

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**BAZI ALTERNATİF DEKONTAMİNASYON  
YÖNTEMLERİNİN KEKİĞİN MİKROBİYOLOJİK VE  
KİMYASAL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ARİFE SİNEM KÜÇÜKOĞLU**

**DENİZLİ, ARALIK - 2023**

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**BAZI ALTERNATİF DEKONTAMİNASYON**  
**YÖNTEMLERİNİN KEKİĞİN MİKROBİYOLOJİK VE**  
**KİMYASAL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ARİFE SİNEM KÜÇÜKOĞLU**

**DENİZLİ, ARALIK - 2023**

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2022FEBE023 no'lu proje ile desteklenmiştir.**

**Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.**

**ARIFE SİNEM KÜÇÜKOĞLU**

## ÖZET

### BAZI ALTERNATİF DEKONTAMİNASYON YÖNTEMLERİNİN KEKİĞİN MİKROBİYOLOJİK VE KİMYASAL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARİFE SİNEM KÜÇÜKOĞLU

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HAKAN KARACA)

DENİZLİ, ARALIK - 2023

Bu tez çalışmasında ısı (buharlı sterilizasyon) ve ısı olmayan (gama ışınlama, UV ışınlama ve ozonlama) dekontaminasyon yöntemlerinin, kekikteki mikroorganizmalar (toplam aerobik mezofilik bakteri, maya küf ve *Enterobacteriaceae*), pirolizidin alkaloidleri, uçucu bileşenler ve renk değerleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Mikrobiyal inaktivasyonda en etkili yöntemlerin ısı işlem ve gama ışınlama olduğu saptanmıştır. Bu dekontaminasyon yöntemleri, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında 0.87-2.15 log kob/g azalmaya yol açmış olup maya küf ve *Enterobacteriaceae* sayılarını tespit edilebilir seviyenin altına düşürmüştür. Isıl işlem, pirolizidin alkaloidlerinin (PA'lar) seviyelerinde artışa ve bunların N-oksit formlarının (PANO'lar) seviyelerinde azalmaya neden olmuştur. Bu durum ısı işlemin PANO'ların karşılık gelen PA'lara dönüştüğünü ortaya koymaktadır. UV ışınlama ve ozonlama yöntemleri 1, 2, 4 ve 8 saat uygulanmış ve kısa süreli uygulamalar (1 ve 2 saat) mikrobiyal inaktivasyonda etkisiz kalmıştır. Ancak, daha uzun süreli uygulamalar (4 ve 8 saat), belirli bir düzeyde mikrobiyal inaktivasyon sağlamıştır. Gama ve UV ışınlama PA/PANO düzeylerinde azalma sağlayamamıştır. Öte yandan, ozon gazı uygulaması PA/PANO düzeylerinde önemli düşümlere neden olmuştur. Ozon gazı uygulaması sonrasında europine-N-oksit, europine, lasiocarpine-N-oksit ve lasiocarpine düzeylerinde sırasıyla %54.4, %53.9, %61.6 ve %61.4 oranında azalmalar gözlenmiştir. Isıl işlem, UV ışınlama ve ozonlama, kekikteki uçucu bileşiklerin bileşimini önemli ölçüde değiştirmiş ve bazı yeni bileşiklerin oluşumuna neden olmuştur. Gama ışınlama uçucu bileşenler üzerinde bir değişikliğe yol açmamıştır. Son olarak ısı işlem, gama ışınlama ve UV ışınlama renk değerleri açısından bazı farklar yaratsa da en belirgin renk farkı ozonlama uygulanmasından sonra görülmüştür.

**ANAHTAR KELİMELER:** kekik, buharlı sterilizasyon, ışınlama, ozonlama, mikrobiyal inaktivasyon, pirolizidin alkaloidleri, renk

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF SOME ALTERNATIVE DECONTAMINATION METHODS ON THE MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITY OF OREGANO

MSC THESIS

ARİFE SİNEM KÜÇÜKOĞLU

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. HAKAN KARACA)

DENİZLİ, DECEMBER 2023

In this study, the effects of thermal (steam sterilization) and non-thermal (gamma irradiation, UV irradiation and ozonation) decontamination methods on microorganisms (total aerobic mesophilic bacteria, yeast mold and *Enterobacteriaceae*), pyrrolizidine alkaloids, volatile compounds and color values in oregano were investigated. It was determined that the most effective methods in inactivating microorganisms were steam sterilization and gamma irradiation. These treatments resulted in reductions of 0.87-2.15 log cfu/g in the total number of aerobic mesophilic bacteria and reduced the numbers of yeast, mold and *Enterobacteriaceae* to below detectable levels. Steam sterilization treatment resulted in increases in the levels of pyrrolizidine alkaloids (PAs) and decreases in the levels of their N-oxide forms (PANOs). It reveals that the heat treatment transforms PANOs into corresponding PAs. UV irradiation and ozonation treatments were applied for 1, 2, 4 and 8 h, and short-term treatments (1 and 2 h) were not effective in microbial inactivation. However, longer treatments (4 and 8 h) resulted in a certain degree of microbial inactivation. Gamma and UV irradiation could not cause any decrease in the PA/PANO levels of the oregano. On the other hand, ozonation treatment caused significant decreases in the levels of PAs/PANOs. After this treatment, decreases of 54.4%, 53.9%, 61.6% and 61.4% were observed in europine-N-oxide, europine, lasiocarpine-N-oxide and lasiocarpine levels, respectively. Steam sterilization, UV irradiation and ozonation significantly changed the composition of volatile compounds in the oregano and caused formation of some new compounds. However, it was determined that gamma irradiation treatment did not have any significant effect on the volatile compounds of the oregano. Steam sterilization, gamma irradiation and UV irradiation changed the color values of the oregano to a certain extent, but the most noticeable color differences were determined after the ozone treatments.

**KEYWORDS:** oregano, steam sterilization, irradiation, ozonation, pyrrolizidine alkaloids, microbial inactivation, color

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Tezin Amacı .....	2
<b>2. LİTERATÜR ÖZETİ</b> .....	<b>3</b>
2.1 Kekğin Tanımı ve Özellikleri.....	3
2.2 Kekikte Mikrobiyal Dekontaminasyon .....	9
2.2.1 Isıl İşlem .....	9
2.2.2 Gama Işınlama .....	10
2.2.3 Ultraviyole (UV) Işınlama .....	12
2.2.4 Ozonlama .....	13
2.2.5 Diğer Yöntemler .....	14
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>16</b>
3.1 Materyal.....	16
3.2 Yöntem .....	17
3.2.1 Dekontaminasyon Yöntemleri .....	17
3.2.1.1 Isıl İşlem Uygulaması .....	17
3.2.1.2 Gama Işınlama Uygulaması .....	18
3.2.1.3 UV Işınlama Uygulaması .....	18
3.2.1.4 Ozon Gazı Uygulaması .....	19
3.2.2 Analizler.....	20
3.2.2.1 Mikrobiyolojik Analizler .....	20
3.2.2.2 Pirolizidin Alkaloidlerinin Analizi.....	21
3.2.2.3 Uçucu Bileşiklerin Analizi.....	23
3.2.2.4 Renk Analizleri .....	24
3.2.2.5 İstatistiksel Analiz.....	26
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>27</b>
4.1 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki TAMB Sayısı Üzerine Etkisi.....	27
4.2 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki Maya Küf Sayısı Üzerine Etkisi.....	29
4.3 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki <i>Enterobacteriaceae</i> Sayısı Üzerine Etkisi .....	32
4.4 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki Pirolizidin Alkaloidleri Üzerine Etkisi.....	35
4.5 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki Uçucu Bileşenler Üzerine Etkisi.....	39
4.6 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekğin Renk Değerleri Üzerine Etkisi.....	44
<b>5. SONUÇ VE TARTIŞMA</b> .....	<b>50</b>
<b>6. KAYNAKÇA</b> .....	<b>52</b>

<b>7. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>65</b>
-------------------------	-----------



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1: <i>Origanum onites</i> bitkisinin kısımları (soldan sağa sırayla yaprak, çanak yaprağı, çiçeği) (Ietswaart 1980).....	3
Şekil 2.2: Kekikte bulunan bazı uçucu bileşenlerin kimyasal yapıları .....	4
Şekil 2.3: Pirolizidin Yapısı, Nesin ve Nesik Asit Kısımları.....	6
Şekil 2.4: Pirolizidin Yapısına Bağlanabilen Gruplar.....	7
Şekil 2.5: Doymuş ve 1,2-Doymamış PA Yapıları .....	7
Şekil 2.6: PA'ların Retronesin, Heliotridin, Otonesin ve Platinesin Tipleri.....	7
Şekil 2.7: Doymuş PA ve PA-N-oksit (PANO) Yapıları.....	7
Şekil 3.1: UV ışınlama düzeneği.....	19
Şekil 3.2: Ozonlama düzeneği .....	20
Şekil 3.3: SPME iğnesi ile uçucu bileşenlerin toplanması.....	24
Şekil 3.4: Gaz kromatografisi cihazı.....	24
Şekil 3.5: Renk değerleri ölçüm düzeneği .....	25
Şekil 4.1: Isıl ve ısı olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen TAMB sayıları .....	28
Şekil 4.2: Isıl ve ısı olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen maya küf sayıları.....	31
Şekil 4.3: Isıl ve ısı olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları.....	33

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

Tablo 4.1: Kekik numunelerinde ısı1 ve ısı1 olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen PA/PANO seviyeleri .....	36
Tablo 4.2: Kekik numunelerinde ısı1 ve ısı1 olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen uçucu bileşen miktarları (AREAS) .....	41
Tablo 4.3: Kekik numunelerinde ısı1 ve ısı1 olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen renk değerleri ve değişimleri.....	46

## SEMBOL LİSTESİ

<b>kg</b>	:	Kilogram
<b>g</b>	:	Gram
<b>mg</b>	:	Miligram
<b>µg</b>	:	Mikrogram
<b>L</b>	:	Litre
<b>mL</b>	:	Mililitre
<b>µL</b>	:	Mikrolitre
<b>M</b>	:	Molar
<b>m<sup>2</sup></b>	:	Metrekare
<b>cm<sup>2</sup></b>	:	Santimetre kare
<b>°C</b>	:	Santigrat derece
<b>O</b>	:	Oksijen
<b>H</b>	:	Hidrojen
<b>kob</b>	:	Koloni oluşturan birim
<b>ppm</b>	:	Milyonda bir
<b>ppb</b>	:	Milyarda bir
<b>log</b>	:	Logaritma
<b>nm</b>	:	Nanometre
<b>m</b>	:	Metre
<b>cm</b>	:	Santimetre
<b>mm</b>	:	Milimetre
<b>µm</b>	:	Mikrometre
<b>µW</b>	:	Mikrowatt
<b>W</b>	:	Watt
<b>Ms</b>	:	Mikro saniye
<b>V</b>	:	Volt
<b>J</b>	:	Joule
<b>kJ</b>	:	Kilojoule
<b>mV</b>	:	Milivolt
<b>mPa</b>	:	Megapascal
<b>Rpm</b>	:	Dakikadaki devir sayısı
<b>MHz</b>	:	Megahertz
<b>GHz</b>	:	Gigahertz
<b>MeV</b>	:	Megaelektron
<b>kGy</b>	:	Kilogray
<b>Co<sup>60</sup></b>	:	Kobalt-60
<b>Cs<sup>137</sup></b>	:	Sezyum-137
<b>Z</b>	:	İyonların yük sayısı

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca, tez konusunun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesinde değerli fikirleriyle bana yol gösteren, kendimi geliştirmem için beni yönlendiren ve kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Hakan Karaca'ya teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmanın yürütülmesinde gerekli olanakları sağlayan Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na, kıymetli fikirlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarıma, tez çalışmamı destekleyen üniversitemizin Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamda bana kapılarını açıp desteklerini esirgemeyen Altuntaş Baharat San. ve Tic. A.Ş. ve Arslan Baharat San. ve Tic. A.Ş. şirketlerine teşekkürlerimi sunuyorum. Tez çalışmamın analizlerine katkılarından dolayı Gammapak Sterilizasyon San. ve Tic. A.Ş. firmasından Sayın Burhan Kavzak'a ve Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi kurumundan Sayın Sermin Göksu Karagöz'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam boyunca değerleri fikirleriyle yardımlarını esirgemeyen, tecrübelerini paylaşan Gülin Hız, Selahattin Hız ve Ufuk Gökçe Ayrancı hocalarıma çok teşekkür ediyorum. Benimle birlikte gece gündüz demeden çalışmama destek olan arkadaşlarım Ebru Erikan, Volkan Uçak, Feride Sultan Yalçın ve Şeyda Şentürk'e teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi hiçbir desteği esirgemeyen, her daim yanımda olan aileme: annem Naciye Küçüköğlü, babam Ahmet Küçüköğlü, ablam Nur Ceren Güvenç ve abim Hasan Güvenç'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak tez çalışmamda bana çok destek olan fakat artık aramızda olmayan Fidan Ayten ablama bu tez çalışmasını armağan ediyorum.

# 1. GİRİŞ

Kekik, gıda çeşnisi ve farmasötik bir bileşen olarak yaygın şekilde kullanılan bir bitkidir. Antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antiinflamatuvar vb. sağlık açısından yararlı bazı özelliklere sahiptir (Veenstra ve Johnson 2019). Fakat kekik, açık havada yetiştirilip kurutulur ve genellikle kontrolsüz koşullarda depolanır. Bu durum, tüm bu dönemlerde kekiği böcek zararına ve mikrobiyal saldırıya eğilimli hale getirir. Bu sebepten bakteri, küf ve maya gibi çeşitli mikroorganizma gruplarıyla kontamine olabilir (Torlak ve diğ. 2013).

Dekontaminasyon baharat işlemede çok önemli bir işlem basamağıdır. Sterilizasyon teknolojisi ve uygun koşulların seçimi büyük önem taşımaktadır. Buharlı sterilizasyon, otlar (Postelwait 2009) ve baharatlar (Kurzeja ve diğ. 2012) gibi kurutulmuş ürünlerin dekontamine edilmesi için kullanılması önerilen bir ısı işlemidir. Bunun yanı sıra, gama ışınlama yöntemi, baharatlar da dahil olmak üzere çeşitli gıdalardan mikroorganizmaları yok etmek amacıyla uzun bir kullanım geçmişine sahiptir (Schweiggert ve diğ. 2007). Son zamanlarda, UV ışınlama ve ozonlama gibi alternatif yöntemlerin, kekik de dahil olmak üzere çeşitli baharatları dekontamine etmedeki etkinlikleri test edilmiş (Doğu-Baykut ve diğ. 2016; Kazi ve diğ. 2018) ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bu işlemlerin ürünün bazı organoleptik özelliklerinde (renk, koku vb.) zararlı etkilere neden olabileceği de bildirilmiştir (Topuz ve Özdemir 2003; Torlak ve diğ. 2013).

Son zamanlarda, "pirolizidin alkaloidleri" (PA'lar) adı verilen başka bir kirletici grubu kekik ile ilişkilendirilmiştir. Çoğu Türkiye menşeli kekikle ilişkili olan PA'ların varlığına ilişkin pek çok limit aşımı saptanmıştır (RASFF 2021; RASFF 2022; RASFF 2023). Ayrıca, bilimsel çalışmalar baharatların (özellikle kekik ve kimyon) sıklıkla yüksek miktarda PA ve bunların N-oksitleri (PANO'lar) ile kontamine olabileceğini ortaya koymuştur (Kaltner ve diğ. 2020; Izcara ve diğ. 2020).

Kekik de dahil olmak üzere bazı tarım ürünlerinde izin verilen PA/PANO miktarları Avrupa Birliği'ndeki mevzuatla sınırlandırılmıştır (Komisyon Yönetmeliği, 2020). Ancak, bu yönetmelikte sadece bazı işlenmemiş ürünler için maksimum PA ve

PANO seviyeleri belirlenmiş ve işlenmiş ürünler dikkate alınmamıştır. Ayrıca, gıda işleminin (ısıl ve ısıl olmayan) PA/PANO'lar üzerindeki etkisi bilimsel çalışmalarla tam olarak ortaya koyulamamıştır (Kaltner 2022; Casado ve diğ. 2022). Kekik için yüksek kontaminasyon seviyeleri ve yüksek görülme sıklığı bildirilmiş olmasına rağmen, tarafımızdan gerçekleştirilen literatür araştırması sonucunda, kekikteki PA/PANO'lar üzerine gıda uygulamalarının etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır (Kaltner ve diğ. 2020; RASFF 2021).

## 1.1 Tezin Amacı

Baharat üretiminde hasat, kurutma ve işleme sırasında mikrobiyal kontaminasyon riski oldukça yüksektir. Ticari olarak halen yaygın uygulanan dekontaminasyon yöntemlerinden biri olan gama ışınlama işlemi, sağlık üzerine zararlı olabileceği algısı nedeniyle tüketiciler tarafından pek de kolay kabul görmemektedir. Bunun yanında, kekikte PA miktarının zaman zaman limitlerin üzerinde çıkması, kekik ihracatını sıkıntıya sokan ciddi bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır.

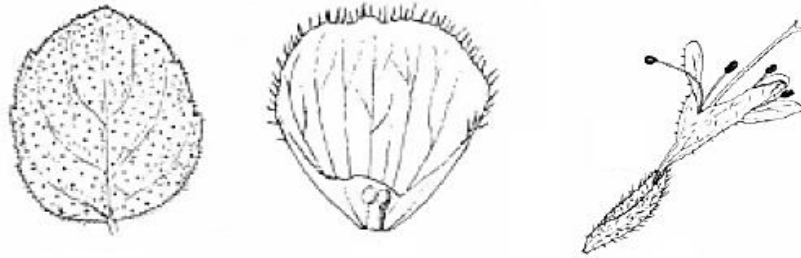
Bu çalışmada, Türkiye ve Denizli için önemli bir ürün olan kekiğin toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), maya küf ve *Enterobacteriaceae* sayılarının yanı sıra PA içerikleri üzerine ısıl (buharlı sterilizasyon) ve ısıl olmayan (gama ışınlama, UV ışınlama ve ozonlama) işlemlerinin etkileri belirlenmiştir. Ayrıca uygulanan dekontaminasyon yöntemleri sonrası, kekiğin uçucu bileşiklerinin ve renginin nasıl etkilendiği araştırılmıştır.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1 Kekiğin Tanımı ve Özellikleri

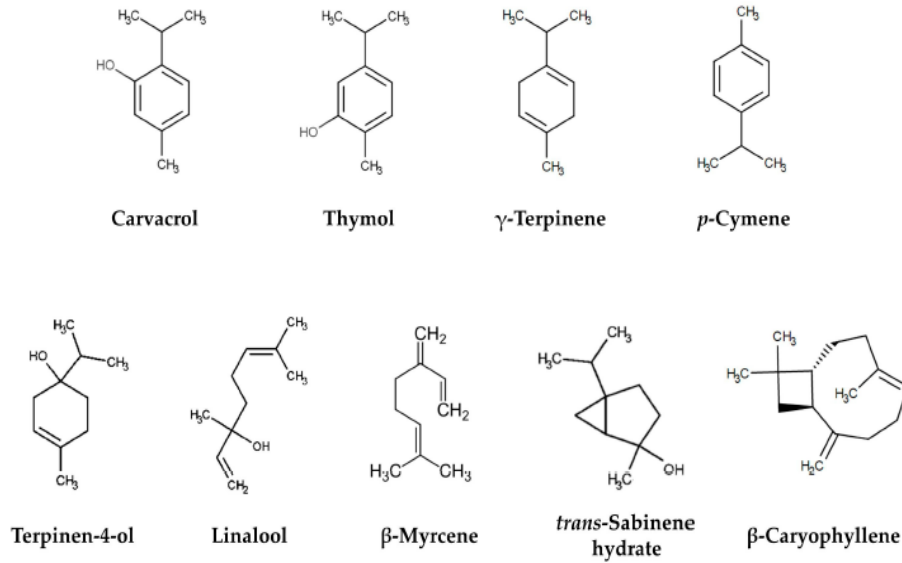
Kekik, *Labiatae* familyasından *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Coridothymus* cinsine ait türleri bünyesinde barındıran bir bitkidir (Kasapsaraçoğlu 2017). Bu cinslere ait uçucu yağların ana bileşenleri genellikle carvacrol veya thymol'dür. Türkiye'de *Origanum* cinsine dahil tür sayısı 23 (27 takson), *Thymus* cinsine dahil tür sayısı 39 (58 takson), *Satureja* cinsine dahil tür sayısı 13 (14 takson), *Thymbra* cinsine dahil tür sayısı 2 (4 takson) olarak bildirilmiştir. Ayrıca *Coridothymus* cinsine ait tek tür olup, bu tür de Türkiye'de bulunmaktadır (Bozdemir 2019). Bu bilgiler bize Türkiye'nin kekik türleri bakımından oldukça zengin olduğunu göstermektedir.

Kekik; 30-50 cm boyunda, pembe-beyaz çiçekli, sık dallı, küçük yapraklı, gri-yeşil renkli, Avrupa kökenli çok yıllık bir bitkidir (Yıldırım Aybakır 2015). *Origanum onites* bitkisinin yaprak, çanak ve çiçek kısımları Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Çiçeklenme periyodu ılıman iklim koşullarında Haziran ayından Ağustos ayına kadar sürmektedir. Kekik, alkali toprağı ve sıcak havaları seven bir bitkidir (O'Meara ve diğ. 2015). Çok yıllık bir bitki olduğundan, aynı kekik tohumlarından uzun süre (bazen 10 yıldan fazla) yararlanılmaktadır (Baydar ve Arabacı 2013).



**Şekil 2.1:** *Origanum onites* bitkisinin kısımları (soldan sağa sırayla yaprak, çanak yaprağı, çiçeği) (Ietswaart 1980)

Kekik, günlük hayatta büyük ölçüde baharat olarak, az miktarda da kekik yağı veya kekik suyu şeklinde tüketilmektedir. Kekiğin uçucu yağı kozmetik sanayinde, gıda sanayinde, sabun, losyon ve diş macununa katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Kapluhan 2013). Kekik uçucu yağı, özellikle thymol ve carvacrol olmak üzere %60-75'e kadar uçucu fenoller içermektedir. Carvacrol, çoklu farmakolojik etkilere sahip, oksijenli bir monoterpendir ve kekiğin biyolojik aktiviteleri esas olarak bu bileşene bağlıdır (Can-Başer 2008). Ayrıca carvacrol'den insektisit (böcek öldürücü) olarak da faydalanılmaktadır (Kapluhan 2013). Kekik uçucu yağında bulunan bazı bileşenlerin kimyasal yapıları Şekil 2.2'de gösterilmiştir. *Origanum* yağının kimyasal bileşimi, damıtıldığı bitki materyalinin çok çeşitli olması nedeniyle değişkenlik gösterebilir (El-Mageed ve Magda 2007). Uçucu yağ içeriği; iklim, çevre, bitki yaşı ve genetik yapı gibi faktörlerden etkilenir (Ceylan 1995). *Origanum onites* (İzmir kekiği) türünün uçucu yağ oranı bakımından oldukça yüksek bir varyasyona (%0.2-8.0) sahip olduğu bildirilmiştir (Kaçar ve diğ. 2006; Gürtunca 2011; Sönmez 2019).



**Şekil 2.2:** Kekikte bulunan bazı uçucu bileşenlerin kimyasal yapıları

Kekik gıdalara renk, tat, koku vermek için kullanılan bir bitkidir ve işleme sırasında duyuşal özelliklerin korunması oldukça önemlidir (Erdogdu ve Ekiz 2011). Farklı yöntemler ve koşullar son üründe istenmeyen görünüş, doku ve renk değişimine neden olabilmektedir (Orphanides ve diğ. 2013). Gıda ürünlerinin en önemli duyuşal özelliklerinden biri olan renk, tüketicilerin satın alma kararlarını etkilemektedir



(Zheng ve diğ. 2023). Bu nedenle kekiğin alışlagelmiş yeşil renginin korunması duyuşal özellikler bakımından önemli bir kriterdir.

Kekik, Türkiye’de üretilen tıbbi ve kokulu bitkiler içinde ilk sıralarda yer almaktadır. İç ve dış tüketim gereksinimi önceleri *Thymus* ve *Thymbra* cinslerine bağılı türlerin doğadan toplanmasıyla karşılanmıştır. Daha sonra *Origanum* cinsine bağılı türlerin kültürü yapılmaya başlanmış ve üretilen kekik miktarı yıllar içinde giderek artmış ve Türkiye’yi dünya üretiminde ilk sıraya taşımıştır. Kekik ülkemizde Ege ve Batı Akdeniz (Balıkesir, İzmir, Aydın, Muğla, Antalya) kıyıları boyunca (1400 m yüksekliğe kadar) yaygın olarak yetiştirilmektedir (Bozdemir 2019).

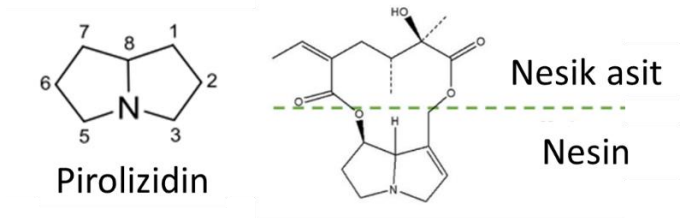
Dış satımda çok önemli bir yer tutması itibari ile ekonomik değeri yüksek bir tür olan *Origanum onites* (İzmir kekiğı) kültüre alınmaya başlanmıştır. Bu kekiğın üretiminde kalite ve kantitenin arttırılarak standart bir üretime yaklaştırılması hedeflenmektedir. İzmir kekiğı yetiştiriciliğinde Denizli İli Gözler Beldesi’nin çok önemli bir potansiyele sahip olduğı ortaya çıkmıştır (Erdoğan-Bayram 2018). Türkiye’deki toplam kekik üretim alanlarının %92.49’u Denizli’de bulunmakta olup bu il ülkenin toplam kekik üretim miktarının %87.55’ini tek başına gerçekleştirmektedir (Karlı ve diğ. 2020).

Kekik üretimi; kekik verimi ve kalitesini etkileyen birçok sorunu beraberinde getirmektedir. Bunların arasında en önemlilerinden biri, ürüne yabancı otların karışmasıdır. Tarlada eş zamanlı olarak kekik ile birlikte yetişen yabancı otlarla mücadele için hasat öncesi tarladaki yabancı otlardan temizlenmesi oldukça büyük önem arz etmektedir. Özellikle yabancı otlar ve kekik makine ile hasat işlemleri sırasında aynı anda topraktan ayrıldığından daha sonra yabancı otlardan ayrışması mümkün olmamaktadır. El ile hasat işlemi sırasında kekiğın yabancı otundan ayrılarak topraktan alınması, yabancı otların üründen ayrılması aşamasında çok önemlidir (Kasapsaraçoğılu 2017). Yabancı otlar, içerdikleri alkaloid, glikozid, fenolikler gibi bileşikler ile ürünü kontamine ederek hem sağılık açısından risk oluşturur hem de ürünün ihracatında problem yaratır (Sokat 2020; Muca ve diğ. 2012).

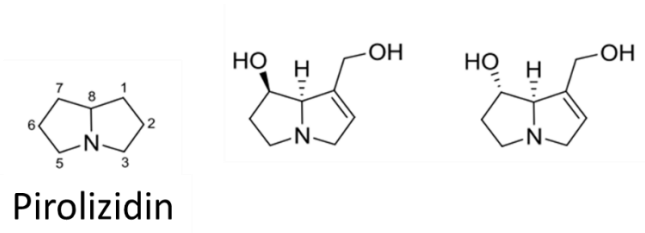
Yabancı otların içinde yer alan PA/PANO’lar dünyada 6000’den fazla bitki türünde bulunan en yaygın toksik ikincil bitki metabolitleridir. PA’lar, duyarlılıkları nedeniyle başta bebek ve çocuklar olmak üzere tüm yaş gruplarında genotoksik, hepatoksik, mutojenik, teratojenik ve karsinojenik etkilidir (Korkmaz ve Küplülü

2022). PA intoksikasyonu, maruz kalınan süre ve miktara bağlı olarak akut, sub-akut ve kronik olmak üzere üç şekilde gerçekleşmektedir. PA, primer olarak karaciğer, akciğer ve kan damarlarında; sekonder olarak ise böbrek, gastrointestinal sistem, pankreas ve kemik iliğinde hasar oluşturmaktadır (Kempf ve diğ. 2010; Wiedenfeld ve Edgar 2011).

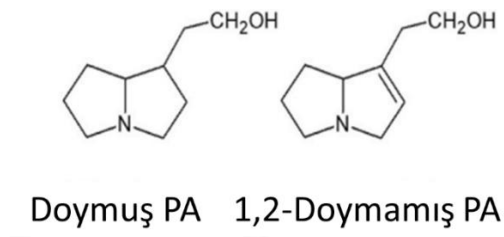
Tüm PA'ların kimyasal yapısı, 4. pozisyonda bir nitrojen (N) atomu bulunan iki kaynaşmış pirol halkası içerir. Bu yapı, nesin bazı ve nesik asit olmak üzere iki kısımdan oluşur (Şekil 2.3). Bu alkaloidlerin nesin bazlarının birinci C pozisyonuna bir hidroksimetil grubu ve yedinci C pozisyonuna ise bir hidroksi grubu bağlanmıştır (Şekil 2.4). Nesin bazının 1 ve 2 pozisyonları arasında çift bağın olup olmamasına bağlı olarak 1,2-doymamış PA'lar ve doymuş PA'lar olmak üzere iki ana PA grubu vardır (Şekil 2.5). PA'ların 1,2-doymamış formlarının insanlarda toksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Casado ve diğ. 2022). Nesin baz yapısına göre, 1,2-doymamış PA'lar retronesin, heliotridin ve otonesin tiplerine ayrılabilirken, platinesin tipi doymuş PA'lara karşılık gelir (Şekil 2.6). Genel olarak, N atomuna metil grubu bağlı olmayan PA, karşılık gelen PA-N-oksit (PANO) formunda da meydana gelebilir (Şekil 2.7). PANO'lar muhtemelen bitkilerin vakumlu dokularında tercih edilen depolama bileşikleridir, daha fazla lipofilik PA'lar tohumlarda birikmektedir. PA'lar ve PANO'lar, ilgili esterleşme derecesine göre başka gruplara bölünebilir. Bir PA/PANO'nun nesin bazının birinci ve yedinci pozisyonlarına bağlanabilecek yapıların ve onların esterleşme derecelerinin farklılığı söz konusudur. Dolayısıyla PA/PANO molekülleri muazzam bir çeşitlilik ve büyük bir potansiyel kimyasal yapı çeşitliliği gösterir (Kaltner 2020).



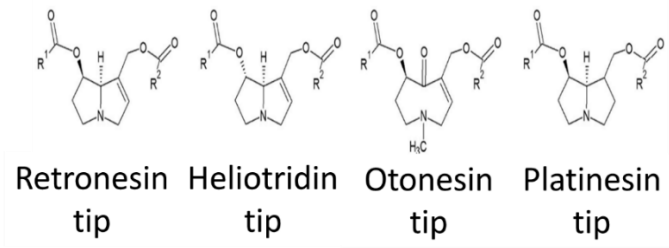
Şekil 2.3: Pirolizidin Yapısı, Nesin ve Nesik Asit Kısımları



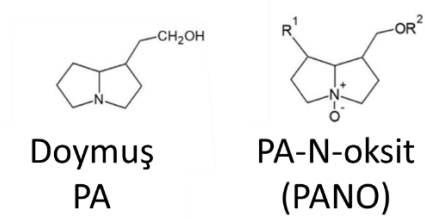
Şekil 2.4: Pirolizidin Yapısına Bağlanabilen Gruplar



Şekil 2.5: Doymuş ve 1,2-Doymamış PA Yapıları



Şekil 2.6: PA'ların Retronesin, Heliotridin, Otonesin ve Platinesin Tipleri



Şekil 2.7: Doymuş PA ve PA-N-oksit (PANO) Yapıları

PA, 1900'lerin başından beri kontamine olmuş otlar ya da ekmek gibi gıdaların tüketilmesiyle zehirlenme veya karaciğer hastalıkları ile kendini göstermişse de tam olarak tespit edilmesi uzun sürmüştür (Wiedenfild 2011). Kaltner ve diğ. (2020), tarafından yapılan bir çalışmada 36 ülkeden içerisinde kekik, kimyon ve nanenin de bulunduğu 305 numunede 44 PA/PANO varlığı araştırılmış, numunelerin %58'inin en az bir PA içerdiği tespit edilmiştir. En yüksek değer ise 24,6 mg/kg europine-N-oksit içeren Türkiye'den bir kekik örneğine (*Oregano onites*) ait bulunmuştur. Çalışmada bulunan europine-N-oksit miktarının çok yüksek olmasının yabani ot kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Avrupa'da, içerisinde kurutulmuş kekiğin de bulunduğu bazı gıdalar için 2020/2040/AB sayılı Komisyon Tüzüğü'nde toplam PA sınır değerleri belirlenmiş ve bu tüzükte kuru kekik için toplam PA sınır değerinin 1000 µg/kg olduğu bildirilmiştir (Avrupa Komisyonu 2020).

Genel olarak baharat üretiminde hasat sonrası kurutma, temizleme, öğütme, paketlenme/depolama ve mikrobiyal dekontaminasyon adımları izlenir (Schweiggert ve diğ. 2007). Üretim prosesi tamamlandığında kekik, diğer baharatlar gibi nem içeriği düşük bir gıda maddesi halini alır. Nem içeriği düşük gıdalarda mikrobiyal gelişim düşük olmaktadır. Fakat hijyenik olmayan üretim koşullarında çoğu zaman ürünün mikrobiyal yükü nispeten yüksek olmaktadır.

Kekiğin renk, tat, koku ve lezzet vermek için yüksek nem içerikli gıdalara (çorbalar, pişmiş ve haşlanmış gıdalar ve soslar) ilave edilmesi durumunda, mikrobiyal gelişim artar. Baharatlar, yüksek nem içerikli gıdalara pişirme aşamasından sonra eklendiği ve ardından bir mikrobiyal dekontaminasyon uygulanmadığı için sağlık problemlerine yol açabilmektedir (Parveen ve diğ. 2014). Nitekim 1973-2010 yılları arasında ABD, Kanada, İngiltere, Fransa, Almanya, Danimarka ve Norveç'te kontamine baharatların neden olduğu 1946 zehirlenme vakası olmuş, bu vakaların 128'i hastaneye yatış ve 2'si ölümle sonuçlanmıştır (Van Doren ve diğ. 2013).

Baharatlardaki yüksek mikrobiyal yük probleminin çözümü amacıyla gerçekleştirilen çalışmalara bakıldığında, kullanılan ticari yöntemlerin bazı dezavantajlarının bulunması bize yeni yöntemlere ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ticari olarak uygulanan gama ışınlama ve ısı işlem yöntemleri ile alternatif olarak geliştirilen yöntemlerden UV ışınlama ve ozon gazı uygulamalarının kekik numuneleri üzerindeki etkisi incelenmiştir.

## 2.2 Kekikte Mikrobiyal Dekontaminasyon

### 2.2.1 Isıl İşlem

Gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmaları ısının etkisiyle engelleme ve bu yolla gıdaların daha dayanıklı hale getirilmesi işlemine ‘ısı uygulayarak muhafaza yöntemi’ ve uygulanan ısıtmaya ise, ‘ısıl işlem’ denir (Özkan Karabacak 2015).

Gıda sektöründe ısıl işlem temel olarak, ‘pastörizasyon’ ve ‘sterilizasyon’ olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilebilir. Pastörizasyon, mikroorganizmaları inaktive etmek amacıyla gıdalara 100°C ve altındaki sıcaklıklarda uygulanan ısıl işlemdir (Üçüncü 2004; Özsoy 2012). Pastörizasyonda amaç vejetatif hücreleri, patojen mikroorganizmaları ve enzimleri inaktive ederek gıdanın raf ömrünü uzatmaktır (Dinçer 2014). Sterilizasyon işlemi ise gıdalara 100°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda uygulanan ısıl işlemdir. Sterilizasyon işleminin en bilinen örneğine gıda sektöründe sıklıkla kullanılan, otoklav olarak adlandırılan ve atmosferik basıncın üzerindeki bir basınçta çalışan kapalı sistemlerde rastlanmaktadır (Özkan Karabacak 2015).

Baharatların dekontaminasyonu amacıyla farklı ısıl işlem teknikleri uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden biri buharlı sterilizasyondur (Farkas ve Mohácsi-Farkas 2014). Buharlı sterilizasyon; kimyasal madde kullanılmaması, buharın toksik olmaması ve ucuz olması nedeniyle ideal bir yöntemdir. Aynı zamanda yüksek basınçlı buhar kullanıldığı için oldukça hızlı bir yöntemdir (Kurup ve diğ. 2020). Isıl işlemin gıdalara uygulanmasındaki amaç: enzimlerin faaliyetlerini durdurmak, patojen mikroorganizmaları öldürmek, patojenler dışında normal depolama koşullarında gıdada bozulmaya neden olan tüm mikroorganizmaları yok etmek ve tüm bu amaçları gerçekleştirirken, gıdanın kalitesinde en az olumsuzluğa neden olmaktır (Yaralı 2014). Isıl işlemler sırasında ürünün beslenme değerini veya duyu özelliklerini etkileyen bazı değişimler de olmaktadır. Bu değişimlere örnek olarak ürünün bileşiminde bulunan vitaminlerin parçalanması veya renk, tat ve yapısında gerçekleşen istenmeyen değişimler verilebilir (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Baharatlarda ısıtma işlemi ile inaktivasyonu sağlamak için alternatif yöntemler geliştirilmektedir. Literatürde birçok çalışmada adı geçen iki yöntem mikrodalga ısıtma ve kızılötesi ısıtma yöntemleridir. Mikrodalga ışınları kızıl ötesi ile radyo frekansları arasındaki bölgede 1 mm'den 1 m dalga boyuna kadar ve 300 MHz-300 GHz frekans aralığında bulunmaktadır (Özkan Karabacak 2015). Genel olarak ev tipi mikrodalga fırınlarda 2.45 GHz frekans, endüstriyel proseslerde, laboratuvarlarda ve araştırma projelerinde ise 2.45 GHz ya da 915 MHz frekansları kullanılmaktadır (Seyhun 2008; Gölcü ve Şen 2014). Mikrodalga enerjisi ile gıda maddesinin ısıtılmasında, gıdanın nem içeriği, kütlesi, ısı iletkenlik özellikleri, spesifik ısı, fiziksel geometrisi, mikrodalga çalıştırma frekansı ve gücü, başlangıç sıcaklığı gibi birçok parametre etkili olmaktadır (Demirkol 2007; Konak ve diğ. 2009).

Kızılötesi ışınları ise, elektromanyetik spektrumda, görünür ışıkla mikrodalga arasındaki bölgededir. Kızılötesi ışınlar 0.76 ile 1000 mm dalga boyu arasındadır ve yakın (0.76-2 mm), orta (2-4 mm), uzak (4-1000 mm) olmak üzere 3 bölgeye ayrılmıştır (Staack ve diğ. 2008). Kızılötesi ışınların kısa dalga boyunda olması nedeniyle, gıdalara penetrasyonu zayıftır. Özellikle uzak kızılötesi ışınları gıda bileşenleri ve mikroorganizmalar tarafından kolaylıkla absorbe edebilmektedir (Erdoğan ve Ekiz 2011). Geleneksel yöntemlere göre kızılötesi ışın uygulamasının kısa sürede ısıtma sağlanması, çevredeki havayı ısıtmadan ürüne doğrudan ısı nüfuzu, ürünün tat ve aroma bileşimlerini koruması gibi avantajları bulunmaktadır (Staack ve diğ. 2008; Erdoğan ve Ekiz 2013). Kızılötesi ışın teknolojisinin mikrobiyal inaktivasyon derecesi; kızılötesi ışın kaynağının gücü, dalga boyu, gıdanın tipi, kalınlığı, mikroorganizmanın çeşidi ve mikroorganizmanın hangi fizyolojik evrede (üssel büyüme evresi, durgun evre vb.) olduğu gibi parametrelerden etkilenmektedir (Krishnamurthy ve diğ. 2008).

### **2.2.2 Gama Işınlama**

Gıda ışınlamada gama ışınları, x-ışınları, elektron demetleri ve elektromanyetik ışınlamalardan ultraviyole, mikrodalga ve kızılötesi ışınlar kullanılabilir. Ancak, ultraviyole, mikrodalga ve kızılötesi ışınların enerjileri ve gıdaya nüfuz etme güçleri daha zayıf olduğundan, gıda ışınlama denilince genellikle

gama ışını, x-ışını ve elektron demetleri ile uygulanan ışınlama anlaşılmaktadır (Topuz 2002). Işınlamada ısı enerjisi yerine iyonlaştırıcı enerji kullanılır (Hacıoğlu 2010).

Elektron demetlerin temeli, düşük dozlarda iyonize radyasyon ile gıdanın muamele edilmesine dayanmaktadır. Elektron demetleri ışınlama yöntemi mikrobiyal dekontaminasyonu sağlamada oldukça etkilidir ve bu yöntemin diğer ışınlama yöntemlerine kıyasla daha kısa sürede dekontaminasyon sağladığı bilinmektedir. Elektron hızlandırıcıları, cihazın içinde üretildiği ve cihazın kalın bir zırhlaması olduğu için çevreye radyasyon yaymaz. Elektron demetleri hem ucuz hem de çevre dostu bir teknolojiyle mikrobiyal dekontaminasyonu sağlamaktadır. Elektron demeti ile ışınlamanın antimikrobiyal etkisi, doğrudan mikroorganizmaların fizyolojik aktivitelerine etki ve mikroorganizmaların su moleküllerine etki olarak iki şekilde gerçekleşmektedir (Özbay Doğu ve Özbay 2015). Ülkemizde kullanılan yasal limit 10 MeV ve daha düşük enerjide çalışan makine kaynaklarından üretilen elektronlardır (Çetinkaya ve Halkman 2006). Günümüzde elektron demeti ile ışınlama, tarım sektöründe tohumların kimyasal ile muamelenin yerini almak amacıyla uygulanmaktadır ve 30 ton/saat kadar kapasiteye sahip tohum ışınlayan sistemler mevcuttur (Erhan ve Halkman 2022). Alternatif bir dekontaminasyon yöntemi olarak çalışmalara devam edilmektedir.

Gıdalardaki mikroorganizmaların inaktivasyonunda yaygın olarak kullanılan ışın tipleri Kobalt-60 ( $Co^{60}$ ) ve Sezyum-137 ( $Cs^{137}$ ) radyonüklit kaynaklarından yayılan gama ışınlarıdır (Farkas ve Mohácsi-Farkas 2011). Bu kaynaklardan endüstride en çok kullanılanı  $Co^{60}$  kaynaklı gama ışınlarıdır (Gezgin ve Güneş 2003; Calado ve diğ. 2014).

Işınlama, gıdaların muhafaza edilmesi amacıyla uygulanan bir yöntem olmasına rağmen, tüketicilerin çoğu bu yöntemi güvenilir bulmamaktadır. Fakat Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı (IAEA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) mikrobiyolojik, beslenme ve toksikolojik açıdan gıdalara 10 kGy'e kadar uygulanan dozların güvenilir olduğunu bildirmiştir (Lara ve diğ. 2002; Topuz 2002; Aylangan 2010; Başbayraktar 2012). Türkiye'de ışınlanmış gıdaların tüketici tarafından kabulü konusunda değişik kesimlerden katılan 444 kişi ile gerçekleştirilen bir anket çalışmasında, tüketicilerin gıda ışınlama teknolojileri hakkında bilgilerinin

yetersiz olduğu ve ankete katılanların %80'ninin ışınlanmış gıdaların güvenilirliği konusunda endişeli olduğu belirlenmiştir (Güneş ve Tekin 2006).

Işınlamanın mikroorganizmalar üzerindeki etki mekanizması, hücre bileşenlerine direkt ve indirekt etki olarak açıklanmaktadır. Direkt etki, yüksek enerjili ışınların DNA'nın yapısındaki tek veya çift ipliğinde kırılmaya neden olması şeklinde gerçekleşmektedir. İndirekt etki ise hücredeki ve ortamdaki suyun radyolizi ile meydana gelmektedir. Radyoliz esnasında su molekülü bir elektronunu kaybeder ve  $H_2O^+$  ve  $e^-$  açığa çıkar. Radyoliz sonrasında bu ürünlerin ileri reaksiyonlarıyla yüksek reaktif hidrojen ve hidroksil radikalleri açığa çıkar ve bu radikaller timin bazını bozarak dihidroksi ve dihidrotimini ortaya çıkarır. DNA ve diğer hücre bileşenleri ile bu reaktif bileşikler reaksiyona girerler. Aynı zamanda serbest radikaller ayrıca birbirleriyle ve sudaki çözünmüş oksijen ile reaksiyona girerek, mikrobiyal hücreler için ölümcül olan toksik oksijen türevleri ve diğer reaktif türleri oluşturabilirler (Mendonça ve Daraba 2014).

### 2.2.3 Ultraviyole (UV) Işınlama

Ultraviyole (UV) ışınlar, görünen ışın ile X-ışınları arasındaki bölgede kalan ve dalga boyları 100 ile 400 nm arasında değişen elektromanyetik ışınlardır. UV ışınlarının temel kaynağı güneştir. Bu aralıktaki UV ışınları kendi içinde üçe ayrılır. Bunlar: insan cildindeki değişiklikler ve bronzlaşmadan sorumlu 315-400 nm arasında dalga boyuna sahip UV-A, 280-315 nm dalga boyuna sahip ve cilt yanıkları, cilt kanseri gibi rahatsızlıklara sebep olabilen UV-B ve bakteri, maya küf, virüs, alg ve protozoaları inaktive edebilen germisidal etkili 200-280 nm dalga boyundaki UV-C'dir (Gómez-López ve diğer. 2012; López-Malo ve Palou 2005).

UV, penetrasyon gücünün zayıf olması sebebiyle genel olarak yüzey sterilizasyonunda kullanılmaktadır. Özellikle mikrobiyolojik çalışmaların yapılacağı ortamın ve laboratuvar yüzeylerinin sterilizasyonunda uygulandığı gibi, gıda sanayinde yaygın olarak içme sularını sterilize etmek için kullanılmaktadır (Kılıç 1994). UV ışınlamada kullanılan sistemler, işlem maliyeti düşük, çevre dostu, enerji gereksinimi az ve zararlı kimyasallara ihtiyaç duymayan sistemlerdir (Green ve diğer. 1995; Tchobanoglous ve diğer. 1996). Ancak, UV ışınları gıdalarda besin değeri, renk,



tekstür değişimi ve istenmeyen lezzet oluşumu gibi olumsuzluklara zaman zaman yol açabilmektedir (Ünlütürk 2012).

#### 2.2.4 Ozonlama

Ozon, oksijenin üç atomlu formudur. Suların dezenfeksiyonunu başta olmak üzere atık suların işlenmesinde, meyve, sebze, kuru gıdalar, et, balık ve tavuk ürünlerinin yüzey dekontaminasyonları için kullanılan etkin bir dezenfektandır (Doğu Baykut 2016). Ozon uygulamaları, diğer dezenfektan maddeler arasında sağlık açısından zararlı olabilecek kalıntı bırakmayan, güçlü bakterisidal etkiye sahip, çevre dostu ve gıda prosesleriyle uyumlu bir yöntemdir (Muştı 2019).

Ozon gazı, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) tarafından 'Genel olarak güvenli' (Generally Recognized As Safe-GRAS) değerlendirilmektedir. Aynı zamanda 2001 yılında alınmış olan bir kararla 'Gıdalarla doğrudan temasında sakınca olmayan' özelliğini kazanan ozon gazı, gıdalar için güvenli bir antimikrobiyal ve dezenfekte edici bir ajan olarak tanımlanmaktadır (Arda ve diğ. 2021).

Atmosferik koşullarda oldukça kararsız bir yapıda olan ozon gazının kendisine has keskin bir kokusu vardır (Savaş ve diğ. 2014). Ozon ticari olarak UV ışınlama veya korona deşarj yöntemi metotlarıyla üretilmektedir (Doğu Baykut 2016). Ozon gazı, hem havada hem de suda kararsız bir yapıya sahiptir. Bu sebeple ozon gazı depolanamamaktadır ve kullanılması için sürekli üretilmelidir. Ozon gazının ayrışması ile oluşan tek ürün oksijendir ve ozon gazı uygulaması sonrasında gıdalar üzerinde herhangi bir kalıntıya rastlanmamaktadır.

Ozonun antimikrobiyal etkisi lizis mekanizması ile meydana gelmektedir. Antimikrobiyal etki için birincil hedef mikroorganizmanın hücre duvarı ve dış membranıdır. Üç atomlu kararsız bir molekül olan ozondan üçüncü atom kolayca molekülden ayrılabilir. Serbest tek oksijen atomu kolaylıkla diğer moleküller ile tepkimeye girer. Bu tepkimeler, tepkimeye giren ürünün yapısal bütünlüğünü bozan, yüksek ölçüde reaktif bir oksidant sistemi üretir. Hücresel bileşenlerde meydana gelen

değişiklikler ve bozulmalar, oksidatif hasara ve mikroorganizmaların lizisine sebep olur (Muthukumarappan ve diğ. 2000; Patil ve diğ. 2014).

Ozon gazı, diğer kimyasal dezenfektanlara oranla daha yüksek bir oksidasyon–redüksiyon potansiyeline (2.07 mV) sahiptir (Karaca ve Velioğlu 2007). Ozon gazının ortamdaki kararlılığın süresi; basınca, sıcaklığa, pH'ya, organik maddelerin varlığına bağlıdır. Ozon gazı suda çözündürüldüğünde, gaz formuna göre daha kısa sürede kararsız hale geçmektedir. Bu nedenle suda çözülmüş ozonun düşük pH ortamında (pH<6.5) yarılanma süresi daha yüksektir (Hejri ve diğ. 2020).

Yüksek penetrasyon gücü ve reaktivitesi, GRAS statüsünde olması ve kendiliğinden oksijene dönüşüp kalıntı bırakmaması gibi avantajları sebebiyle gıda endüstrisinde ozon uygulamalarının kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır (Chen ve diğ. 2012; Patil ve diğ. 2014). Bu avantajlarına rağmen yüksek dozda veya uzun süreli kullanımı ürünlerde kalite kayıplarına yol açabilmektedir.

### **2.2.5 Diğer Yöntemler**

Gıda endüstrisindeki gelişmeler, ürün çeşitliliğinin artması ve mevcut dekontaminasyon yöntemlerinin bazı dezavantajlarının bulunması sürekli olarak alternatif yöntemler arama ihtiyacı doğurmaktadır. Alternatif olarak kullanılan bazı yöntemler; yüksek basınç, soğuk plazma, darbeli elektrik alan ve darbeli ışık uygulamaları olarak ele alınabilir.

Yüksek basınç uygulamaları gıdaya 100-1000 MPa basınç uygulanmasıdır. Yüksek basınç homojen olarak dağılabilen, az enerji gereksinimi olan ve birçok mikroorganizma üzerinde etkili bir yöntemdir. Isıl yöntemlere göre gıdaların renk, lezzet ve besin öğeleri gibi kalite özelliklerini daha iyi koruması, enzimleri inaktive etmesi ve küçük moleküllerin (vitamin, aminoasit, basit şekerler vb.) basınçtan etkilenmemesi gibi avantajlara sahiptir. Fakat uygulama sonrası gıdanın reolojik özelliklerinde değişmeye sebep olabilir. Aynı zamanda mikrobiyal inaktivasyon su aktivitesine (aw) bağlıdır ve 0.66 altındaki aw değerlerinde inaktivasyon sağlanamamaktır (Rendueles ve diğ. 2011; Dababneh 2013).

Soğuk plazma uygulamaları kimyasal ve su kullanmayan, ürünle temas etmeyen, ürünün duyu ve kalite özelliklerini minimum düzeyde etkileyen ısı olmayan bir işlemdir. Uygulamada elektronlar, iyonlar ve serbest radikaller hücre membranında yüzey erzyonuna ve doku bozulmalarına neden olur. Bu yolla reaktif bileşenlerin hücre içerisine girmesi kolaylaşır ve mikrobiyal dekontaminasyon sağlanmış olur. Ancak soğuk plazma uygulamaları yeni bir tekniktir ve yöntem hakkında henüz yeterli teknik bilgi bulunmamaktadır (Kim ve diğ. 2014).

Darbeleri elektrik alan uygulaması elektrotlar arasına yerleştirilen gıda ürününe 1-10  $\mu$ s arasında değişen sürelerde 10-80 kV/cm şiddetinde yüksek elektrik darbeleri uygulamasıdır. Darbeleri elektrik alan uygulaması sonrası gıdaların tadında, renginde ve besin öğelerinde önemli bir değişiklik olmadan mikrobiyal inaktivasyon sağlanır. Mikroorganizmaların inaktivasyonundaki etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte elektroporasyon ve elektropermeabilizasyon sebep olduğu düşünülmektedir (Buckow ve diğ. 2013; Timmermans ve diğ. 2014).

Darbeleri ışık uygulaması, 200-1100 nm dalga boyu aralığında geniş spektrumlu yoğun ve kısa süreli (103-102 ms) ışık darbelerinden oluşan bir yöntemdir. UV ışınlamaya benzeyen bir yöntem olmasına karşın uygulama sırasında ısı açığa çıkar. Uzun uygulama süresinde artan ısı sebebiyle üründe kalite değişiklikleri olabilmektedir. UV ışınından daha iyi penetrasyon yeteneğine sahip olsa da, gıdaların tüm kısımlarına ulaşmaya yeterli değildir. Darbeleri ışık uygulamasında mikrobiyal inaktivasyonun fototermal ve/veya fotokimyasal mekanizmalar ile olduğu düşünülmektedir (Ganan ve diğ. 2013).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Bu çalışma, 2022 yılında en önemli üretim bölgesi olan Denizli’de yetiştirilen kekik (*Origanum vulgare* L.) numuneleri kullanılarak yapılmıştır. Kekik numuneleri özel bir baharat firmasından (Arslanlar Baharat San. Tic. A.Ş., Denizli, Türkiye) temin edilmiştir.

Kekikler geleneksel olarak güneşte kurutulup öğütüldükten sonra plastik torbalara (250 g'lık 3 torba) konulmuştur. Bu numuneler sırasıyla ısıl işlem, gama ışınlama, UV ışınlama ve ozon gazı uygulamaları için farklı gramajlardaki ambalajlara bölünmüştür (her işlem için 3 paralel). Kekik numunelerindeki mikroorganizmalar, uçucu bileşenler ve renk değerleri üzerindeki etkileri aşağıda açıklanan yöntemlere göre belirlenmiştir.

İstisna olarak, pirolizidin alkaloidlerinin analizinde Denizli Gıda Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü'ne (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı) getirilen kekik numuneleri kullanılmıştır. Numunelerin kontaminasyon seviyeleri '3.2. Yöntem' bölümünde bulunan '3.2.2.2 Pirolizidin Alkaloidlerinin Analizi' kısmında açıklanan şekilde laboratuvarında kontrol edilmiştir. Gıda Kontrol Laboratuvarı'na rutin gıda kontrollerinde getirilmiş olan yüksek oranda kontamine olmuş numuneler toplanmış, harmanlanmış ve daha sonra bir laboratuvar değirmeni (Retsch ZM200, Haan, Almanya) kullanılarak ince bir toz halinde öğütülmüştür. Yığının homojenliğini kontrol etmek için, yığının farklı kısımlarından beş alt numune alınmıştır ve pirolizidin alkaloidleri için analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çalışmanın ilerleyen kısımlarında verilmiştir. Bu ince öğütülmüş pirolizidin alkaloidlerini içeren numuneler 2'şer gramlık kitlelere halinde yukarıda belirtilen işlemlere tabi tutulmuştur ve pirolizidin alkaloidlerinin değişimi incelenmiştir.

Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan PCA (Plate Count Agar), DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar), VRBD (Violet Red Bile Dextrose Agar) besiyerleri ve MRD (Maksimum Recovery Diluent) seyreltme çözeltisi Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Çalışmada sadece PA analizinde kimyasal maddeler kullanılmıştır. Kullanılan kimyasallar; sülfirik asit (%98 saflıkta, Merck), formik asit (%98-100 saflıkta, Merck), amonyak çözeltisi (%25'lik, Merck), metanol (kromatografi saflığında, Supelco) ve amonyum format ( $\geq$ %99 saflıkta, HiPerSolv)'dır.

PA analizlerinde kullanılan standartlar ise; senecionine, laciocarpine-N-oksit, senkirkin, senecivernine-N- oksit, senecivernine, seneciphylline-N-oksit, setrorsine, lycopsamine-N-oksit, laciocarpine, intermedine-N-oksit, intermedine, heliotrine, europine-N-oksit, europine hydrochloride, echimidine-N-oksit ve echimidine perchloride PhytoPlan (Heidelberg, Almanya), monocrotaline, monocrotaline-N-oksit, lycopsamine, heliotrine-N-oksit, senecionine-N-oksit, retrorsine-N-oksit, seneciphylline, trichodesmine, jacobine, jacobine-N-oksit, erucifoline, erucifoline-N-oksit LabStandard (Putignano-Alberobello, İtalya) firmalarından temin edilmiştir.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Dekontaminasyon Yöntemleri**

#### **3.2.1.1 Isıl İşlem Uygulaması**

Kekik numunelerinin ısıl işlem uygulaması Denizli'de yer alan özel bir baharat işleme tesisinde gerçekleştirilmiştir. Numuneler, endüstriyel uygulamaya uygun olarak buharla sterilize edilmiştir. Kekik numuneleri kullanılacağı analize göre 2, 5 ve 10 g (3 paralel) tartılarak bez torbalara (25×25 cm) konulduktan sonra, bu torbalar sterilizasyon arabasının rafına yerleştirilmiştir. Sterilizasyon arabası bir sterilizasyon odasına yerleştirildikten sonra, kabin içindeki havanın vakumla (0.1 MPa) boşaltılmasının ardından doymuş buhar (92°C) 3 dakika süreyle enjekte edilmiştir. Vakumla buharın tahliyesi yapıldıktan sonra sterilizasyon arabası odadan çıkartılmıştır. Sterilize edilen numuneler soğutularak analizler için laboratuvara götürülmüştür.

### 3.2.1.2 Gama Işınlama Uygulaması

Kekik numunelerinin gama ışınlanması oda sıcaklığında Co<sup>60</sup> kaynağı kullanılarak ticari bir ışınlama tesisinde (Gamma-Pak Sterilizasyon San. ve Tic. A.Ş., Tekirdağ, Türkiye) yapılmıştır.

Her ışınlama dozunda ikişer adet olmak üzere 1, 5 ve 10 gram kekik numunesi plastik torbalara (polietilen, 25×25 cm, Krcpack, İstanbul, Türkiye) konularak 2.5, 5 ve 10 kGy gama ışınına maruz bırakılmıştır. Işınlama dozları Harwell Red Perspex 4034 ve Harwell Amber 3042 dozimetreleri kullanılarak ölçülmüştür. Işınlama doz hızı ise 2.0 kGy/saat ölçülmüştür.

### 3.2.1.3 UV Işınlama Uygulaması

UV ışınlama, 12 L boyutundaki akvaryumdan modifiye edilmiş dikdörtgen prizma şeklindeki bir cam kaptaki gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Kabın kapağının iç tarafına 254 nm dalga boyunda 120 µW/cm<sup>2</sup> çıkışa sahip 436 mm uzunluğunda 48 Watt bir UV lambası (LMP-GPH436T5L/HO/4PSE, Atlantic Ultraviolet Co., Hauppauge, NY, ABD) takılmıştır. Kekik numunesi (1 g), bir drigalski spatülü kullanılarak petri kabının yüzeyine mümkün olduğu kadar düz bir şekilde yayılmıştır. Akvaryumun zeminine (UV uygulamasından kaynaklanan sıcaklık artışını telafi etmek için) buz torbaları konulmuştur ve kekik numuneleri içeren iki petri kabı bu buz torbalarının üstüne yerleştirilmiştir. Haznenin kapağı kapatıldığında numuneler ile UV lambası arasındaki mesafe 23 cm olduğu belirlenmiştir. Numuneler 1, 2, 4 ve 8 saat UV ışın ile muamele edilmiş ve tüm deney her muamele süresi için üç kez tekrarlanmıştır.

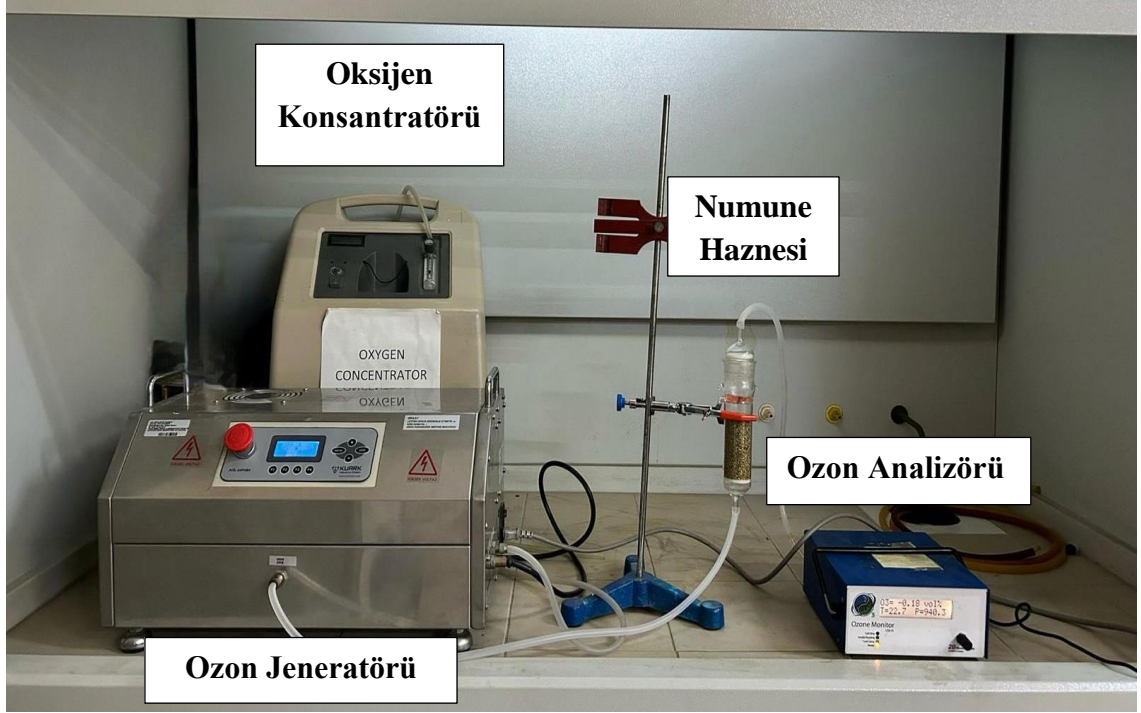


**Şekil 3.1:** UV ışınlama düzeneği

#### **3.2.1.4 Ozon Gazı Uygulaması**

Ozon gazı uygulaması, 250 mL'lik sürekli akışlı ve filtreli bir cam kolonda gerçekleştirilmiştir. 10 g kekik numunesi kolona yerleştirilmiştir. Ozon gazı, bir oksijen konsantratörü (Oxytime 7F-5, Elmaslar A.Ş., Ankara Türkiye) tarafından sağlanan oksijen gazı ile beslenen bir korona deşarj jeneratöründe üretilmiştir (üretim kapasitesi 10 gram/saat, AZ 1001, Kuark Tekozon, Ankara).

Jeneratörden gelen ozon gazını taşıyan silikon tüp kolonun dibine bağlanmıştır. Gazın akış hızı ölçülmüş ve 1 L/dak'da sabit tutulmuştur. Kolon çıkışı, ozon konsantrasyonunu ölçmek için bir ozon monitörüne (106-H, 2B Technologies, Golden CO, ABD) bağlanmıştır. Tüm sistem bir çeker ocak içine yerleştirilmiş ve davlumbazdaki sıcaklık ve bağıl nem (sırasıyla  $25 \pm 5$  °C ve  $\%55 \pm 10$ ) bir dijital termohigrometre (TFA Dostmann, Wertheim-Reicholzheim, Almanya) kullanılarak izlenmiştir (Şekil 3.2). 10 gram kekik numunelerine 1, 2, 4 ve 8 saat, hacimce %0.59 konsantrasyonda ozonla muamele edilmiş ve her muamele süresi için üç farklı numune kullanılmıştır.



Şekil 3.2: Ozonlama düzeneği

### 3.2.2 Analizler

#### 3.2.2.1 Mikrobiyolojik Analizler

Uygulamaların kekik örneklerinin mikrobiyolojik kalitesine etkisini belirlemek amacıyla, uygulama öncesi ve sonrası TAMB, *Enterobacteriaceae* ve maya küf sayıları belirlenmiştir.

Dilüsyonlar hazırlanırken 10 g numune (işlenmiş veya işlenmemiş) stomacher torbasına konulmuş ve üzerine 90 mL MRD eklenmiştir. UV ışınlamasında kullanılan numune miktarı 1 g olduğu için söz konusu seyreltme stomacher poşeti içine 9 ml MRD eklenerek gerçekleştirilmiştir. Bir stomacher makinesinde (Stomacher 400, Seward Medical, London, BK) 2 dakika süreyle homojenleştirme işleminden sonra,  $10^{-3}$ 'e kadar seri dilüsyonlar gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu 2013).

TAMB sayımı için 1 mL numune steril petri kutularına aktarıldıktan sonra, üzerine steril edilmiş ve 44-46°C sıcaklığına getirilmiş, petri kutularında 2-3 mm kalınlıkta bir tabaka oluşturacak şekilde 12-15 mL PCA besiyeri ilave edilmiştir.



Besiyeri katılaşmadan önce zeminde 2-3 kez '8' hareketi yaptırılarak kolonilerin düzgün dağılması sağlanmış ve besiyerlerinin katılaşmasından sonra 30°C'de 20-24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Cemeroğlu 2013).

*Enterobacteriaceae* sayımı için 1 mL numune steril petri kutularına aktarıldıktan sonra, üzerine steril edilmiş ve 44-46°C sıcaklığına getirilmiş, petri kutularında 2-3 mm kalınlıkta bir tabaka oluşturacak şekilde 12-15 ml VRBD agar ilave edilmiştir. Besiyeri katılaşmadan önce zeminde 2-3 kez '8' hareketi yaptırılarak kolonilerin düzgün dağılması sağlanmıştır. Besiyeri tam katılaşmadan üzerine 5 ml daha VRBD agar eklenir ve '8' hareketi ile petrinin tüm yüzeyini kaplaması sağlanmıştır (Cemeroğlu 2013). Çift tabaka dökme ekim yapılarak fakültatif anaerob bir mikroorganizma olan *Enterobacteriaceae* için hem uygun gelişme ortamı sağlanmış olur hem de anaerob olmayan mikroorganizmaların gelişmesi önlenerek üreyen koloniler homojen hale gelir (Cemeroğlu 2013; Ersoy Ömeroğlu 2018). Ekim sonrası numuneler 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Cemeroğlu 2013).

Maya küf sayımı steril petri kutularında 2-3 mm kalınlıkta bir tabaka oluşturacak şekilde 12-15 ml DRBC besiyeri dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir. Katılaşan besiyeri tabakası üzerine 0.1 ml numune aktarıldıktan sonra drigalski spatülü yardımıyla besiyeri yüzeyine homojen bir şekilde yayılmıştır. Ekim işlemi tamamlanan numuneler 30 °C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (Cemeroğlu 2013).

### **3.2.2.2 Pirolizidin Alkaloidlerinin Analizi**

Pirolizidin alkaloidleri analizi Denizli Gıda Kontrol Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Pirolizidin alkaloidlerinin analizi, Reinwaldt ve diğ. (2017) tarafından uygulanan protokol izlenmiştir. Buna göre 2 g öğütülmüş ve homojenize edilmiş kekik numunesi (işlenmiş veya işlenmemiş) 50 mL'lik bir polipropilen tüpte tartılmış ve 20 mL sıcak sülfürik asit çözeltisi (0.05 M, 50 °C) eklenmiştir. Tüpün kapağı kapatılıp, kuvvetlice çalkalanmıştır. Ultrasonik su banyosunda (3000513, JP Selecta Ultrasons HD, Barselona, İspanya) oda sıcaklığında 15 dakika ekstraksiyondan sonra, numune 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir (Hettich Rotofix 32; Andreas Hettich GmbH & Co., KG, Tuttlingen, Almanya). Süpernatant daha sonra kaba bir filtre kağıdından süzülmüştür. Santrifüjlenen

numunenin çökeltisi başka bir sülfürik asit çözeltisi (20 mL, 0.05 M, 50 °C) içinde yeniden süspanse edilmiş ve yukarıda açıklanan prosedür kullanılarak yeniden ekstrakte edilmiştir.

Süpernatantlar birleştirilmiş ve bu numunenin 2 mL'si, 5 mL metanol ve ardından 5 mL 0.05 M sülfürik asit çözeltisi ile ön koşullandırılmış bir katyon değiştirme kolonuna (Welchrom® P-SCX, 500 mg/12 mL) konulmuştur. Yerçekimi altında numune elüsyonundan sonra, kolon 6 mL su ve ardından 6 mL metanol ile yıkanmıştır. Daha sonra kolon azot ile 10 dakika kurutulmuştur. Kolonda yakalanan PA'lar, iki kısım 5 mL amonyak/metanol karışımından (6:94, v/v) geçirilerek elüte edilmiştir. Elüat, nitrojen ile kuruyana kadar buharlaştırılmış ve tortu, 1 mL metanol/su karışımı (5:95, v/v) içinde çözülmüştür. Bu numune, 2 mL'lik amber bir şişeye aktarılmış ve LC-MS/MS'ye enjekte edilmiştir.

Bir pompa (HPG-3400SD), bir otomatik numune alıcı (TCC-3000), bir kolon termostatu (TCC-3000) ve bir kütle spektrometresinden (Thermo Scientific) oluşan bir LC-MS/MS sistemi (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, ABD), TSQ Quantis) PA'ların ve PANO'ların ayrılması ve miktarının belirlenmesi için kullanılmıştır. İyonizasyon için pozitif modda ısıtılmış bir elektrosprey iyonizasyon kaynağı kullanılmıştır. Kullanılan analitik kolon Accucore C18'dir (partikül boyutu: 2.6 µm, 100 x 2.1 mm, San Jose, CA, ABD). Aşağıdaki gradyanla %0.1 (v/v) formik asit (A) içeren sulu 5 mM amonyum format çözeltisi ve metanol (B) içinde %0.01 (v/v) formik asit içeren 5 mM format çözeltisinden oluşan bir mobil faz aşağıdakilerle birlikte kullanılmıştır: dakika 0: %5 B; dakika 2.0: %5 B; dakika 6.5: %80 B; dakika 7.0: %98 B; dakika 8.0: %98 B; dakika 8.5: %5 B; dakika 13.0: %5 B (durdurma süresi: 13.0). Mobil fazın akış hızı 0.35 mL /dakika ve kolon fırını 30 °C'ye ayarlanmıştır. PA'ların stok çözeltileri (1000 ppm), her bir PA standardının 1 mg'ı 1 mL asetonitril içinde çözülerek hazırlanmıştır. Bu stok çözeltisinden 1000 ppb'lik bir çalışma çözeltisi (28 ayrı PA karışımı) hazırlanmıştır. Sırasıyla 5, 10, 20, 50, 100 ve 200 ng/mL konsantrasyonlarda numuneler elde etmek için altı kısım boş kekik materyali (her kısım için 2 g) 10, 20, 40, 100, 200 ve 400 µL çözelti ile artırılmıştır.

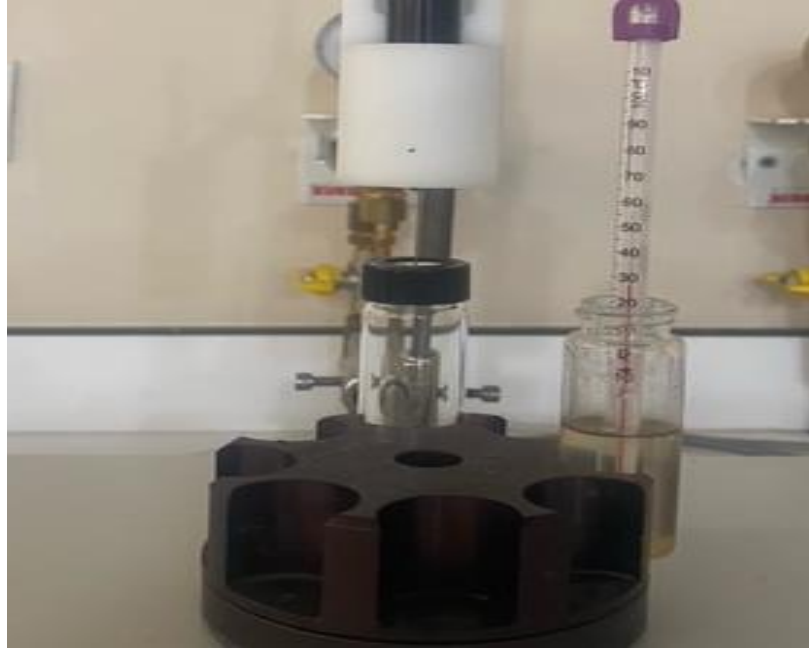
Bu eklenmiş numuneler, yukarıda açıklanan prosedüre göre ekstrakte edilmiş ve son ekstrakt, LC-MS/MS cihazına enjekte edilmiştir. Böylece, her PA için numunelerden matris uyumlu kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur.

### 3.2.2.3 Uçucu Bileşiklerin Analizi

Uçucu bileşiklerin analizi Isparta Süleyman Demirel Üniversite Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Kekik numunelerinin uçucu bileşikleri üzerine işlemlerin etkilerini belirlemek amacıyla, işlemlerden önce ve sonra katı faz mikro ekstraksiyon (SPME)-gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) analizleri yapılmıştır. İki gram kekik numunesi (işlenmiş veya işlenmemiş), silikon septumla kapatılmış 15 mL'lik bir cam şişede tartılmıştır. Bu şişe, 60°C'ye ayarlanmış bir ısıtma bloğu üzerine yerleştirilmiş ve sıcaklığı dengelemek için 15 dakika orada tutulmuştur. Şişeye bir karboksin/polidimetilsiloksan SPME iğnesi (Supelco 57318, df 75 µm) yerleştirilmiş ve kekik örneğinden uçucuları emmesi için 30 dakika tutulmuştur (Şekil 3.3). Daha sonra fiber flakondan alınmış ve uçucuların desorpsiyonu için 5 dakika 250°C'de GC'nin enjeksiyon bloğuna yerleştirilmiştir.

GC/MS analizleri, bir MS-QP2010 kütle spektrometresi (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) ile donatılmış bir Shimadzu GC-2010 gaz kromatografi kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.4). Helyum, 40°C'de ölçülen 1.6 mL/dakika akıştaki taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Analiz koşulları: kolon, Rxi-5Sil MS (30 m \* 0,25 mm iç çap, 0,25 mm film kalınlığı; Restek, Bellefonte, PA, ABD); sıcaklık programı, 40°C'den (2 dakika) 250°C'ye (5 dakika) 4°C/dakika olacak şekilde; enjeksiyon sıcaklığı, 250 C; giriş basıncı, 83.5 kPa; enjeksiyon modu, bölünmüş (10:1); MS arayüz sıcaklığı, 250°C; MS modu, elektron iyonizasyonu; dedektör voltajı, 1.5 kV; kütle aralığı, 35e450 m/z; tarama hızı, 1428 u/s; aralık, 0,30 saniye (2 Hz) şeklinde belirlenmiştir. Veri işleme, GCMS çözümü 2.5 (Shimadzu) aracılığıyla yapılmıştır. 40e300 amu kütle aralığında tarama modunda GC/MS analizi gerçekleştirilmiştir.

Uçucu bileşikler, tutma indeksleri (RI) ve kütle spektrumlarının analitik standartlarla (hexanal, trans-2-hexenal, a-pinen, myrcene, p-cymen, limonene, camphor, 1,8-cineole ve camphene) ve bazı durumlarda Wiley-NIST kullanılarak, Lezzet ve Koku Doğal ve Sentetik Bileşikler kütle spektrumları kitaplığı araştırması ile eşleştirilmiştir. RI, homolog bir dizi C7-C30 n-alkan kullanılarak her bileşik için hesaplanmıştır. Çalışmada uçucu bileşen içerikleri kapladıkları alan (areas) oranlarının 10<sup>3</sup> ondalığında hesaplanarak verilmiştir.



**Şekil 3 3:** SPME iğnesi ile uçucu bileşenlerin toplanması



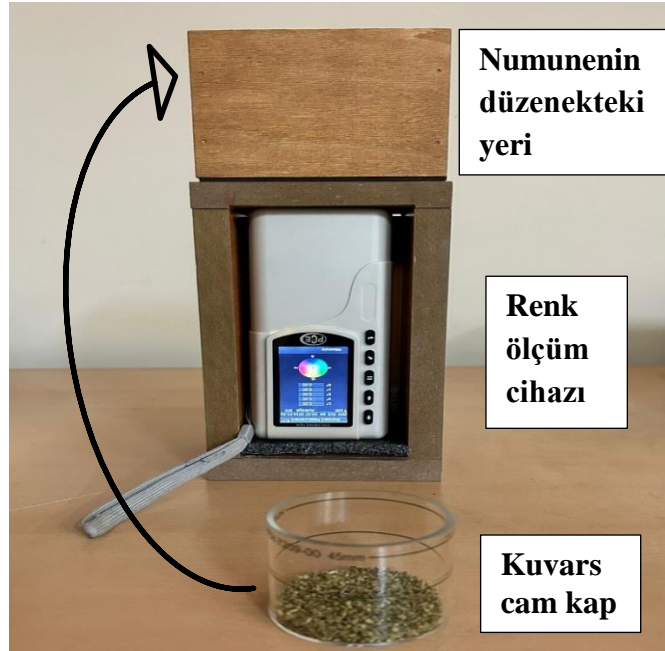
**Şekil 3 4:** Gaz kromatografisi cihazı

#### **3.2.2.4 Renk Analizleri**

Dekontaminasyon uygulamaları öncesinde ve sonrasında kekik numunelerinin renk değerleri bir renk ölçüm cihazı (PCE CSM 1 Colorimeter, Meschede, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Numunelerin renk değerlerini sağlıklı bir şekilde

ölçebilmek için bölüm olanakları kullanılarak tahtadan bir düzeneğe oluşturulmuştur (Şekil 3.5). Renk ölçüm cihaz bu düzeneğin içinde alt kısma yerleştirilmiştir. Renk değeri ölçülecek numuneden 2 g alınarak kuvars bir cam kap (Hunter Lab 04-7209-00) içerisine koymuş ve bu kap düzeneğin üst kısma yerleştirilmiştir. Ölçümler öncesinde cihaz, siyah-beyaz referans plaka ile kalibre edilmiştir. Her numunenin beş kez  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri ölçülmüştür.  $L^*$  eksenini,  $L^*=100$  için beyaz ve  $L^*=0$  için siyah arasındaki renkleri,  $a^*$  eksenini,  $-a^*$  için yeşil ile  $+a^*$  kırmızı arasındaki renkleri ve  $b^*$  eksenini ise  $-b^*$  için mavi ile  $+b^*$  için sarı arasındaki renkleri göstermektedir. Kekik numunelerinin toplam renk değişimi ( $\Delta E$ ) ise aşağıdaki eşitlikle (3.2) hesaplanmıştır.  $\Delta E$  değerinin 0-1 aralığında olması gözle görülmez fark, 1-2 aralığında olması sadece eğitilmiş gözle görülebilecek derecede küçük bir fark ve 2-3,5 aralığında olması eğitimsiz gözle görülebilecek orta derecede bir renk farkı olduğunu belirtmektedir. 3,5-5 aralığı, bariz bir renk farkı olduğunu ve 6'dan büyük değerler ise çok bariz renk farkı olduğunu belirtmektedir (Virtanen ve diğ. 2014).

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (3.2)$$



Şekil 3.5: Renk değerleri ölçüm düzeneği

### 3.2.2.5 İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdaki istatistiksel değerlendirmeler 'Minitab 16 Statistical Software' kullanılarak ve ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları belirlemek için tek yönlü ANOVA (varyans analizi) ile ortaya konmuştur. Aynı zamanda ortalama mikrobiyal sayımları, PA/PANO düzeylerini ve uçucu bileşenlerin bağıl konsantrasyonlarını karşılaştıran, Duncan'ın çoklu aralık testi ( $p \leq 0.05$ ) kullanılarak, ortalama analiz yoluyla gerçekleştirilen fark testleri için 'MSTAT-C Statistical Software' programından yararlanılmıştır.

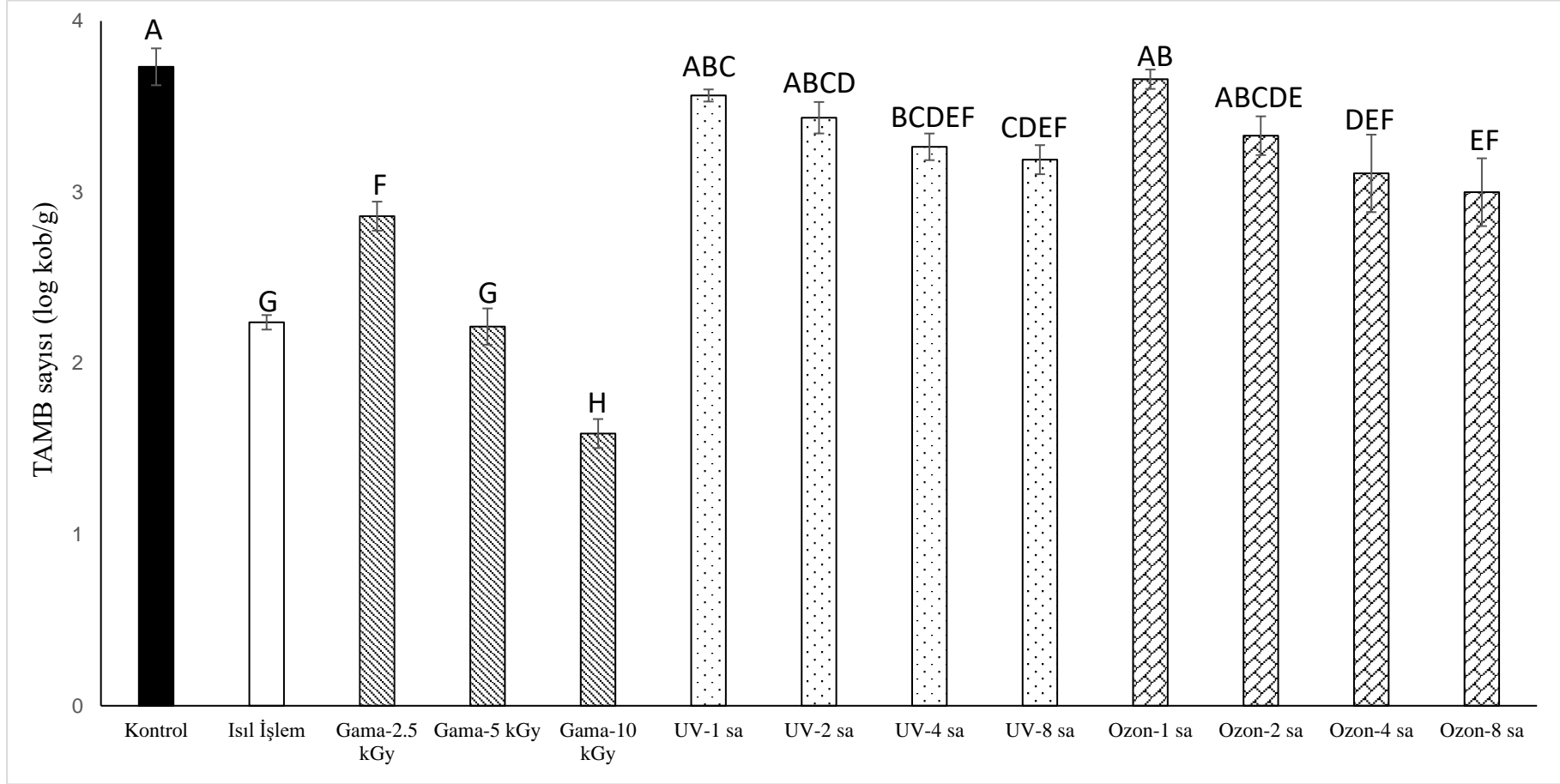
## 4. BULGULAR

### 4.1 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki TAMB Sayısı Üzerine Etkisi

Farklı dekontaminasyon yöntemleri (ısıl işlem, gama ışınlama, UV ışınlama ve ozon gazı) uygulanan kekik numunelerindeki TAMB sayıları Şekil 4.1’de verilmiştir. Herhangi bir işlem görmemiş kekik numunelerinde TAMB sayısı 3.73 log kob/g bulunmuştur. Literatürde kekiği konu alan çalışmalarda da başlangıç yükü bizim çalışmamıza benzer şekilde bulunmuştur. Örneğin; Napoli ve diğ. (2016), kekik numuneleri (*Origanum vulgare ssp.*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada numunelerin başlangıçtaki TAMB yükünü 2.90-3.70 log kob/g olarak bulmuşlardır. İstanbul’da yapılan bir diğer çalışma da ise kekiklerin (*Thymus vulgaris L.*) başlangıçtaki TAMB yükü 4.53 log kob/g olarak bulunmuştur (Doğu Baykut 2016).

Uygulanan dekontaminasyon yöntemleri sonrasında ısıl işlem (92°C, 3 dakika) ve 10 kGy gama ışınlama kekiklerde en yüksek TAMB sayısı düşüşüne neden olmuştur. Uygulanan ısıl işlem kekiklerin başlangıç TAMB sayısından 1.50 log kob/g azalma sağlamıştır. Sırbistan’da yapılan bir çalışmada karabiber (*Piper nigrum L.*) numunelerine 3 dakika 600 W mikrodalga ışınlaması uygulanmış ve TAMB sayısında 1.69 log kob/g azalma sağlanmıştır (Djordjevic ve diğ. 2019). Bizim çalışmamızla yaklaşık olarak aynı azalmayı sağlayan bu çalışma buhar uygulaması ve mikrodalga uygulamasının TAMB sayısı üzerindeki etkisinin benzer olabileceğini göstermiştir.

Kekiklerin TAMB sayısında etkili azalma sağlayan diğer yöntem de gama ışınlama uygulamasıdır. Gama ışınlama uygulaması 2.5, 5 ve 10 kGy dozlarında uygulanmış ve sırasıyla 0.87, 1.51 ve 2.14 log kob/g azalma sağlamıştır. Bir çalışmada kekik (*Thymus vulgaris L.*) numunelerini modifiye atmosfer ve hava ile paketlenen sonra üç farklı dozda gama ışınlama (7, 12, 17 kGy) uygulanmıştır. Uygulama sonrası başlangıç yükü 4.40-4.50 log kob/g olan TAMB sayıları tespit edilebilir düzeyin altına düşmüştür (Kırkın 2015). Bir başka çalışmada ise Napoli ve diğ. (2016), *Origanum vulgare ssp.*’e ait üç kekik numunesine 5 ve 10 kGy gama ışınlama uygulamış ve başlangıç yükü 2.90-3.70 log kob/g arasında değişen TAMB sayılarını tespit edilebilir düzeyin altına indirmişlerdir.



\*Herhangi bir uygulama için: farklı büyük harfler, uygulamalar sonrasındaki TAMB sayıları arasındaki farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

**Şekil 4.1:** Isıl ve ısıl olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen TAMB sayıları



Kekiklerdeki TAMB sayısını düşürmek için UV ışınlama ve ozonlama işlemleri de uygulanmıştır. Bu işlemlerin etkisi 1, 2, 4 ve 8 saat için denenmiş ve kısa süreli uygulamalarda (1 ve 2 saat) kekiklerdeki TAMB sayısı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş sağlanamamıştır ( $p>0.05$ ). UV ışınlama ve ozonlama uygulamalarının 4 saatlik uygulaması sonrasında kekik numunelerinin TAMB sayısında sırasıyla 0.46 ve 0.62 log kob/g, 8 saatlik uygulama sonrasında ise sırasıyla 0.54 ve 0.73 log kob/g'lık azalmalara yol açtığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde Doğu Baykut (2016), kekik numunelerini 16 ve 64 dakika boyunca sırasıyla 7.7 J/cm<sup>2</sup> ve 30.7 J/cm<sup>2</sup> dozlarında UV ışınına maruz bırakmış ve TAMB sayılarında sırasıyla 1.04 log kob/g ve 1.38 log kob/g azalmalar tespit etmiştir. Fakat 7.7 J/cm<sup>2</sup> doz UV uygulaması ile karşılaştırıldığında 30.7 J/cm<sup>2</sup> doz UV- uygulamasının TAMB sayısını önemli derecede azaltmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). UV ışınlamada TAMB sayısında etkili bir azalmanın sağlanamaması gölgeleme hipotezinin etkili olduğu bildirilmiştir. Ancak bizim tez sonuçlarımızda elde edilen verilerin bu hipotezle çeliştiği tespit edilmiş ve UV-C uygulama süresi arttıkça TAMB sayısındaki düşüşün arttığı belirlenmiştir (Gómez-López ve diğ. 2007; Nicorescu ve diğ. 2013).

Bir başka dekontaminasyon yöntemi olan ozonlamayı konu alan bir çalışmada ise Vali Asill ve diğ. (2013), 0.9 ppm konsantrasyonda 30 dakika uygulanan ozon gazı ile İran kekiği (*Zataria multiflora*) numunelerindeki TAMB sayısını 4 log kob/g azaltmışlardır. Son olarak Torlak ve diğ. (2013), kurutulmuş kekik üzerinde iki farklı sabit konsantrasyonda (2.8 ve 5.3 mg/L) sürekli akışı altında 120 dakika ozon gazı uygulaması sonucunda, aerobik plaka sayısında 2.7 log kob/g'lık önemli bir azalma sağlanmıştır ( $p<0.05$ ).

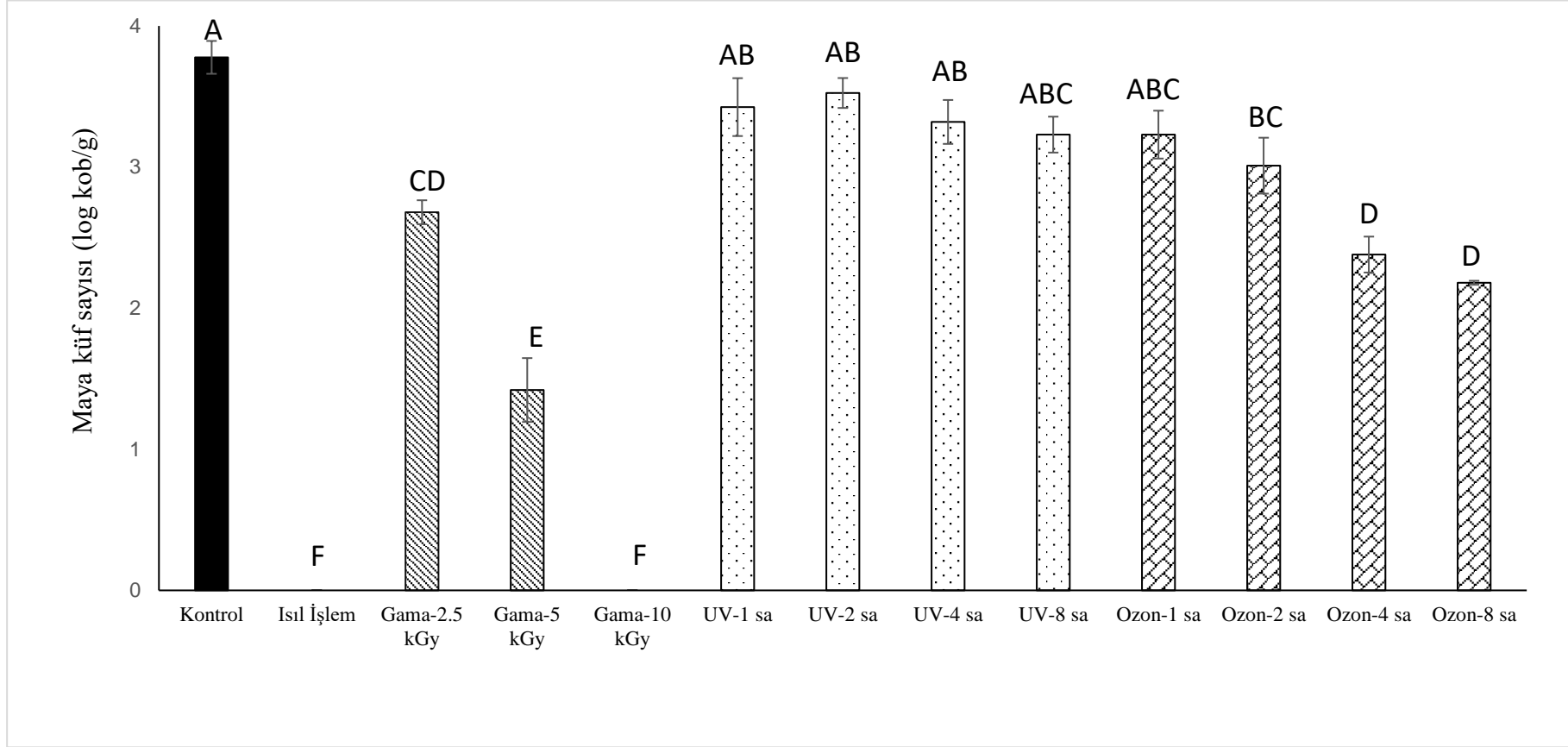
#### **4.2 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki Maya Küf Sayısı Üzerine Etkisi**

Farklı dekontaminasyon yöntemleri uygulanan (ısıl işlem, gama ışınlama, UV ışınlama ve ozon gazı) kekik numunelerindeki maya küf sayıları Şekil 4.2'de verilmiştir. Herhangi bir işlem görmemiş kekik numunelerinde maya küf sayısı 3.78 log kob/g bulunmuştur. Başka bir çalışmada Doğu Baykut (2016), kekik numunelerinin başlangıç maya küf sayısını bizim çalışmamıza yakın bir değer olan 4.37 log kob/g olarak tespit etmiştir.

Uygulanan dekontaminasyon yöntemlerinden ısıtma işlemi etkili azalma sağlayarak maya küf sayısını tespit edilebilir düzeyin altına indirmiştir. Isıtma işlemi uygulamalarında yeterli sıcaklık ve sürede bir uygulama yapıldığında, mikroorganizmalar metabolik olarak inaktif hale getirilir (Krauter ve diğ. 1995). Dekontaminasyon yöntemleri arasında ilk akla gelen yöntem olan ısıtma işlemi, gerçekleştirdiğimiz çalışmada maya küf sayısı üzerinde etkili inaktivasyon sağlamıştır. Isıtma işlemi uygulamasına benzer şekilde kızılötesi kurutmayı konu alan bir çalışmada araştırmacı karabiberlerin bazı kalite kriterlerini incelemiş ve 500-1000 W/m<sup>2</sup> yakın kızılötesi kurutma ile başlangıçta 4.25 log kob/g olan maya küf sayısını tespit edilebilir düzeyin altına düşürmüştür (Ergin 2016).

Kekiklerde maya küf sayısını azaltmada etkili olan bir diğer yöntem ise gama ışınlatma uygulaması olduğu tarafımızdan tespit edilmiştir. Bu uygulama 10 kGy dozda gerçekleştirildiğinde maya küf sayısını tespit edilebilir düzeyin altına indirmiştir. Diğer gama ışınlatma dozları olan 2.5 ve 5 kGy uygulamaları sonrası sırasıyla 1.10 ve 2.36 log kob/g azalma sağlanmıştır. Çalışmamızla aynı dozlarda gama ışınlatma uygulaması ve yakın sonuçlar elde etmiş olan Napoli ve diğ. (2016), *Origanum vulgare* ssp.'e ait üç kekik örneğine 5 ve 10 kGy gama ışınlatma uygulaması ve başlangıç yükü 2.00-2.90 log kob/g arasında değişen maya küf sayılarını tespit edilebilir düzeyin altına indirmişlerdir.

Kekik numunelerine uygulanan 1, 2, 4 ve 8 saatlik UV ışınlatma sonrasında sırasıyla 0.35, 0.25, 0.46 ve 0.55 log kob/g azalma sağlanmışsa da işlem görmemiş kekikler ile UV ışınlatma işlemi uygulanmış kekikler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Doğu Baykut (2016), 16 dakika boyunca 25.7 J/cm<sup>2</sup> dozda UV ışınlatmaya maruz bıraktığı kekik numunelerinin maya küf sayısında bizim çalışmamıza yakın bir değer olarak 0.83 log kob/g azalma sağlanmıştır. Araştırmacı tarafından maksimum azalma sağlamak için daha yüksek dozlara çıkılmış ve kekik numunelerine 128 dakika boyunca 205.6 J/cm<sup>2</sup> dozda UV uygulamasından sonra 1.29 log kob/g'lık azalma sağlanmıştır.



\*Herhangi bir uygulama için: farklı büyük harfler, uygulamalar sonrasındaki maya küf sayıları arasındaki farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

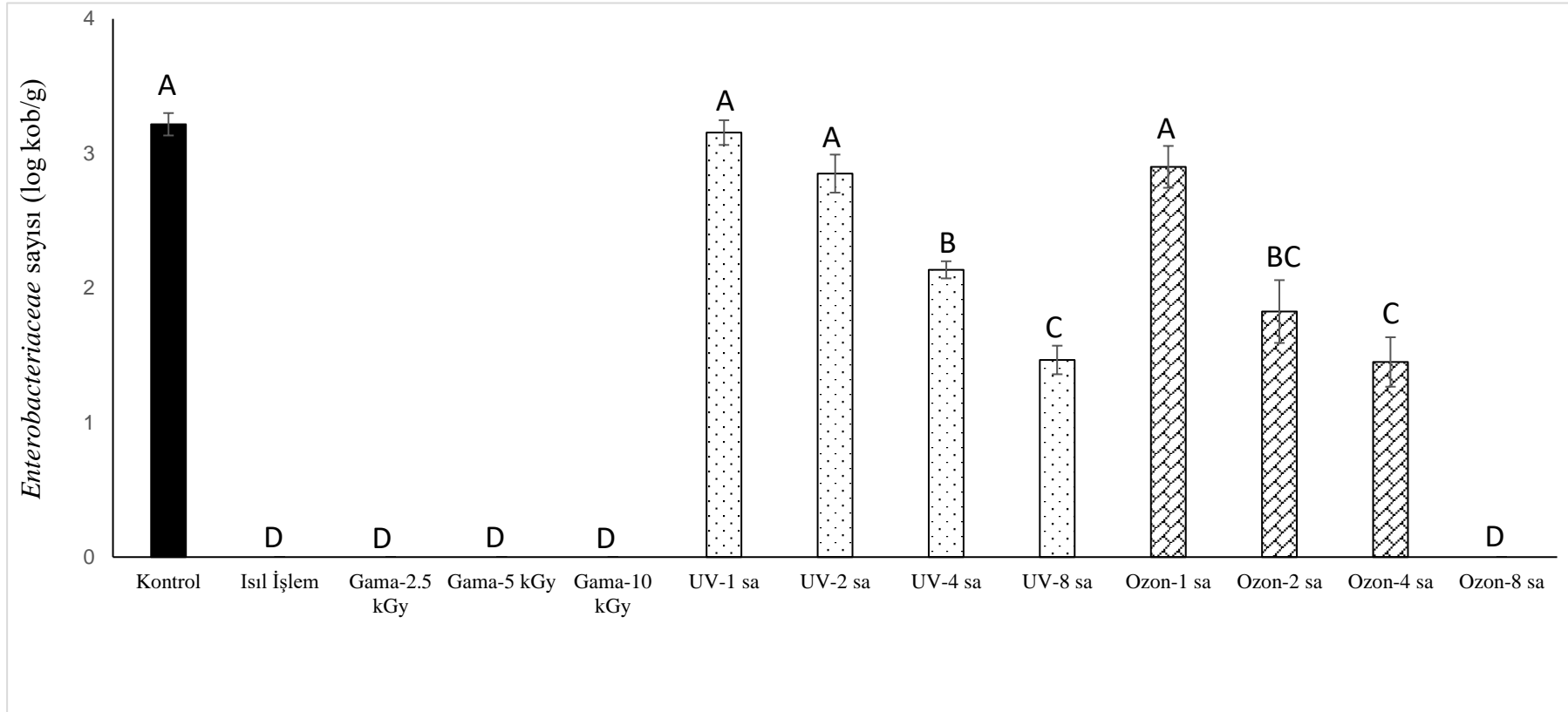
**Şekil 4.2:** Isıl ve ısıl olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen maya küf sayıları

Kekik numunelerine uygulanan 1, 2, 4 ve 8 saatlik ozonlama sonrasında maya küf sayılarında sırasıyla 0.55, 0.77, 1.4 ve 1.6 log kob/g azalma sağlanmıştır. Analiz sonuçlarına göre ozonlama uygulamasında süre arttıkça maya küf sayısında daha etkili dekontaminasyon sağlandığı görülmüştür. Benzer bir çalışmada, kurutulmuş kekik üzerinde iki farklı gaz akışı altında (2.8 ve 5.3 mg/L) 120 dakika ozonlama uygulaması sonucunda, maya küf sayısında 1.8 log kob/g'lık önemli bir azalma sağlanmıştır (Torlak ve diğ. 2013).

Yakın sonuçlara sahip bir başka çalışmada ise Vali Asill ve diğ. (2013), (nane, kekik, sater otu, kedi otu vb. bitkilere/baharatlara) farklı konsantrasyon ve sürede ozon gazı uygulamışlardır. Ozon gazı uygulama süresi ve konsantrasyonu arttıkça bitkilerin/baharatların mikroorganizma sayılarında düşüş olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ozon gazının maya ve küfler üzerinde diğer mikroorganizmalara nazaran daha etkili olduğu görülmüştür. Ozon gazı uygulaması (0.9 ppm 30 dakika), başlangıç yükü 1.5 log kob/g olan kekik numunelerindeki maya küf sayısını tespit edilebilir düzeyin altına indirmiştir.

### **4.3 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki *Enterobacteriaceae* Sayısı Üzerine Etkisi**

Farklı dekontaminasyon yöntemleri (ısıl işlem, gama ışınlama, UV ışınlama ve ozon gazı) uygulanan kekik numunelerindeki *Enterobacteriaceae* sayıları Şekil 4.3'te verilmiştir. *Enterobacteriaceae* familyası mikroorganizmaları gıda mikrobiyolojisi açısından oldukça önemli yer tutarlar. Bu grupta bulunan koliform bakteriler, fekal koliformlar, *E. coli* (tip 1), *E. coli* O157:H7 serotipi, *Salmonella*, *Shigella* ve *Yersinia enterocolitica* pek çok gıda mikrobiyolojisi laboratuvarındaki rutin analizlerde aranır ve/veya sayılır. *Enterobacteriaceae*, sıklıkla insan ve hayvanların bağırsaklarında bulunan bir bakteri grubudur. Bir ürünün *Enterobacteriaceae* içermesi ürünün toprakla kontamine olduğunun veya uygun olmayan hijyenik koşullarda işleme ve depolama gerçekleştiğinin bir göstergesidir (Johannessen ve diğ. 2002). Çalışmamızda herhangi bir işlem görmemiş kekik numunelerinde *Enterobacteriaceae* sayısı 3.22 log kob/g bulunmuştur. Vural ve diğ. (2020), sağlık üzerine olumlu etkileri olan kekiği tıbbi bitki çayları içinde inceledikleri çalışmada *Enterobacteriaceae* yükünü ortalama 2.21 log kob/g bulmuşlardır.



\*Herhangi bir uygulama için: farklı büyük harfler, uygulamalar sonrasındaki *Enterobacteriaceae* sayıları arasındaki farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

**Şekil 4.3:** Isıl ve ısıl olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen *Enterobacteriaceae* sayıları

Bir başka çalışmada ise Vali Asill ve diğ. (2013), çeşitli bitkilerin ozon gazı ile dekontaminasyonunu konu alan bir çalışmada kekiklerin başlangıç koliform bakteri yükünü 3.62 lob kob/g olarak bulmuşlardır.

Uygulanan dekontaminasyon yöntemlerinden ısı işlem ve gama ışınlama uygulamaları kekiklerde etkili azalmalar sağlayarak *Enterobacteriaceae* sayısını tespit edilebilir düzeyin altına indirmişlerdir. İyonize radyasyonun öldürücü etkisi hücrenin hassas bölümlerine veya bu bölgelere yakın olan kısımlara iyonize radyasyon veya kuantum enerji partiküllerinin geçmesi ile mikroorganizmaların zarar gördüğü "hedef teorisi" ile açıklanmaktadır. Hedef teorisinde ışınlama, mikroorganizmaların hücrelerindeki duyarlı bölgelerinde iyonizasyona neden olarak hücre ölümlerine yol açmaktadır (Diehl 1990). Bakteriyel sporlar, vejetatif hücrelere, gram pozitif bakteriler ise gram negatiflere oranla iyonize radyasyona karşı daha dirençlidir (Snyder ve Poland 1995). Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre gama ışınlama gram negatif bakterilerden olan *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmalarının inaktivasyonunda oldukça etkilidir.

Çalışmamıza benzer şekilde karabiber numuneleri 121°C'de 10 dakika otoklavda buhar uygulamasına tabii tutulmuş ve mikrobiyal yük değişimleri gözlenmiştir. Başlangıçta 1.31 log kob/g olan *Enterobacteriaceae* sayısı tespit edilebilir düzeyin altına inmiştir (Ergin 2016). Song ve diğ. (2014) tarafından yapılan, *S. Typhimurium* inoküle ettikleri karabiber numunelerinin başlangıç yükleri 6.1, 5.6 ve 5.4 log kob/g bulunmuştur. Numunelere 5 kGy gama ışınlaması uyguladıktan sonra, tüm numunelerde popülasyonlar tespit sınırının altına düşürülmüştür.

UV ışınlamanın 1 ve 2 saatlik uygulamalarında *Enterobacteriaceae* sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş sağlanamamıştır ( $p>0.05$ ). UV ışınlamanın 4 ve 8 saatlik uygulamalarıyla ise sırasıyla 1.08 ve 1.75 log kob/g azalma sağlanmıştır. Cheon ve diğ. (2015), toz kırmızı biberlere 10 dakika boyunca 40.8 kJ/m<sup>2</sup> UV ışınlama uygulamış ve *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* sayılarında sırasıyla 0.36 ve 0.47 log kob/g azalma sağlamışlardır. Fakat bu azalma bizim kısa süreli UV ışınlama uygulamamıza benzer olarak istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş sağlamamıştır ( $p>0.05$ ).

TAMB ve küf maya sayısında etkili azalma sağlayamayan ozon gazının 1 saatlik uygulaması, *Enterobacteriaceae* sayısında da istatistiksel olarak anlamlı bir

düşüş sağlayamamıştır ( $p>0.05$ ). Ozon gazının 2 ve 4 saatlik uygulamaları sırasıyla 1.39 ve 1.77 log kob/g azalma sağlamıştır. Ozon gazı mikroorganizmaların önemli hücresel bileşenlerini ileri derecede oksidasyona uğratarak mikrobiyal inaktivasyon sağlamaktadır (Tabakoğlu 2016). Gram negatif bakterilerden olan *Enterobacteriaceae* grubu gram pozitif bakterilere göre nispeten daha dirençli olsa da ozonun hücre zarlarında bulunan lipoprotein ve lipopolisakkaritlere verdiği hasar ile hücre geçirgenliğini artırmakta ve bu bakterilerin hücre içi materyalinin dışarı sızması sonucu hücre ölümlerine sebep olmaktadır (Daş ve diğ. 2006). 2 ve 4 saatlik uygulamalarında etkili azalma sağlayan ozon gazının en yüksek uygulama süresi olan 8 saatlik uygulanması sonucu ise *Enterobacteriaceae* sayısı tespit edilebilir düzeyin altına indirilmiştir.

Vali Asill ve diğ. (2013), çeşitli bitkilerin ozon gazı ile dekontaminasyonunu araştırmış ve kekiklerin başlangıç koliform bakteri yükünü 0.9 ppm ozon gazının 30 dakika uygulanması sonrasında 0.46 log kob/g düzeyine düşüğünü tespit etmişlerdir. Torlak ve diğ. (2013), 5.80 log kob/g olarak belirlenen *Salmonella* serotip (*S. Typhimurium*, *S. Newport* ve *S. Montevideo*) inoküle edilmiş kekik üzerindeki başlangıç popülasyonunu 120 dakika boyunca 2.8 ve 5.3 mg/L ozonlamadan sonra sırasıyla 2.80 ve 3.70 log kob/g oranında önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

#### **4.4 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki Pirolizidin Alkaloidleri Üzerine Etkisi**

Uygulama öncesi, ince öğütülmüş toz haldeki kekik numunesinin PA/PANO kontaminasyonu açısından homojenliği kontrol edilmiştir. Bu amaçla yığının farklı kısımlarından 5 alt numune alınmış ve PA/PANO içerikleri açısından analiz edilmiştir. Her bir PA/PANO için elde edilen sonuçlar, küçük standart sapmalarla (%3.07-8.43) birbirine oldukça yakın bulunmuştur. İşlemlere tabi tutulacak öğütülmüş kekik numunesindeki PA/PANO dağılımının oldukça homojen olduğu görülmüştür. Kekik numunelerinde ısı ve ısı olmayan işlemler öncesi ve sonrasında belirlenen PA/PANO seviyeleri Tablo 4.1'de gösterilmektedir.

İşlem görmemiş kekik numunelerinde 3300.8, 421.2 ve 11.7 µg/kg seviyeleri ile sırasıyla europine, lasiocarpine ve heliotrine en fazla bulunan PA'lardır.

**Tablo 4.1:** Kekik numunelerinde ısırl ve ısırl olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen PA/PANO seviyeleri

PA/PANO	Kontrol	Isıl İşlem (92°C-3 dakika)	Gama Işınlama (10 kGy)	UV Işınlama (48 Watt-8 saat)	Ozonlama (0.59 vol%-8saat)
Europine-N-Oksit	9856.1 ± 1719.8 <sup>A</sup>	6647.7 ± 212.3 <sup>BC</sup>	9932.9 ± 114.6 <sup>A</sup>	9097.7 ± 397.0 <sup>AB</sup>	4494.8 ± 70.5 <sup>C</sup>
Europine	3300.8 ± 342.9 <sup>B</sup>	5885.1 ± 43.3 <sup>A</sup>	3312.7 ± 292.9 <sup>B</sup>	3205.3 ± 67.0 <sup>B</sup>	1522.2 ± 135.8 <sup>C</sup>
Lasiocarpine-N-Oksit	969.7 ± 107.0 <sup>A</sup>	412.5 ± 86.1 <sup>B</sup>	995.3 ± 69.4 <sup>A</sup>	814.5 ± 108.3 <sup>A</sup>	372.5 ± 37.3 <sup>B</sup>
Lasiocarpine	421.2 ± 35.5 <sup>B</sup>	805.1 ± 34.0 <sup>A</sup>	423.3 ± 28.5 <sup>B</sup>	364.6 ± 9.0 <sup>B</sup>	162.4 ± 16.8 <sup>C</sup>
Heliotrine-N-Oksit	33.1 ± 10.0 <sup>A</sup>	19.7 ± 3.6 <sup>A</sup>	33.7 ± 2.7 <sup>A</sup>	30.7 ± 2.9 <sup>A</sup>	TE <sup>B</sup>
Heliotrine	11.7 ± 2.4 <sup>B</sup>	22.4 ± 0.2 <sup>A</sup>	11.8 ± 0.3 <sup>B</sup>	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>
Total PAs and PANOs	14592.6 ± 2171.3 <sup>A</sup>	13792.5 ± 379.5 <sup>A</sup>	14709.7 ± 260.4 <sup>A</sup>	13512.8 ± 548.3 <sup>A</sup>	6551.9 ± 152.6 <sup>B</sup>

\*: Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05)

TE: Tespit edilemedi



N-oksit formlarının seviyeleri daha yüksek olup sırasıyla 9856.1, 969.7 ve 33.1 µg/kg olarak kaydedilmiştir. Diğer PA/PANO'ların düzeyleri tespit sınırının (10 µg/kg) altında olduğundan hesaplama dahil edilmemiş ve tabloda gösterilmemiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak Kaltner ve diğ. (2020), Türkiye menşeli kekik numunelerinde europine-N-oksit ve europine seviyelerinin diğer PA/PANO'lara göre oldukça yüksek (sırasıyla 24600 ve 1820 µg/kg) olduğunu bildirmişlerdir. Yakın zamanda bizimkiyle aynı yerden (Denizli'den) alınan numunelerle yapılan bir çalışmada, kekik numunelerinde tespit edilen tek bileşiğin europine ve europine-N-oksit olduğu ve konsantrasyonlarının 280 µg/kg civarında olduğu rapor edilmiştir (Korkmaz ve Küplülü 2022).

Son zamanlarda Türkiye'de yapılan bir çalışmada, kekiklerde europine-N-oksit, europine, lasiocarpine-N-oksit, lasiocarpine ve heliotrine-N-oksit kontaminasyonlarının görülme sıklığının sırasıyla %83.7, %68.5, %54.3, %41.3 ve %21.7 olduğu rapor edilmiştir (GKGM 2023). Lycopsamine -N-oksit (5083 µg/kg), europine-N-oksit (4158 µg/kg), lasiocarpine-N-oksit (1935 µg/kg), lycopsamine (1881 µg/kg) ve europine'in bireysel kontaminasyon seviyeleri (1591 µg/kg), kekikteki toplam PA/PANO için belirlenen 1000 µg/kg sınırının bile üzerinde bulunmuştur. PA/PANO'ların yüksek görülme sıklığı ve konsantrasyonları muhtemelen Türkiye'deki ana kekik üretim alanlarında *Asteraceae*, *Boraginaceae* ve *Fabaceae* gibi bitki familyalarına ait güçlü PA/PANO üreticilerinin bolluğundan kaynaklanmakta olduğu bildirilmiştir (Sokat 2020).

Isıl işlem uygulamasının, kekik numunelerinin PANO düzeylerinde önemli düşümlere neden olduğu görülmüştür. Bu uygulama sonrası, europine-N-oksit ve lasiocarpine-N-oksit seviyelerini sırasıyla %32.6 ve %57.5 oranında azalmıştır. Ancak test edilen tüm PA'ların seviyeleri, numunelerin ısıl işleminden sonra artmıştır. Bu nedenle kekikteki PA'ların N-oksit formlarının ısıl işlem sonucunda karşılık gelen PA'lara dönüştüğü ileri sürülmüştür. PANO'ların karşılık gelen PA'lara dönüştüğü arı polenin kurutulması (Boppré ve diğ. 2008) ve çay yapraklarının soldurulması (Han ve diğ. 2022) gibi farklı ısıl işlemler sırasında da gözlemlendiği bildirilmiştir.

Casado ve diğ. (2023), ısının belirli bir derecede bozulmaya neden olabileceğini, ancak aynı zamanda PANO'ların karşılık gelen PA'larına indirgenmesine de neden olabileceğini bildirmiştir. Sonuçlarımıza göre ısıl işlem

kekik numunelerinde toplam PA ve PANO düzeyinde yalnızca %5.5 oranında azalmaya neden olmuştur. Ayrıca PA'ların, karşılık gelen PANO'lara göre nispeten daha toksik olduğu bilindiğinden, kekiğe ısı işlem uygulanmasıyla gıda güvenliği riskinin azaldığını iddia etmek gerçekçi olmayacaktır.

Gama ışınlama uygulaması, kekik numunelerinde PA/PANO seviyelerinde herhangi bir önemli değişikliğe neden olmamıştır ( $p>0.05$ ). Öte yandan UV ışınlama sonrası, test edilen numunelerde PA/PANO düzeylerinde hafif düşümlere neden olmuş ancak bu düşümler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Bu durumun tek istisnası, UV ışınlamadan önce ve sonra konsantrasyonu sırasıyla 11.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve tespit edilebilir seviyenin (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) altında olan heliotrine'dir. Aslında bu sonuçlar oldukça ilginçtir çünkü çeşitli baharatlarda gerek gama gerek UV ışınlama işlemlerinin pestisitler (Singh ve diğ. 2013; Salem ve diğ. 2013) ve mikotoksinler (Calado ve diğ. 2014; Deng ve diğ. 2014) gibi diğer kontaminantların düzeylerini azaltmada oldukça etkili olduğu bildirilmiştir. Hedef bileşiğin (pestisit, toksin vb.) bozulmasının, ışınlamanın yoğunluğu, maruz kalma süresi, uygulama koşulları, gıda ürününün özelliği ve bileşiğin yapısı gibi birçok faktöre güçlü bir şekilde bağlı olduğu açıktır. Bizim çalışmamızda, örneğin UV işlemi uygulamasında yalnızca bir lamba kullanılmış olup titreşim kullanılmamıştır. Bu koşulların PA/PANO'ların önemli ölçüde bozulması için yeterli olmayabileceği düşünülmüştür. Nitekim kullanılan lamba sayısının artırılmasıyla (Koutchma ve diğ. 2016) ve uygulama sırasında ürünün titreştirilmesiyle (Udovicki ve diğ. 2022) UV ışınlama uygulamasının performansının artırılabilmesi rapor edilmiştir.

Kekik numunelerinde maksimum PA/PANO bozunması ozon uygulanmasından sonra gözlemlenmiştir. Bu işlem europine-N-oksit, europine, lasiocarpine-N-oksit ve lasiocarpine düzeylerinde sırasıyla %54.4, %53.9, %61.6 ve %61.4 oranında azalmaya neden olmuştur. Ayrıca heliotrine ve heliotrine-N-oksit konsantrasyonları ozon uygulamasından sonra tespit limitinin altına düşmüştür. Kekik numunelerindeki toplam PA/PANO seviyelerindeki istatistiksel olarak anlamlı tek düşüş ( $\approx$  %55), ozon uygulamasından sonra gerçekleşmiştir ( $p<0.05$ ). Ozon, oksidasyon işlemleri yoluyla kimyasal bileşikler bozabilir. Bileşiklerin oksidasyonu, moleküler ozonun doğrudan saldırısı veya bileşiklerin ozon üretilen serbest radikallerle (peroksitler, hidroksil radikalleri vb.) dolaylı reaksiyonları nedeniyle meydana gelebilir. Moleküler ozon reaksiyonları seçicidir ve doymamış aromatik ve

alifatik bileşiklerle sınırlıdır. Serbest radikaller ise birçok organik bileşik ile hidrojen çıkarımı veya çift bağlara elektrofilik ekleme yoluyla seçici olmayan ve güçlü bir şekilde reaksiyona girer (Walse ve Karaca 2011). Üstelik bu radikaller ayrıca moleküler oksijenle reaksiyona girerek bir dizi oksidatif bozunma reaksiyonunu başlatan bir peroksi radikali üretir (Aguera ve Fernandez-Alba 1998). Bu karmaşık reaksiyonlar ve hedef bileşiklerin karmaşık yapıları nedeniyle, ozon ile PA/PANO'lar arasında meydana gelen reaksiyonun kesin mekanizmasını tahmin etmek oldukça zordur. Bununla birlikte ozonun PA/PANO'ların çift bağlarına saldırabileceği ve molekülün oksidatif bölünme reaksiyonuna girebileceği öne sürülebilir. Açık alanda yüksek ozon seviyeleri altında yetiştirilen tütün bitkilerinde toplam alkaloid miktarının azaldığı bildirilmiştir (Jackson ve diğ. 2000; Iriti ve Faoro 2009). Ayrıca ozon, bir tütün alkaloidi işleme tesisinden çıkan atık suyun arıtımında test edilmiş ve alkaloidlerin oksitlenmesinde etkili olduğu bulunmuştur (Sevimli ve diğ. 1999).

Literatürden ve mevcut çalışmadan elde edilen bu sonuçlara rağmen, PA/PANO'lar ile kontamine olmuş kekiklerin arıtılması gibi uygulamalarda ozonun dekontaminasyon maddesi olarak kullanılmasından önce hala iki ana problem bulunmaktadır. Bunlardan ilki, arıtma sonrası oluşan dönüşüm, bozunma ve yan ürünlerin kimyasal kimliği ve toksisitesi hakkında bilgi eksikliğidir. Tüm bu ürünler analitik olarak belirlenmeli ve toksikolojik açıdan güvenli olduğu kanıtlanmalıdır. Kekik işlemede ozon kullanımıyla ilgili ikinci sorun, uygulamanın ürün kalitesi özelliklerinden, tüketici kabul edilebilirliğiyle yakından ilişkili uçucu bileşenler üzerindeki olası zararlı etkileridir. Örneğin ozonlamanın yüksek doz ve/veya uzun süreli uygulamaları sonrası kekik uçucu bileşenlerinde ve renk değerlerinde değişimlere yol açabileceği bildirilmiştir.

#### **4.5 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekikteki Uçucu Bileşenler Üzerine Etkisi**

Kekik, Türk mutfağında ve dünya mutfaklarında yemeklere lezzet ve koku vermek amacıyla sıkça kullanılmaktadır. Bu sebeple uyguladığımız dekontaminasyon yöntemlerinin kekiğin mikrobiyal yükünü azaltırken, bir yandan da kimyasal kalite özelliklerini mümkün olduğunca koruması ve oluşabilecek kalite kayıplarını minimum düzeyde tutulması hedeflenmelidir. Özellikle kekiğin karakteristik aromasını

oluşturan thymol ve carvacrol isimli monoterpenler başta olmak üzere uçucu bileşen kompozisyonunun korunması oldukça önemlidir. Kekik uçucu yağında yaklaşık 270 adet terpen bulunmaktadır ve %90'ından fazlasını monoterpenler oluşturmaktadır (Stahl-Biskup 2002). Kekik uçucu yağında yer alan bileşenlerin kompozisyonları arasında farklı düzeylerde varyasyonların olduğu belirlenmiştir. Bu kompozisyonlar coğrafi koşullar, hasat vb. çevresel faktörlerle değişebilmektedir (Katar 2020).

Kekikten elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonunda carvacrol, thymol,  $\gamma$ -terpinen, p-cymene,  $\beta$ -mirsen, 1.8-cineol, borneol ve linalool gibi bileşenlerin hemen hemen tüm uçucu yağ numunelerinde ön plana çıktığı tespit edilmiştir (Baydar ve Erdal 2004; Yaldız ve diğ. 2005; Tonçer ve diğ. 2009; Avcı ve Bayram 2013; Özdemir ve diğ. 2017). Bizim çalışmamızda ise herhangi bir işlem görmemiş kekik numunelerindeki uçucu bileşenler, bulunış miktarları en fazla olandan başlamak üzere sırasıyla carvacrol, beta-bisabolene, linalool, thymol, caryophyllene, carvone, 4-terpineol ve p-cymene olduğu tespit edilmiştir. Kekik numunelerinde ısıt ve ısıt olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen uçucu bileşenlerin miktarları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Kekiklere uygulanan ısıt işlem carvacrol, beta-bisabolene, linalool, thymol, caryophyllene, carvone, 4-terpineol ve p-cymene miktarlarının anlamlı bir şekilde düşmesine neden olmuştur ( $p < 0.05$ ). En büyük kayıplar %91.3, 89.9, 78.9, 76.3 ve 64.2'lik oranlarda sırasıyla carvone, linalool, p-cymene, 4-terpineol ve beta-bisabolene isimli bileşenlerde meydana gelmiştir. Ayrıca caryophyllene'de %50, thymol'de %25, carvacrol'de %17.4'lük kayıplar meydana geldiği belirlenmiştir. Isıtma ile kekik matrisindeki madde salımını artır. Yüksek sıcaklıklarda artan uçuculuk ve kütle taşınımı da uçucu yağ bezlerinin hasar görmesine neden olur. Isıt işlem uygulamaları sonrası meydana gelen uçucu bileşen kayıpları bu şekilde açıklanabilir (Sárosi ve diğ. 2013).

El-Mageed ve Magda (2007), hidrodamıtılmış ham kekik yağının uçucu profilinde thymol (%30.51), carvacrol (%6.47), p-cymene (%10.55) ve linalool (%4.24) olarak belirlenen, kekik numunelerine 140°C'de 15 dakika geleneksel ısıtma ve 1400 W'da 3 dakika mikrodalga ile ısıtma uygulamışlardır. Uygulanan yöntemlerin her ikisi de, ısıtmanın kekik uçucu bileşenlerini azalttığı sonucunu ortaya çıkarmıştır.

**Tablo 4.2:** Kekik numunelerinde ısı ve ısı olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen uçucu bileşen miktarları (AREAS)

Uçucu Bileşenler	Kontrol	Isıl İşlem (92°C-3 dakika)	Gama Işınlama (10 kGy)	UV Işınlama (48 Watt-8 saat)	Ozonlama (0.59 vol%-8 saat)
carvacrol	527930 ± 520 <sup>A</sup>	435884 ± 20008 <sup>B</sup>	528922 ± 6128 <sup>A</sup>	529812 ± 2764 <sup>A</sup>	328404 ± 42751 <sup>C</sup>
beta-bisabolene	64906 ± 1482 <sup>A</sup>	23243 ± 345 <sup>C</sup>	63639 ± 1253 <sup>A</sup>	49967 ± 2692 <sup>B</sup>	8575 ± 1964 <sup>D</sup>
linalool	26983 ± 794 <sup>A</sup>	2735 ± 927 <sup>C</sup>	26555 ± 702 <sup>A</sup>	9781 ± 157 <sup>B</sup>	7247 ± 1028 <sup>B</sup>
thymol	21932 ± 1449 <sup>A</sup>	16363 ± 1878 <sup>C</sup>	20931 ± 324 <sup>AB</sup>	19685 ± 560 <sup>B</sup>	13337 ± 351 <sup>D</sup>
caryophyllene	21066 ± 1414 <sup>A</sup>	10529 ± 3101 <sup>B</sup>	22269 ± 958 <sup>A</sup>	7933 ± 918 <sup>C</sup>	2416 ± 136 <sup>D</sup>
carvone	14251 ± 746 <sup>A</sup>	1241 ± 284 <sup>B</sup>	13355 ± 236 <sup>A</sup>	1997 ± 75 <sup>B</sup>	1759 ± 74 <sup>B</sup>
4-terpineol	7025 ± 87 <sup>A</sup>	1663 ± 740 <sup>B</sup>	7671 ± 307 <sup>A</sup>	2835 ± 175 <sup>B</sup>	7811 ± 54 <sup>A</sup>
p-cymene	6046 ± 265 <sup>B</sup>	1276 ± 420 <sup>C</sup>	5563 ± 493 <sup>B</sup>	2419 ± 78 <sup>C</sup>	11317 ± 2174 <sup>A</sup>
nonanal	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	820 ± 203 <sup>B</sup>	8953 ± 667 <sup>A</sup>
gamma-terpinen	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	2022 ± 324 <sup>B</sup>	6804 ± 869 <sup>A</sup>
decanal	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	276 ± 63 <sup>B</sup>	4110 ± 443 <sup>A</sup>
p-cymene-2,5-diol	TE <sup>D</sup>	7682 ± 591 <sup>B</sup>	TE <sup>D</sup>	11857 ± 164 <sup>A</sup>	4018 ± 923 <sup>C</sup>
beta-myrcene	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	TE <sup>C</sup>	1226 ± 154 <sup>B</sup>	3430 ± 600 <sup>A</sup>

\*: Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05) TE: Tespit edilemedi

Bir başka çalışmada ise Eliasson ve diğ. (2014), baharatların ısıtma işlemi ile dekontaminasyonu için yenilikçi bir teknoloji olarak incelenen kızılötesi ısıtmayı 2 ve 10 dakika boyunca 90 ve 100°C olarak kekik numunelerine uygulamışlardır. Uygulama sonucunda kızılötesi ısıtma kekikte uçucu bileşik kayıplarına sebep olmuştur. Fakat oksijenli türevler için artan moleküler ağırlıkla uçuculuk azaldığından, kekik uçucu yağında hidroksil grubu içeren ve daha yüksek molar kütleye sahip carvacrol, thymol, izoborneol ve  $\alpha$ -linalool üzerinde kızılötesi ısıtma ciddi bir etkiye neden olmamıştır. Kekik'in karakteristik aroması kızılötesi ısıtma uygulamasında korunmuştur.

Tez çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz ısıtma işlemi sadece uçucu bileşen kaybına yol açmayıp, kekik numunelerinde başlangıçta var olmayan p-cymene-2,5-diol bileşeninin oluşmasına yol açmıştır. Bunun yanında gamma-terpinene ve beta-myrcene bileşiklerini sırasıyla %35, %14 oranında azaltmış, nonanal bileşiğinin ise tamamen yok olmasına neden olmuştur. Uygulama sonrasında p-cymene-2,5-diol isimli bir bileşik oluşmuş ve bu yeni oluşan bileşiğin, gerçekleştirilen uygulama sırasında kimyasal yapı bakımından kendisine benzeyen p-cymene bileşiğinden oluşmuş olabileceği düşünülmektedir. Örneğin Placha ve diğ. (2022), thymol bileşiğinin yem maddesi olarak biyoyararlanımını konu alan bir çalışmada p-cymene-2,5-diol bileşiğinin p-cymene bileşiğinden türeyen bir ürün olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer dekontaminasyon yönteminin uçucu bileşiklere etkisini inceleyecek olursak, gerçekleştirilen 10 kGy'lik gama ışınlama uygulaması, kekik numunelerinin uçucu bileşiklerinde anlamlı bir değişime yol açmamıştır ( $p>0.05$ ).

Duncan ve diğ. (2017), kekik numunelerine 8 kGy gama ışınlama uygulamış ve baharat kalitesine etkisini incelemişlerdir. %93.2 oranıyla carvacrol, %4.0 oranıyla beta-bisabolene ve diğer önemli bileşenlerden thymol, linalool ve p-cymene de kayıplar meydana gelse de kaliteyi etkileyecek düzeyde olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Aynı şekilde Kırkın (2015), kekik (*Thymus vulgaris* L.) numunelerini modifiye atmosfer ve hava ile paketlenenlerden sonra üç farklı dozda gama ışınlama (7, 12, 17 kGy) uygulamıştır. Uygulama sonrası kekik'in uçucu bileşiklerinden p-cymene, 4-terpinenol, linalool ve thymol miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.

Literatürdeki çalışmalardan hareketle, 10 kGy'ye kadar gama ışınlamanın numunelerin uçucu yağ bileşenlerinde önemli olmayan değişiklikler ortaya çıkardığı görülmüştür (Sadecka ve Polovka 2008). Fakat Napoli ve diğ. (2016), *Origanum vulgare* spp.'e ait üç kekik numunesine 5 ve 10 kGy gama ışınlama uygulamış ve uçucu bileşikler üzerindeki etkisini incelemiştir. Carvacrol, thymol, p-cymene, beta-bisabolene, linalool, 4-terpineol bileşenlerinde iki gama ışınlama dozunda da istatistiksel olarak anlamlı değişimler meydana gelmiştir. Bizim çalışmamızda kullanılan kekik numunelerinde oldukça az bulunan beta-myrcene ve gamma-terpinen bileşenlerinde ise bu çalışmada gama ışınlama sonrası, istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler meydana gelmiştir.

Bir başka dekontaminasyon yöntemi olan UV ışınlama uygulaması, kekik numunelerinin uçucu bileşiklerinde önemli azalışlar meydana getirmiştir ( $p < 0.05$ ). Carvone, linalool, caryophyllene, p-cymene ve 4-terpineol için bu kayıplar sırasıyla %86.0, 63.8, 62.3, 60.0 ve 59.6 olarak gerçekleşmiştir. UV ışınlama uygulamasından etkilenmeyen tek bileşiğin, kekikteki temel uçucu bileşik olan carvacrol olduğu belirlenmiştir. UV ışınlama uygulamasının da numunelerde başlangıçta var olmayan p-cymene-2,5-diol ve decanal bileşiklerinin oluşumuna yol açtığı tespit edilmiştir. Işınlamanın, uçucu bileşiklerde bulunan aromatik halkalı terpenlerin oksidasyon ve hidroksilasyona uğraması sonucunda, çift bağlar ya da fonksiyonel gruplarda yapısal değişime neden olarak yeni bileşiklerin oluşumuna yol açabileceği belirtilmiştir (Emam ve diğ. 1995; Farag Zaid ve diğ. 1996). Bu durumun UV ışınlama içinde geçerli olabileceği düşünülmektedir.

UV ışınlamanın etkisini araştıran bir çalışmada, 280, 300, 365 nm dalga boyunda UV ışın tabanlı bir sistemde, ışın kaynağı ile 1 cm olacak şekilde karabiber numunelerine 5, 10 ve 20 dakika boyunca UV ışın uygulanmıştır (Hinds ve diğ. 2021). Çalışmada uçucu bileşenlerde gözlenen en yüksek farklar, 20 dakika boyunca 280 nm ve 365 nm dalga boylarındadır. 5 dakikalık uygulamalarda ise düşük farklılıklar oluşmuştur. Uçucu bileşiklerin yapılarında bulunan terpenlerin dağılım katsayıları yüksek değerlerdedir. Bu sebepten uçucu bileşiklerde oluşan farklılıklar uygulama sırasında buharlaşma yoluyla kayıplara duyarlılığın artması ile açıklanabilir (Bonneau ve diğ. 2016).

Kekiklerdeki uçucu bileşiklerin önemli düzeyde azalmasına yol açan diğer bir dekontaminasyon yöntemi de ozonlama uygulamasıdır. Bu işlem caryophyllene, carvone, beta-bisabolene bileşiklerinin seviyesinin %85'in üzerinde azalmasına yol açmıştır. Ayrıca linalool, thymol ve carvacrol bileşiklerinin seviyelerinde ozon uygulaması sonucu sırasıyla %73.1, 39.2 ve 37.8'lik azalmaların meydana geldiği gözlenmiştir. Öte yandan ozonlama işlemi sonrasında 4-terpineol seviyesinde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmemiş ( $p>0.05$ ), p-cymene seviyesi ise %87.2 oranında artmıştır.

Buna karşın, kekik (*Origanum vulgare* spp.) numunelerine 4 ppm dozda 30 dakika ozonlama işlemine tabii tutulmuş ve carvacrol %63.26 ile %64.55, thymol %5.06 ile %4.58, p-cymene %13.11 ile %11.9 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Kazi ve diğ. 2018). Bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ozonlamanın kısa süreli uygulamaları kekik esansiyel yağının kimyasal bileşimini etkilememektedir sonucuna ulaşılabilir. Uçucu bileşik değişimlerinin yanı sıra UV ışınlama uygulaması sonucu oluşan bileşiklerin (decanal, p-cymene-2,5-diol) ozonlama işlemi sonrasında da oluştuğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra nonanal ve gamma-terpinene isimli uçucu bileşikler ise ozonlama sonrası oldukça yüksek değerlere ulaşmışlardır. Bu bileşiklerin, başlangıçta var olan bazı maddelerin okside olması sonucu oluşmuş olabileceği düşünülmektedir.

Bir diğer çalışmada, tane ve toz karabiberlere 10 dakika 6 litre/dakika konsantrasyonunda ozon uygulanmış ve uçucu bileşiklere etkisi incelenmiştir (Zhao ve Cranston 1995). Ozonlamanın, tane karabiberin uçucu bileşikleri üzerine önemli etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Fakat toz karabiberlerde ozonlama sonrası işlenmemiş numunede bulunan 16 uçucu bileşiğin yok olduğu, başlangıçta bulunmayan 14 uçucu bileşiğin ise ozonlamadan sonra ortaya çıktığı görülmüştür.

#### **4.6 Isıl ve Isıl Olmayan İşlemlerin Kekik Renk Değerleri Üzerine Etkisi**

Kekik bitkisinin kurutulmuş hali genellikle yeşilimsi gri renge sahip fakat bitkinin yaprak, çiçek, gövde kısımlarının birbirine karışması ile standart homojen



rengi olmayan bir üründür. Günlük hayatta çok sık kullanılan bir baharat olarak kekiğin, alışılagelmiş renginde olması istenir.

Farklı dekontaminasyon yöntemleri (ısıl işlem, gama ışınlama, UV ışınlama ve ozon gazı) uygulanan kekik numunelerindeki renk ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) değerleri Tablo 4.3 verilmiştir. Herhangi bir işlem uygulanmamış kekik numunelerinin renk değerleri;  $L^*$  değeri  $44.76 \pm 1.36$ ,  $a^*$  değeri  $1.43 \pm 0.26$ ,  $b^*$  değeri  $16.61 \pm 0.33$  olarak ölçülmüştür. Kekiklerin depolama esnasındaki kalitesini inceleyen bir çalışmada, Arıtürk (2012), kekiklerin başlangıç renk değerlerini;  $L$  değeri 49.56-53.64,  $a$  değeri 1.57-5.10,  $b$  değeri 19.72-24.62 şeklinde bulmuştur.

Tez çalışmamızda ısıl işlem görmüş kekiklerde, işlem görmemiş kekik numunelerine göre  $L^*$  değerinde ( $44.81 \pm 0.77$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Uygulanan ısıl işlem  $a^*$  değerini ( $2.26 \pm 0.55$ ) arttırarak,  $b^*$  değerini ise ( $15.49 \pm 0.32$ ) azaltarak istatistiksel olarak anlamlı değişimlere yol açmıştır ( $p < 0.05$ ). Uyguladığımız ısıl işleme benzer şekilde, Orman (2005) kekik numunelerini  $100-102^\circ\text{C}$  sıcaklıkta 20 dakika direk ısıya ve vakum altında ısıya maruz bırakmıştır. Uygulama sonrası  $L$  ve  $b$  değerinde istatistiksel olarak fark bulunmazken, buhar uygulaması sonrası  $a$  değeri bir miktar düşerek istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır. Bir diğer buhar uygulamasını konu alan çalışmada Ergin (2016), karabiber numunelerine  $500-1000 \text{ W/m}^2$  yakın kızılötesi kurutma ve  $121^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika otoklavda buhar uygulamasının renge olan etkisini incelemiştir.  $L$  değerindeki en belirgin düşüş buhar uygulanan numunelerde tespit edilmiştir. Bu durum buhar uygulanan karabiberlerin parlaklığında azalma ve renginde açılma olduğunu ifade etmektedir. Fakat bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamıştır. Yakın kızılötesi ile kurutulan karabiberlerde ise  $L$  değeri arttığından numunelerin renginde açılma söz konusu olmuştur. Bunun yanında yakın kızılötesi ile kurutma sonrası  $a$  ve  $b$  değerleri azalarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır.

**Tablo 4.3:** Kekik numunelerinde ısı ve ısı olmayan uygulamalar öncesi ve sonrasında belirlenen renk değerleri ve değişimleri

Renk Değerleri	Kontrol	Isıl İşlem (92°C-3 dakika)	Gama Işınlama (10 kGy)	UV Işınlama (48 Watt-8 saat)	Ozonlama (0.59 vol%-8 saat)
L*	44.76±1.36 <sup>A</sup>	44.81±0.77 <sup>A</sup>	44.75±0.24 <sup>A</sup>	44.01±1.37 <sup>A</sup>	43.45±1.99 <sup>A</sup>
a*	1.43±0.26 <sup>B</sup>	2.26±0.55 <sup>A</sup>	1.93±0.12 <sup>B</sup>	1.22±0.35 <sup>B</sup>	2.28±0.33 <sup>A</sup>
b*	16.61±0.33 <sup>A</sup>	15.49±0.32 <sup>B</sup>	16.29±0.23 <sup>A</sup>	15.50±0.24 <sup>B</sup>	15.39±0.78 <sup>B</sup>
ΔE	-	1.81±0.79	1.39±0.46	2.26±0.72	2.91±1.05

\*: Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05)

Baharatların ısıtma işlemi ile dekontaminasyonu için yenilikçi bir teknoloji olarak incelenen kızılötesi ısıtma, 2 ve 10 dakika boyunca 90 ve 100°C olarak kekik numunelerine uygulanmıştır (Eliasson ve diğ. 2014). Uygulama sonrası numunelerin L\* ve b\* değerlerinde değişiklik olmamıştır. Fakat a\* değerinin yükselmesi ile yeşillik değerinde azalma meydana gelmiştir. Bu değişikliğin yeşil bitkilerdeki klorofil pigmentlerinin parçalanması nedeniyle gerçekleştiği düşünülmektedir (Sled'z ve Witrowa-Rajchert 2012).

Kasapsaraçoğlu (2017), kekik numunelerine 50, 60, 70°C derecelerde sırasıyla 8, 7, 6 saat konvektif kurutma ve 360 W güçte 660 saniye ve 480 W güçte 420 saniye mikrodalga kurutma uygulamıştır. Renk analiz sonuçlarına göre numunelerde mikrodalga ile yapılan kurutma işleminde L değerinin daha yüksek olduğu, konvektif kurutma işleminde ise nispeten düşük olan L değerinin sıcaklık arttıkça arttığı görülmüştür. Konvektif kurutma işleminin a değerinin korunmasında daha etkili olduğu ama sıcaklık arttıkça yeşillikte azalma olduğu görülmüştür. Mikrodalga yöntemiyle kurutulan kekik numunelerinin b değerinin konvektif yöntem ile kurutmaya göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Konvektif kurutma ve mikrodalga ile kurutma işlemlerinin kendi içinde parlaklık üzerine etkisinin istatistiksel açıdan önemli derecede olmadığı ancak uygulamalar arasında farklılık olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda 10 kGy gama ışınlatma uygulanmış numunelerde L\* değeri 44.75±0.24, a\* değeri 1.93±0.12, b\* değeri 16.29±0.23 olmak üzere üç değerinde de istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05). Benzer şekilde Orman (2005), kekik numunelerine 10 kGy gama ışınlatma uygulamıştır. L ve b değerinde istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Ancak gama ışınlatma uygulaması sonrası a değeri ise artarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır. Aynı şekilde Horvathova ve diğ. (2007), kekik numunelerine 5, 7.5, 10, 20, 30 kGy gama ışınlatma uygulamış ve oda koşullarında 4 ay depolamaya bırakmışlardır. Depolama sonunda L\* ve b\* değerlerinde anlamlı bir değişim gözlenmezken, a\* değeri artarak istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe yol açmıştır. Buna karşın Duncan ve diğ. (2017), kekik numunelerine 8 kGy gama ışınlatma uygulamış ve renk değerlerinde bir değişiklik olmadığını gözlemlemişlerdir.

Farklı ışınlatma dozlarının denendiği bir çalışmada Kırkın (2015), kekik (*Thymus vulgaris* L.) numunelerini modifiye atmosfer ve hava ile paketlenenlerden sonra

üç farklı dozda gama ışınlatma (7, 12, 17 kGy) uygulanmıştır. 7, 12, 17 kGy ışınlatma ve ambalajlatma çeşitlerinin L\*, a\*, b\* değeri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmamıştır. Fakat çalışmanın ikinci aşamasında 6 ve 14 kGy gama ışınlatma uygulanmış ve 6 ay depolanmıştır. Depolama sonunda kekiğin L\* değeri, hava ile ambalajlanmış numunelerde modifiye atmosfer ile ambalajlanmışlara göre daha yüksek olduğu, ışınlanan numunelerde ışınlanmamışlara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Kekiğin a\* değeri artma olduğu, b\* değeri ise depolama başlangıcında modifiye atmosferle ambalajlanan numunelerde artış, hava ile ambalajlananlarda ise azalma eğilimi olduğu görülmüştür.

Tarafımızdan gerçekleştirilen çalışmada UV ışınlatma işlemi L\* ve a\* değeri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamış ( $p>0.05$ ), fakat b\* değeri düşürerek istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p<0.05$ ). Doğu Baykut (2016), kekik numunelerinin kalitesi üzerine 7.7 ve 30.7 J/cm<sup>2</sup> dozda UV uygulamasının etkisini incelemiştir. UV uygulaması ile L\* değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir. Yalnızca a\* değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir artış meydana gelmiştir. Kekik numuneleri için  $\Delta E$  değeri hesaplanmış ve  $\Delta E$  değeri her iki doz UV uygulamasında da 1 değerinden düşük çıkmıştır (0.65-0.88). Bu değerler kekik numunelerindeki renk değişiminin gözle görülebilir bir derecede olmadığını göstermektedir. Çalışmanın ikinci kısmında UV uygulama dozu yükseltilmiş ve 205.6 J/cm<sup>2</sup> UV ışınlatma uygulanmıştır. Kekik numunelerinin L\* değeri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir artış gözlenmiştir. Uygulanan tüm dozlarda UV ışınlarının kekik numunelerinin b\* değeri üzerinde herhangi bir değişime neden olmadığı belirlenirken, numunelerin sahip olduğu a\* değeri UV dozundaki artışa paralel olarak artma eğiliminde olduğu görülmüştür. Kekik numunelerine uygulanan en yüksek doz olan 205.6 J/cm<sup>2</sup> UV uygulamasıyla  $\Delta E$  değeri 1.56'ya çıkmıştır. Bu değere bakıldığında kekik numunelerindeki toplam renk değişiminin az olduğu görülmüştür. Bir diğer çalışmada Cheon ve diğ. (2015), toz kırmızı biberlere 10 dakika boyunca 40.8 kJ/m<sup>2</sup> UV uygulanmış ve toz kırmızı biberlerin L\*, a\*, b\* renk değeri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gözlemlemişlerdir.

Tarafımızdan denenen bir diğer dekontaminasyon yöntemi olan ozonlatma işlemi sonrasında L\* değeri bir miktar düşmesine rağmen, bu değeri istatistiksel olarak anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir ( $p>0.05$ ). Lakin bu işlem a\* değeri artırıp, b\* değeri azaltarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ( $p<0.05$ ).

Ozon birçok gıda ürününün yüzeyinde bulaşan mikrofloranın yok edilmesinde kullanılmaktadır. Ancak ozonun okside edici özelliği dolayısıyla yüksek konsantrasyonda kullanılması, gıdaların kalitesinde istenmeyen değişikliklere neden olabilmektedir (Gücükoğlu ve Küplülü, 2005).

Ergin (2016), karabiber numunelerine 30, 45 ve 60 dakika boyunca 15 ve 20 ppm ozon gazı, 5 ve 10 dakika boyunca 10 ve 15 ppm ozonlu su uygulamıştır. Sadece ozon gazı uygulanan numuneler ile kontrol grubu arasında L, a, b değerleri açısından istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. Numunelerdeki a değerindeki en belirgin azalma ozonlu su ile muamele edilen numunelerde tespit edilmiştir. Söz konusu azalma, numunelerdeki yeşilliğin arttığını göstermekte ve numunelerin fazla su absorbe etmesi nedeniyle gerçekleşmektedir.

## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında ısıtma işlemi, gama ışınlatma, UV ışınlatma ve ozonlatma yöntemlerinin kekikteki mikroorganizmalar, PA/PANO'lar, uçucu bileşenler ve renk değerleri üzerine etkileri incelenmiştir. Tarafımızdan denenen dekontaminasyon yöntemlerinden olan ve endüstride halihazırda kullanılan ısıtma işlemi ve gama ışınlatma yöntemlerinin TAMB, maya küf ve *Enterobacteriaceae* üzerine en etkili yöntemler olduğu saptanmıştır. Fakat ısıtma işlemi sonrası baharat yüzeyinde kalan nem uzaklaştırılmazsa üründe küf gelişimine sebep olabilmektedir. Bunun yanında gama ışınlatma işlemi, yasal limitlerde uygulanmasına rağmen hala tüketici tarafından önyargı ile yaklaşılabilir bir nitelikte olup, kabul edilebilir ve güven veren bir yöntem olarak görülmektedir. Söz konusu yöntemlerin bu dezavantajlarından dolayı baharat dekontaminasyonunda alternatif yöntemler bilim dünyası tarafından çalışılmaktadır.

Tez çalışmasında alternatif yöntemler olarak denenen UV ışınlatma ve ozonlatma işlemleri kısa süreli (1-2 saat) uygulamalarda etkili dekontaminasyon sağlayamamıştır. Fakat bu işlemler 4 ve 8 saat gibi nispeten uzun süreli uygulamalardan sonra mikroorganizmaların dekontaminasyonunda etkili olmuştur. Bu durum, UV ışınlatma ve ozonlatma işlemleri için uygulama süresi arttıkça mikrobiyolojik inaktivasyon etkisinin artacağı sonucunu ortaya çıkarmıştır.

Isıtma işlemi kekikteki PANO'ların uygulama sonrasında karşılık gelen PA'larına dönüştürür. Ancak gama ışınlatma işlemlerinden PA/PANO'lar etkilenmemiştir. UV ışınlatma PA/PANO seviyelerinde hafif düşümlere neden olmuşsa da, bu düşümler anlamlı bulunmamıştır. Öte yandan ozonlatma, PA/PANO'ların düzeylerini etkili bir şekilde azaltabilen tek dekontaminasyon yöntemi olmuştur. Bildiğimiz kadarıyla bu, ozonun PA/PANO'ların seviyelerini düşürme potansiyelini gösteren ilk çalışmadır. Test edilen her PA/PANO seviyesinde %50'den fazla azalma gözlemlenmiştir. Ancak bu tekniğin pratikte kullanılmasından önce ozon gazı ile PA/PANO'lar arasındaki reaksiyon sonrasında oluşan dönüşüm, bozunma ve yan ürünlerin belirlenmesi ve güvenli olduğunun kanıtlanması gerekmektedir. Ancak bu gereklilik yerine getirildikten sonra, ticari firmalar kendi gereksinimlerine ve ürün özelliklerine göre kendi dekontaminasyon ünitelerini kurabileceklerdir.

Isıl işlem, UV ışınlama ve ozonlama işlemleri kekiğin uçucu bileşen seviyelerinde önemli değişikliklere neden olmuş hatta başlangıçta bulunmayan bazı bileşenlerin oluşmasına yol açmışlardır. Bunun yanında uygulanan dekontaminasyon yöntemlerinden özellikle ozonlama kekiğin renginde gözle görülür orta derecede bir değişime yol açmıştır. Bu değişikliklerin kekikte alışık olduğumuz duyuşal özellikleri etkileyebileceği düşünölmüştür.

Bu nedenle, dekontaminasyon yöntemlerinin mikroorganizmalar ve PA/PANO'lar üzerindeki etkisini en üst düzeye çıkaracak, kekiğin uçucu bileşenleri ve renk özellikleri üzerindeki zararlı etkilerini en aza indirecek önlemler alınmalıdır.

## 6. KAYNAKÇA

Aguera, A., Fernandez-Alba, A. R., ‘GC–MS and LC–MS Evaluation of Pesticide Degradation Products Generated Through Advanced Oxidation Processes: An Overview’, *Analisis*, 26, 123-130, (1998).

Arda, B., Onbaşı, E., Öztürk, A. ve Cınar, A., ‘Ozon Gazının Antifungal Ajan Olarak Etkinliğinin Belirlenmesi’, *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 26, 40-48, (2021).

Arıtürk R., ‘Depolama Koşullarının Bazı Baharatların Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi’, Yüksek Lisans Tezi, *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa, (2012).

Avcı, A. B., Bayram, E., ‘Geliştirilmiş İzmir Kekiği (*Origanum onites* L.) Klonlarının Farklı ekolojik koşullarda bazı agronomik ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi’, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50 (1), 13-20, (2013).

Avrupa Birliği. Tüzüğü, ‘11 Aralık 2020 tarihli Komisyon Tüzüğü (AB) 2020/2040 Belirli Gıda Maddelerindeki Maksimum Pirolizidin Alkaloid Seviyelerine İlişkin (EC) No 1881/2006’, (Erişim Tarihi:20.05.2023), <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/TR/TXT/?uri=CELEX:32020R2040>, (2020)

Aylangan, A.Y., ‘İşnılamanın Hamburger Köftelerinin Kalite Kriterleri, Raf Ömrü Üzerine Etkisinin İncelenmesi ve Hamburger Köftelerde İşnılamanın Tespiti’, Doktora Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, (2010).

Başbayraktar, V., ‘İşnılanmış Gıdaların Tespitinde Kullanılan Yöntemler’, *Gıda*, 37(2), 111-118, 2012.

Baydar, H., Arabacı, O., ‘Türkiye’nin Kekik Üretim Merkezi Olan Denizli’de Kültür Kekiğinin (*Origanum onites* L.) Tarımsal ve Teknolojik Özellikleri’, *10. Tarla Bitkileri Kongresi*, (2013).

Baydar, H., Erdal, İ., ‘Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin İzmir Kekiğinin (*Origanum onites* L.) Yaprak Kalitesine Etkisi’, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 10 (1), 9-13, (2004).

Bonneau, A., Boulanger, R., Lebrun, M., Maraval, I., Gunata, Z., ‘Aroma Compounds in Fresh and Dried Mango Fruit (*Mangifera indica* L.): Impact of Drying on Volatile Composition’, *International Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 789-800, (2016).



Boppré, M., Colegate, S. M., Edgar, J. A., Fischer, O. W., ‘Hepatotoxic Pyrrolizidine Alkaloids in Pollen and Drying-Related Implications for Commercial Processing of Bee Pollen’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5662-5672, (2008).

Bozdemir, Ç., ‘Türkiye’de Yetişen Kekik Türleri, Ekonomik Önemi ve Kullanım Alanları’, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(3), 583-594, (2019).

Buckow, R., Ng, S., Toepfl, S., ‘Pulsed Electric Field Processing of Orange Juice: A Review on Microbial, Enzymatic, Nutritional, and Sensory Quality and Stability’, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 455-467, (2013).

Calado, T., Venâncio, A., Abrunhosa, L., ‘Irradiation for Mold and Mycotoxin Control: A Review’, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 1049-1061, (2014).

Can-Başer, K. H., ‘Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils’, *Current Pharmaceutical Design*, 14(29), 3106-3119, (2008).

Casado, N., Casado-Hidalgo, G., González-Gómez, L., Morante-Zarcero, S., Sierra, I., ‘Insight Into the Impact of Food Processing and Culinary Preparations on the Stability and Content of Plant Alkaloids Considered as Natural Food Contaminants’, *Applied Sciences*, 13, 1704, (2023).

Casado, N., Morante-Zarcero, S., Sierra, I., ‘The Concerning Food Safety Issue of Pyrrolizidine Alkaloids: An Overview’, *Trends Food Science Technology*, 120, 123-139, (2022).

Cemeroğlu, B. S., ‘*Gıda Analizleri*’, Ankara: Bizim Grup Basımevi, (2013).

Ceylan, A., ‘*Tıbbi Bitkiler*’, 312, Bornova, İzmir: İ. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 140, (1995).

Chen, J. H., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W. S., Yuk, H. G., ‘Intervention Technologies for Ensuring Microbiological Safety of Meat: Current and Future Trends’, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 119-132, (2012).

Cheon, H. L., Shin, J. Y., Park, K. H., Chung, M. S., Kang, D. H., ‘Inactivation of Foodborne Pathogens in Powdered Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Using Combined UV-C Irradiation and Mild Heat Treatment’, *Food Control*, 50, 441-445, (2015).

Çetinkaya, N., Halkman, H. B. D., ‘Türkiye’de Gıda İşinleme Teknolojisindeki Gelişmeler ve Yasal Düzenlemeler’, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu, 967-968, (2006).

Dababneh, B. F., ‘An Innovative Microwave Process for Microbial Decontamination of Spices and Herbs’, *African Journal of Microbiology Research*, 7(8), 636-645, (2013).

Daş E., Gürakan C.G., Bayındırlı A., ‘Effect of Controlled Atmosphere Storage, Modified Atmosphere Packaging and Gaseous Ozone Treatment on the Survival of *Salmonella enteritidis* on Cherry Tomatoes’, *Food Microbiology*, 23, 430-438, (2006).

Demirkol, Ö.Ş., ‘Investigation of Physical Properties of Different Cake Formulations During Baking with Microwave and Infrared-Microwave Combination’, Doktora Tezi, *ODTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, (2007).

Deng, L. Z., Tao, Y., Mujumdar, A. S., Pan, Z., Chen C., Yang, X. H., Liu, Z. L., Wang, H., Xiao, H. W., ‘Recent Advances in Non-thermal Decontamination Technologies for Microorganisms and Mycotoxins in Low-moisture Foods’, *Trends Food Science Technology*, 106, 104-112, (2020).

Diehl, J.F., ‘*Safety of Irradiated Foods*’, New York: Marcel Dekker, 243-245, (1990).

Dinçer, C., ‘Ultrasound Pastörizasyon ve Membran Konsantrasyon Yöntemlerinin Karadut (*Morus nigra* L) Suyu Konsantrasyonu Üretiminde Uygulanabilirliğinin Araştırılması’, Doktora Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya, (2014).

Djordjević, M., Sterniša M., Možina S. S., Beszédes, S., Šoronja-Simović, D., Hodúr C., Jokić A., Šereš, Z., ‘Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Bacterial Decontamination by Sterilization and Microwave Treatments’, *Analecta Technica Szegedinensia*, 13(2), 1-5, (2019).

Doğu-Baykut, E., Gunes, G., Decker E.A., ‘Impact of Shortwave Ultraviolet (UV-C) Radiation on the Antioxidant Activity of Thyme (*Thymus vulgaris* L.)’, *Food Chemistry*, 157, 167-173, (2014).

Doğu-Baykut E., ‘Ultraviyole ve Ozon Uygulamalarının Baharatların Dekontaminasyonu ve Kalitesi Üzerine Etkileri’, Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2016).

Duncan, S. E., Moberg, K., Amin, K. N., Wright, M., Newkirk, J. J., Ponder, M. A., Acuff, G. R., Dickson, J. S., ‘Processes to Preserve Spice and Herb Quality and Sensory Integrity During Pathogen Inactivation’, *Journal of Food Science*, 82(5), 1208–1215, (2017).

Eliasson, L., Libander, P., Lövenklev, M., Isaksson, S., Ahrné, L., ‘Infrared Decontamination of Oregano: Effects on *Bacillus cereus* Spores, Water Activity, Color, and Volatile Compounds’, *Journal of Food Science*, 79, 12, 2447-2455, (2014).

El-Mageed, A, Magda A., 'Effect of Microwave Heating and Contentional Roasting on Volatile Compounds in Oregano Leaves, Coriander and Cumin Seeds', *Journal of Agricultural Sciences*, 32, 2, 1521-1535, (2007).

Emam, O. A., Farag, S. A., Aziz, N. H., 'Comparative Effects of Gamma and Microwave Irradiation on the Quality of Black Pepper', *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 201(6), 557-561, (1995).

Erdoğan-Bayram, S., 'Denizli İli Koşullarında Organik Yetiştirilen İzmir Kekığı (*Origanum onites* L.) Bitkisinin Beslenme Durumları ve Bazı Kalite Ögeleri Arasındaki İlişkiler', *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(2), 225-235, (2018).

Erdoğan, S. B., Ekiz, H. İ., 'Effect of Ultraviolet and Far Infrared Radiation on Microbial Decontamination and Quality of Cumin Seeds', *Journal of Food Science*, 76(5), 284-292, (2011).

Erdoğan, S. B., Ekiz, H. İ., 'Far Infrared and Ultraviolet Radiation as a Combined Method for Surface Pasteurization of Black Pepper Seeds', *Journal of Food Engineering*, 116(2), 310-314, (2013).

Ergin, E., 'Ultras, Ozon ve Kızılötesi Yöntemlerinin Birlikte Kullanılmasının Karabiberin Bazı Kalite Özelliklerine Etkisi', Yüksek Lisans Tezi, *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çanakkale, (2016).

Erhan, İ., Halkman, H. B., 'Gıdaların Dış Yüzeylerinin Mikrobiyal Dekontaminasyonu İçin Yeni Bir Yaklaşım', *Türkiye 14. Gıda Kongresi*, (2022).

Esra Ersoy-Ömeroğlu E., 'Anaerobik Bakteriyoloji Laboratuvarı ve Arsenik Dirençli Anaerobik Bakteri İzolasyonu', Erişim Tarihi: 15.09.2023, [https://www.tmc-online.org/userfiles/file/Anaerop\\_Haber\\_Nisan\\_2018.pdf](https://www.tmc-online.org/userfiles/file/Anaerop_Haber_Nisan_2018.pdf), (2018).

Farag Zaied, S. E. A., Aziz, N. H., Ali, A. M., 'Comparing Effects of Washing, Thermal Treatments and Gamma Irradiation on Quality of Spieces', *Nahrung*, 40, 32-36, (1996).

Farkas, J., Mohácsi-Farkas, C., 'History and Future of Food Irradiation', *Trends in Food Science and Technology*, 22(2), 121-126, (2011).

Farkas, J., Mohácsi-Farkas, C., 'Safety of Food and Beverages: Spices and Seasonings, (eds: Y. Motarjemi, Moy, G., Todd E.), *Encyclopedia of Food Safety*, San Diego: Academic Press, 324-330, (2014).

Ganan, M., Hierro, E., Hospital, X. F., Barroso, E., Fernández, M., 'Use of Pulsed Light to Increase the Safety of Ready to Eat Cured Meat Products', *Food Control*, 32(2), 512-517, (2013).

Gezgin, Z., Güneş, G., ‘Gıdaların Gama Işınları ile Muhafazası’, *Gıda*, 12, 82-87, (2003).

GKGM, Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, ‘Kekikteki pirolizidin alkaloidleri izleme programının sonuçları ve halk sağlığı açısından riskleri hakkında bilimsel görüş’, (Erişim Tarihi: 09.09.2023), [https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB\\_Risk\\_Degerlendirme/BilimselGorus/Kekikte\\_PAlar\\_Bilimsel\\_Gorus.pdf](https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Risk_Degerlendirme/BilimselGorus/Kekikte_PAlar_Bilimsel_Gorus.pdf), (2023).

Gómez-López, V. M., Koutchma, T., Linden, K., ‘Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods’, (eds: Cullen P., Tiwari B. K., Valdramidis V. P.), *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*, New York: Elsevier, 185-223, (2012).

Gómez-López, V. M., Ragaert, P., Debevere, J., Devlieghere, F., ‘Pulsed Light for Food Decontamination: A Review’, *Trends in Food Science and Technology*, 18(9), 464-473, (2007).

Gölcü, M., Şen, F., ‘Mikrodalga ile Islak Viyolün Kurutulabilirliğinin Deneysel Olarak İncelenmesi’, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 4(20), 111- 115, (2014).

Green, F. B., Lundquist, T. J., Oswald, W. J., ‘Energetics of Advanced Integrated Wastewater Pond Systems’, *Water Science and Technology*, 31(12), 9-20, (1995).

Gücükoğlu, A., Küplülü, Ö., ‘Su ve Gıda Güvenliğinin Sağlanmasında Ozon Kullanımı’, *Akademik Gıda*, 3 (5), 5 - 9, (2005).

Güneş, G., Tekin, M. D., ‘Consumer Awareness and Acceptance of Irradiated Foods: Results of a Survey Conducted on Turkish Consumers’, *Food Science and Technology*, 39(4), 444-448, (2006).

Gürtunca, R., ‘Trakya Koşullarında Bazı Kekik (*Origanum* spp.) Genotip ve Çeşitlerinin Verim ve Kalite Unsurlarının Belirlenmesi’, Yüksek Lisans Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ, (2011).

Hacıoğlu, A., ‘Gıda Işınlamanın Karides (*Parapenaeus longirostris*) ve Midyelerin (*Mytilus galloprovincialis*) Raf Ömrü ve Kaliteleri Üzerine Etkileri’ Doktora Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ, (2010).

Han, H., Jiang, C., Wang, C., Lu, Y., Wang, Z., Chai, Y., Zhang, X., Liu, X., Lu, C., Chen, H., ‘Dissipation Pattern and Conversion of Pyrrolizidine Alkaloids (PAs) and Pyrrolizidine Alkaloid N-oxides (PANOs) During Tea Manufacturing and Brewing’, *Food Chemistry*, 390, 133-183, (2022).

- Hejri, L.A., Hajeb, P., Ehsani, R.J., ‘Application of Ozone for Degradation of Mycotoxins in Food: A Review’, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19 (4), 1777-1808, (2020).
- Hinds, L. M., Guclu, G., Kelebek, H., Selli S., O’Donnell, C. P., Tiwari, Brijesh K., ‘Effect of Ultraviolet Light Emitting Diode Treatments on Microbial Load, Phenolic and Volatile Profile of Black Peppercorns’, *Food Science and Technology*, 152, 112-133, (2021).
- Horvathova, J., Suhaj, M., Polovka, M., ‘Effect of Gamma Irradiation on Trichromatic Values of Spices’, *Chemical Papers*, 61 (4), 282-285, (2007).
- Ietswaart, J. H., “A Taxonomic Revision of the Genus *Origanum* (Labiatae)”, *Leiden Botanical Series*, 4(1), 1-153, (1980).
- Inan, F., Pala, M., Doymaz, I., ‘Use of Ozone in Detoxification of Aflatoxin B1 in Red Pepper’, *Journal of Stored Products Research*, 43(4), 425–429, (2007).
- Iriti, M., Faoro, F., ‘Chemical Diversity and Defence Metabolism: How Plants Cope with Pathogens and Ozone Pollution’, *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 3371-3399, (2009).
- Izcara, S., Casado, N., Morante-Zarcelero, S., Sierra, I., ‘A Miniaturized QuEChERS Method Combined with Ultrahigh Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Pyrrolizidine Alkaloids in Oregano Samples’, *Foods*, 9, 1319, (2020).
- Jackson, D. M., Rufty, T. W., Heagle, A. S., Severson, R. F., Eckel, R. V. W., ‘Survival and Development of Tobacco Hornworm Larvae on Tobacco Plants Grown Under Elevated Levels of Ozone’, *Journal of Chemical Ecology*, 26, 1-19, (2000).
- Johannessen G. S., Loncarevic, S., Kruse H., ‘Bacteriological Analysis of Fresh Produce in Norway’, *International Journal of Food Microbiology*, 77(3), 199-204, (2002).
- Kacar, O., Goksu, E., Azkan, N., ‘The effect of Different Plant Densities on Some Agronomic and Quality Characteristics of Oregano (*Origanum onites* L.)’, *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 2(21), 51-60, (2006).
- Kaltner, F., ‘Fate of food-relevant toxic plant alkaloids during food processing or storing and analytical strategies to unveil potential transformation products’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70, 5975-5981, (2022).
- Kaltner, F., Rychlik, M., Gareis, M., Gottschalk, C., ‘Occurrence and Risk Assessment of Pyrrolizidine Alkaloids in Spices and Culinary Herbs From Various Geographical Origins’, *Toxins*, 12, 155, (2020).

Kapluhan, E., ‘Bekilli’de (Denizli) Alternatif Ziraat Faaliyetlerine Bir Örnek: Kekik Yetiştiriciliği’, *Marmara Üniversitesi Dergisi*, 28, 194-210, (2013).

Karaca, H., Velioglu, Y. S., ‘Ozone Applications in Fruit and Vegetable Processing’, *Food Reviews International*, 23 (1), 91–106, (2007).

Karlı, B., Demir. Z., Dalgıç, A., ‘Denizli İlinde Kekik Üretimi Yapan İşletmelerin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Sorunları’, *Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(2), 151-160, (2020).

Kasapsaraçoğlu, G., ‘Farklı Kurutma Yöntemlerinin Kekik (*Origanum onites*) Örneklerinin Kalite Özellikleri Üzerine Etkisinin Araştırılması’, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli, (2017).

Katar, N., Katar, D., ‘Eskişehir Ekolojik Koşullarında Farklı Hasat Dönemlerinin İzmir Kekiki (*Origanum onites* L.)’nin Uçucu Yağ Oranı ve Bileşenleri Üzerine Etkisi’, *Turkish Journal of Agricultural Engineering Research*, 1(2), 441-451, (2020).

Kazi, M., Parlapani F. F., Boziaris I. S., Vellios, E. K., Lykas C., ‘Effect of Ozone on the Microbiological Status of Five Dried Aromatic Plants’, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 1369–1373, (2018).

Kempf, M., Reinhard A., Beuerle T., ‘Pyrrolizidine Alkaloids (PAs) in Honey and Pollen-legal Regulation of PA Levels in Food and Animal Feed Required’, *Molecular Nutrition Food Research*, 54(1), 158-168, (2010).

Kılıç, O., ‘Gıda İşleme Mühendisliği’, 1, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bursa, 136s, (1994).

Kırkın, C., ‘Gama Işınları ve Modifiye Atmosferde Ambalajlamanın Bazı Baharatların Sterilizasyonu ve Kalitesi Üzerine Etkileri’, Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2015).

Kim, J. E., Lee, D. U., Min, S. C., ‘Microbial Decontamination of Red Pepper Powder by Cold Plasma’, *Food Microbiology*, 38, 128-136, (2014).

Konak, Ü. İ., Certel, M., Helhel, S., ‘Gıda Sanayisinde Mikrodalga Uygulamaları’ *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3): 20-31, (2009).

Korkmaz, S. D., Küplülü, Ö., ‘Determination of Pyrrolizidine Alkaloids in Oregano (*Origanum onites*) Produced in Denizli by LC-MS Q-TOF Method’, *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 93 (2), 115-123, (2022).

Koutchma, T., Popović, V., Ros-Polski, V., Popielarz, A., ‘Effects of Ultraviolet Light and High-Pressure Processing on Quality and Health-Related Constituents of Fresh

Juice Products', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 844-867, (2016).

Krauter, P., MacQueen, D., Horn, J., Bishop, D., 'Effect of Subsurface Electrical Heating and Steam Injection on the Indigenous Microbial Community', Master, *Lawrence Livermore National Laboratory*, Livermore, ABD, (1995).

Krishnamurthy K., Khurana S. J., Irudayaraj J., Demirci A., 'Infrared Heating in Food Processing: An Overview', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7 (1), 2-13, (2008).

Kurup, A. H., Deotale, S., Rawson, A., Patras, A., 'Bölüm 1', (eds: Hossain B. M., Brunton P. N., Rai K. D.), *Thermal Processing of Herbs and Spices*, Wiley Online Library, (2020).

Kurzeja, E., Stec, M., Ramos, P., Pilawa, B., Pawłowska-Góral, K., 'The Influence of Sterilization on Free-Radical Generation, Discoloration and the Antioxidant Properties of Certain Spice Herbs', *Italian Journal of Food Science*, 24, 254-262, (2012).

Lara, J.D., Fernandez, P.S., Periago, P.M., Palop, A., 'Irradiation of Spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* with Electron Beams', *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(4), 379-384, (2002).

López-Malo, A., Palou, E., 'Ultraviolet Light and Food Preservation' (eds: Barbosa-Canovas, G. V., Tapia, M. S., Cano M. P.), *Novel Food Processing Technologies*, Boca Raton: CRC Press, 405-421, (2005).

Mendonça, A. F., Daraba, A., 'Non-thermal Processing: Irradiation', (eds: Batt C. A., Tortorello M.), *Encyclopedia of Food Microbiology*, San Diego: Academic Press, 2, 954-961, (2014).

Muca, B., Yıldırım, B., Özçelik, Ş., Koca, A. 'Isparta's (Turkey) Pisonous Plants of Public Access Places', *Biological Diversity and Conservation*, 5(1), 23-30, (2012).

Muştu, Ç., 'Yiyecek ve İçecek İşletmelerinde Ozon Uygulamaları', *Aydın Gastronomy*, 4(1), 45-53, (2019).

Muthukumarappan, K., Halaweish, F., Naidu, A. S., 'Ozone', (ed: Naidu A. S.), *Natural Food Antimicrobial Systems*, Boca Raton: CRC Press, 783-800, (2000).

Napoli, E., Mazzaglia, A., Restuccia, C., Ragni, P., Lanza, C. M., Ruberto, G., 'The Effect of  $\gamma$ -Irradiation on Chemical Composition, Microbial Load and Sensory Properties of Sicilian Oregano', *Journal of Food Science and Technology*, 72, 566-572, (2016).

Nicorescu, I., Nguyen, B., Moreau-Ferret, M., Agoulon, A., Chevalier, S., Orange, N., ‘Pulsed Light Inactivation of *Bacillus subtilis* Vegetative Cells in Suspensions and Spices’, *Food Control*, 31(1), 151-157, (2013).

O’Meara, C., O’Connor, A., Bragg, C., “Herbs Gardening”, *Colorado State University*, CMG Garden Notes 731, (2015).

Orman, S., ‘Sterilizasyon Yöntemlerinin Baharatların Antioksidan Aktiviteler ve Renk Üzerine Etkilerinin belirlenmesi’, Yüksek Lisans Tezi, *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa, (2005).

Orphanides, A., Goulas, V., Gekas, V., ‘Effect of Drying Method on the Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Spearmint’, *Czech Journal of Food Sciences*, 31(5), 509-513, (2013).

Ozdemir, N., Ozgen, Y., Kiralan, M., Bayrak, A., Arslan N., Ramadan, M. F., ‘Effect of Different Drying Methods on the Essential Oil Yield, Composition and Antioxidant Activity of *Origanum vulgare* L. and *Origanum onites* L.’, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 820–825, (2017).

Özbay-Doğu, S., Özbay, A., ‘Et Dekontaminasyonunda Elektron demeti İşnlaması Kullanımı’, *Journal of Food and Health Science*, 1(4), 178-184, (2015).

Özkan-Karabacak A., ‘Gıda Bileşenleri Üzerine Isıl Olmayan İşleme Yöntemlerinin Etkileri’, Yüksek Lisans Tezi, *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa, (2015).

Özsoy, N., ‘Isıl İşlemin Ezine Peynirinin Özellikleri Üzerine Etkisi’, Yüksek Lisans Tezi, *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çanakkale, (2012).

Parveen, S., Das, S., Begum, A., Sultana, N., Hoque, M. M., Ahmad, I., ‘Microbiological Quality Assessment of Three Selected Spices in Bangladesh’, *International Food Research Journal*, 21(4), 1327-1330, (2014).

Patil, S., Cullen, P. J., Bourke, P., ‘Ozone: A Novel Microbial Inactivation Process’, (ed: Boziaris I. S.), *Food Preservation and Microbial Assessment Techniques*, Boca Raton: CRC Press, 126-154, (2014).

Placha I., Bacova K., Plachy L., ‘Current Knowledge on the Bioavailability of Thymol as a Feed Additive in Humans and Animals with a Focus on Rabbit Metabolic Processes’, *Animals*, 12, 1131, (2022).

Postelwait, W., ‘Safe and Legal Sterilization Methods for Botanical Ingredients’ *Nutraceutical Business and Technology*, 5(3), (2009).



Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), [https://webgate.ec.europa.eu/rasff.window/portal/?event=notificationDetail&NOTIF\\_REFERENCE=2018.2709](https://webgate.ec.europa.eu/rasff.window/portal/?event=notificationDetail&NOTIF_REFERENCE=2018.2709), (Erişim Tarihi:10.07.2023), (2023).

Reinwaldt, C., Bittner, M., Kempe, G., Glauner, T., ‘Quantitation of Pyrrolizidine Alkaloids in Honey and Herbal Teas by UHPLC/MS/MS’, Agilent Technologies Incorporation, Application Note, Waldbronn, Germany, (2017).

Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., Prieto, M. ‘Microbiological Food Safety Assessment of High Hydrostatic Pressure Processing: A Review’, *Food Science and Technology*, 44(5), 1251-1260, (2011).

Sadecka, J., Polovka, M., ‘Multi-Experimental Study of  $\gamma$ -Radiation Impact on Oregano (*Origanum vulgare* L.)’, *Journal of Food Nutrition Research*, 47(2), 85-91, (2008).

Salem, I. B., Fekih, S., Sghaier, H., Bousselmi, M., Saidi, M., Landoulsi, A., Fattouch, S., ‘Effect of Ionizing Radiation on Polyphenolic Content and Antioxidant Potential of Parathion-Treated Sage (*Salvia officinalis*) Leaves’, *Food Chemistry*, 141, 1398-1405, (2013).

Sárosi, S., Sipos, L., Kókai, Z., Pluhár, Z., Szilvássy, B., Novák, I., ‘Effect of Different Drying Techniques on the Aroma Profile of *Thymus vulgaris* Analyzed by GC–MS and Sensory Profile Methods’, *Industrial Crops and Products*, 46, 210-216, (2013).

Savaş, E., Tavşanlı, H., Gökgözoğlu, İ., ‘Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları’, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2 (3), 122-127, (2014).

Schweiggert, U., Carle, R., Schieber, A., ‘Conventional and Alternative Processes for Spice Production – A Review’, *Trends in Food Science Technology*, 18, 260-268, (2007).

Sevimli, M. F., Aydin, A. F., Sarikaya, H. Z., Öztürk, I., ‘Characterization and treatment of effluent from opium alkaloid processing wastewater’, *Water Science Technology*, 40, 23-30, (1999).

Seyhun, N., ‘Modelling of Tempering of Frozen Potato Puree by Microwave, Infrared Assisted Microwave and Ohmic Heating Methods’, Doktora Tezi, *ODTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, (2008).

Singh, S., Parmar, K. D., Joshi, M. N., Panchal, R. R., Litoriya, N. S., Shah, P. G., ‘Decontamination of Mancozeb From Cumin and Fennel’, *Pesticide Research Journal*, 25, 112-116, (2013).

Śledź, M., Witrowa-Rajchert D., ‘Influence of Microwave-Convective Drying on Chlorophyll Content and Colour of Herbs’, *Acta Agrophysica*, 19(4), 865-876, (2012).

Snyder, O.P., Poland, D.M., 'Food Irradiation Today', Erişim Tarihi: 20.07.2023 <http://www.hitm.com/Documents/Irrad.html>, (1995).

Sokat, Y., 'Some Harmful Weed Species in Thyme Production Areas', *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9 (1), 29-42, (2020).

Song, W. J., Sung, H. J., Kim, S. Y., Kim, K. P., Ryu, S., Kang, D. H., 'Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* in Black Pepper and Red Pepper by Gamma Irradiation', *International Journal of Food Microbiology*, 172, 125-129, (2014).

Sönmez, Ç., 'Effect of Different Harvest Times on Some Yield and Essential Oil Characteristics in *Origanum onites* L.', *Turkish Journal of Field Crops*, 24 (1), 106-110, (2019).

Staack, N., Ahrne, L., Borch, E., Knorr, D. 'Effects of Temperature, pH, and Controlled Water Activity on Inactivation of Spores of *Bacillus cereus* in Paprika Powder by Near-IR Radiation', *Journal of Food Engineering*, 89 (3),319-324, (2008).

Stahl-Biskup, E., 'Essential Oil Chemistry of the Genus *Thymus* – A Global View', (eds: Stahl-Biskup, E., Saez F.), *Thyme*, Boca Raton: CRC Press, 75-124, (2002).

Tabakoğlu N., 'Ozon Gazı Uygulamasının Karadutun(*Morus nigra* L.) Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi Üzerine Etkisi', Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli, (2016).

Tchobanoglous, G.L.F., Darby, J., Devries, M., 'UV Design: Comparision of Probabilistic and Deterministic Design Approaches', *Water Science and Technology*, 33(10), 251-260, (1996).

Timmermans, R. A. H., Groot, M. N., Nederhoff, A. L., Van Boekel, M. A. J. S., Matser, A. M., Mastwijk, H. C., 'Pulsed Electric Field Processing of Different Fruit Juices: Impact of pH and Temperature on Inactivation of Spoilage and Pathogenic Microorganisms', *International Journal of Food Microbiology*, 173, 105-111, (2014).

Toncer, O., Karaman S., Kızıl, S., Dıraz, E., 'Changes in Essential Oil Composition of Oregano (*Origanum onites* L.) due to Diurnal Variations at Different Development Stages', *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37 (2), 177-181, (2009).

Topuz, A., 'Farklı Gama Işınlama Dozlarının ve Depolamanın Kırmızı Pul Biberin (*Capsicum annuum* L.) Bazı Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalitesi Üzerine Etkileri', Doktora Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anadilim Dalı, Antalya, (2002).

Topuz, A., Ozdemir, F., ‘Influences of  $\gamma$ -Irradiation and Storage on the Carotenoids of Sun-Dried and Dehydrated Paprika’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4972-4977, (2003).

Torlak, E., Sert, D., Ulca, P., ‘Efficacy of Gaseous Ozone Against Salmonella and Microbial Population on Dried Oregano’, *International Journal of Food Microbiology*, 165, 276-280, (2013).

Udovicki, B., Stankovic, S., Tomic, N., Djekic, I., Smigic, N., Trifunovic, B. S., Milicevic, D., Rajkovic, A., ‘Evaluation of Ultraviolet Irradiation Effects on *Aspergillus flavus* and Aflatoxin B1 in Maize and Peanut Using Innovative Vibrating Decontamination Equipment’, *Food Control*, 134, 108691, (2022).

Üçüncü, M., ‘A’dan Z’ye Peynir Teknolojisi’, 1, İzmir: Meta Basım Matbaacılık, 338, (2004).

Ünlütürk, A., Turantaş, F., ‘Gıda Mikrobiyolojisi’, İzmir: Meta Basım Matbaacılık, 590, (2003).

Ünlütürk, S., ‘Ultraviyole (mor ötesi) Işınlama: Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler’, (eds: Baysal, T., İçier, F.), Ankara: Nobel Yayıncılık, 219-248, (2012).

Vali Asill, R., Azizi, M., Bahreini, M., Arouiee, H., ‘The Investigation of Decontamination Effects of Ozone Gas on Microbial Load and Essential Oil of Several Medicinal Plant’, *Notulae Scientia Biologicae*, 5, 34–38, (2013).

Van Doren, J. M., Neil, K. P., Parish, M., Gieraltowski, L., Gould, L. H., Gombas, K. L., ‘Foodborne Illness Outbreaks From Microbial Contaminants in Spices, 1973-2010’. *Food Microbiology*, 36(2), 456-464, (2013).

Veenstra, J. P., Johnson, J. J., ‘Oregano (*Origanum vulgare*) Extract for Food Preservation and Improvement in Gastrointestinal Health’, *International Journal of Nutrition Sciences*, 3 (4), 43-52, (2019).

Virtanen, H., Vehmas, K., Erho, T., Smolander, M., ‘Flexographic Printing of *Trametes Versicolor* Laccase for Indicator Applications’, *Packaging Technology and Science*, 27(10), 819-830, (2014).

Vural A., Güran, H. Ş., Durmuşoğlu, H., Uçar, U., ‘Tıbbi Bitki Çaylarında Mikrobiyolojik Kalitenin ve Bazı Patojenlerin Araştırılması’, *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 13(1), 76-82, (2020).

Walse, S. S., Karaca, H., ‘Remediation of Fungicide Residues on Fresh Produce by Use of Gaseous Ozone’, *Environmental Science Technology*, 45(16), 6961–6969, (2011).

Wiedenfeld H., ‘Toxicity of Pyrrolizidine Alkaloids - A Serious Health Problem’, *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 1(2), 79-87, (2011).

Wiedenfeld, H., Edgar, J., 'Toxicity of Pyrrolizidine Alkaloids to Humans and Ruminants', *Phytochemistry Reviews*, 10(1), 137-151, (2011).

Yaldiz, G., Sekeroglu, N., Özgüven, M., Kirpik, M., 'Seasonal and Diurnal Variability of Essential Oil and Its Components in *Origanum onites* L. Grown in the Ecological Conditions of Çukurova', *Grasas y Aceites*, 56(4), 254-258, (2005).

Yaralı, E., Gıdalarda Temel İşlemler II, (Erişim tarihi: 26.08.2023). <http://www.akademik.adu.edu.tr/myo/cine/webfolders/File/ders%20notlari/Gida%20temel%20islemler%20II.pdf> , (2014).

Yıldırım-Aybakır, M., 'Baharatın Antimikrobiyel Etkisinin Engeller Teknolojisi Kapsamında İncelenmesi', Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, (2015).

Zhao, J., Cranston, P.M., 'Microbial Decontamination of Black Pepper by Ozone and the Effect of the Treatment on Volatile Oil Constituents of the Spice', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68, 11-18, (1995).

Zheng, K., Li B., Liu, Y., Wu, D., Bai Y., Xiang Q., 'Effect of Chitosan Coating Incorporated with Oregano Essential Oil on Microbial Inactivation and Quality Properties of Refrigerated Chicken Breasts', *Food Science and Technology*, 176, 114547, (2023).