları sayılmıştır (Gürgün ve Halkman, 1988). Bu şekilde hazırlanan küf süspansiyonu ile 10⁶ spor/gr olacak şekilde zeytinlere inoküle edilmiştir. Dilüsyon çözeltisinin bileşimi; 8.5 g NaCl (Merck), 1 g pepton (Oxoid), 1000ml distile su.

3.2.6. Zeytinlerin Aşılanması

Hazırlanan küf süspansiyonundan 1 ml alınarak 45 g zeytine aşılama yapılmıştır. Otoklavda (Hirayama HA-300M) 121°C’de 15 dakika steril edilen saf su pH’sı %10’luk laktik asit ile ayarlanmış ve aşılanmış zeytin üzerine 10 ml ilave edilmiştir. Zeytinler hafifçe çalkalanarak küfün zeytin üzerine homojen dağılımı sağlanmıştır. Kavanozlar 25°C’deki 7 gün inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.7. Zeytinlerin Mikrodalga İle Muamelesi

Çalışmada Arçelik ARMD 560 ev tipi mikrodalga fırın kullanılmıştır. Tablo 3.1’de kullanılan mikrodalga fırının teknik özellikleri verilmiştir.

Tablo 3.1.Arçelik ARMD 560 ev tipi mikrodalga fırının teknik özellikleri

Güç Kaynağı	220~50 Hz
Güç Sarfıyatı	1400 W(7A)
Çıkış Gücü	5 Güç sarfıyatı 85~850 W
Çalışma Frekansı	2.450 MHz
Fırının Dış Boyutları	520*308*365 (mm) (G*Y*D)
Fırının İç Boyutları	330*227*335 (mm) (G*Y*D)
Net Ağırlığı	Yaklaşık 18 kg

7 günlük inkübasyon süresi sonunda zeytin örneklerinin üzerine farklı miktarlarda pH'sı 6.5 olan steril saf su ilave edilerek ve Tablo 3.2.'de belirtilen koşullarda zeytin örnekleri mikrodalga ile muame edilmiştir. Çalışmada 180, 240 ve 300 saniye süre, 4.6, 5.5, 6.0 pH değerleri, 20, 75 ve 150 ml su ilavesi, pH ayarlamada asetik, sitrik ve laktik gibi farklı asitlerin kullanımı, mikrodalga içindeki örneğin konumu, farklı yağ ve su karışımları, farklı konsantrasyonlardaki küflere etkisi incelenmiştir. Çekirdekli ve çekirdeksiz zeytin örnekleri kullanılarak örnek tipinin etkisi belirlenmiştir. Mikrodalga içerisinde kavanozlar yükseltilerek, farklı asitler kullanarak pH değiştirilmiş ve 1:1 oranında su ve 1:1 oranında ayçiçek ve zeytin yağı ilave edilerek mikrodalga işlemi uygulanmıştır.

Mikrodalga işlemi sonunda örnekler 5 dk buzdolabında tutulmuş daha sonra buzlu suda 15 dk süre ile soğutulmuştur. Daha sonra stomacher blenderda (Seward Stomacher,400) 2 dk yüksek devirde homojenize edildikten sonra küf sayımları yapılmıştır. Mikrodalga uygulamaları üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

Tablo 3.2. Zeytinlere uygulanan mikrodalga işlemleri

Değişkenler		Su Miktarları		
		20 ml	75 ml	150 ml
Süre (saniye)	180		●	●
	240		●	●
	300		●	●
Asit (pH: 4.6, 240 s)	% 5'lik Laktik asit			
	% 5'lik Asetik asit		●	
	% 5'lik Sitrik asit			
pH (240 s)	4.6	●	●	●
	5.5	●	●	●
	6.0	●	●	●
Yağ- Su Karışımı (240 s)	75 ml ayçiçek yağı		●	
	75 ml zeytin yağı		●	
Mikrodalga içindeki konum (240 s)	Orta	●	●	●
Farklı küf konsantrasyonu (cfu/g)	10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8		●	
Zeytin Türü (180, 240, 300 s)	Çekirdekli Çekirdeksiz		●	

3.2.8. *P. citrinum* Sporlarının Mikrodalga İle Muamelesi

75 ve 150 ml suya ilave edilen 10^7 cfu/ml spor süspansiyonu 180, 240 ve 300 saniyelik mikrodalga işlemine tabi tutulmuş ve mikrodalga işlemi öncesi ve sonrasında küf sayımı gerçekleştirilmiştir.

3.2.9. Sıcaklık Ölçümleri

Sıcaklık ölçümleri mikrodalga işlemi sırasında datalogger (Campbell Scientific PC200W) kullanılarak $\pm 0.05^\circ\text{C}$ hassasiyetle ve Testo marka termokapıl kullanılarak $\pm 0.5^\circ\text{C}$ hasasiyetle yapılmıştır. Datalogger ile sıcaklık ölçüm düzeneği Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Sıcaklık ölçüm düzeneği

3.2.10. pH ve İletkenlik Ölçümleri

pH ölçümleri Jenway 3010 marka pHmetre kullanılarak yapılmıştır. Suların pH'ları 6.5 ± 0.2 olacak şekilde %10'luk laktik asit çözeltisi ile ayarlanmıştır. Zeytinlere farklı oranlarda su ilave edildikten sonra çözeltilerin pH'ları 0.1 N NaOH ve %5'lik asetik asit kullanılarak ayarlanmıştır. Farklı asitlerin etkisi belirlenirken, %5'lik sitrik ve laktik asit kullanılmıştır. İletkenlik ölçümleri WTW marka LF 95 model kondaktometre kullanılarak yapılmıştır.

3.2.11. Zeytinde Örneklerinde Küf Sayımları

P. citrinum ile aşılanmış zeytin örneklerinde mikrodalga ile muameleden önce ve sonra küf sayımları yapılmıştır. Dilüsyonların hazırlanmasında fizyolojik tuz çözeltisi (8.5 g NaCl (Merck), 1 g pepton (Oxoid), % 0.5 Tween 80, 1000ml distile su kullanılmıştır. Ekimler Malt Ekstrakt Agar (MEA, Merck) besiyerine yayma plak yöntemi ile yapılmıştır. Hasarlı mikroorganizma sayısını belirlemek amacıyla mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örnekleri 1 hafta 25°C'de inkübe edilip tekrar ekim yapılmıştır. Küf sayımları MEA'da 5. günde yapılmıştır. Ekim işlemleri paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.12. İstatistiksel Analizler

Yapılan çalışmada zeytindeki *P. citrinum*'un mikrodalga ile inhibisyonuna süre, miktarı, pH değeri, mikrodalga içindeki konum, kullanılan asit tipi gibi farklı parametrelerin etkileri incelenmiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak farklı işlem koşullarının *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde

istatistiksel açıdan incelenmiştir. Çok faktörlü blok deseni kullanılmıştır. İşlemler arası farkı belirlemek için Duncan'ın Çoklu Aralık Testi uygulanmıştır. Analizlerde SPSS programı kullanılmıştır.

3.2.13. Zeytinde Mikotoksin Analizleri

Mikroalg işleminin zeytinde *P. citrinum* tarafından üretilen sitrinine etkisini incelemek amacıyla zeytinlere *P. citrinum* aşılannmış 30°C'de 15 gün inkübe edilen örneklere farklı süre ve değişik su miktarlarında mikroalg uygulaması yapılmış, kontrol örneği ve işlem uygulanan örneklerdeki sitrinin miktarı Comerio ve diğ. (1998)'e göre belirlenip karşılaştırılmıştır. Örneklere uygulanan mikroalg işlemleri Tablo 3.3.'de verilmiştir.

Tablo 3.3. Zeytinde sitrininin parçalanması için uygulanan mikroalg işlemleri

Değişkenler		Su Miktarları		
		20 ml	75 ml	150 ml
Süre (saniye)	180		●	●
	240		●	●
	300		●	●
pH (240 s)	4.6		●	
	5.5		●	
	6.0		●	

25 g zeytin örneğine 180 ml asetonitril, 20 ml %4'lük KCl, 2ml %20'lik H₂SO₄ ilave edilerek blenderda (Waring) 2 dakika yüksek devirde ekstakte edilmiştir. Karışım Whatman No:4 filtre kağıdından süzülüp, yağını uzaklaştırmak için süzüntüye 50 ml heksan ilave edilmiş ve mekanik karıştırıcıda 3 dakika süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra ayırma hunisine aktarılan çözeltinin alttaki fazından 100 ml alınarak üzerine 50 ml kloroform, 25 ml distile su ilave edilerek tekrar ayırma hunisine alınmıştır. Ayırma hunisinde berrak olan kısım behere alınmış ve su banyosunda 2 ml kalıncaya kadar uçurulmuştur. Daha sonra ekstrakt azot gazı altında kuruluğa kadar uçurulmuştur.

Elde edilen toksine 200 µl kloroform ilave edilerek çözündürüldükten sonra içinden 1 µl alınarak ince tabaka kromatografisi için plaka üzerine uygulanmış ve plaka

(Merck, 5721) tank içerisine yerleştirilmiştir. Plakaların zerine alt kısımdan 2 cm yukarıya ve 1.5 cm aralıklarla farklı miktarlarda standart uygulanmıştır. Bu işlemde yürütücü olarak toluen: etilasetat: %90'lık formik asit (6:3:1) (TEF) kullanılmıştır. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra plaka kurutulmuştur. Sitrinin doğrudan 366 nm'de UV ışığı altında incelenerek verdiği sarı-yeşil floresanın şiddetine göre içerisindeki toksin miktarı tespit edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Zeytin Numunesinin Bileşimi

Çalışmada kullanılan memecik tipi çekirdeksiz zeytin örneğinin kimyasal bileşimi Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1.Zeytin numunesinin bileşimi

Kimyasal Bileşim	Miktar
Protein	% 1.3
Yağ	% 16.8
Nem	% 79.1
Kül	% 1.3
Karbonhidrat	% 1.5
Tuz	% 1.04
pH	6 ± 0.2

4.2. Mikrodalga İşlemi Görmüş Zeytin Örneklerinde Duyusal Analizler

Mikrodalga işleminde kullanılacak optimum süre ve su miktarını belirlemek amacıyla, çekirdeksiz zeytinlere (45 gr), 3 farklı su miktarı (20, 75 ve 150 ml) ve üç farklı sürede (180, 240 ve 300 saniye) mikrodalga işlemi uygulanmış ve duyusal panel yapılmıştır. Sıralama testi kullanılarak yapılan duyusal panel sonuçları Ek A ve Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Farklı süre ve su miktarları kullanılarak mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örneklerinin duyu panel sonuçları

Duyusal Özellikler Su Miktarı	Lezzet			Görünüş		
	Süre (s)					
	180	240	300	180	240	300
20 ml	31	36	54	28	39.5	53
75 ml	27	45	48	36	34	50
150 ml	37	40	43	32	38	50

20 panelist ile yapılan sıralama testinin sonuçları, % 5 güven eşiğinde 3 işlem ve 20 tekrara karşı gelecek şekilde hesaplanmış ve kabul edilebilecek üst değerler 32-48, alt değerler ise 34-46 olarak sıralama testi değerlendirme tablosundan belirlenmiştir (Altuğ, 1993). Buna göre, 20, 75 ve 150 ml su ilave edilerek 180, 240, 300 saniye mikrodalga uygulamalarında, zeytinin duyu özellikleri açısından, 300 saniyelik işlemin lezzet ve görünüş açısından diğer işlemlerden farklı ve duyu özelliklerin kabul edilemez olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak 150, 75 ve 20 ml su ilave edilerek uygulanacak olan mikrodalga işleminde 180 ve 240 saniyelik işlemlerin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

300 saniyelik mikrodalga işleminin zeytinin duyu özelliklerinde meydana getirdiği değişiklik nedeniyle, *P. citrinum*'un mikrodalga kullanılarak inhibisyonundaki optimum işlem koşullarının belirlenmesi için 240 saniyelik süre seçilerek çalışmaya devam edilmiştir.

4.3. Mikrodalga ile Muamele Süresi ve Su Miktarının Zeytinde *P. citrinum* İnhibisyonuna Etkisi

180, 240 ve 300 saniyelik mikrodalga işleminin 75 ve 150 ml su ilave edildiği koşullarda, zeytinlerdeki *P. citrinum* sayısındaki azalmaya olan etkisi incelenmiştir. Bu amaçla mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örneklerinde mikrobiyolojik ekim yapılarak, inhibisyon miktarları Tablo 4.3.'de verilmiştir. Şekil 4.1. ve 4.2.'de sırasıyla 75 ve 150 ml su ilavesinde farklı sürelerdeki mikrodalga işlemi ile meydana gelen logaritmik azalma ve toplam logaritmik toplam azalma değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Süre ve su miktarının zeytinde mikrodalga ile küf inhibisyonuna etkisi

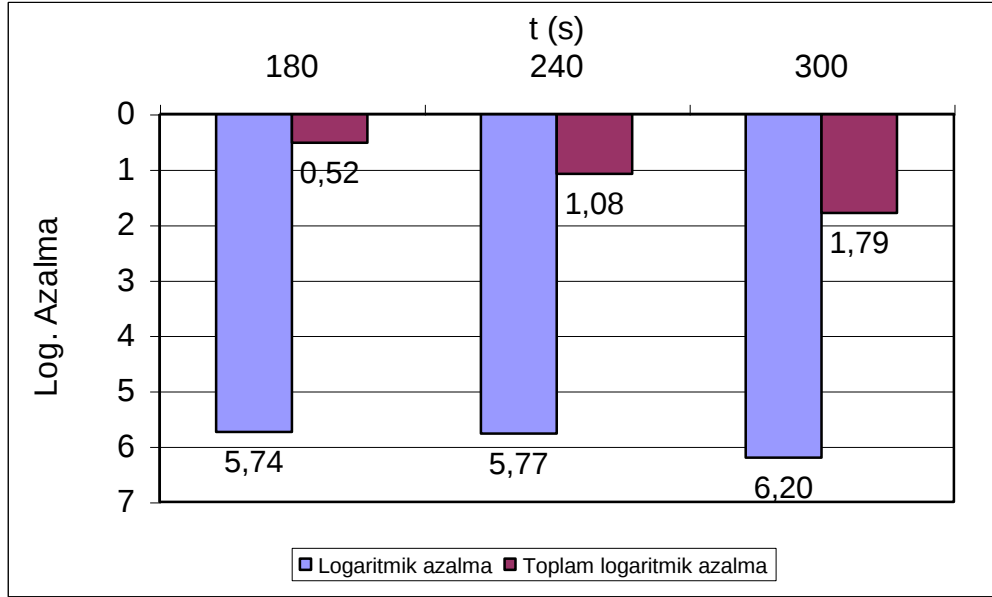
Süre (s)	Su Miktarı (ml)	Mikrodalga ile Muamele				Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon Sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
		İşlemden Önce		İşlemden Sonra			Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)				
180	75	3.32x10 ⁷	7.52	6.03x10 ¹	1.78	5.74	1.01x10 ⁷	7.00	0.52
180	150	3.32x10 ⁷	7.52	1.84x10 ²	2.26	5.26	4.76x10 ⁶	6.67	0.84
240	75	8.92x10 ⁷	7.77	1.40x10 ²	2.01	5.77	7.4x10 ⁶	6.70	1.08
240	150	8.92x10 ⁷	7.77	1.57x10 ²	2.03	5.74	2.55x10 ⁶	5.85	1.92
300	75	3.40x10 ⁷	7.53	2.13x10 ¹	1.33	6.20	5.5x10 ⁵	5.74	1.79
300	150	3.40x10 ⁷	7.53	5.67x10 ¹	1.75	5.78	1.10x10 ⁵	5.04	2.49

Şekil 4.1., 4.2. ve Tablo 4.3.'ün incelenmesi ile anlaşıldığı gibi en fazla inhibisyon 75 ml ve 150 ml su ilave edildiği her iki koşulda 300 saniyelik mikrodalga işleminde elde edilmiştir. Su miktarı arttıkça ve süre uzadıkça inhibisyon oranı artmaktadır.

Heperkan ve diğ. (2002a) yaptıkları çalışmada zeytinde mikrodalga ile küf inhibisyonunda 240 saniyelik işlemin 180 saniyeden daha etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Yapılan tez çalışmasında elde edilen bulgular bu sonuçla paralellik göstermektedir.

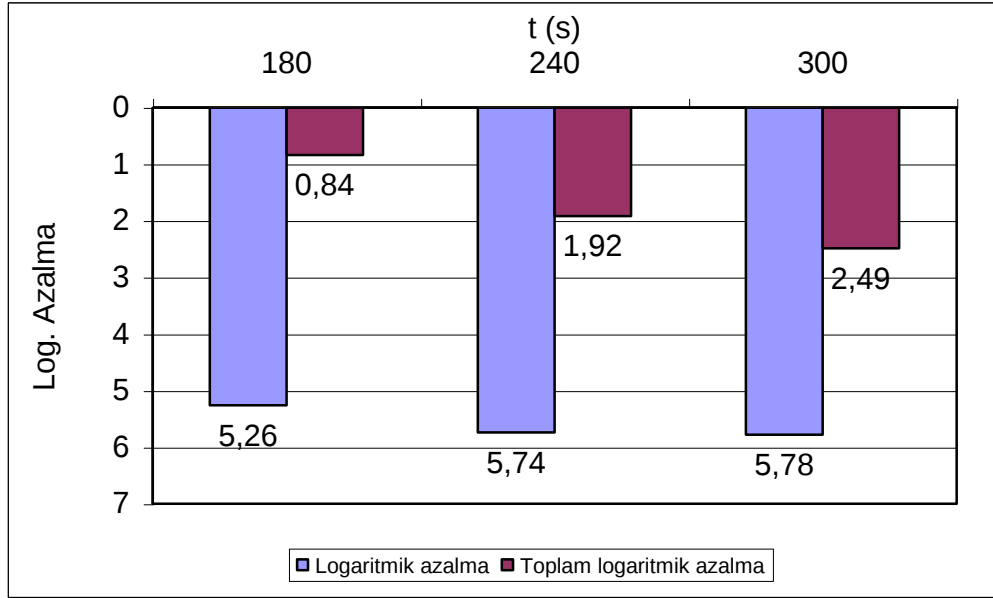
Mikroorganizma inhibisyonu sağlamak amacıyla uygulanan işlemler sırasında mikroorganizmalar hasar görür ve kullanılan klasik besiyerlerinde gelişemezler. Besiyerinde gelişmemelerine rağmen canlılığını sürdüren bu mikroorganizmalar belirli sürede kendilerini onarıp çoğalmaya devam edebilirler (Tarte ve diğ., 1996). Hasarlı mikroorganizmalar için kullanılacak besiyerleri her mikroorganizma için farklılık gösterir. En uygun besiyeri deneme ve yanılma yolu ile bulunmaktadır (Mackey, 2000). Literatürde hasarlı küflerin sayımı için belirlenmiş kesin bir besiyeri bulunmamaktadır (Deak ve diğ., 1984). Heperkan ve diğ. (2002b)'nin yaptıkları çalışmada mikrodalga işlemi uygulanan zeytinlerdeki küf sayımı için kullanılacak besiyerleri araştırılmış ve Dichloran %18 Gliserol Agar (DG18), Malt extract agar (MEA) ve 3M Petrifilm karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre mikrodalga

işlemi uygulanan zeytinlerde MEA kullanımı önerilmektedir. Yapılan tez çalışmasında bu sebeple, MEA kullanılmıştır.



Şekil 4.1. 180, 240 ve 300 saniye süreli, 75 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma

Köftede *Salmonella enteridis* PT4'ün mikrodalga ile inhibisyonunun araştırıldığı bir çalışmada 90 W, 360W ve maksimum güçte ısıtma işlem uygulamasında merkez sıcaklığı 70°C'e ulaşan köftelerde 8-9 log oranında inhibisyon sağlanırken, 24 saat sonra yapılan ekimlerde inhibe olmuş gözükten bakterinin kendini onardığını ve canlılığını sürdürdüğünü belirlemişlerdir (Var ve Aksan, 2002). Küflerin gelişmeleri için gerekli olan süre bakterilere göre daha uzun olduğundan yapılan tez çalışmasında hasarlı küflerin belirlenmesi amacıyla yapılan 7 gün sonra ekim yapılarak toplam azalma değerleri belirlenmiştir. Mikrodalga işleminden hemen sonra yapılan işlemlerden 240 saniyede 75 ml su ilave edildiği koşullarda 5.77 log'luk azalma, 150 ml için 5.74 log'luk azalma sağlanırken, 1 hafta sonra yapılan ekimlerde toplam azalma değeri 1.08 ve 1.92 log olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.2. 180, 240 ve 300 saniye süreli, 150 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma

4.4. Farklı pH Değerlerinin Mikrodalga İşleminde *P. citrinum* İnhibisyonuna Etkisi

Yapılan ön çalışmalarda zeytinlere uygulanacak mikrodalga işlemi için optimum sürenin 240 saniye olduğu belirlenmiş ve bu süre için işlem koşulları değiştirilerek mikrodalga'nın *P. citrinum* inhibisyonuna olan etkisi incelenmeye devam edilmiştir. *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın mikrodalga ile inhibisyonunda hidrojen peroksitin mikrodalga ile sinerjistik etkisi araştırıldığı literatür çalışmasında, düşük konsantrasyondaki H_2O_2 'nin mikrodalga'nın bakterisidal etkisinin arttırdığını belirlemişlerdir (Kuchma, 1998). Farklı ortam koşullarının mikrodalga'nın inhibisyon miktarını etkileyeceği düşünülerek, değişik pH'lardaki inhibisyon oranları araştırılmıştır.

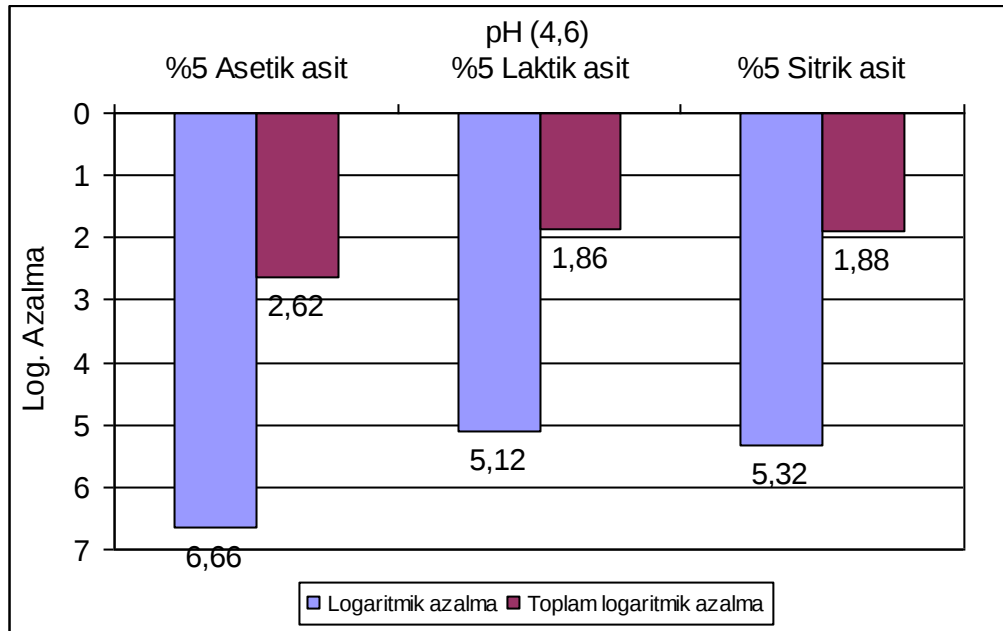
4.4.1. Farklı Organik Asitlerin Mikrodalga İnhibisyonuna Etkisi

Çalışmada kullanılacak asit türünü belirlemek amacıyla farklı organik asitler kullanılarak pH değeri 4.6'ya ayarlanmış ve mikrodalga'nın etkisi incelenmiştir. %5'lik laktik, asetik ve sitrik asit çözeltileri kullanılarak 75 ml su ilave edilen zeytin örneklerinin pH değeri ayarlanmış ve 240 saniye süre ile mikrodalga işlemine tabi

tutularak inhibisyon miktarları belirlenmiştir. Asitlerin inhibisyona etkisi sırasıyla Tablo 4.4. ve Şekil 4.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. pH ayarlamada kullanılan farklı organik asitlerin 75 ml su ilave edilerek 240 saniye süreli mikrodalga işleminde *P. citrinum* inhibisyonuna etkisi

Kullanılan asit türü	Mikrodalga ile Muamele				Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon Sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
	İşlemden Önce		İşlemden Sonra			Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)				
%5 Asetik asit	1.01x10 ⁸	7.92	8.05x10 ¹	1.27	6.66	1.28x10 ⁶	8.31	2.62
%5 Laktik asit	2.14x10 ⁸	8.33	1.63x10 ³	3.21	5.12	2.93x10 ⁶	6.47	1.86
%5 Sitrik asit	2.14x10 ⁸	8.33	1.03x10 ³	3.01	5.32	2.8x10 ⁶	6.45	1.88



Şekil 4.3. pH ayarlamada kullanılan farklı organik asitlerin 240 saniye süreli mikrodalga işleminin *P. citrinum* inhibisyonuna etkisi

Tablo 4.4.'ün incelenmesi ile görüldüğü gibi % 5'lik asetik asit çözeltisi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi uygulandığında 2.62 log'luk toplam azalma, diğer asit çözeltilerinde ise ortalama 1.87 log'luk toplam azalma gerçekleşmiştir.

25 °C’de farklı asitlerin iyonizasyon sabiti (Pka); asetik asit için 4.79, laktik asit için 3.86, sitrik asit için 3.13’dir. Asetik asitin gıdalarda kullanılan diğer organik asitlere göre yüksek iyonizasyon sabiti (Ka)’dan anlaşılabacağı gibi, toplam konsantrasyon dikkate alındığında daha fazla antimikrobiyal etkisi bulunmaktadır. (Lund ve Eklund, 2000).

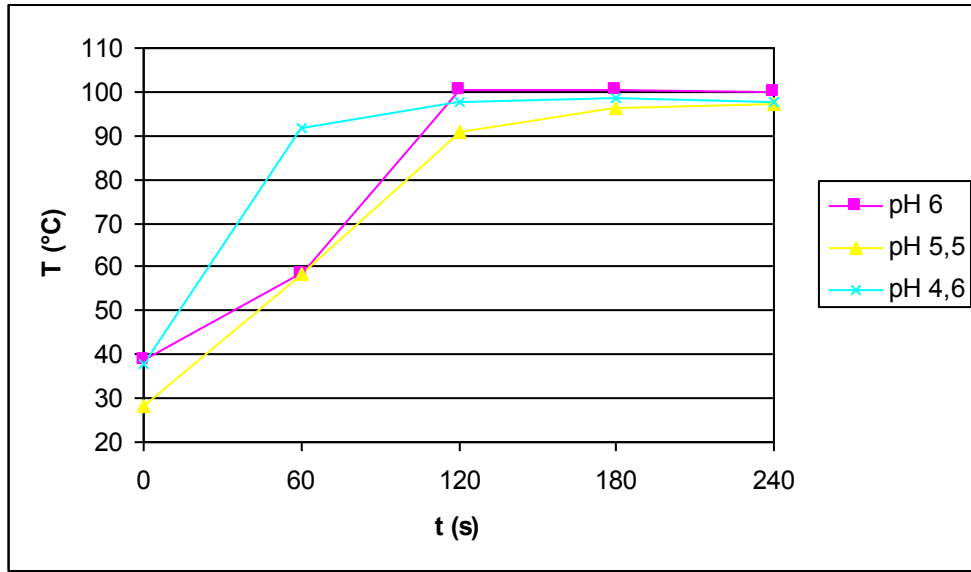
Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı asitlerin kullanılması ile pH’sı 4.6’ya ayarlanan zeytin örneklerine uygulanan mikrodalga işlemi ile meydana gelen *P. citrinum*’un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Asit çeşitlerini karşılaştırmak amacıyla Duncan Çoklu Aralık Testi uygulanmış ve test sonucunda asetik asitin etkisinin laktik asit ve sitrik asitten farklı olduğu belirlenmiştir. Yapılacak olan araştırmada, farklı pH değerleri ayarlamak için asetik asitin kullanılmasına karar verilerek çalışmaya devam edilmiştir.

4.4.2. Sıcaklık Değerleri

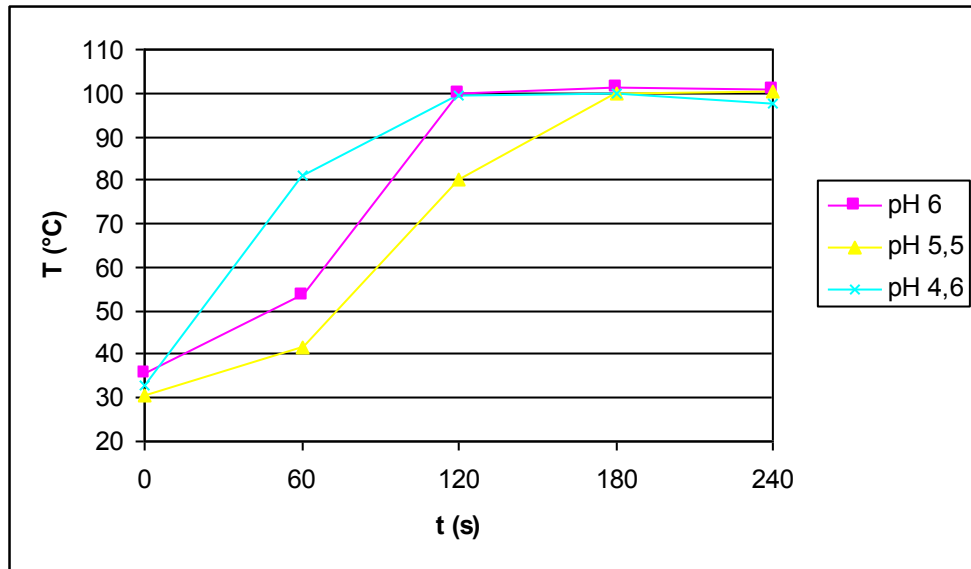
Farklı pH değerlerine ve farklı katı sıvı oranına sahip zeytin su karışımına uygulanan mikrodalga işlemi sırasında değişen sıcaklık değerleri dataloger yardımıyla ölçülerek Tablo 4.5.’de ve 20, 75 ve 150 ml su ilave edildiği koşullardaki işlem sıcaklıkları sırasıyla Şekil 4.4, Şekil 4.5. ve Şekil 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.5. Farklı pH değeri ve su miktarına sahip örneklerin mikrodalga işlemi sırasında ölçülen sıcaklık değerleri

pH	Su miktarı (ml)	Süre (s)				
		0	60	120	180	240
4.6	20	38.0	91.5	97.6	98.7	97.8
4.6	75	32.7	81.1	99.3	99.7	97.6
4.6	150	32.6	80.5	95.0	100.5	100.3
5.5	20	28.43	58.31	90.9	96.1	97.1
5.5	75	30.63	41.4	80.3	100.0	100.5
5.5	150	29.3	42.8	82.3	100.3	100.5
6.0	20	38.7	58.24	100.6	100.2	100.1
6.0	75	35.6	53.68	99.7	101.5	100.6
6.0	150	33.55	58.9	93.4	101.3	101.4



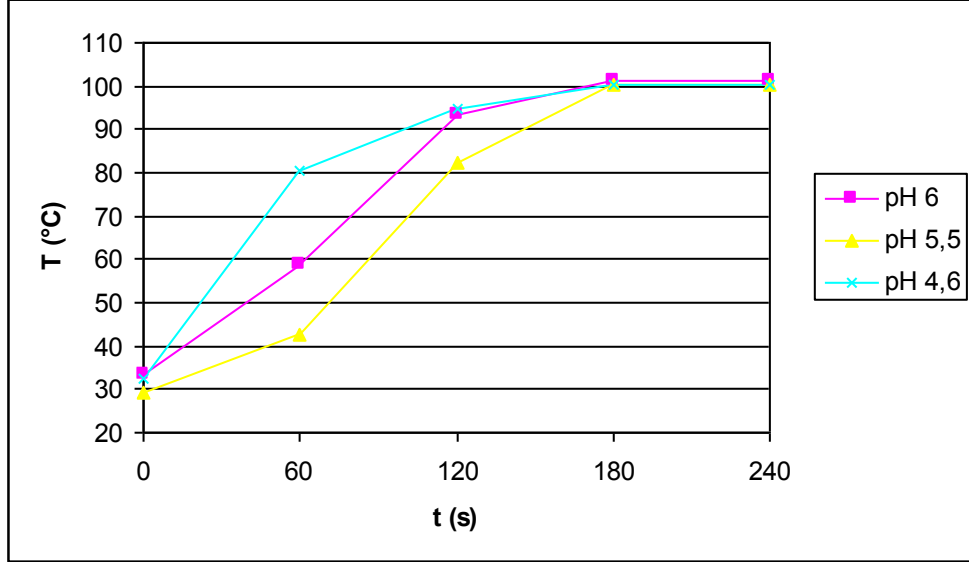
Şekil 4.4. 20 ml su ilavesi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi sırasında sıcaklık değişimi



Şekil 4.5. 75 ml su ilavesi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi sırasında sıcaklık değişimi

Yapılan sıcaklık ölçümlerinde zeytin örneklerine ilave edilen her su miktarı için pH'sı 4.6 olan örneklerin sıcaklık eğrileri birbirine benzemektedir. 75 ml su ilavesinde pH'sı 4.6 olan örneklerde 60 saniye sonunda sıcaklık yaklaşık olarak 84°C iken pH'sı 5.5 olan örneklerde 41.4 °C ve pH'sı 6 olan örneklerde 53.68 °C'dir. Düşük pH'larda iletkenliğin daha fazla olması dolayısıyla, sıcaklık artışının diğer pH'lara göre daha fazla olması beklenmekteydi. Fakat yapılan sıcaklık ölçüm sonuçlarına göre pH'sı 6 olan örneklerin sıcaklığı, pH'sı 5.5 olan örneklerden daha fazladır. Örneklerin iletkenliğini belirlemek amacıyla zeytine 75 ml su ilave edilip

pH'sı 4.6, 5.5 ve 6.0.'ya ayarlanmış ve iletkenlik ölçümleri yapılarak Tablo 4.6.'da verilmiştir. Yapılan ölçüm sonuçlarında düşük pH'lı örneklerde iletkenliğin daha fazla olduğu ve pH değeri arttıkça iletkenliğin azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.6. 150 ml su ilavesi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi sırasındaki sıcaklık değişimi

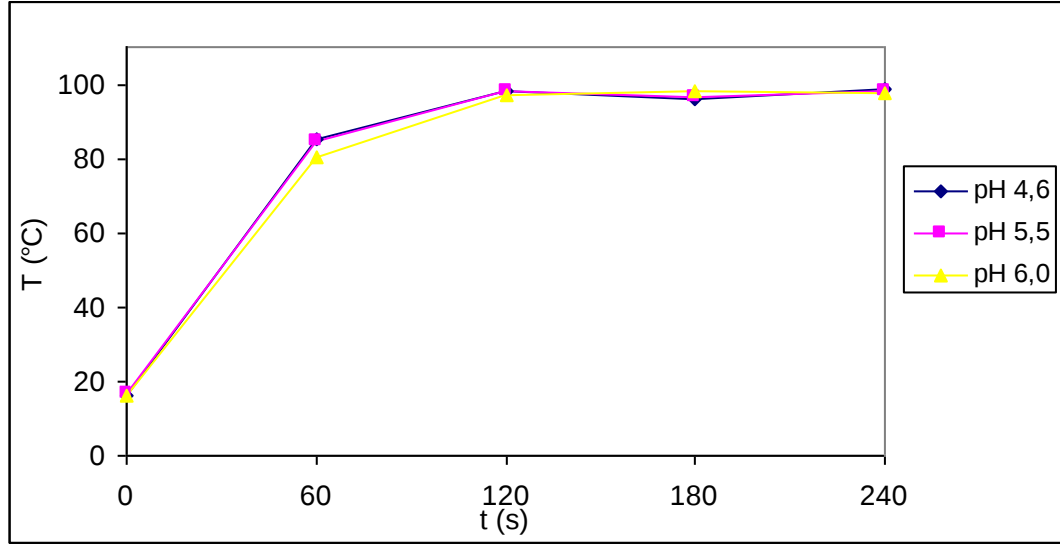
Tablo 4.6. 75 ml su ilave edilen zeytin örneklerinin 3 farklı pH değerindeki iletkenliği

pH	İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
4.6	16.84
5.5	6.18
6.0	2.06

Literatürde mikrodalga işlemi uygulanan gıdaların sıcaklık profilinde 1 cm uzaklıkta 20°C'lik farklılıklar olabildiği ve sıcaklık ölçümleri için termokapıl veya fluoro-optik termometre kullanımı tavsiye edilmektedir. Cıvalı termometrelerin ürünün son sıcaklığını belirlemede kullanılabileceği belirtilmiştir (Fung ve Cunningham, 1980). Sıcaklık ölçümlerindeki bu farklılığın mikrodalga işlemi sırasında oluşan soğuk noktalardan kaynaklanabileceği düşünülerek, sıcaklık ölçümleri 75 ml su ilave edildiği üç farklı pH işlemi için termokapıl kullanılarak her dakika sonunda mikrodalga durdurularak tekrarlanmıştır. Yapılan sıcaklık ölçümlerinin sonuçları Tablo 4.7. ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. 240 saniyelik mikrodalga işleminde termokapıl ile belirlenen sıcaklık değişimi

pH	Su miktarı (ml)	Süre (saniye)				
		0	60	120	180	240
4.6	75	16.4	85.0	98.1	96.2	98.5
5.5	75	16.5	84.4	98.2	96.7	98.4
6.0	75	16.4	80.2	97.3	98.2	97.4



Şekil 4.7. 240 saniyelik mikrodalga işleminde termokapıl ile belirlenen sıcaklık değişimi

4.4.3. Küf Sayımları

Mikrodalga işleminden önce ve sonra örneklerdeki *P. citrinum* sayısını bulmak amacıyla MEA besiyeri kullanılarak mikroorganizma sayısındaki azalma saptanmıştır. Üç farklı miktarda su içeren zeytin örneklerinin pH'ları 4.6, 5.5, 6.0'ya ayarlanmış ve 240 saniyelik mikrodalga işlemine tabi tutularak 20, 75 ve 150 ml su içeren zeytin örneklerinde *P. citrinum* sayısındaki azalma belirlenmiştir. İşlem sonuçları 20 ml'lik işlem için Tablo 4.8. ve Şekil 4.8.'de, 75 ml'lik işlem için Tablo 4.9.ve Şekil 4.9.'da ve 150ml'lik işlem için Tablo 4.10. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Tablo 4.8. 20 ml su ilavesi ve farklı pH koşullarında yapılan 240 saniyelik mikrodalga işleminin *P. citrinum* sayısında meydana getirdiği azalma

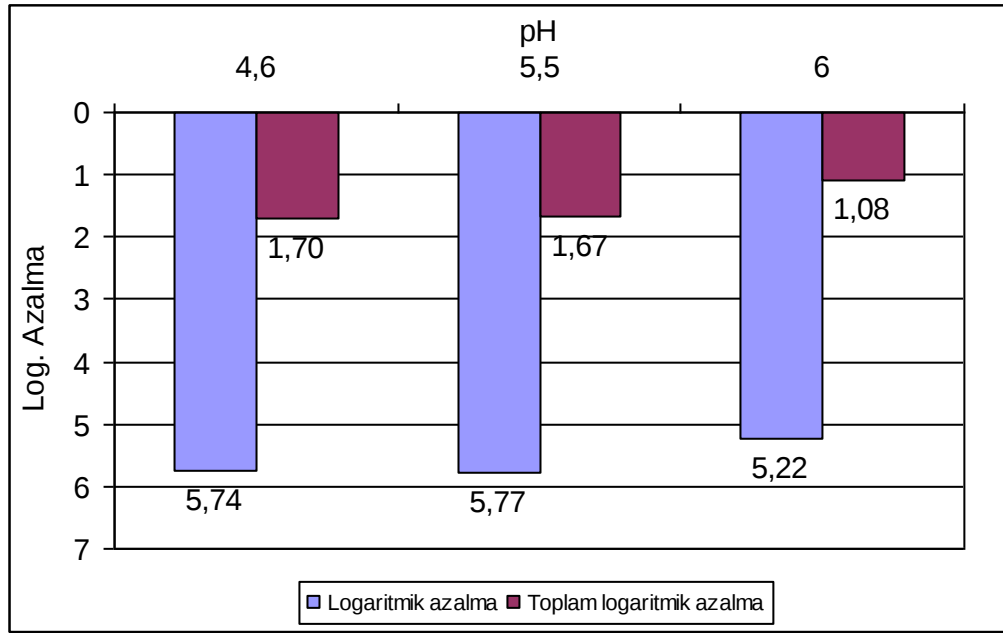
pH	Su Miktarı (ml)	Mikrodalga İşleminden Önce		Mikrodalga İşleminden Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
4.6	20	1.42x10 ⁸	8.15	1.39x10 ²	2.14	5.74	2.80x10 ⁶	6.45	1.70
5.5	20	1.42x10 ⁸	8.15	1.18x10 ²	2.07	5.77	3.06x10 ⁶	6.49	1.67
6.0	20	3.40x10 ⁷	7.56	2.28x10 ²	2.34	5.22	5.65x10 ⁶	6.47	1.08

Tablo 4.9. 75 ml su ilavesi ve farklı pH koşullarında yapılan 240 saniyelik mikrodalga işleminin *P. citrinum* sayısında meydana getirdiği azalma

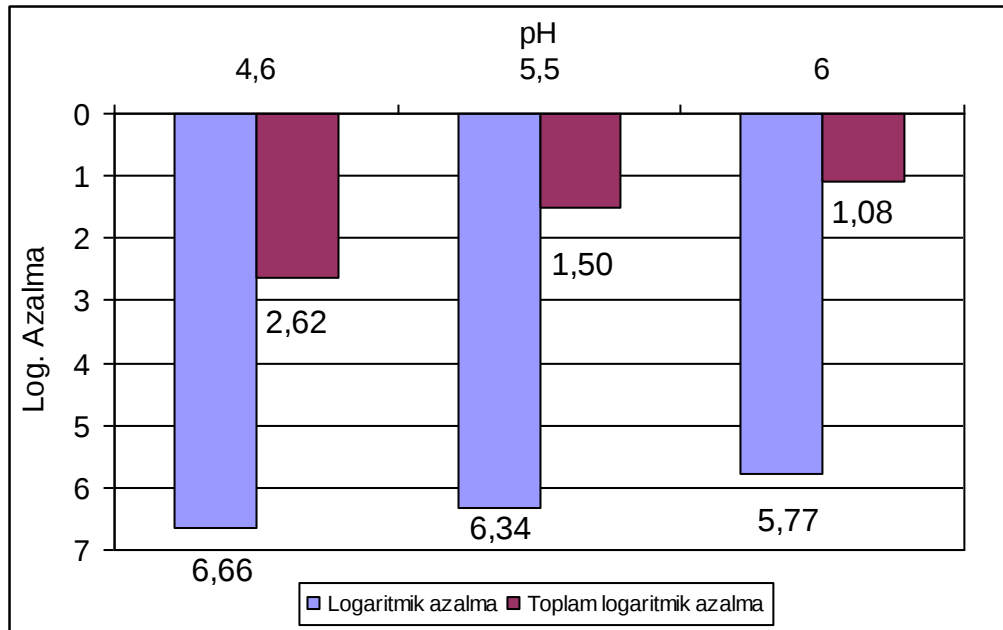
pH	Su Miktarı (ml)	Mikrodalga İşleminden Önce		Mikrodalga İşleminden Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
4.6	75	1.01x10 ⁸	7.92	8.05x10 ¹	1.27	6.66	1.28x10 ⁶	6.31	2.62
5.5	75	1.34x10 ⁸	8.13	1.47x10 ²	1.79	6.34	5.45x10 ⁶	6.62	1.50
6.0	75	8.92x10 ⁷	7.77	1.40x10 ²	2.01	5.77	7.42x10 ⁶	6.70	1.08

Tablo 4.10. 150 ml su ilavesi ve farklı pH koşullarında yapılan 240 saniyelik mikrodalga işleminin *P. citrinum* sayısında meydana getirdiği azalma

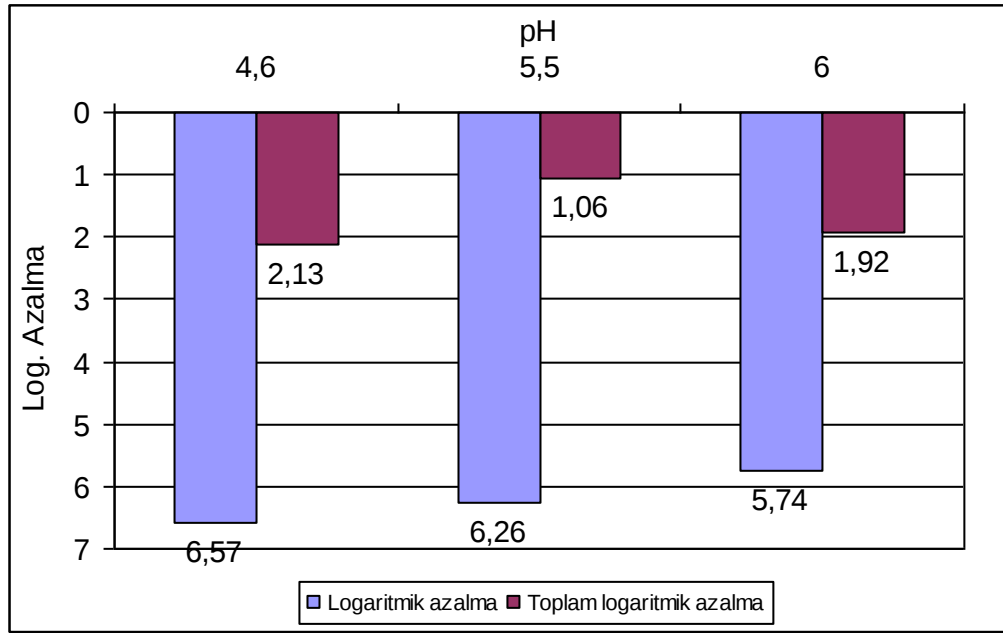
pH	Su Miktarı (ml)	Mikrodalga İşleminden Önce		Mikrodalga İşleminden Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
4.6	150	1.01x10 ⁸	7.92	3.29x10 ¹	1.35	6.57	2.14x10 ⁶	5.80	2.13
5.5	150	1.34x10 ⁸	8.13	8.08x10 ¹	1.86	6.26	9.09x10 ⁶	7.06	1.06
6.0	150	8.92x10 ⁷	7.77	1.57x10 ²	2.03	5.74	2.55x10 ⁶	5.85	1.92



Şekil 4.8. 240 saniyelik 20 ml su ilavesi ve farklı pH değerlerinde yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma



Şekil 4.9. 240 saniyelik 75 ml su ilavesi ve farklı pH değerlerinde yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma



Şekil 4.10. 240 saniyelik 150 ml su ilavesi ve farklı pH değerlerinde yapılan mikrodalga işleminde meydana gelen logaritmik ve toplam logaritmik azalma

Tablo 4.8., 4.9. ve 4.10. ve Şekil 4.8., 4.9 ve 4.10 'da görüldüğü gibi 20 ml su ilavesinde farklı pH değerleri için logaritmik azalma 5.77 ile 5.74 arasında değişmekte toplam logaritmik azalma ise 1.08 ile 1.70 arasında değişmektedir. 75 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde ise logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma 6.66 ile 5.77 ve 1.08 ile 1.70 arasında değişmektedir. 150 ml su ilavesinde ise logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma 6.57 ile 5.74 ve 1.06 ve 2.13 arasında değişmektedir.

Keklerde küf gelişmesinin önlenmesi için mikrodalga işleminin etkinliğinin incelendiği çalışmada 30 ila 120 saniyelik işlemlerde *Aspergillus flavus* için %78.88-100, *Penicillium cyclopium* için % 64.7-100 arasında değişen oranlarda inhibisyon sağlanmıştır (Hong ve Jianshao, 2001).

Logaritmik azalma 20 ml su ilave edildiğinde 5.22, 75 ml'de 5.77 ve 150 ml'de 5.74 ile en az pH 6'da gerçekleşmiştir. İşlem uygulanmadan önce su ilave edilen küflü zeytinlerin pH'sı 6'olarak belirlenmiştir. Genel olarak mikroorganizmaların ısısal dirençleri optimum gelişme pH'ları civarında en yüksek düzeydedir (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

20 ve 75 ml su ilave edilen örnekte en düşük toplam inhibisyon pH 6'da, 150 ml su ilave edilen örnekte ise pH 5.5'de meydana gelmiştir. 20 ml su ilave edilip 240 saniye süre ile mikrodalga işlemine tabi tutulan örneklerden pH'sı 4.6 ve 5.5 olanlar arasında toplam inhibisyon açısından fark olmamıştır. 75 ve 150 ml su ilaveli örneklerde ise pH değeri düştükçe inhibisyon artmıştır.

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı su miktarlarının *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İnhibisyon üzerine su miktarının etkileri arasındaki farkı belirlemek için Duncan'ın Çoklu Aralık Testi uygulanmıştır. Buna göre 75 ve 150 ml su ilavesi ile uygulanan mikrodalga işleminden elde edilen logaritmik azalma değerleri arasında istatistiksel olarak fark yoktur. 20 ml su ilave edilen işlem logaritmik azalma için 75 ve 150ml'lik işlemten istatistiksel açıdan farklıdır.

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı pH değerlerinin *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İnhibisyon üzerine farklı pH'lı işlemlerin etkileri arasındaki farkı belirlemek için Duncan'ın Çoklu Aralık Testi uygulanmıştır. Buna göre pH'sı 4.6 ve 5.5'e ayarlanan işlemlerden elde edilen logaritmik azalma miktarı istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir.

Toplam logaritmik azalma için yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı pH değerlerinin *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İnhibisyon üzerine farklı pH'lı işlemlerin etkilerini birbirleriyle karşılaştırmak için Duncan'ın Çoklu Aralık Testi uygulanmıştır. Buna göre pH'sı 6.0 ile 5.5 olan işlemlerin etkisi arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

Toplam logaritmik azalma sonuçlarına varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı su miktarlarının *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Cunningham (1980), mikrodalganın psikrotrofik bakteriler üzerine etkisini incelemek amacıyla, tavuk etine 0, 15, 20 ve 30 s süre ile 2450 MHz'lik mikrodalga işlemi uygulamış ve daha sonra 1 hafta süre ile buzdolabında bakteri sayısının değişimini incelemiştir. 7 günlük inkübasyon sonunda işlem görmemiş örnek ile arasında mikroorganizma yükü açısından 2 log'luk bir fark olduğu belirlenmiştir. Başlangıç mikroorganizma sayısı 10^4 iken 30 sn'lik işlem sonunda 6×10^2 'ye düşmüş ve 7 gün buzdolabında inkübasyon sonunda mikroorganizma sayısı 4×10^3 'e yükselmiştir. Yapılan tez çalışmasında farklı pH değerlerindeki mikrodalga işlemi sonucunda ortalama 2 log'luk azalma sağlanmıştır.

4.5. Mikrodalga İşleminde Yağ - Su Karışımı Kullanımının İnhibisyona Etkisi

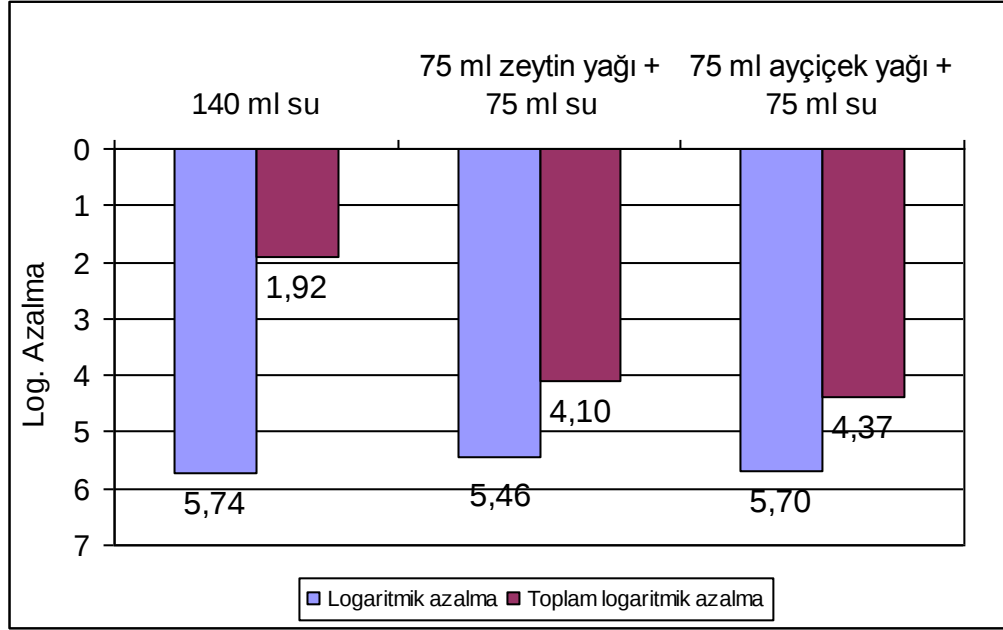
Çalışmada su, 1:1 oranında ayçiçek yağı su karışımı ve zeytin yağı su karışımı ilave edilen zeytin örnekleri 240 saniye mikrodalga ile muamele edilmiş, bulgular Tablo 4.11. ve Şekil 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Yağ ve su karışımı ilavesinin mikrodalga ile inhibisyona etkisi

İşlem koşulları	Mikrodalga İşleminden Önce		Mikrodalga İşleminden Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı ($\log_{10}$)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı ($\log_{10}$)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı ($\log_{10}$)	
150 ml su	8.92×10^7	7.77	1.57×10^2	2.03	5.74	2.55×10^6	5.85	1.92
75 ml Ayçiçek yağı + 75 ml su	2.14×10^8	8.33	7.39×10^2	2.87	5.46	2.13×10^4	4.33	4.10
75 ml Zeytin yağı + 75 ml su	2.14×10^8	8.33	4.25×10^2	2.63	5.70	9.09×10^3	3.96	4.37

Tablo 4.11 ve Şekil 4.11'de görüldüğü gibi en yüksek inhibisyon oranı zeytin yağı ve su karışımı ilave edildiği durumda gerçekleşmiştir. Yağ su karışımı ve sadece su ilave edildiği durumlar karşılaştırıldığında aralarında ortalama 2.3 log'luk fark vardır. Bu oranlardaki farklılık *Penicillium* cinsi küflerin büyük çoğunluğunun ortamda oksijen bulunmadığında gelişmediği, dolayısıyla hasarlı mikroorganizmaların onarım için gerekli koşulları bulamadığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hasarlı küflerin kendilerini onarmaları sırasında gerekli optimum

koşullarda oksijen konsantrasyonunun etkisinin büyük olduğu belirtilmektedir (Deak ve diğ.,1984).



Şekil 4.11. Yağ ve su karışımı ilavesinin mikrodalga ile inhibisyona etkisi

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, zeytin örneklerine ilave edilen farklı yağların uygulanan mikrodalga işlemi ile meydana gelen *P. citrinum*'un toplam logaritmik ve logaritmik azalmaya etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İşlemler arası farklılıkları belirlemek amacıyla Duncan Çoklu Aralık Testi uygulanmış ve test sonucunda sadece su ilave edilerek işlem uygulaması toplam logaritmik azalma diğerlerinden istatistiksel olarak farklıdır. Logaritmik azalma için sadece su ilavesi ile zeytin yağı ilavesi, zeytin yağı ilavesi ile ayçiçek yağı ilavesi benzerdir. Sadece su ilavesi ile uygulanan mikrodalga işleminin logaritmik azalmaya etkisi “a” ile ayçiçek yağı ilavesi ile uygulanan işlemin etkisi “b” ile gösterilirse zeytin yağı ilavesi ile uygulanan işlemin etkisi “ab” sembolü ile gösterilebilir.

4.6. Örneklerin Mikrodalga İçindeki Konumunun İnhibisyona Etkisi

Küf inhibisyonuna farklı proses koşullarının etkisinin incelenmesi amacıyla örneğin mikrodalga içerisindeki konumu yükselterek, 20, 75 ve 150 ml su ilave edildiği koşullarda 240 saniyelik mikrodalga işlemi uygulanmıştır.

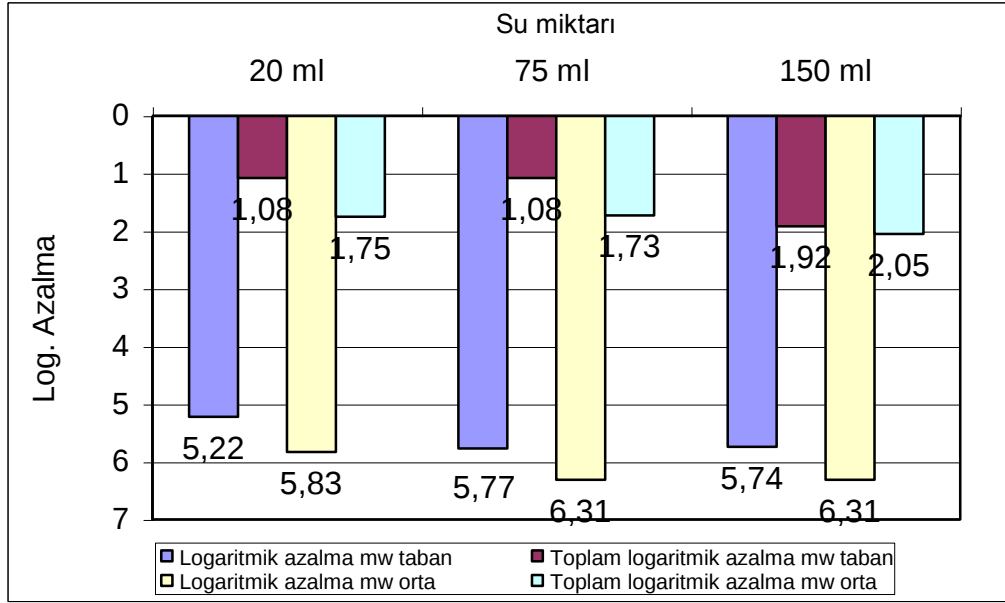
Zeytin kavanozları mikrodalga'nın tam ortasına gelecek şekilde yükselterek mikrodalga ile muamele edilmiş ve *P. citrinum* sayısında meydana gelen azalmanın zeytin kavanozları yükseltilmeden uygulanan işlem ile karşılaştırılması Tablo 4.12. ve Şekil 4.12.'de, sıcaklık değişimi ise Tablo 4.13. ve Şekil 4.13.'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Mikrodalga içinde farklı konumda uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin inhibisyona etkisi

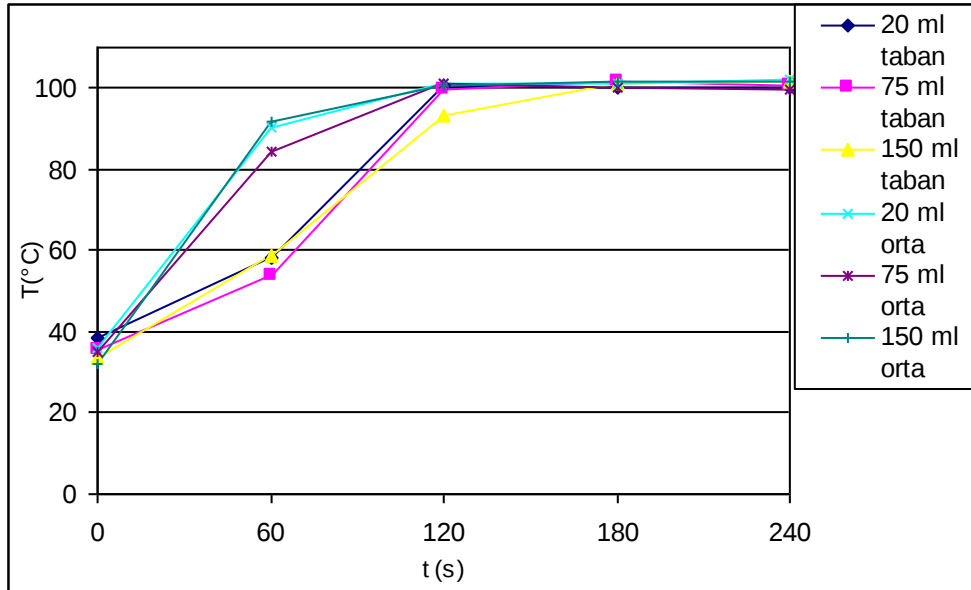
Mikrodalga İçindeki Konum	Su Miktarı (ml)	Mikrodalga İşleminden Önce		Mikrodalga İşleminden Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
Orta	20	7.18x10 ⁷	7.86	1.07x10 ²	2.03	5.83	1.28x10 ⁶	6.11	1.75
Orta	75	7.18x10 ⁷	7.86	3.53x10 ¹	1.55	6.31	1.35x10 ⁶	6.13	1.73
Orta	150	7.18x10 ⁷	7.86	3.60x10 ¹	1.55	6.31	6.45x10 ⁵	5.81	2.05
Taban	20	3.40x10 ⁷	7.56	2.28x10 ²	2.34	5.22	5.65x10 ⁶	6.47	1.08
Taban	75	8.92x10 ⁷	7.77	1.40x10 ²	2.01	5.77	7.42x10 ⁶	6.70	1.08
Taban	150	8.92x10 ⁷	7.77	1.57x10 ²	2.03	5.74	2.55x10 ⁶	5.85	1.92

Kap yükselterilip mikrodalga'nın tam ortasına gelmesi sağlanarak mikrodalga işlemi uygulanan örneklerde inhibisyon oranı daha fazladır. Bu örneklerden 20 ve 75 ml su ilaveli örneklerde, su miktarının inhibisyona etkisi görülmezken, 150 ml su ilaveli örneklerde su miktarındaki artışın inhibisyona etkisi daha fazla olmuştur.

Logaritmik ve toplam logaritmik azalma için yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, örneklerin mikrodalga içinde farklı yerlere konularak mikrodalga işlemi uygulanmasının meydana gelen *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 4.12. Mikrodalga içinde farklı konumda uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin 20, 75 ve 150 ml su ilavelerinde inhibisyona etkisi



Şekil 4.13. 240 saniyelik 75 ml su ilavesi ve örneklerin mikrodalga içerisinde farklı yerlerde tutulması ile uygulanan mikrodalga işlemi sırasında sıcaklık değişimi

Tablo 4.13. 240 saniyelik 75 ml su ilavesi ve örneklerin mikrodalga içerisinde farklı yerlerde tutulması ile uygulanan mikrodalga işlemi sırasında ölçülen sıcaklık değerleri

Yer	Su miktarı (ml)	Süre (s)				
		0	60	120	180	240
Taban	20	38.7	58.24	100.6	100.2	100.1
Taban	75	35.6	53.68	99.7	101.5	100.6
Taban	150	33.55	58.9	93.4	101.3	101.4
Orta	20	36.03	90.3	100.9	101.0	101.9
Orta	75	35.06	84.3	101.1	100.0	99.7
Orta	150	32.16	91.9	100.8	101.5	101.7

Tüm su miktarları için toplam logaritmik azalma mikrodalga içerisinde yükseltilen örneklerde ortalama 0.5 log daha fazla gerçekleşmiştir. Zeytin örneklerini içeren kavanozlar mikrodalga içinde yükseltilerek işlem uygulandığında meydana gelen logaritmik toplam azalma oranı 20 ml su için 1.75, 75 ml için 1.73, 150ml için 2.05’dir. Yükseltme işlemi yapılmadığında ise 20, 75 ve 150ml için toplam logaritmik azalma miktarı sırasıyla 1.08, 1.08 ve 1.92 olarak değişmektedir. Sıcaklık ölçümlerine bakıldığında örnekler yükseltilerek işlem uygulandığında 60 s sonunda farklı su miktarları için sıcaklık yaklaşık 88°C iken, yükseltme işlemi uygulanmayan örneklerdeki sıcaklık değeri 56°C’dir. Mikroorganizma inhibisyonunda meydana gelen bu farklılığın sıcaklık değerlerindeki değişiklikten kaynaklandığı düşünülmektedir.

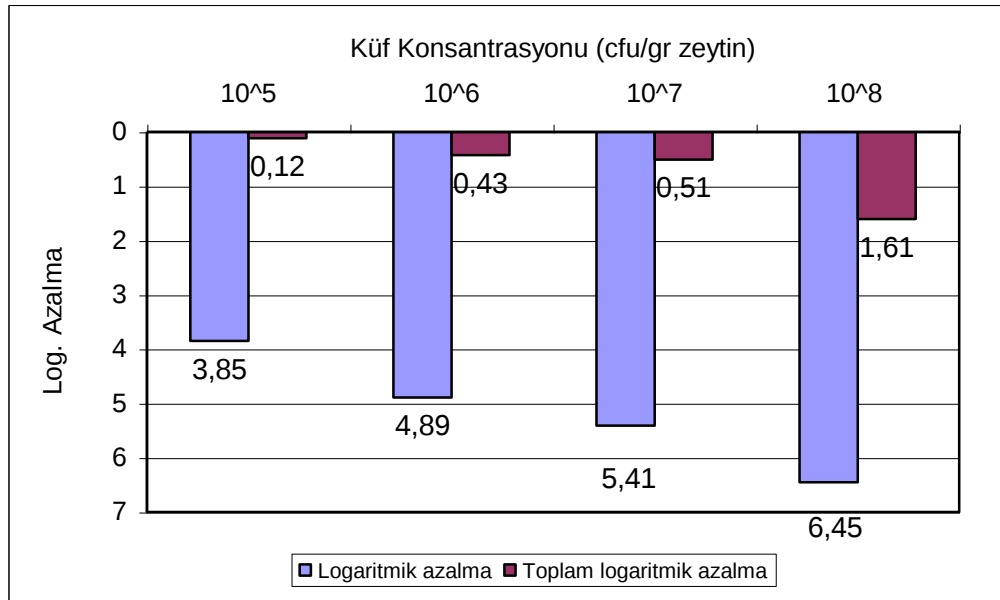
4.7. Küf Konsantrasyonundaki Farklılığın Mikrodalga ile İnhibisyona Etkisi

Yapılan tez çalışmasında küf konsantrasyonu 10^8 cfu/g zeytin olacak şekilde aşılınmış ve mikrodalga içinde küf inhibisyonuna etkisi incelenmiştir. Gıdalarda daha düşük miktarlarda mikroorganizma bulunduğunda mikrodalga sağladığı inhibisyonu belirlemek amacıyla zeytin örnekleri farklı konsantrasyonda *P. citrinum* spor süspansiyonu ile aşılınarak 75 ml su ilavesi ile 240 saniye mikrodalga ile muamele edilmiş, bulgular Tablo 4.14. ve Şekil 4.14.’de verilmiştir.

Şekil 4.14. ve Tablo 4.14.'de zeytin örneklerine aşıl原因an küf konsantrasyonu arttıkça mikrodalga uygulaması ile meydana gelen logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma değerlerinin arttığı görülmektedir. 10^5 ve 10^8 cfu/g aşıl原因a için logaritmik azalma değerleri arasındaki fark 3 log iken, toplam logaritmik azalma değerleri arasındaki fark 1.5 log'dur. Yüksek konsantrasyonda küflerin onarımı daha az gerçekleşmiştir.

Tablo 4.14. Farklı konsantrasyonlarda aşıl原因anan zeytin örneklerine uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin sonuçları

Küf Konsantrasyonu	Mikrodalga İşleminin Önce		Mikrodalga İşleminin Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı ($\log_{10}$)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı ($\log_{10}$)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı ($\log_{10}$)	
10^5	3.38×10^5	5.53	4.80×10^1	1.68	3.85	2.61×10^5	5.41	0.12
10^6	5.10×10^6	6.71	6.55×10^1	1.82	4.89	1.94×10^6	6.28	0.43
10^7	4.16×10^7	7.62	1.61×10^2	2.21	5.41	1.33×10^7	7.11	0.51
10^8	5.89×10^8	8.77	2.10×10^2	2.32	6.45	1.47×10^7	7.16	1.61



Şekil 4.14. Farklı konsantrasyonlarda aşıl原因anan zeytin örneklerine uygulanan 240 saniyelik mikrodalga işleminin sonuçları

4.8. Çekirdekli Zeytin Örneklerinde Mikrodalga İle *P. citrinum* İnhibisyonu

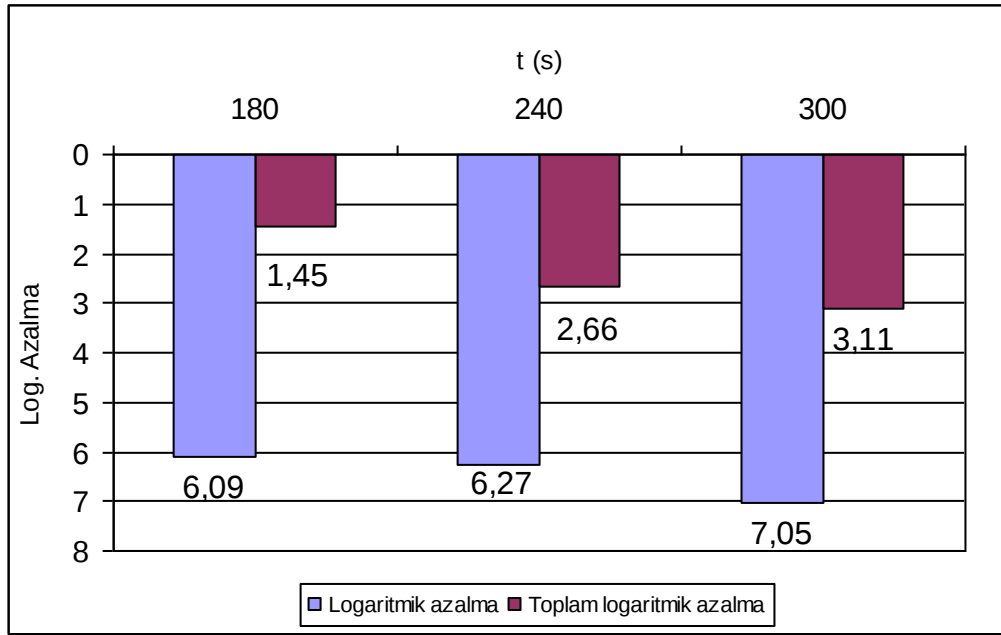
Tez çalışmasında kullanılan çekirdeksiz zeytin üreten firmaya ait çekirdekli zeytin örnekleri kullanılarak, mikrodalga'nın *P.citrinum* inhibisyonuna etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 75 ml su ilave edilen çekirdekli zeytin örneklerine 180, 240 ve 300 s'lik mikrodalga işlemi uygulanmış ve bulgular Tablo 4.15. ve Şekil 4.15.'de verilmiştir.

Tablo 4.15. Çekirdekli zeytin örneklerine farklı sürelerde uygulanan mikrodalga işlemi sonuçları

Süre (t)	Su Miktarı (ml)	Mikrodalga İşleminden Önce		Mikrodalga İşleminden Sonra		Logaritmik Azalma	1 Hafta İnkübasyon sonrası		Toplam Logaritmik Azalma
		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)		Küf sayısı (cfu/g)	Küf sayısı (log ₁₀)	
180	75	2.18x10 ⁸	8.34	1.76x10 ²	2.25	6.09	7.65x10 ⁶	6.88	1.45
240	75	2.18x10 ⁸	8.34	1.17x10 ²	2.07	6.27	4.76x10 ⁵	5.68	2.66
300	75	2.18x10 ⁸	8.34	1.96x10 ¹	1.29	7.05	1.68x10 ⁵	5.23	3.11

Mikrodalga ile muamele süresi arttıkça inhibisyon miktarı artmaktadır. Bulgular çekirdeksiz zeytin ile karşılaştırıldığında inhibisyonun çekirdekli zeytinde çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Çekirdeksiz zeytinlerde yapılan çalışmalarda logaritmik azalma 75 ml için 180, 240 ve 300 saniyelik işlem sonucunda sırasıyla 5.74, 5.77 ve 6.20 log olarak bulunmuştur (Tablo 4.3.). Çekirdekli zeytin örneklerine uygulanan aynı mikrodalga işlemleri için elde edilen logaritmik azalma değerleri 6.09, 6.27 ve 7.05 log'dur. Toplam logaritmik azalma çekirdekli zeytine 75 ml için 180, 240 ve 300 saniyelik işlem sonucunda sırasıyla 0.52, 1.08 ve 1.79 log olarak bulunmuştur. Çekirdekli zeytin örneklerine uygulanan aynı mikrodalga işlemleri için elde edilen toplam azalma değerleri 1.45, 2.66 ve 3.11 log'dur.

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, zeytin çeşidinin mikrodalga işlemi ile meydana gelen *P. citrinum*'un logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma miktarına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.



Şekil 4.15. Çekirdekli zeytin örneklerine farklı sürelerde uygulanan mikrodalga işlemi sonuçları

4.9. Küf Sporlarının Zeytinsiz Ortamda Mikrodalga İle İnhibisyonu

P. citrinum sporları 75 ve 150 ml suya 10^7 /ml olacak şekilde ve 180, 240 ve 300 saniye sürede mikrodalga ile muamele edilmiştir. İşlem sonrasında canlı küf sporuna rastlanmamıştır.

Delany ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 915 ve 2450 MHz'lik mikrodalga işleminin kurutulmuş *A. niger* ve *B. stearoothermophilus*'un sporlarının canlılığını etkilemediği belirlenmiştir. *E. coli*, *S. aureus* ve *B. subtilis* hücreleri bir film tabakası halinde kurutulmuş ve 10 dakika süre ile 2450 MHz'lik mikrodalga işlemine tabi tutulmuştur. Sırasıyla 5, 2 ve 0 log'luk azalma sağlanmıştır. Page ve Martin bu azalmayı mikrodalga çalışırken magnetronun korunması amacıyla ortamın nemlendirilmesi sırasında ortaya çıkan ısıya bağlamışlardır. Yeniden nemlendirilen örneklerden *S. aureus* 30 saniyede, *E. coli* 45 saniyede ve *B. subtilis* sporları 10 dakikada 10 log azalmışlardır (Fung ve Cunningham, 1980). Yapılan tez çalışmasında daha 180 saniyede 7 log'luk inhibisyon sağlanmıştır.

4.10. Mikrodalga İşleminin Sitrinine Etkisi

Mikrodalga işleminin zeytinde *P. citrinum* tarafından oluşturulan sitrinin miktarına etkisini belirlenmek amacıyla örneklere 65 ve 140 ml su ilavesi ile 180, 240 ve 300s'lik mikrodalga işlemi ve 4 farklı pH'da (4.6, 5.5, 6.0, 6.5) 65 ml su ilavesi ile 240s'lik işlemler uygulanmıştır. Uygulanan işlemlerin kontrol örnekleriyle karşılaştırarak toksin miktarında meydana gelen değişiklik belirlenmiştir. Kontrol örneğindeki sitrinin miktarı TLC yöntemi ile 32 ppm olarak bulunmuştur. İşlem uygulanan tüm örneklerde sitrinin miktarı 32 ppm olarak bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre zeytine uygulanan mikrodalga işleminin sitrinin miktarında bir değişiklik meydana getirmediği belirlenmiştir.

Saf sitrininin ısı ile parçalanmasının incelendiği çalışmalarda, 100 °C'de 60 dakika'da, 120 °C'de 20 dakika'da, 130 °C'de 10 dakika işlem uygulandığında TLC plakalarında sitrinin spotu tamamen kaybolmuştur. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan analizler sonucunda sitrininin; 80 °C 30 dk'da; %45 oranında; 60 dk'da; %50 oranında azaldığı belirlenmiştir. 90 °C 10 dk'da sitrinin miktarı %55'e düşmüştür. 100 °C ve 110 °C'de sıfırıncı dakikada sitrinin miktarında %50-55 oranında azalma görülmüştür. Daha sonraki 20 dakika'da sitrinin miktarında bir değişim görülmemiştir. 110 °C için ise sadece %10 oranında değişim görülmüştür, 20 dk sonrasında sitrinin azalması hızlanmış ve 60 dk sonunda 100°C'lik için %25, 110 °C için %18 oranında sitrinin kalmıştır. (Trivedi ve diğ.,1993a).

Literatürde aflatoksinin mikrodalga ile detoksifiye edilebileceği fakat ev tipi mikrodalgaların bu işlem için yeterli güç ve sıcaklığa ulaşamayacağı belirtilmiştir (Stolle ve Schalch, 2000).

Yapılan tez çalışmasında uygulanan mikrodalga işleminin en fazla 5 dakika olması ve toksinin gıda bileşeninde olması nedeniyle toksin miktarında bir değişiklik meydana gelmemiştir. Literatürde sitrininin sıcaklık ile detoksifikasyonu saf toksinle yapılmıştır ve gıda bileşeninde bulunan sitrininin sıcaklık ile detoksifikasyonunu inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

5. SONUÇ

Tez çalışmasında zeytinlere 75 ml ve 150 ml su ilave edilip mikrodalga işlemi uygulanıp, işlem süresi arttırıldığında *P. citrinum* inhibisyonunda artış görülmüştür. Yapılan duyuşal panel ile 300 saniyelik mikrodalga işleminin duyuşal özelliklerde farklılık meydana getirdiğı belirlendiğinden, küf inhibisyonu için optimum koşulların araştırılmasında işlem süresi 240 saniye olarak seçilmiş ve çalışmalara devam edilmiştir. 240 saniyelik 75 ml su ilave edilerek gerçekleştirilen mikrodalga işleminde 5.77 log'luk, 150 ml için 5.74 log'luk azalma meydana gelmiştir. 1 hafta sonra yapılan ekimlerde toplam azalma 75 ml için 1.08 log ve 150 ml için 1.92 log olarak belirlenmiştir.

Farklı ortam koşullarının mikrodalga'nın inhibisyon miktarını etkileyeceğı düşünülerek, değışik pH'lardaki inhibisyon oranları araştırılmıştır. Çalışmada kullanılacak asit türünü belirlemek amacıyla %5'lik laktik, asetik ve sitrik asit çözeltileri kullanılarak 75 ml su ilave edilen zeytin örneklerinin pH değeri ayarlanmış ve 240 saniye süre ile mikrodalga işlemine tabi tutularak inhibisyon miktarları belirlenmiştir. % 5'lik asetik asit çözeltisi ile 240 saniyelik mikrodalga işlemi uygulandığında 2.62 log'luk toplam azalma, diğerk asit çözeltilerinde ise ortalama 1.87 log'luk toplam azalma gerçekleşmiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı asitler kullanılarak pH'sı 4.6'ya ayarlanan zeytin örneklerine uygulanan mikrodalga işlemi ile meydana gelen *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Asit çeşitlerini karşılaştırmak amacıyla Duncan Çoklu Aralık Testi uygulanmış ve test sonucunda asetik asitin etkisinin laktik asit ve sitrik asitten farklı olduğı belirlenmiştir. Yapılacak olan araştırmada, farklı pH değerleri ayarlamak için asetik asit çözeltisinin kullanılmasına karar verilerek çalışmaya devam edilmiştir.

Üç farklı pH değerinin (4.6, 5.5, 6.0) mikrodalga işlemine etkisi incelenmiştir. 20 ml su ilavesinde farklı pH değerleri için azalma miktarı 5.22 ile 5.77 log arasında,

toplam azalma ise 1.08 ile 1.7 log arasında değişmektedir. 75 ml su ilavesi ile yapılan mikrodalga işleminde azalma ve toplam azalma sırasıyla 6.66 ile 5.77 ve 1.08 ile 1.70 arasında, 150 ml su ilavesinde ise azalma ve toplam azalma sırasıyla 6.57 ile 5.74 ve 1.06 ile 2.13 arasında değişmektedir.

P. citrinum sayısındaki azalma 20 ml su ilave edilip mikrodalga ile muamele edildiğinde 5.22 log, 75 ml’de 5.77 ve 150 ml’de 5.74 log ile en az pH 6’da gerçekleşmiştir. İşlem uygulanmadan önce su ilave edilen küflü zeytinlerin pH’sı 6 olarak belirlenmiştir. Genel olarak mikroorganizmaların ısısal dirençleri optimum gelişme pH’ları civarında en yüksek düzeydedir. Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı su miktarlarının *P. citrinum*’un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İnhibisyon üzerine su miktarının etkileri arasındaki farkı belirlemek için Duncan’ın Çoklu Aralık Testi uygulanmıştır. Buna göre 75 ve 150 ml su ilavesi ile uygulanan mikrodalga işleminden elde edilen azalma miktarları arasında istatistiksel olarak fark yoktur. *P. citrinum* sayısındaki azalma için, 20 ml su ilave edilen işlem 75 ve 150 ml’lik işlemten istatistiksel açıdan farklıdır. Toplam azalma miktarlarına varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı su miktarlarının *P. citrinum*’un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, farklı pH değerlerinin *P. citrinum*’un azalma ve toplam azalma miktarlarına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Azalma miktarı üzerine farklı pH’lı işlemlerin etkileri arasındaki farkı belirlemek için Duncan’ın Çoklu Aralık Testi uygulanmıştır. Buna göre pH’sı 4.6 ve 5.5’e ayarlanan işlemlerden elde edilen azalma miktarı istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ve pH’sı 6.0 ile 5.5’e ayarlanan işlemlerden elde edilen toplam azalma miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

Zeytin örneklerine yağ ve su karışımları ilave edilip mikrodalga ile muamele edildiğinde toplam azalma en yüksek zeytin yağı ve su karışımı ilave edildiği durumda gerçekleşmiştir. Yağ-su karışımı ve sadece su ilave edildiği durumlardaki toplam azalma karşılaştırıldığında aralarında ortalama 2.3 log’luk fark vardır. Bu oranlardaki farklılık *Penicillium* cinsi küflerin büyük çoğunluğunun ortamda oksijen

bulunmadığında gelişmediği, dolayısıyla hasarlı mikroorganizmaların onarım için gerekli koşulları bulamadığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örneklerin mikrodalga içerisindeki konumunun inhibisyona olan etkisini incelendiği çalışmada, mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde, örneklerin mikrodalga içinde farklı yerlere konularak mikrodalga işlemi uygulamasının meydana gelen *P. citrinum*'un inhibisyonuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tüm su miktarları için toplam logaritmik azalma mikrodalga içerisinde yükselttilen örneklerde ortalama 0.5 log daha fazla gerçekleşmiştir. Zeytin örneklerini içeren kavanozlar mikrodalga içinde yükselttilerek işlem uygulandığında meydana gelen toplam logaritmik azalma miktarı 20 ml su için 1.75, 75 ml için 1.73, 150 ml için 2.05'dir. Yükseltme işlemi yapılmadığında ise 20, 75 ve 150ml için toplam logaritmik azalma miktarı sırasıyla 1.08, 1.08 ve 1.92 olarak değişmektedir. Sıcaklık ölçümlerine bakıldığında örnekler yükselttilerek işlem uygulandığında 60 saniye sonunda farklı su miktarları için sıcaklık yaklaşık 88°C iken, yükseltme işlemi uygulanmayan örneklerdeki sıcaklık değeri 56°C'dir. Mikroorganizma inhibisyonunda meydana gelen bu farklılığın sıcaklık değerlerindeki değişiklikten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan tez çalışmasında küf konsantrasyonu 10^8 cfu/gr zeytin olacak şekilde aşılınmış ve mikrodalga içinde küf inhibisyonuna etkisi incelenmiştir. Gıdalarda daha düşük miktarlarda mikroorganizma bulunduğunda mikrodalga sağladığı inhibisyonu belirlemek amacıyla zeytin örnekleri farklı konsantrasyonda *P. citrinum* spor süspansiyonu ile aşılınarak 75 ml su ilavesi ile 240 saniye mikrodalga ile muamele edilerek zeytin örneklerine aşılınan küf konsantrasyonu arttıkça mikrodalga uygulaması ile meydana gelen logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma değerlerinin arttığı belirlenmiştir. 10^5 ve 10^8 cfu/gr aşılama için logaritmik azalma değerleri arasındaki fark 3 log iken, toplam logaritmik azalma değerleri arasındaki fark 1.5 log'dur. Yüksek konsantrasyonda küflerin onarımı daha az gerçekleşmiştir.

Çekirdekli zeytin örnekleri kullanılarak, mikrodalga içinde *P. citrinum* inhibisyonuna etkisi incelenmiş ve yapılan mikrobiyolojik analizlerle elde edilen sonuçlara varyans analizi (Analysis of Variance, ANOVA) uygulanarak $\alpha = 0.05$ önem düzeyinde,

zeytin çeşidinin mikrodalga işlemleri ile meydana gelen *P. citrinum*'un logaritmik azalma ve toplam logaritmik azalma miktarına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

P. citrinum sporlarının zeytinsiz ortamda mikrodalga ile inhibisyonunu belirlemek amacıyla *P. citrinum* sporları 75 ve 150 ml suya 10^7 /ml olacak şekilde ve 180, 240 ve 300 saniye sürede mikrodalga ile muamele edilmiştir. İşlem sonrasında canlı küf sporuna rastlanmamıştır.

Zeytine 75 ve 150 ml su ilavesi ile gerçekleştirilen 180, 240 ve 300 saniyelik mikrodalga işlemleri ve 240 saniye uygulanan farklı pH değerlerindeki işlemler sitrinin miktarında bir değişiklik meydana getirmemektedir. Bu sebeple zeytindeki küf gelişiminin önlenmesi ve mikotoksin oluşumu durdurulmalıdır.

Küf inhibisyonu için uygulanan yöntemlerin karşılaştırılmasında küf sayısındaki azalma belirlenerek yöntemin etkinliği değerlendirilmektedir. Uygulanan işlem sırasında tamamen inhibe olmayan fakat mevcut yöntemlerle o anda sayısı belirlenemeyen, hasar görmüş mikroorganizmalar bulunmaktadır. Uygulanan inhibisyon işlemi ticari olarak gerçekleştirildiğinde mikroorganizma sayısındaki azalma standart değerleri sağlasa bile tüketime sunulduğunda hasarlı mikroorganizmalar gelişerek, insan sağlığını ve ürün kalitesini bozabilir. Yapılan tez çalışmasında mikrodalga işleminin uygun proses koşullarında, küf inhibisyonunu arttıracak düşüncesiyle zeytinlere farklı proses koşullarında mikrodalga işlemi uygulanmış, küf sayısında meydana gelen azalma hasarlı küf sayıları da dikkate alınarak, zeytinlerde küf inhibisyonu için 240 saniye süre ile mikrodalga işlemi uygulanabileceği, zeytin örnekleri 1:1 oranında sulandırılıp çok az miktarda sirke ilavesi ve işlem sonrasında zeytin yağında saklanması ile küf gelişmesinin önleneceği, hasarlı organizmaların onarımının azalacak belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdelhamid, A.M. and Dorra, T.M.**, 1990. Study on effects of feeding laying hens on separate mycotoxins (aflatoxins, patulin, citrinin) - contaminated diets on the egg quality and tissue constituents, *Archives of Animal Nutrition*, **40**, 4, 305-316.
- Abramson, D., Usleber E., and Martlbauer, E.**, 1999. Rapid Determination of citrinin in corn by fluorescence liquid chromatography and enzyme immunoassay, *Journal of AOAC International*, **82**, 6, 1353-1355.
- Abrunhosa, L., Paterson. R.R.M., Kozakiewicz, Z., Lima, N. And Venancio, A.**, 2001. Mycotoxin production from fungi isolated from grapes, *Letters in Applied Microbiology*, **32**, 4, 240-242.
- Akbulut, N.**, 1980. Yağlık zeytinlerin muhafazaları sırasında bozulmalarını önlemek amacıyla uygun depolama yöntemlerinin tesbiti ve bozulmalarına sebep olan mikroorganizmler üzerinde araştırmalar, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **17**, 2, 195-208.
- Aktan, N. ve Kalkan, H.**, 2000. Sofralık Zeytin Teknolojisi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- Altuğ, T.**, 1993. Duyusal Test Teknikleri, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın no:28, İzmir.
- Andersen, S.J.**, 1995. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages, *Journal of Food Protection*, **58**, 4, 426-429.
- Annis, P.J.**, 1980. Design and use of microwave ovens, *Journal of Food Protection*, **73**, 8, 629-632.
- Anonymous.**, 1999. Türk Gıda Mevzuatı, 1. Baskı, AB Ofset, Ankara.
- Anonymous.**, 2001. Devlet İstatistik Enstitüsü, Tarım İstatistikleri Özeti, Ankara.
- Anonymous.**, 2003a. FAOSTAT Database Results. Food and Agricultural Organization of The United Nations. <http://apps.fao.org/default.htm>
- Anonymous.**, 2003b. Türkiye’de zeytiyağı üretimi tüketimi ve dış satımı , Türkiye Ziraat Mühendisleri Odası www.tmmobzmo.org.tr/docs/21.doc
- Anonymous.**, 2003c. Zeytin İşleme Teknikleri, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, www.zeytincilik.8m.com/salamura.htm

- Anonymous.**, 2003d. <http://www.dehs.umn.edu/iaq/fungud/penicillium/citrinum.html>
- AOAC**, 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc., Virginia, USA.
- Arici, M.**, 2001. Isolation and determination of mould fungi of figs, peanuts and olives from Turkey and screening of these for mycotoxins, *Ernaehrung*, **25**, 4, 157-160 in Food Science & Technology Abstracts.
- Atkins, D. and Norman J.**, 1998. Mycotoxins and food safety, *Nutrition and Food Science*, **5**, 260-266.
- Aziz, N.H. and Moussa, L.A.A.**, 2002. Influence of gamma-radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits, *Food Control*, **13**, 281-288.
- Bailly, J.D., Querin, A., Bars-Bailly, S.L., Benard, G. and Guerre, P.**, 2002. Citrinin production and stability in cheese, *Journal of Food Protection*, **65**, 8, 1371-1321.
- Barber, J., Carter, R.H., Garson, M. and Staunton, J.**, 1981. The biosynthesis of citrinin by *Penicillium citrinum*, *J. Chem. Soc. Perkin. 1*, 2577-2583.
- Barber, J., Cornford, J.L., Howard, T.D. and Sharples D.**, 1987. The Structure of Citrinin in vivo, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 2743-2744.
- Borcaklı, M., Özay, G. ve Alperden, İ.**, 1994. Çeşitli Proseslerin Siyah Zeytin Fermantasyonuna Etkileri, *Kökem Dergisi*, **17**, 1, 39-50.
- Chelkowski, J. and Golinski, P.**, 1982. Mycotoxins and toxigenic fungi in mixed feeds and their cereal components, 5th *International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phytotoxins*, September, 1-3, 68-71.
- Comerio, R., Pinto, V.E.F. and Vaamonde, G.**, 1998. Influence of water activity on *Penicillium citrinum* accumulation in wheat, *International Journal of Food Microbiology*, **42**; 219-223.
- Curnutte, B.**, 1980. Principles of Microwave Radiation. *Journal of Food Protection*, **43**, 8, 618-624.
- Datta, A.K. and Davidson, P.M.**, 2001. Microwave and Radio frequency processing. *Journal of Food Processing*. Special Supplement: Microbial Inactivation for Food Processing Technologies, 1, 32-41.
- Deak, T., Nagel, V. and Fabri, I.** 1984. Consideration of media for enumerating injured fungi, in: *Methods for the mycological examination of food*, pp:168-171, eds. King, A.D., Pitt, J.I., Beuchat, L.R. and Corry, J.E.L., Plenum Press, NATO ASI Series, Boston.
- Doyle, M.P., Applebaum, R.S., Brackett, R.E. and Marth, E.H.**, 1982. Physical, Chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and

agricultural commodities, *Journal of Food Protection*, **45**, 10, 964-971.

Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.J., 1997a. Chapter: Methods of Food Preservation, Food Microbiology, ASM Press, Washington D.C.

Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.J., 1997b. Chapter: Toxigenic *Penicillium* Species, Food Microbiology, ASM Press, Washington D.C.

Eltem, R. and Öner, M., 1995. Mould flora on natural black olives in brine, *Turkish Journal of Biology*, **19**,1, 11-17.

Erzurum, K., 2001. Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler, *Gıda*, **26**, 4, 289-293.

Fernandez, G.A., Diez, M.J.F. and Adams, M.R., 1997. Table Olives Production and Processing, Chapman & Hall, London.

Firouzi, R., Shekarforoush, S.S. and Fallah, H.R., 2002. Effect of sugar and growth phase on destruction of *Listeria monocytogenes* by microwave radiation, *18th International ICFMH Symposium Food Micro*, Norway, August 18-23, 327

Fouler, S.G., Trivedi, A.B. and Kitabatake, N., 1994. Detoxification of citrinin and ochratoxin A by hydrogen peroxide, *Journal of AOAC International*, **77**, 3, 631-637.

Frank, H.K., 1992. Citrinin, *Zeitschrift Ernährungswissenschaft*, **31**, 164-177.

Frisvad J.C. 1998. Fungal species and their specific production of mycotoxins, in *Introduction to food-borne fungi*, pp.239-249, Eds. Samson, R.A. A, and Reenen- Hoekstra, E.S, cbs, Delft.

Fung, D.Y. and Cunningham F.E., 1980, Effect of microwaves on microorganisms in foods, *Journal of Food Protection*, **43**, 8, 641-650.

Garcia, G.P., Balbuena, B.M., Baarnco, R.C. and Fernandez, G.A., 2001b. Biogenic amines in packed table olives and pickles, *Journal of Food Protection*, **64**, 3, 374-378.

Garcia, P., Brenes, M., Romero, C. and Garrido, A., 2001a. Colour fixation in ripe olives. Effects of type of iron salt and other processing factors, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, 1364-1370.

Gourama, H. and Bullerman, L.B., 1998. Effects of potassium sorbate and natamycin on growth and penicillic acid production, *Journal of Food Protection*, **51**, 2, 139-144.

Göçmen, D., Korukoğlu, M., Uylaşer, V., Gürbüz, O., Yıldırım, A. ve Şahin, İ., 2000. Salamura zeytinlerde bozulma etkeni küfler, *Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu*, UÜ, Bursa, 6-9 Haziran, s. 467-472.

- Gökçe, O.,** 2003. Türkiye’de Zeytin Orman İlişkileri, <http://www.foresteconomics.org/Zeytin-Orman.htm>
- Gürkün, V. ve Halkman, A.K.,** 1988. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği, 7, 46-49.
- Heddleson, R.A. ve Doores, S.,** 1994. Factors effecting microwave heating of foods and microwave induced destruction of food borne pathogens- A review, *Journal of Food Protection*, **57**, 11,1025-1037.
- Heperkan, D., Karbancıoğlu, F., Dalkılıç, G. and Vasavada, P.C.,** 2002. Prevention of mould growth on black olives by microwave treatment, *18th International ICFMH Symposium Food Micro*, Norway, August 18-23, 310.
- Heperkan, D., Karbancıoğlu, F., Dalkılıç, G. and Vasavada, P.C.,** 2002. Evaluation of the effectiveness of microwave treatment for mold inhibition on black olives by using malt extract agar, DG18 and petrifilm, *23th Food Microbiology Symposium & Workshop*, Wisconsin, October, 13-16.
- Hirota, M., Menta, A.B., Yoneyama, K. and Kitabatake, N.,** 2002. A major decomposition product, citrinin H₂, from citrinin on heating with moisture, *Biosci. Biotec. Biochem*, **66**, 1, 206-210.
- Hui, Y.H.,** 1992. Encyclopedia of Food Science and Technology, Vol.3 1910-1924, John Wiley & Sons, Inc., USA.
- Jay, M.J.,** 1992. Modern Food Microbiology, Chapman & Hall, 4th Edition, New York.
- Jeinek, C.F, Pohland A.E. and Wood G.E,** 1989, Review of mycotoxin contamination, *Assoc. Off. Anal. Chem*, **72**, 2, 223-230.
- Jones, M.J.,** 1993. Food Safety, Eagan Press, Minnesota.
- Karadeniz F. ve Ekşi, A.,** 2002. Gıdalarda mikotoksin oluşumunun azaltılması, *Gıda*, **7**, 104-110.
- Kıvanç, M. ve Akgül, A.,** 1990. Mould growth on black table olives an prevention by sorbic acid, methyl-eugenol and spice essential oil, *Die Nahrung*, **34**, 4, 369-373.
- Kitabake, N., Trivedi, A.B. and Doi, E.,** 1991. Thermal decomposition and detoxification of citrinin under various moisture conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **39**, 12, 2240-2244.
- Korukoğlu, M., Gürbüz, O., Uylaşer, V., Yiğit, A. ve Şahin, İ.,** 2000. Gemlik tipi zeytinlerde mikotoksin kirliliğinin araştırılması, *Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu*, UÜ, Bursa, 6-9 Haziran, s. 214-219.

- Korukoğlu, M., Yiğit, A. ve Çavuşoğlu, Ç.,** 2000. Sofralık zeytinlerde görülen bozulmalar, *Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu*, UÜ, Bursa, 6-9 Haziran, s. 473-479.
- Kozempel, M.F., Annous, B.A., Cook, R.D., Scullen, O.J. and Whiting, R.C.,** 1998. Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures, *Journal of Food Protection*, **61**, 5, 582-585.
- Kpodo, K., Serensen, A.K. and Jakobsen, M.,** 1996. The occurrence of mycotoxins in fermented maize products, *Food Chemistry*, **56**, 2, 147-153.
- Kuchma, T.,** 1998. Synergistic effect of microwave heating and hydrogen peroxide on inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures, *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, **33**, 2, 77-87.
- Lambert, J.P.,** 1980. Biological Hazards of Microwave Radiation. *Journal of Food Protection*, **43**, 8, 625-628.
- Leszkowicz, A.P., Bocharova, P. T., Chernozemsky, I.N. and Castegnaros, M.,** 2002. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins, *Food Additives and Contaminants*, **19**, 3, 282-302.
- Lund, B.M. and Eklund, T.,** 2000. Control of pH and use of organic acids, in: The microbiological safety and quality of food, pp:175-199, Vol. I., eds. Lund, B.M., Baird, P.T.C., Gould, G.W., Aspen, Gaithersburg, Maryland.
- Mackey, B.M.,** 2000. Injured Bacteria, in: The microbiological safety and quality of food, pp:315-341, Vol. I., eds. Lund, B.M., Baird, P.T.C., Gould, G.W., Aspen, Gaithersburg, Maryland.
- Macrae, R.K., Robinson, M.J. ve Sadler, M.J.,** 1993. Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition, Volume 5, 3353-3358, Academic Press, London.
- Martins, M.L., Gimeno, A., Martins, H. M. And Bernado, F.,** 2002. Co-occurrence of patulin and citrinin in Portuguese apples with rotten spots, *Food Additives and Contaminants*, **19**, 6, 568-574.
- Meriç E.B.,** 2001. *Penicillium* cinsi bazı küflerin mikotoksin oluşturma özelliklerinin zeytinde incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Meriç, E.B. ve Heperkan D.,** 2003. Zeytinde küf florası ve mikotoksin oluşumu, Yayınlanmak üzere hazırlanmıştır.
- Montani, M., Vaamonde, G., Resnik, S.L. and Buera, P.,** 1988. Temperature influence on *Penicillium citrinum* Thom growth and citrinin accumulation kinetics, *International Journal of Food Microbiology*, **7**, 115-122.

- Moorman, M.**, 1990, Mycotoxins and food safety, *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, **10**, 4, 207-210.
- Moss, M.O.**, 1996. Mycotoxins, Centenary Review, *Mycol. Res.*, **100**, 5, 513-523.
- Odhav, B. and Naicker, V.**, 2002. Mycotoxins in South african traditionally brewed beers, *Food Additives and Contaminants*, **19**, 1, 55-61.
- Oral, J. and Heperkan D.**, 1999. Penicilic acid and citrinin production in olives, *Foundation Food Micro'99*, TNO Nutrition and Food Research Institute, Ponsen&Looyen, Wageningen, The Netherlands.
- Oral, J.**, 1999. *Lactobacillus plantarum*'un *Penicillium* mikotoksinlerine etkisinin zeytinde incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Ökmen, Z.A.**, 2003. Mikrodalga Fırın Kullanımı, <http://www.cagipolisi.com.tr/12/9-10.htm>
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D.**, 1985. Fungi and food spoilage, Academic Press, Inc. Sydney, Australia.
- Pitt, J.I.**, 2000. *Penicillium*, in *Encyclopedia of Food Microbiology*, pp: 1647-1662, eds. Robinson, R.K., Batt, C.A., Datel, P.D., Academic Press. UK.
- Pitt, J.I.**, 2002. Biology and ecology of toxigenic *Penicillium* species, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp:29-41, eds. De Vries, K.W., Truckess, M.W and Jackson, L.S., Kluwer, Washington.
- Rosenthal, I.**, 1992. Electromagnetic Radiations in Food Science, Chapter: Microwave Radiation, Springer- Verlag, Berlin.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. and Filtemberg, O.**, 1996. Introduction to Food Borne Fungi, 5th edition, Centrealburesu Voor-Schimmelcultures, CBS, Delft.
- Scott, P.M.**, 1978,. Mycotoxins in feeds and ingredients and their origin, *Journal of Food Protection*, **41**, 5, 385-398.
- Scott, P.M.**, 1984. Effects of food processing on mycotoxins, *Journal of Food Protection*, **47**, 6, 489-499.
- Scott, P.M.**, 1991. Possibilities of reduction or elimination of mycotoxins present in cereal grains, in *Cereal Grain. Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage*, pp. 529-572, eds. Chelkowski J., Elsevier, Amsterdam.
- Shekarforoush, S.S., Firouzi, R. and Abbas-zadeh, M.**, 2002. Effect of sodium chloride and pH on destruction of *Listeria monocytogenes* by microwave radiation, *18th International ICFMH Symposium Food Micro*, Norway, August 18-23, 328

- Sinha, K.K.**, 1998. Detoxification of mycotoxins and food safety, in: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*, pp. 381-405, Eds. Sinha K.K. and Bhatnagar D., Dekker, USA.
- Smith, J.E.**, 2001. Mycotoxins, in *Food Chemical Safety, Contaminants, Volume I contaminants*, 11th section, eds. Watson D., CRC Press, Cambridge, England.
- Stolle, A. ve Schalch, B.**, 2000. Action of Microwaves, in *Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol 2. pp.1036. Eds. Robinson, R., Batt, C.A. and Patel, P.D., Academic Press, U.K.
- Sweeney, M. J. and Dobson, A. D.**, 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species, *International Journal of Food Microbiology*, **43**, 141-158.
- Şahin, İ., Kılıç, O., Başoğlu, F., Korukoğlu, M. ve Göçmen, D.**, 1999. Salamura siyah zeytinlerde rastlanan küfler ve mikotoksin riskleri, *Biyoteknoloji (KÜKEM) Dergisi*, **22**, 2, 1-8.
- Şahin, İ., Kılıç, O., Başoğlu, F., Korukoğlu, M. ve Uylaşer, V.**, 1996. Siyah zeytin florasında oluşan zarda (kefeke) küf florasının araştırılması, TC Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu, İşletme Müdürlüğü, Proje No: 93/44.
- Trivedi, A.B., Doi, E. and Kitabatake, N.**, 1992. Cytotoxicity of citrinin heated at temperatures above 100 °C, *Biosci. Biotec. Biochem*, **56**, 3, 423-426.
- Trivedi, A.B., Doi, E. and Kitabatake, N.**, 1993a. Toxic compounds formed on prolonged heating of citrinin under watery conditions, *Journal of Food Science*, **58**, 1, 229-232.
- Trivedi, A.B., Hirota, M., Doi, E. and Kitabatake, N.**, 1993b. Formation of a new toxic compound, citrinin H1, from citrinin on mild heating in water, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 2167-2171.
- Trucksess, M.W.**, 2000. Committee on natural toxins, General Referee Reports, *Journal of AOAC International*, **83**, 2, 442-448.
- TS-2131**, 1987. Baharat-Toplam Kül Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TS-774**, 1997. Sofralık Zeytin, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F.**, 2000. Gıda Mikrobiyolojisi, 2. Baskı, Mengi Tab Basımevi, İzmir.
- Var, I. ve Aksan, E.**, 2002. Kıymaların mikroflorası ve mikrodalga uygulamasının kıymada *Salmonella enteridis* T4 üzerine etkisi, *Dünya Gıda*, **5**, 67-71.
- Vazquez, B.I., Fente, C. Franco, C.M., Vazquez, M.J. and Cepeda, A.** 2001. Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum*

strains in culture media and cheese, *International Journal of Food Microbiology*, **67**, 157-163.

- Vrabcheva, T., Usleber. E., Dietrich. R. and Maertlbauer, E.,** 2000. Co-occurrence of ochratoxin a and citrinin in cereals from bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 6, 2483-2488.
- Wild, D.,** 2000. Red mould rice (angkak). Analysis and detection in meat products, *Fleischwirtschaft*, **80**, 10, 91-93.
- Wilson, D.M, Tabor, W.H. and Trucksess, M.W.,** 1976. Screening method for the detection of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, penicillic acid and citrinin, *Journal of AOAC*, **59**, 1, 125-127.
- Yang, G.Y.,** 1991. Isolation of a toxic metabolite from a thermotolerant strain of *Penicillium citrinum*: immunological and developmental studies, *PhD Thesis*, Texas A&M University, Texas.

EKLER

EK A

Çekirdeksiz zeytinlere (45 gr), 3 farklı su miktarı (20, 75 ve 150 ml) ve üç farklı sürede (180, 240 ve 300 saniye) mikrodalga işlemi uygulanmış ve sıralama testi kullanılarak yapılan duyusal panel sonuçları 20 ml için Tablo A.1., 75 ml için Tablo A.2. ve 150 ml için Tablo A.3.'de verilmiştir.

Tablo A. 1. 20 ml su ilave edilerek mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örneklerinin duyusal panel sonuçları

Panelist No	Lezzet			Görünüş		
	180 s	240 s	300s	180 s	240 s	300 s
1	1	2	3	1	3	2
2	1	3	2	2	2	2
3	1	2	3	1	2	3
4	1	3	2	2,5	2,5	1
5	2	1	3	1	2	3
6	2	1	3	1	2	3
7	1,5	1,5	3	2	1	3
8	2	1	3	1	3	2
9	1	2	3	1	2	3
10	1	2	3	1	2	3
11	1	2	3	1	2	3
12	2	1	3	1	2	3
13	1	2	3	1	2	3
14	3	2	1	2	1	3
15	2	1	3	1	2	3
16	2	1	3	2	3	1
17	1	3	2	1	2	3
18	1	3	2	1	2	3
19	2	1	3	2	1	3
20	2	1	3	2	1	3
TOPLAM	31	36	54	28	39,5	53

Tablo A. 2. 75 ml su ilave edilerek mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örneklerinin duyuşal panel sonuçları

Panelist No	Lezzet			Görünüş		
	180 s	240 s	300s	180 s	240 s	300 s
1	1	3	2	2	3	1
2	1	3	2	2	2	2
3	2	1	3	1	2	3
4	1	3	2	2	1	3
5	2	1	3	2	1	3
6	1	3	2	1	2	3
7	1	2	3	1	2	3
8	1	2	3	2	1	3
9	2	3	1	2	1	3
10	1	2	3	2	3	1
11	2	1	3	2	3	1
12	2	1	3	1	2	3
13	1	2	3	1	2	3
14	1	2	3	2	1	3
15	2	1	3	2	1	3
16	2	3	1	2	1	3
17	1	3	2	2	1	3
18	1	3	2	3	2	1
19	1	3	2	2	2	2
20	1	3	2	2	1	3
TOPLAM	27	45	48	36	34	50

Tablo A. 3. 150 ml su ilave edilerek mikrodalga işlemi uygulanan zeytin örneklerinin duyusal panel sonuçları

Panelist No	Lezzet			Görünüş		
	180 s	240 s	300s	180 s	240 s	300 s
1	2	1	3	2	1	3
2	2	3	1	2	2	2
3	1	3	2	1	2	3
4	2	3	1	3	2	1
5	2	3	1	2	3	1
6	2	1	3	2	2	2
7	2	1	3	2	1	3
8	3	1	2	1	2	3
9	1	2	3	2	3	1
10	1	2	3	2	1	3
11	1	3	2	1	2	3
12	1	2	3	1	2	3
13	2	3	1	1	2	2
14	3	1	2	1	2	3
15	3	2	1	1	2	3
16	2	1	3	3	1	2
17	1	3	2	2	1	3
18	2	1	3	1	2	3
19	3	2	1	2	1	3
20	1	2	3	1	2	3
TOPLAM	37	40	43	32	38	50

ÖZGEÇMİŞ

Gözde Dalkılıç 1978 yılında İzmit'te doğdu. 1995 yılında Kocaeli Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 1995-1999 yılları arasında İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nde lisans öğrenimini tamamladı. 1999 yılında yüksek lisansına İ.T.Ü. Kimya Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde başladı. 2001 yılından itibaren Araştırma Görevlisi olarak göreve başladığı Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Bilimleri Anabilim Dalı'nda halen görevini sürdürmektedir.