



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**OZON GAZI UYGULANMIŞ KOYUN SÜTÜ
ÖRNEKLERİNİN FİZİKOKİMYASAL VE
MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNDE
MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLERİN
BELİRLENMESİ**

Ece ÇAKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Ağustos-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Ece ÇAKIR tarafından hazırlanan "Ozon Gazı Uygulanmış Koyun Sütü Örneklerinin Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi" adlı tez çalışması 27/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan
Prof. Dr. Nihat AKIN

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT

Üye
Doç. Dr. Mustafa Kürşat DEMİR

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylım.

Prof. Dr. Ahmet AVCI
FBE Müdürü

Bu tez çalışması TAGEM tarafından TAGEM/ 15 / AR-GE / 38 nolu proje ile desteklenen "Ozon Gazı Uygulanmış Koyun Sütü Kullanılarak Geleneksel Yöntemle Üretilen Beyaz Peynirlerde Depolama Periyodunda Bazı Özelliklerdeki Değişimlerin Belirlenmesi" isimli projenin ilgili bulgularını içermektedir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdaki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.


Ece ÇAKIR
12.07.2018

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmamda, konunun belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesi aşamalarında yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen, gelişimini titizlikle takip eden, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Bugüne kadar her konuda beni destekleyen ve yalnız bırakmayan aileme ve eşime en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Ece ÇAKIR
KONYA-2018

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****OZON GAZI UYGULANMIŞ KOYUN SÜTÜ ÖRNEKLERİNİN
FİZİKOKİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNDE MEYDANA
GELEN DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ****Ece ÇAKIR****Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı****Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT****2018, 61 sayfa****Jüri****Prof. Dr. Nihat AKIN****Doç. Dr. M. Kürşat DEMİR****Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT**

Süt; sağımdan ürün haline gelene kadar birçok aşamadan geçmektedir. Bu süreçte süt bileşenlerinin durumu, sütün mikrobiyolojik yükü, fiziksel ve kimyasal özellikler; süte uygulanan ön işlemler ve seçilen koruma yöntemine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Ozonlama bu anlamda alternatif koruma yöntemlerinden biridir.

Bu çalışmada ozonlama işleminin koruma yöntemi olarak kullanılması ile sütün mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. İki farklı sıcaklıkta bulunan koyun sütü örneklerine (4-6 °C ve 22-25 °C); ısıtma işlemi (65 °C) ve ozonlama işlemi uygulanmıştır. Süre artışına bağlı olarak (0, 1, 5, 10, 30, 45 ve 60 dk) sütün mikrobiyolojik kalitesinin değişimi, pH'sı ve bazı süt bileşenlerinin durumu incelenmiştir. Ozon uygulamasıyla, incelenen mikroorganizma gruplarında (Koliform 6.10-4.65; Staphylococcus 4.78-3.78; TMAB 6.08-5.23 log kob/g) ve aflatoxin miktarında (7.10 - <5 ppt) önemli düşüşler, somatik hücre sayısında (827189-2666013) ve laktik asit miktarında ise artış (0.165-0.205) tespit edilmiştir. Tüm bu verilerden yola çıkılarak ozonlama işleminin başarılı bir ön işlem uygulaması olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Isıtma işlemi, koyun sütü, mikrobiyal yük, ozonlama, somatik hücre sayısı.

ABSTRACT**MS THESIS****DETERMINATION OF CHANGES WHICH OCCUR ON
PHYSICOCHEMICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SHEEP MILK
SAMPLES APPLIED OZONE GAS****Ece ÇAKIR****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN FOOD ENGINEERING****Advisor: Assist. Prof. Durmuş SERT****2018, 61 pages****Jury****Prof. Dr. Nihat AKIN****Assoc. Prof. M. Kürşat DEMİR****Assist. Prof. Durmuş SERT**

Milk proceeds by stages from milking to produce. In this process, milk component situation, microbiological load of milk, physical and chemical properties change depending on milk pre-processes and selected preservation method. In this sense, ozonation is one of the alternative preservation methods.

In this study; research of milk physicochemical and chemical properties is aimed through use of ozonation that is preservation method. Ozonation and heat treatment (65°C) are applied to sheep milk samples that in two different temperatures (4-6°C ve 22-25°C). Changing of milk microbiological quality, milk pH and milk component situation are analysed depend on time increment (0, 1, 5, 10, 30, 45 and 60 min). Due to ozone application, important decrement of microorganism groups that investigate (Koliform 6.10-4.65; Staphylococcus 4.78-3.78; TMAB 6.08-5.23 log cfu/g) and aflatoxin quantity (7.10 - <5 ppt), increment of somatic cell numbers (827189-2666013) and lactic acid quantity (0.165-0.205) are determined. Based on all these datas, it is reached to conclusion that ozonation process is used as pre-process successfully.

Keywords: Heat treatment; mikrobiological load; ozonation; sheep milk; somatic cell number.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm: santimetre
cm²: santimetre kare
cp: centipoise
g: gram
J: joule
kJ: kilojoule
kg: kilogram
kHz: kilohertz
kV: kilovolt
log kob: logaritmik koloni oluşturan birim
ml: mililitre
mJ: megajoule
mg: miligram
m³: metre küp
nm: nanometre
MPa: megapaskal
ppm: milyonda bir
ppt: binde bir
s: saniye
W: watt

Kısaltmalar

ACE: Anjiyotensin konverting enzim
AFM1: Aflatoksin M1
CLA: Konjuge Linoleik Asit
COD: Atık Sulardaki Kimyasal Yük
FAO: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GMP: İyi Üretim Uygulamaları
GRAS: Güvenilirlik kriteri
HHP: Yüksek Hidrostatik Basınç
LA: Laktik Asit
LAB: Laktik Asit Bakterileri
PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
SHS: Somatik Hücre Sayısı
TMAB: Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
UV: Ultraviyole
VUA: Vurgulu Elektrik Alan
ΔE : Delta E

İÇİNDEKİLER

<u>TEZ KABUL VE ONAYI</u>	iii
<u>TEZ BİLDİRİMİ</u>	iii
<u>ÖNSÖZ</u>	iii
<u>ÖZET</u>	iv
<u>ABSTRACT</u>	v
<u>SİMGELER VE KISALTMALAR</u>	vi
<u>1.GİRİŞ</u>	1
<u>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</u>	4
<u>2.1. Koyun Sütü ve Besin Değeri</u>	4
2.1.1. Koyun sütünün protein içeriği	4
2.1.2. Koyun sütünün lipid içeriği	4
2.1.3. Koyun sütü ve mineral içeriği.....	5
2.1.4. Koyun sütünün vitamin içeriği	5
2.2. Koyun Sütünün Teknolojik Özellikleri.....	6
2.3. Fonksiyonel Gıda Olarak Koyun Sütü	7
<u>2.4. Sütün Muhafazasında Alternatif Yöntemler</u>	8
2.4.1. Biyokoruma	8
2.4.2. Yüksek Hidrostatik Basınç	9
2.4.3. Ultrasound.....	11
2.4.4. Vurgulu elektrik alan	11
2.4.5. Mikrofiltrasyon	12
2.4.6. Ultraviyole ışınları	13
<u>2.5. Alternatif Yöntemlerden Ozon</u>	14
2.5.1. Ozonla ilgili genel bilgiler	15
2.5.2. Ozon üretimi	17
2.5.3. Ozonun kullanım avantajları.....	18
2.5.4. Koyun sütü ve mikrobiyolojisi	18
2.5.5. Süt işlemede ozon kullanımı.....	21
2.5.5.1. Süt çiftliklerinde ozon kullanımı	21
2.5.5.2. Süt depolama ozon kullanımı	22
2.5.5.3. Süt işletmelerinde biyofilm oluşumuna karşı ozon kullanımı	22
2.5.5.4. Süt işletmelerindeki atık suyun ozonlama işlemi	23
2.5.6. Ozonun gıda gruplarına uygulanışı.....	24
2.5.6.1. Peynir	24
2.5.6.2. Süt tozu	24
2.5.6.3. Et endüstrisi	25
2.5.6.4. Meyve ve sebzeler ile ürünleri	26
2.5.6.5. Tahıl ürünleri	26
<u>3.MATERYAL VE YÖNTEM</u>	27
3.1. Materyal	27
3.2. Yöntem.....	27
<u>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</u>	31

<u>4.1. Koyun Sütlerinin Aflatoksin, Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Seviyesi ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları ve Tartışma</u>	31
<u>4.2. Koyun Sütlerinin % Laktik Asit (% LA) Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma</u>	36
<u>4.3. Koyun Sütlerinin pH Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma.....</u>	41
<u>4.4. Koyun Sütlerinin Somatik Hücre Sayısına (SHS) Ait Sonuçlar ve Tartışma .</u>	43
<u>4.5. Koyun Sütlerinin Delta E (ΔE) değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma.....</u>	45
<u>4.6. Koyun Sütlerinin Viskozite Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma</u>	46
<u>4.7. Koyun Sütlerinin Uniformluk Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma.....</u>	48
<u>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</u>	51
5.1. Sonuçlar	50
5.2. Öneriler	51
<u>KAYNAKLAR</u>	51
<u>ÖZGEÇMİŞ</u>	61



1. GİRİŞ

Gıdaları çeşitlendirmek amacıyla da kullanılan süt sayesinde tarım ürünlerinin de çeşitlenmesine bağlı olarak birçok yeni ürün ortaya çıkmıştır. Başta inek, koyun, keçi gibi süt hayvanlarının yetiştiriciliğinin ilerlemesi ile birlikte süt öne çıkan en önemli gıda maddelerinden biri haline gelmiştir.

Günümüzde, pek çok çeşide sahip süt ürünleri; hayvan türlerinden sağlanan çiğ sütlerden üretilmektedir. Genel olarak bir üretim bölgesinde ağırlıklı olarak tüketilen süt çeşitleri; özelliğine göre uygun ürünlere dönüştürülmektedir. Deve sütünün tüketimi; Kenya, Somali, Etiyopya ve Pakistan gibi ülkelerde olurken; Latin Amerika'da ağırlıklı olarak deve ve lama sütleri kullanılmaktadır. Mus (Amerika Geyiği) sütü genel olarak Rusya ve İsveç'de tüketilirken, Moğolistan'da at sütü; Tibet'te ise yak sütü yaygındır. Bu konuda son çalışmalar; eşek sütünde yapılmıştır. Eşek sütü; besinsel değeri ve besin maddesi kompozisyonu açısından insan sütüne en çok benzeyen süt çeşidi olduğundan ayrıca bir önem arz etmektedir (Akan ve ark., 2014).

Süt, yeni doğan memeli hayvan yavrularının kendini besleme yeterliliğine sahip olana kadar ihtiyacı olan tüm besin maddelerini bir arada bulunduran mükemmel bir sıvıdır.

Türkiye'de gıda standartları şartlarını belirleyen Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ve Türk Gıda Kodeksi de sütü tanımlamıştır. Türk Standartları (TS) 1018 Çiğ Süt standardına göre: Süt; inek, koyun, keçi ve mandaların meme bezlerinden salgılanan, kendine özgü tat ve kıvamda olan, içine başka maddeler karıştırılmamış, içinden herhangi bir maddesi alınmamış, beyaz veya krem renkli sıvıdır (Besler ve ark., 2006). Türk Gıda Kodeksine göre ise: Çiğ süt; bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40 °C'nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır (TGK, 2000:6).

İnsan hayatı için yaşamsal önemi olan bir çok besin maddesini bünyesinde bulunduran süt; beslenme açısından temel gıda maddesi olarak görülmektedir. Bu besin maddeleri; aminoasitler, yağ asitleri, kalsiyum, fosfor ve riboflavin (B2 vitamini), laktoz, kazein, laktoalbumin ve laktoglobülinidir. Bunlar doğada sadece süte özgü bileşenlerdir.

Süt içerisinde bulunan besin öğeleri miktarı ve içeriği bazı faktörlerce etkilenmektedir. Bu faktörlere örnek olarak; mevsim değişikliği, hayvan vücudunda

gözlenen fizyolojik değişkenler ve hayvanın hastalık durumu verilebilir (Walstra ve ark., 1999; Metin, 2001; Altun ve ark., 2002). Sonbahar döneminde protein, yağsız kuru madde ve kül miktarları yüksek iken, ilkbahar döneminde yağın daha yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir (Çubuk, 1997).

Sütler sağıldığı hayvanın adı ile anılmaktadır. Sadece ‘süt’ sözcüğü; temel süt kaynağı olarak kabul edilen inek sütlerini kapsar. Buna ek olarak koyun, keçi, sığır, manda gibi hayvanların sütleri de piyasada karşılaşılan diğer çeşitleridir. Bu kaynaklardan elde edilen sütlerin birbirine benzeyen ve birbirinden farklı özellikleri mevcuttur.

Protein, yağ ve mineral maddeler açısından zengin olan koyun sütünün kurumadde oranı, inek sütünden % 50 oranında daha fazladır. Doğal asitliği de daha yüksektir. Titrasyon asitliği 8-12 SH, yoğunluğu 1.030-1.045 g/ml dir. Kendine özgü ağır tadı ve kokusu olduğundan içme sütü olarak tercih edilmeyen koyun sütünün besin değeri, insan sağlığı için önemli olan protein, yağ, mineral ve vitamin açısından keçi ve inek sütünden daha fazladır. Enerji bakımından karşılığı 5932 kJ/kg gelmektedir (Haenlein, 2001; Kaminarides ve ark., 2007; Park ve ark., 2007; Barłowska ve ark., 2011).

Proteinin % 80’lik kısmını kazein oluşturmasından ötürü koyun sütü ‘kazeinli sütler’ grubuna dahildir. Ayrıca yağ asitleri kompozisyonu inek sütünden farklılık gösteren koyun sütünün, lesitin miktarı ve yağ globül çapı fazla iken, riboflavin miktarı da oldukça yüksektir. Kazein ve yağ oranı yüksek olmasından dolayı da süt ürünlerinden peynir, yoğurt, tereyağı ve kazeinin elde edilmesinde tercih sebebidir.

Besin değerleri açısından ticari boyutta kullanımı olan keçi ve inek sütüne göre içerik durumu Çizelge 1.1’deki gibidir.

Çizelge 1.1. İnek, keçi ve koyun sütü karşılaştırmalı içerikleri

Parametre	İnek	Keçi	Koyun
Nem (g/100g)	87.9 ± 0.5	87.6 ± 0.7	82.9 ± 1.4
Yağ (g/100g)	3.3 ± 0.2	3.8 ± 0.1	5.9 ± 0.3
Kül (g/100g)	0.7 ± 0.0	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Laktoz (g/100g)	4.7 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.8 ± 0.4
Protein (g/100g)	3.4 ± 0.1	3.7 ± 0.1	5.5 ± 1.1
Kazein (g/100g)	3.0 ± 0.1	2.4 ± 0.1	4.7 ± 0.5
As1-kazein (%)	39.7	5.6	6.7
As2-kazein (%)	10.3	19.2	22.8
β-kazein (%)	32.7	54.8	61.6
κ-kazein (%)	11.6	20.4	8.9

(Balthazar ve ark., 2017)

Gıdaların raf ömrünü arttırmak amacıyla yıllar boyunca çeşitli yöntemlere başvurulmuştur. Temelde mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal bozulmalar gıdanın ömrünü belirlemede en etkili rolü oynayan etmenlerdir. Sütün gıda çeşitleri arasında bozulma hızı en yüksek hammaddelerden biri olması sebebiyle, koruma yöntemleri üzerinde birçok araştırma yapılmıştır ve hala da bu süreç devam etmektedir. Klasik koruma yöntemlerinin eksikliğini kapatmak veya zaman, besin ögeleri, maliyet kaybı gibi faktörlerin etkisini en aza indirmek amacıyla alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden süt için uygulananlardan bazıları; biyokoruma, yüksek hidrostatik basınç, ultrasound, vurgulu elektrik alan, mikrofiltrasyon, ultraviyole ışınları ve ozonlamadır.

Projede; ozon gazı uygulanmış olan koyun sütü örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Süt örnekleri ilk olarak 4-6 °C ve 22-25 °C'ye soğutulmuş, sonrasında ozonlama işlemi uygulanmış ve ozonlamaya 65 °C'lik ısı işlem dahil edilerek örneklerin mikroorganizma grupları, aflatoksin ve peroksit miktarı değişimi incelenmiştir. Buna ek olarak koyun sütlerinin ozonlama (0, 1, 5, 10, 30, 45 ve 60 dakika), ozonlama-ısı işlem, 4-6 °C ve 22-25 °C'ye soğutma uygulamaları karşısında, örneklerin % Laktik asit, pH, somatik hücre sayısı, ΔE, viskozite ve uniformluk değerleri değişimi takip edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Koyun Sütü ve Besin Değeri

2.1.1. Koyun sütünün protein içeriği

Sütün besinsel değeri ve teknolojik olarak uygunluğunda önemli rol oynayan en temel bileşeni; süt proteinleridir. Kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerine göre sınıflandırılan süt proteinleri; kazeinler, peyniraltı suyu proteinleri (serum proteinleri) ve iz proteinler olarak üçe ayrılmaktadır.

Yağ globülü membran proteinleri, yağ globüllerinin yüzeyine tutunmuş halde konumlanmışlardır. Sadece mekanik bir dış etkiyle serbest kalan bu membran proteinlerin durumuna yayıkla kremadan tereyağı yapılması örnek verilebilir (Akan ve ark., 2014). Guo ve ark. (2007), serum proteinleri oranının inek sütünde % 0.55-0.70, eşek sütünde % 0.49-0.80 ve at sütünde % 0.7-0.91 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Koyun sütü en yüksek serum proteini (% 1.02) içeren süttür. Ayrıca bünyesinde % 4.18 gibi yüksek bir oranda da kazein barındırmaktadır (Zicarelli, 2004; Guo ve ark., 2007; Khaskheli ve ark., 2005). Ayrıca serin, alanin, histidin, valin ve lisin gibi esansiyel aminoasitleri keçi ve inek sütünden daha fazla bulunduran koyun sütü, yine bu iki süte göre 2 kat daha fazla protein içermektedir. Besin değerinin yüksek olması aynı zamanda hemoglobin üretimini etkileyen prolin içeriğinden de kaynaklanmaktadır (Molik ve ark., 2012).

2.1.2. Koyun sütünün lipid içeriği

Koyun sütü yağı % 11'i kısa ve orta zincirli yağ asidi olmak üzere; yüksek miktarda (75 g/100 g toplam yağ asidinde 65 g) doymuştur. Bütirik asit (C4:0) içeriği bakımından koyun sütü, sığır sütünden büyük farklılık göstermemektedir (Revilla ve ark., 2017). Fakat koyun sütü kaproik (C6:0), kaprilik (C8:0) ve kaprik (C10:0) asit gibi doymuş yağ asitlerini inek sütüne göre daha çok içermektedir. Düşük miktarlarda olan bütirik asit, insanlarda kanser hücrelerinin inhibisyonuna katkıda bulunurken; kaproik, kaprilik ve kaprik asitler vücut ağırlığını ve vücut yağı miktarını düşürmektedir (Rasmussen ve ark., 2010; Foglietta ve ark., 2014).

Koyun sütü yağında bulunan PUFA (oklu doymamış yağ asitleri); genel olarak linoleik (*cis-9, cis-12* C18:2) ve α -linolenik (*cis-9, cis-12, cis-15* C18:3) asitler ile bunların az miktarda izomerlerinden oluşmaktadır (Recio ve ark., 2009). Koyun sütünde bulunan tekli ve çoklu yağ asitleri, aterojenik ve trombojenik indeksleri sayesinde kardioveskler hastalıkların engellenmesine katkıda bulunmaktadırlar (Balthazar ve ark., 2016).

Geviş getiren memeliler arasında koyunların süt yağı; konjuge linoleik asidi ve elaidik asidi en fazla bulunduran yağ olma özelliğine sahiptir (0.65 g CLA/100 g yağ asidi) (Revilla ve ark., 2017).

2.1.3. Koyun sütü ve mineral içeriği

Koyun sütü ayrıca mineral açısından zengin bir kaynaktır. Kalsiyum, fosfor, magnezyum, çinko, manganez ve bakır miktarı inek sütüne kıyasla yüksek iken, potasyum ve sodyum miktarı daha azdır (Park ve ark., 2007; Wijesinha-Bettoni ve Burlingame; 2013). Koyun sütünde, özellikle bebekler için son derece elzem olan ve büyüme, kemik gelişimi için temel elementlerden olan kalsiyum ve fosfor bol miktarda bulunmaktadır (Al-Wabel, 2008).

Süt sindirimi esnasında; kalsiyum kazeine bağlandığından (Gueguen ve Pointillart, 2000); koyun sütündeki kalsiyumun biyoyararlılığı ile kazein miktarının fazla olması arasında kuvvetli bir bağ bulunmaktadır (Gaucheron, 2005).

2.1.4. Koyun sütünün vitamin içeriği

Koyun sütünün vitamin miktarı inek ve keçi sütüne göre çok daha fazladır. İstisnai olarak karoten ve folik asit miktarı daha düşük iken; pantotenik asit ve D vitamini miktarı inek sütündeki miktarlarla aynıdır (Park ve ark., 2007; Wijesinha-Bettoni ve Burlingame, 2013). Riboflavin miktarı keçi, inek ve bufalo sütünde eşit miktarlarda iken; koyun sütünde yüksektir. Ayrıca koyun sütü, C vitamini kaynağı (ortalama 4.6 mg/100 g) olarak da düşünülebilmektedir (Wijesinha-Bettoni ve Burlingame, 2013). 2 bardak koyun yoğurdu veya 90 g koyun peynirindeki süt eşdeğeri, günlük C vitamini ihtiyaını karşılamaktadır (Recio ve ark., 2009). Ek olarak koyun sütü yağı iyi bir A vitamini ve E vitamini kaynağıdır.

2.2. Koyun Sütünün Teknolojik Özellikleri

Dünyada üretilen süt çeşitlerinin büyük bir miktarı genellikle çeşitli teknolojik yöntemler sayesinde farklı ürünlere işlenmektedir.

Günümüzde dünya süt üretiminde kullanılan hayvanlar inek, manda, keçi, koyun ve devedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2010 yılı istatistik verilerine göre 2009 yılında toplam süt üretiminin 696.6 milyon ton olduğu bilinmektedir. Bu sütün ise % 83.3'ünün (580.5 milyon ton) inek, % 13'ünün (90.3 milyon ton) manda, % 2.2'sinin (15.1 milyon ton) keçi, % 1.3'ünün (9 milyon ton) koyun, % 0.2'sinin (1.6 milyon ton) ise deve sütünün temsil ettiği belirlenmiştir (Akan ve ark., 2014).

Genel olarak süt içerisinde yer alan proteinin miktarı sütün teknolojik yönden uygunluğunu belirlemektedir. Moatsou ve ark. (2004)'nın yaptığı bir çalışmada; peynir yapımında; koyun sütünde kazein başına düşen protein, yağ ve kalsiyumun yoğunluğunun yüksek olmasının oldukça önemli olduğu bulunmuştur. Koyun sütü proteinleri; ağırlıklı olarak ısıya dirençli kazeinden ve ısıya hassas peynir altı suyu proteinlerinden oluşmaktadır. Bu proteinler; yoğurdun yapısından ve viskozitesinden sorumlu olmakla birlikte koyun sütüne benzersiz bir özellik katar. Bu özellikler; sütün süt tozu gibi kıvam vericiler eklenmeden kolayca yoğurt veya peynir haline gelebilmesini sağlar (Tamime ve ark., 2011).

Sütteki kazein; kolloidal partikül ve misel formundaki kalsiyum fosfata bağlanır. Miseller farklı hayvan türlerindeki sütlerden farklı misel boyutları ile karakterize edilir (Bornaz ve ark., 2009). Koyun sütünün misel çapının (180 nm); deve sütü ile inek sütü misellerinin çap boyutu arasında yer aldığı bulunmuştur (Akan ve ark., 2014).

Koyun peyniri ve yoğurdunun bir çok çeşidinin, çoğunlukla β - kazeinden türemiş anjiyotensin konverting enzim (ACE) inhibe eden peptitlerin kaynağı olduğu belirtilmektedir (Papadimitriou ve ark., 2007; Meira ve ark., 2012). Politis ve Theodoru (2016); koyun ve inek sütünden yapılmış yoğurdun yüksek bağışıklık durumunu ve ACE inhibisyonu aktivitelerini araştırmışlardır. Araştırmalar sonunda koyun sütünün; ACE'yi, inhibe etme kabiliyetinde olan peptitlerin oluşumunu sağlayan proteoliz için daha uygun olduğu bulunmuştur.

Koyun sütü, küçük yağ globüllerinin süt içinde dağılmış halde bulunmasından dolayı tatlı bir aromaya ve kremi yapıya sahiptir. Yağ globüllerinin ebatının küçük olması, sütün kolayca sindirebilmesi avantajını sağlar (Park ve ark., 2007). Koyun sütü için kullanılan, 'koyunumsu' olarak adlandırılan farklı aroma; muhtevadaki serbest

yağ asidi miktarından kaynaklanmaktadır (Chandan ve ark., 1992). Bu aroma kendini, katı yağ ve peynir gibi tüm koyun sütü türevlerinde göstermektedir (Jooyandeh ve Aberoumand, 2010).

Güney Afrika'da koyun sütü ürünleri geleneksel olarak; çiğ süt kullanılan ürünler arası farklılığı sağlayan kültür ilavesi olmadan elde edilmektedir. Çiğ süt tüketimi, süt içinde gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların veya patojenik mikroorganizmaların bulunma olasılığından dolayı, tüketiciler için oldukça riskli olmaktadır (Hickey ve ark., 2015). Bu sebepten Güney Afrika'da çiğ süt ve süt ürünleri tüketimi gıda kaynaklı hastalıklara sebep olabileceğinden dolayı istenmemektedir.

2.3. Fonksiyonel Gıda Olarak Koyun Sütü

Koyun sütüne eklenebilecek prebiyotik bileşenlerle ilgili yapılan çalışmalar, ticari olarak keşfedilen büyük bir potansiyel olduğunu ortaya koymaktadır. Koyun sütünün yüksek yağ miktarı, ürün formülasyonunda prebiyotik inülin ile yer değişebilmektedir. Dolayısıyla ürünün akışkan yapısını korunarak, fonksiyonel ve teknolojik bir nitelik kazandırılmaktadır. İnülin dünya çapında kullanılan bir yağ ikamesidir. Ek olarak, süt ürünlerindeki bu yağ ikamesi inülin, ürüne daha iyi bir ağız hissiyatı katkısında bulunmaktadır (Meyer ve ark., 2011; Karimi ve ark., 2015). İnülin süt ürününe düşük konsantrasyonlarda eklendiğinde, nötr ya da tatlımsı tada sahip olmasından dolayı, ürünün reolojik özellikleri ve duyu kalitesi etkilenmez fakat viskozite az miktarda da olsa etkilenmektedir (Franck, 2002; Kalyani Nair ve ark., 2010).

Koyun sütü endüstrisinde probiyotik bakteri kullanımıyla ilgili olarak; koyun sütündeki yüksek protein ve yağ miktarı; daha yoğun kıvamda dondurma ve peynir üretimine olanak sağlamaktadır. Bu sayede probiyotik bakteriler sindirim sistemi kısmından daha etkili bir şekilde korunarak geçmekte ve oksijen geçirgenliğini düşürmesinden dolayı ticari olarak ürüne daha etkili bir depolama süresi sağlamaktadır. Yüksek protein miktarı, fermente süt üretimi için uygun bir karakteristik özelliktir. Bunun nedeni yüksek protein miktarının-üretim prosesine direk etki etmeden-fermantasyon süresinin azalmasına sebep olan mikrobiyal gelişme için uygun bir seviyede olmasıdır (Balthazar ve ark., 2017).

Koyun sütü ürünlerinde probiyotik kültürlerin uygunluğu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. İnek sütüne kıyasla daha fazla *Bifidobacterium longum* popülasyonu ile muamele edilen koyun sütünde özellikle fermentasyonun ilk 8-12 haftası asitlik artışı daha hızlı olmuştur (Kehagias ve ark., 2008). Sonuçlar; koyun sütünün peptitler gibi

yüksek tamponlama kapasitesine sahip olan faktörler içerdiğini ortaya koymaktadır (Balthazar ve ark., 2017).

Probiyotik mikroorganizma ilavesinin etkileri ve özellikle de koyun peyniri, yoğurdu, dondurmaları gibi koyun sütü ürünlerindeki prebiyotik bileşenler ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Gün geçtikçe artan gıda çeşitliliği ile birlikte, tüketicilerin ilgisinin de doğal ve sağlıklı gıdalara kayması artış göstermektedir. Bu nedenle hiçbir işlem görmemiş veya çok az işlem görmüş, kimyasal koruyucu içermeyen gıdalara olan talep artmıştır. Bu talebe paralel olarak normalde koruyucu, dezenfektan veya ısıl işlem teknikleri kullanılarak güvenli gıda elde edilen gıda proseslerinde yenilikler aranması hız kazanmıştır.

2.4. Sütün Muhafazasında Alternatif Yöntemler

2.4.1. Biyokoruma

Biyokoruma, gıdaların üretim maliyetlerinin düşürülmesi, artan tüketici talepleri doğrultusunda yüksek besin değerine sahip ürünlerin üretimi ve gıdaların bozulması sebebiyle oluşan ekonomik kayıpların azaltılması için uygulanan önemli bir tekniktir. Mikrobiyal patojenlerin gıda zincirine bulaşmasının engellenmesini sağlayan biyoprezervasyon olarak da bilinen bu yöntem; uzun raf ömürlü ve gıda güvenliği seviyesinin arttırıldığı ürünlerin elde edilmesi amacıyla, gerek mikroorganizmaların, gerekse mikroorganizmalar tarafından üretilen metabolitlerin kullanılması anlamına gelmektedir (Köseoğlu, 2007).

Bu amaçla en yaygın kullanılan mikroorganizma grubu laktik asit bakterileridir (LAB). Genel olarak ısıya karşı dirençli olan bu bakteriler, doğal protein yapısında olmaları, toksik bir etki yaratmamaları, ökaryotik hücrelere karşı inaktif olmalarından ötürü; süt ve süt ürünlerinde gıda koruyucusu olarak tercih edilmektedir. LAB; geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarından yalnızca birçok Gram (+) bakteri üzerinde etkili olmamakta, aynı zamanda *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, ve *Salmonella* gibi patojen olan bazı Gram (-) bakterilere de zarar verebilmektedir (Özcan ve Aran, 2003). Bu inhibisyonu metabolitlerden biri olan CO₂ sayesinde sağlamaktadırlar. CO₂ ortamı anaerobik bir ortam haline getirerek, hücre içi/dışı pH değerini ve hücre zarının elektriksel potansiyelini düşürmektedir.

LAB tarafından üretilen antimikrobiyal peptitler olan bakteriyosinlerden olan nisin ve pediyosinin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Bu peptit bileşikler, süt

ürünlerinde bozulmayı önlemekte, kombine şekilde kullanıldığında ürünlerin raf ömrünü uzatmaktadır. Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada nisin ile darbeli elektrik alan uygulamasının neticesinde, sütte *S.aureus*, *L. innocua* bakterileri ve *B. cereus* vejetatif hücrelerinin inaktivasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Galvez ve ark., 2007).

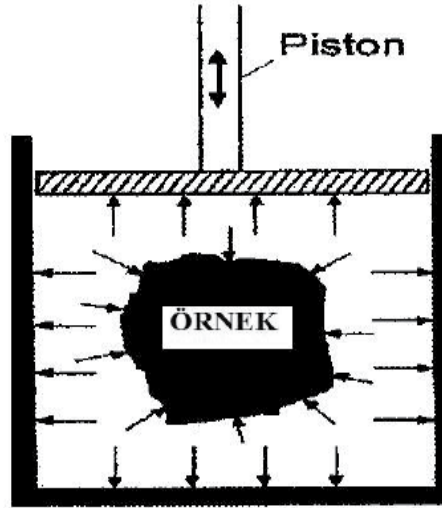
Bir diğer biyokoruyucu örneği olan laktoperoksidaz; *Salmonella*'nın bazı türleri ve *E. coli* dahil gram negatif bakterileri inhibe edebilmekte ayrıca gram pozitif bakterilere karşı bakteriyostatik etki göstermektedir (Temiz ve ark., 2008).

Son yıllarda farklı gıda koruma teknolojilerini geliştirmek amacıyla biyokoruma yönteminin kullanımı ile ilgili farklı çalışmalar yapılmakta ve özellikle bu teknolojinin modifiye atmosfer paketlenme gibi farklı tekniklerle birlikte kullanımı yeni uygulama imkanları yaratmaktadır.

2.4.2. Yüksek hidrostatik basınç

Geleneksel ısı işlem uygulaması; süt içinde ısıya karşı dayanıksız olan bir çok besin maddesinin besinsel kalitesini düşürmektedir. Bu sebepten ötürü geliştirilen ısı olmayan tekniklerden biri de yüksek hidrostatik basınç uygulamasıdır. Üzerinde en çok çalışılan alternatif metot olan yüksek hidrostatik basıncın (HHP) ilk uygulamaları 19. yüzyılın sonlarına doğru sütte gerçekleştirilmiştir (Arıcı, 2006). Uygulanan basınç aralığı 100-1000 MPa aralığındadır. Le Chatelier prensibine göre çalışan bir inaktivasyon mekanizmasına sahip olan bu işlemde 400-600 MPa basınç aralığında gıda kaynaklı patojenler de dahil olmak üzere bir çok mikroorganizma inaktive olmaktadır. 800 MPa basınç ise tüm enzimlerin inaktive olması için yeterli gelmektedir (Liepa ve ark., 2016).

Şekil 2.1. HHP prensibinin şematik gösterimi



(Hinrichs ve ark., 1996)

Yüksek basınçla inaktivasyon; hücre zarında meydana gelen değişikliklerden, basıncın hücre içindeki ve metabolizma ile genetik mekanizma üzerindeki etkilerden kaynaklanmaktadır. Arıcı, (2006); UHT sütte 50°C’de 15 dakika boyunca 400 MPa’lık basıncın *E.coli* sayısını yaklaşık 5 logaritmik birim düzeyinde azalttığını; aynı süre ve sıcaklıkta 500 MPa’lık bir uygulamanın da *S. aureus* sayısını yaklaşık 6 logaritmik birim azalttığını belirtmiştir.

Gıdanın kalite özelliklerini geliştirmek için katılmış olan katkı maddelerinin fonksiyonel ve besinsel değerlerini daha iyi muhafazasını sağlamakta ve uygulama daha az enerjiyle gerçekleştiğinden işletmeye tasarruf ettirmektedir.

Süt ve ürünlerinde bulunan vitaminler, aminoasitler, basit şekerler ve tat bileşenleri yüksek basınç uygulaması sonrasında etkilenmeden kalabilirler (Chawla, Patil, ve Singh, 2011). Fakat kazein misellerinin boyutu küçülmekte, peynir altı suyu proteinleri denatüre olmakta ve serbest yağ asitleri miktarı artmaktadır. Bu değişimler, süt endüstrisinde yüksek besin değerine sahip, duyu kalitesi artmış ve raf ömrü uzamış ürünlerin elde edilmesi için daha fazla çalışma gerektirdiğini ortaya koymaktadır (Liepa ve ark., 2016).

2.4.3. Ultrasound

Isıl olmayan bir uygulama olan ultrasound; sütün pastörizasyon işlemine alternatif bir yöntem olarak sunulmaktadır. Ultrasound ekipmanları 20 kHz ile 100 kHz arasındaki frekanslarda kavitasyon yaratan güçlü ultrasound oluşturmaktadırlar (Piyasena ve ark., 2003). Ultrasound ise çok hızlı bir şekilde, basınç ve sıcaklıkta lokal bir değişim, kavitasyon, hücre membranında incelleme ve mikroorganizmalar üzerinde öldürücü etkiye neden olan lokal ısınma ve serbest radikal oluşumunu sağlamaktadır (Felows, 2000).

Ordoñez ve ark. (1984); 5 ile 62 °C arasında değişen sıcaklıklarda 20 kHz/160 W'lık bir uygulamada *Streptococcus faecium* ve *Streptococcus durans* inaktivasyonu incelemişlerdir. Ultrasonun sıcaklık ile beraber uygulanmasının çok daha etkili olduğu görülmüştür (1 logaritmik birim daha fazla azaltma etkisi).

10 dakika ultrasound uygulaması sonucu *E.coli* hücrelerinin sayısında % 100 düşüş gözlemlenmiştir. Aynı şekilde 6 dakika uygulanma sonucu *Pseudomonas fluorescens* sayısında % 100, 10 dakika uygulama sonucunda *Listeria monocytogenes* sayısında % 99 oranında düşüş gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda ultrasound işleminin çiğ ve pastörize sütte protein veya laktoz miktarlarında azalmaya neden olmadığı, aksine yağ konsantrasyonunda artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca süt endüstrisinde etkili bir ısıl işlem göstergesi olarak kullanılan alkalın fosfataz ve laktoperoksidaz enzimlerinin inaktivasyonunda yetersiz olduğu bulunmuştur (Cameron ve ark. 2009).

Başka bir çalışmada yüksek basınç ve ısıl işlemlerle kombine edilmiş ultrasound uygulamasının, *L. monocytogenes* üzerine etkili olduğu belirtilmektedir (Bayraktaroğlu ve Obuz, 2006).

2.4.4. Vurgulu elektrik alan

Vurgulu elektrik alan teknolojisinde prensip; kısa süre (genellikle 2-300 ms) ve yüksek elektriksel alan uygulamasıdır. İki elektrot arasına konulan gıdaya 20-80 kV/cm² arası yüksek voltaj uygulanmasıyla oluşan elektrik alan, hücre membranı boyunca "transmembran potansiyel" olarak adlandırılan bir elektrik potansiyel farkı oluşturur. Bu fark kritik bir değere ulaştığında, por oluşumu veya elektroporasyon başlar ve

geçirgenlik artar. Hücre zarındaki bu yapısal ve fonksiyonel değişimler sonucu, mikroorganizma ölümü gerçekleşir (Coimbra ve Teixeira, 2010).

Sampedro ve ark. (2015) vurgulu elektrik alan işlemi (VUA) ile sıcaklığın mikroorganizma inaktivasyonu üzerine sinerjistik etkisini incelemiştir. VUA işlemi ile sütteki mikrofloranın, yüksek sıcaklık ve kısa süre uygulanan pastörizasyon işlemine benzer olarak düştüğü tespit edilmiştir. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada, iki metodun kombinasyonu ile elde edilen sütlerin kalitelerinde herhangi bir değişim olmadan raf ömürlerinin 4 haftadan daha uzun sürelere uzatılabildiğini tespit etmişlerdir (Sepulveda ve ark., 2003). Michalac ve ark. (2003)'da aynı şekilde VUA yöntemi uygulanan tam süt ve yağsız sütte bulunan mikroorganizmalarda 3 ila 6 logaritmik birimlik azalma tespit etmişlerdir.

Süt ürünlerinde VUA işleminin etkisi ile ilgili çalışmalarda söz konusu ürünler genellikle yağsız süt, tam süt ve yoğurt olmuştur. Genellikle bu yöntem karşısında mayalar, bakterilerden daha dayanıksızken, gram pozitif bakteriler de gram negatif bakterilere göre daha fazla direnç göstermektedirler (Devlieghere ve ark., 2004). Castro ve ark. (2001) üç farklı yağ oranına sahip süt çeşitlerinde VUA uygulaması sonucu alkali fosfataz inaktivasyonunu araştırmışlardır. 18.8 kV/cm elektrik alan kuvvetinde ve 70 vurgu sayısında alkali fosfataz miktarında yağsız sütte % 65'in üzerinde azalma tespit edilirken, % 2 yağlı sütte ve tam yağlı sütte % 59 düzeyinde azalma tespit etmişlerdir. Buna ek olarak peroksidaz, lipaz ve proteazin inaktivasyonu üzerinde de bazı çalışmalar yapılmıştır.

Qin ve ark. (1995) VUA işlemine maruz bırakılmış sütlerin; fiziksel ya da kimyasal özellikleri ve duyuşsal karakteristikleri etkilenmeden, buzdolabı koşullarında iki haftadan daha uzun süre muhafaza edilebileceğini belirtmişlerdir.

2.4.5. Mikrofiltrasyon

Membran ayırma tekniklerinden biri olan mikrofiltrasyon, özellikle süt sanayinde olmak üzere, bakteriyolojik kaynaklı problemlerden dolayı ısıl işlemin başta proteinler olmak üzere çeşitli bileşenler üzerindeki olumsuz etkisini önleyebilmek için kullanılan alternatif bir yöntemdir. Mikrofiltrasyon, sıvı içinde farklı boyutlardaki maddelerin geçişine izin verir. Süt endüstrisinde mikrofiltrasyon; somatik hücre, kazein miselleri gibi kolloidal partiküller, serum protein agregatları ve süt yağ globülleri, bakteri ve diğer mikroorganizmaların ayırımında kullanılmaktadır (Yetişmeyen ve Yıldız, 2006).

Süte uygulanan mikrofiltrasyon tekniği, ona çiđ sütün mevcut tadını bozmadan, raf ömrünün 3-5 kat daha uzamasını sağlamaktadır. Bu teknik ile süttten patojenik bakterileri, bunların sporlarını, somatik hücreleri ayırmak mümkündür (Drgalić ve Tratnik, 2004).

Süt içinde bulunan birçok mikroorganizma ısıll işlem ile öldürölse bile ölü hücreler potansiyel olarak aktif enzimleriyle birlikte süt içinde kalabilmektedir. Bu durum depolama sırasında farklı sorunlarla ortaya çıkmakta ve bunun sonucunda raf ömrünün azalmasında neden olmaktadır (Saboya ve ark., 2000).

Yapılan bir çalışmada gözenek çapı 0.2 µm olan membranlardan *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* ve *Candida famata* mikroorganizma türlerini içeren (yaklaşık 108 adet/ml) süspansiyon, mikrofiltrasyonu sonucu bu organizmaların geri tutulduğu belirlenmiştir. Yetişmeyen ve Yıldız, (2006)'ın çalışmasında, pastörizasyonla (72 °C/15 sn) % 98 oranında bakteri konsantrasyonu düşüşü sağlanırken, mikrofiltrasyon ile bu oranın % 99.9 düzeyinde yer aldığını belirtmişlerdir.

Yine mikrofiltrasyon sayesinde, sütteki toplam bakterinin ve *Bacillus cereus* sporlarının % 99 ve üzeri oranlarda, laktatı fermente eden bakteri sporlarının ise % 98.40'den fazlasının tutulduğu belirlenmiştir (Özcan ve Kurtuldu, 2011).

2.4.6. Ultraviyole ışınları

Ultraviyole (UV) radyasyon görünür ışıktan kısa, X-ışımından uzun dalga boyuna sahip (yaklaşık 10-400 nm) bir elektromanyetik radyasyondur. UV radyasyon, dalga boyuna göre; yakın-UV (380-200 nm) ve uzak-UV (200-10 nm) olarak ikiye ayrılabilir. UV radyasyon kısa dalga boyu ve yüksek enerjisi nedeniyle her çeşit mikroorganizmayı öldürebilir (Özkütük, 2005).

Hüresel DNA'lar tarafından absorbe edilen UV radyasyon enerjisi, bitişik timin bazları arasında kimyasal kovalent bağları oluşturarak hüresel UV hasarının başlıca mekanizmasını oluşturan timin dimerleri meydana getirir. Hücre bölünmesi öncesi kromozom replikasyonu bozular; genlerin transkripsiyonu ve ekspresyonu yapılamaz. Mikrobiyal inaktivasyonun gerçekleşmesi için gıdanın en az 0,04 J/cm² enerjiye maruz kalması gerekmektedir (Özkütük, 2005).

UV dezenfeksiyon methodu, alternatif metotlar arasında bir çok avantaja sahiptir. Kimyasal biyositlerden farklı olarak, UV toksin ya da kalıntı bırakmaz ve kimyasal kompozisyon, tat, koku ve pH'da değişikliğe neden olmamaktadır. Bu hususlar süt

endüstrisi için özellikle önem taşımaktadır. Çünkü prosese giren suyun kimyasal dozajı ürünün kimyasal özelliklerini ve tat unsurlarını etkilemektedir (Bhattacharya, 2014).

Özellikle süt endüstrisinde büyük önem arz eden aflatoksinlerle ilgili yapılan çalışmalarda, aflatoksinlerin süt ve ürünlerine kontamine olduklarında 250 °C’de ancak parçalanabildikleri belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise; aflatoksinlerin çok düşük veya yüksek pH’lar (<3 ve >10), okside edici ajanlar, oksijen varlığı ve UV ışığı gibi etkenlerde hızla aktivasyonlarını yitirdikleri bildirilmektedir (Kavas ve ark., 2012).

Ultraviyole uygulamasının sütün mikrobiyal kalitesine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 5 farklı hayvandan elde edilen süt örneğine pastörizasyon ve ultraviyole (UV) işlemi uygulanmıştır. Bu süt örneklerinde; toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform, *E. coli*, maya-küf, *Streptococcus spp.* ve *Lactobacillus spp.* sayımları gerçekleştirilmiştir. Süt örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri ve koliform popülasyonu üzerine UV uygulamasının önemli düzeyde azalmaya sebep olduğu ve UV işleminin, pastörizasyon işlemi kadar etkili olduğu belirtilmiştir. Ancak UV uygulamasının maya-küf ve *Streptococcus spp.* üzerine etkisinin oldukça düşük olduğu belirlenmiştir (Engin ve ark., 2009).

Matak ve ark. (2007), UV işlemi sonrası keçi sütünde meydana gelen duyuşal ve kimyasal değişimleri incelemişlerdir. 15.8 ± 1.6 mJ/cm² UV dozunun uygulanmasının ardından sütte acit derecesinin arttığı tespit edilmiştir. Fakat bu değişim süt kokusunda herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır.

Matak (2004)’ın yine keçi sütü ile ilgili yaptığı bir çalışmada mikrobiyal değişim incelenmiştir. Uygulama sonucunda keçi sütünde bulunan *E.coli* miktarında 5 logaritmik birimlik bir azalma tespit edilmiştir.

2.5. Alternatif Yöntemlerden Ozon

Dezenfektan kullanımı ile ilgili olarak araştırmalar, çevre dostu ve gıda prosesleriyle uyumlu, kullanımı sırasında sağlık açısından zararlı kalıntı bırakmayan, patojen mücadelesinde sporlar da dahil geniş bir etkiye sahip olan etkin maddelere yönelmiştir (Karaca ve Velioğlu, 2007). İhtiyaç duyulan bu özelliklerden ötürü, güçlü bakterisidal ve viral etkiye sahip olduğu bilinen ozon ile ilgili araştırmalara son yıllarda önem verilmiştir.

2.5.1. Ozonla ilgili genel bilgiler

Ozon ismi, Yunanca "tanrının nefesi" anlamına gelen 'ozein' sözcüğünden türetilmiştir (Kutlubay, 2010; Çağlaroğlu, 2011). 1840'ta Schonbein tarafından keşfedilen ozon; 1900'lü yılların başında ilk olarak antimikrobiyal ajan görevinde içilebilir su üretiminde kullanılmaya başlanmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç dairesi (FDA) tarafından 1982 yılında güvenilirlik kriteri olan (GRAS) statüsü kazanan ozon 2001 yılından bu yana "gıdalarla doğrudan temasında sakınca olmadığı" yönündeki kararlar gıda sanayinde hızlı bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak şişelenmiş suyun dezenfeksiyonunda kullanılmıştır (Çatal ve İbanoğlu, 2010).

Ozon, florinden sonra yaygın olarak kullanılan ikinci güçlü oksitleyici ajandır (Guzel-Seydim, 2004). Buna ilaveten, gıda sanayisinde *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* gibi gram pozitif bakteriler kadar *Yersinia enterocolitica* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif mikroorganizmalar üzerine de değişen seviyelerde etkili olmaktadır.

Ticari kullanımda tek doğal dezenfektan olan ozon; gaz haldeyken mavi, sıvı ve katı haldeyken mavi-siyah renktedir (Çatal ve İbanoğlu, 2010). Normal sıcaklık ve basınç altında oldukça kararsız bir gaz olan ozon, suda kısmen çözünürdür, keskin bir kokuya sahiptir (Mahapatra, 2005).

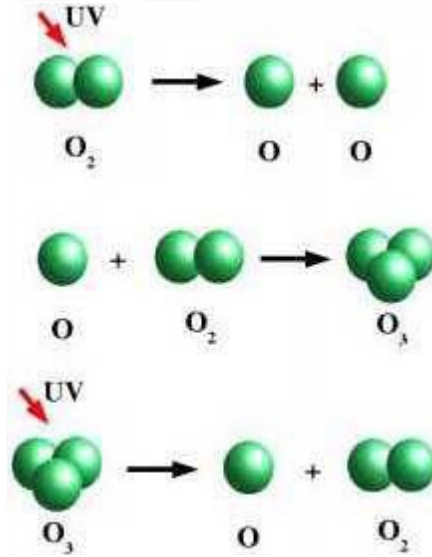
Oda sıcaklığında renksiz, keskin kokulu bir gaz olan ozon (O_3); havadaki oksijen molekülünün (O_2) yüksek bir enerji etkisi ile atomlarına ayrışması ve bu kararsız atomların bir başka oksijen molekülü ile hızla birleşmesi sonucu Şekil 2.2'deki gibi oluşmaktadır.

Çizelge 2.1. Saf ozonun bazı özellikleri

Özellik	Ozon
Formülü	O ₃
Molekül Ağırlığı	48
Renk	-146 °C açık mavi sıvı halde -220 °C koyu mavi kristal halde
Koku	0,02 ppm'de sonra keskin koku
Sudaki çözünürlük (0°C)	0.64
Yoğunluk (g/L)	2.144
Kaynama noktası	-111.3°C
Yanıcılık	Yanıcı değil ancak yanma olayını kuvvetle destekler.
Kritik sıcaklık	-12.1°C
Kritik konsantrasyon	0.240 mg/m ³ (havada)

Anonim, 2017a

Şekil 2.2. Ozonun kimyasal oluşumu

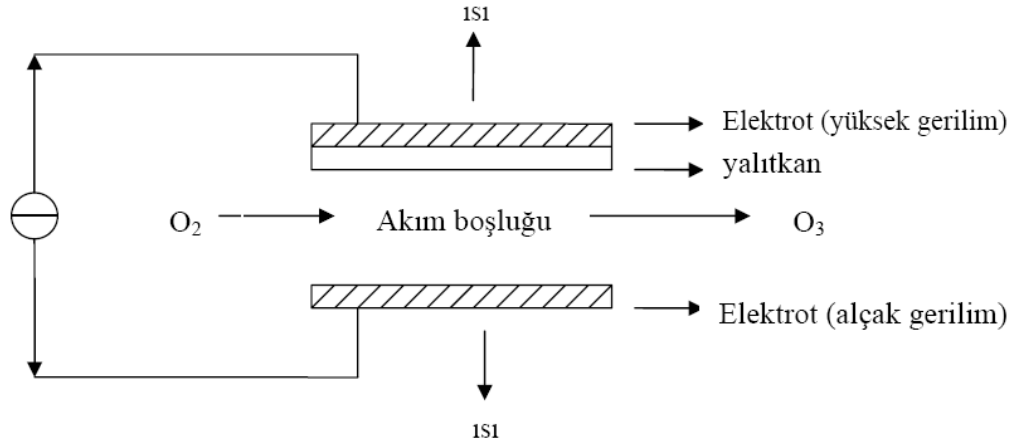


Karaca, 2006; Sevilgen, 2009

2.5.2. Ozon üretimi

Gıda endüstrisinde kullanılmakta olan ozonun yapay olarak üretimi mümkündür. Ozon, yüksek iletkenliğe sahip UV lambanın 185 nm’de yaydığı radyasyona, havadaki oksijenin maruz bırakılmasıyla 0.03 ppm gibi düşük konsantrasyonlarda üretilmektedir (Kim ve ark., 1999; Sevilgen, 2009). Ticari olarak ozon; korona akım metodu ile üretilmektedir. Bu metot , oksijen moleküllerinin (O_2) elektrik akımından geçirilmesi yoluyla gerçekleştirilmektedir (Ekici ve ark.,2006; Rice ve ark, 1981). Korona akım metodu kullanılarak kuvvetli bir elektriksel alandan oksijence zengin bir gaz geçirilmekte, bunun sonucunda yüksek konsantrasyon ve miktarda ozon elde edilmektedir. Üretim esnasında yoğun enerjiden ötürü oluşan kararsız oksijen atomları diğer oksijen molekülleriyle birleşerek üç oksijen atomlu ozon molekülünü oluşturmaktadır . Bu metot sayesinde yüksek miktarlarda ozon üretimi mümkündür. Aynı zamanda diğer ozon üretim yöntemlerine göre daha ekonomiktir (Sevilgen, 2009; Anık, 2007). Korona akım metodu şeması Şekil 2.3’deki gibidir.

Şekil 2.3. Korona akım metodu şeması



Ekici ve ark., 2006; Rice ve ark, 1981

Ozonun oksidasyon reaksiyonu başladıktan sonra, ortam sıcaklık ve nemine bağlı olarak 0,5-1 saat içerisinde ozon molekülleri bilinen iki atomlu oksijene dönüşmeye başlamaktadır. Bu da diğer dezenfektan maddelerin aksine atık madde ve yan ürün oluşturma riski taşımadığı anlamına gelmektedir (Çağlaroğlu, 2011; Boci, 2004). Ozon

hücre zarları, hücre duvarları, sitoplazma, endospor katmanları, virüs kapsülleri ve virüs kabuklarında bulunan çeşitli bileşenler üzerinde etkilidir (Khadre, 2001; Patil ve Bourke, 2012).

Ozon; antimikrobiyal etkisini mikroorganizmaların genetik materyallerine zarar vererek göstermektedir. *E.coli* DNA'sı ile yapılan çalışmada timin ozona karşı sitozin ve urasile göre daha hassas olduğundan ozonlama işlemi ile pirimidin bazları değiştirilmiştir (Prat ve ark., 1968; Scot, 1975). Ayrıca ozonun mikroorganizmanın hücre membranında glikoproteinleri ve lipoproteinleri okside ettiği belirtilmektedir. Hücre membranı ve enzim sistemi üzerindeki bu etkinin ozonun mikroorganizmalar üzerindeki etkisini açıkladığı bildirilmektedir (Kim ve ark., 1999). Buna ek olarak ozon, doymamış yağ asitlerinin çift bağlarına karşı da çok etkilidir (Guzel-Seydim, 2004).

2.5.3. Ozonun kullanım avantajları

Ozonun molekül hali veya hidroksil radikal gibi ozon ürünleri; herhangi bir kalıntı bırakmaksızın mikroorganizmaları hızlı bir şekilde inaktive edebilmektedir (Mahapatra ve ark., 2005). Bu sebepten dünyanın bir çok bölgesinde ozonosyon uygulaması gıda endüstrisinde çevreyle dost teknoloji olarak geniş çapta kabul görmüş bir uygulama olmuştur (Pascual ve ark., 2007; O'Donnell ve ark., 2012)

Gıda işlemede ozon kullanımının diğer bir avantajı; ozonun istenildiği zaman mevcut yerde üretilebilmesidir. Ve geleneksel kimyasal koruyucuların aksine ne taşımaya ne de depolamaya ihtiyaç duymaktadır (Khadre ve ark., 2001; Pascual ve ark., 2007). Ek olarak ozonosyon sisteminin işletme masrafı, sadece kısıtlı bir miktarda elektrik tükettiğinden dolayı oldukça düşüktür (Pascual ve ark., 2007).

Ozon, mikrobiyal yükü, toksik olan organik bileşiklerin miktarını, kimyasal oksijen ihtiyacını ve çevrede ihtiyaç duyulan biyolojik oksijen miktarını düşürür (Hortvath ve ark., 1985). Yüksek oksidasyon gücü ve kendi kendine çözünmesi de ozonu, gıdaların mikrobiyal açıdan güvenliğini ve kalitesini sağlamada uygun bir dezenfektan yapmaktadır. Ek olarak ozon gazı bazı tarım ürünlerinden kalan ilaç kalıntıları ve mikotoksinlerin etkisizleştirilmesinde ve ortadan kaldırılmasında kullanılan yararlı bir gazdır (Kim ve ark., 1999).

Ozon, suda kullanımında; sudaki rengi, kötü tadı ve kokuyu yok etmekte, dezenfeksiyon işleminden sonra sudaki oksijen miktarını arttırmaktadır. Mangani ve demiri yükseltgeyerek ortamdan uzaklaştırmaktadır. Ek olarak ham su üzerinde ön ozonlama ve/veya dahili ozonlama daha sonra kullanılacak klor ihtiyacını

azaltmaktadır. Ozon kararlı klor bileşikleri oluşmasını sağlamakta ve kalsiyum karbonatın tortu oluşturmasını önlemektedir. Ozon kullanımı suyun pH'sında değişime neden olmaz. Vücutta solunum yolları, saç, göz ve deride tahribat oluşturmaz (Guzel-Seydim, 2004; Uzun, 2011; Jurado ve ark., 2012).

Ozonun tüm bu sağlayacağı avantajları yanında, bazı dezavantajları da vardır. Yeşil sebzeler, et gibi gıdalarda yüzey oksidasyonuna ve B1 vitamini ile askorbik asit miktarında düşüşe neden olabilir. Yağ oksidasyonuna yol açarak istenmeyen tat ve koku oluşabilir. Yüksek dozda ozon kullanımı gıdaların kalite ölçütlerinde istenmeyen sonuçlara sebep olabilir. Ozonun gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmamasının nedeni ozon jeneratörlerinin büyük ebatta ve pahalı olmasından ileri gelmektedir (Kim ve ark.,1999; Ekici ve ark., 2006; Yıldız, 2011; Erkmén, 2010; Jaksch ve ark.,2004; Anonim, 2017b).

2.5.4. Koyun sütü ve mikrobiyolojisi

Gıda kaynaklı patojenler arasında *Staphylococcus aureus*; enterotoksinleri aracılığıyla bir çok zehirlenme vakasına sebebiyet veren bir mikroorganizmadır. Bu sebepten bunun gibi türler; mandıracılık sektöründe söz konusu hayvanlarda mastitis vakalarından sorumlu olan en önemli türler olarak adlandırılmaktadır. Taşıdığı bu önemden ötürü, ozonosyonun etkinliğini gözlemlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, farklı yağ miktarlarında olan süt içine *S.aureus* enjekte edilmiştir. Çalışmada UHT süt, tam yağlı süt ve yağsız süt kullanılmıştır. Hazırlanan süt örnekleri diğer mikroorganizmaların ortamdaki uzaklaşması için sterilize edilmiştir. Ardından bu süt örneklerine belirli konsantrasyonlarda kültür inoküle edilmiştir ve örnekler ozonosyon işlemi sıcaklığına (8-12 °C) soğutulmuştur. Süt örnekleri 2 farklı ozon konsantrasyonuna 5 farklı süre (5, 10, 15, 20 ve 25 dakika) uygulanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan farklı ozon konsantrasyonlarının elde edilen değerler arasında önemli bir farklılık yaratmadığı gözlemlenmiştir. Yani ozon konsantrasyonundaki artış, işlemin etkinliğini artırmamıştır (Couto ve ark., 2016).

Diğer yandan ozon ve *E.coli* arasındaki kinetiğinin araştırıldığı bir çalışmada; işlemin etkinliğini belirleyen temel faktörlerin, konsantrasyon ve aktif mikroorganizma yoğunluğu olduğu ortaya çıkmıştır (Hunter ve Mariñas, 1997).

Yağlı ve yağsız süt örneklerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında; mikrobiyal düşüş bakımından 5, 10 ve 15 dakika süren işlemler arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Fakat 20 dakika süren işlemde diğerlerinin aksine farklılık

gözlemlenmiştir. Ayrıca homojenizasyondan sonra olsa bile yağlı sütteki yağ miktarı; *S.aureus* miktarının düşürülmesinde ozonun etkinliğini azaltmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler; diğer metotlara kıyasla ozonun sütte bulunan *S.aureus* miktarının düşürülmesinde yeterli gelmediğini desteklemektedir (Couto ve ark., 2016).

2000’li yıllarda mastitisli inekler üzerinde yapılan bir çalışmada; klinik mastitisli olan ineklerin yanmakta olan kısmına ozon enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir ve ozon terapisinin etkinliği değerlendirilmiştir. Ozon gazı oluşturan alet aracılığı ile ineğin meme başı kanalına ozon enjekte edilmiştir. 19 adet akut klinik mastitisli siyah alaca ineği iki gruba ayrılmıştır. 15 tanesi ozon terapisine maruz bırakılırken, 4 tanesine antibiyotik tedavisi uygulanmıştır. Kaliforniya mastitis test kriterlerine göre mastitise sebep olan patojenler, sütün elektrik iletkenliği, sütün somatik hücre sayısı bakımından bu iki grup mukayese edilmiştir. Akut klinik mastitisli 15 ineğin 9’unun iyileşme sürecinde herhangi bir antibiyotiğe ihtiyaç duymadığı ortaya konulmuştur. Bu sonuç; ozon terapisinin etkili, güvenli ve ekonomik olduğunu, ayrıca sütte ilaç kalıntısı bırakma riski taşımadığını kanıtlamıştır (Ogata ve Nagahata, 2000).

Ozonasyon işleminin, sütte bulunan *Listeria monocytogenes* üzerindeki etkinliğini araştırmak yapılan bir çalışmada ise; ozonasyon işleminin uygulanmasından 5 dakika sonra, *L. monocytogene*’in başlangıç miktarının yarısına indiğini ve tüm mikroorganizmaların ise 15 dakika sonunda yok edildiğini saptamışlardır (Sheelamary ve Muthukumar, 2011).

Enterobacter, toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrotrofik bakteri, Staphylococcus türleri, küf ve maya sayısının; ozon uygulanması karşısındaki mikrobiyal düşüşünü değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Uygulamadan 5 dakika sonra sütte bulunan mikrobiyal yükte herhangi bir azalma gözlemlenmemiştir. 10 dakika sonrasında ise her bir mikroorganizma grubunun sayısında önemli düşüşler meydana gelmiştir. İşlemin 15. dakikasının sonunda 6 adet mikroorganizma grubunun sonuçları incelendiğinde Enterobacter, toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrotrofik bakteri, küf ve maya ve Staphylococcus türlerinde sırasıyla 0.96; 0.60; 0.13; 0.48 ve 1.02 logaritmik düşüş belirlenmiştir. Bu veriler değerlendirildiğinde ozon işleminin termal işlemlere olan ihtiyacı ortadan kaldırmadığı, bu işlemin çiğ sütteki mikrobiyal yükte düşüş sağlanması amacıyla ön proses olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. (Cavalcante ve ark., 2013).

Ayrıca 1995’de yapılan bir diğer çalışmada *Listeria monocytogenes*’in ozon karşısında *S. aureus*’dan daha hassas olduğu bulunmuştur (Restaino ve ark., 1995).

Sütte bulunan aflatoksin M1 (AFM1) 'in ozonlama işleminden nasıl etkilendiği konusunda yapılan çalışmada; aflatoksin M1 eklenmiş süt örnekleri; 0, 0.5, 1, 2, 5 ve 10 dakika boyunca 80 mg/dk ozona maruz bırakılmıştır. 5 dakika sonunda AFM1 miktarının % 50'si yok edilmiştir. Uygulanan en uzun süre, ozonun AFM1 miktarını en fazla düşürdüğü süre olmuştur. Ozon işlemi sonunda sütün pH ve oksidasyon değerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. β -karoten içeriği önemli ölçüde azalmıştır. Artan süreyle paralel olarak sütte bulunan toplam mikrobiyal yük azalmıştır (Mohammadi ve ark., 2017).

2.5.5. Süt işlemede ozon kullanımı

Süt çiftliklerinde GMP (iyi hijyen uygulamaları); yüksek kalitede ve mikrobiyolojik açıdan güvenli çiğ süt üretimi için öncelikli koşuldur. Her mikroorganizma grubu üzerinde kuvvetli bir oksitleme ajanı olan ozon; bu çiftliklerde bir çok amaç için kullanılabilir. Süt çiftliklerinde ozonun bir başka kullanım alanı da ahırlardır. Ozon ahırlarda havada bulunan patojenleri ve ahırdaki gübre kokusunu yok etmek için oldukça düşük konsantrasyonda kullanılmaktadır (Anonim, 2017c).

2.5.5.1. Süt çiftliklerinde ozon kullanımı

Süt üretim tesislerinden depo tanka süt taşıyan boru hattının her işlemde sonra mutlaka temizlenmesi gerekmektedir. Temizlemede genellikle kimyasal madde içeren sıcak su kullanılmaktadır ve temizlikten sonra uygulanan bir diğer aşama olan dezenfeksiyon prosesleri büyük miktarlarda enerji ve kimyasal madde kullanımı gerektirmektedir. Ozon kullanımı ise bu maliyeti büyük ölçüde ortadan kaldırmaktadır (Heacox, 2013); 0,04-1.2 ppm miktarında ozon içeren su vasıtası ile çalışan bir metot geliştirmiştir. Bu ozonlu su; süt üreten hayvanları, süt ekipmanlarını ve çiftlikte bulunan bir çok yüzeyi dezenfekte etmede kullanılabilir. Sağımdan önce sığırların arka bacakları, memeleri ve memebaşları ayrıntılı bir şekilde ozonlu su ile yıkanır bir çok hijyen probleminin kolayca önüne geçilebilir. Süt çiftliklerinde ozonun bir başka kullanım alanı da ahırlardır. Ozon ahırlarda havada bulunan patojenleri ve ahırdaki gübre kokusunu yok etmek için oldukça düşük konsantrasyonda kullanılmaktadır (Anonim, 2017c).

Çiğ sütte yaygın olarak bulunan mezofilik aerobik mikroorganizmalar ve koliform grubu bakterileri (Moraes ve ark., 2009) sağım ve depolama kalitesinin indikatörleridirler (Oliviera ve ark., 2011). Çoğunluğu bozulmaya sebep olan bu mikroorganizmalar, depolama süresince süt kalitesini önemli ölçüde düşüren enzimler üretmektedir (Pedras ve ark., 2012).

2.5.5.2. Süt depolomada ozon kullanımı

Süt üretim çiftlikleri ile süt işletmeleri arasındaki mesafenin fazla olduğu durumlarda; sütün soğutularak depolanması ve ulaşım süresi psikrotrofik mikroorganizmaların üremesine neden olur. Uygun olmayan koşullarda yapılan sağım ve depolama ile ilişkili olan bu mikroorganizmalar kontrol edilmeyen soğutma koşullarında hızlı bir şekilde gelişebilmektedir. Psikrotrofikler süt stabilitesini etkileyen ve raf ömrünü azaltan proteolitik ve lipolitik enzimleri üretmektedirler (Hanamant ve Bansilal, 2010; Corrêa ve ark., 2011).

Geleneksel uygulanan ısı işlem; mikrobiyal düşüşte oldukça etkili olmasına karşılık; besinsel ve duyuşal olarak kayıplara neden olmaktadır. Bu sebepten sütteki mikrobiyal yükü azaltmak için kullanılan alternatif yöntemler (örneğin; ozon, CO₂ ve peroksit) hem sütün güvenliğini ve kalitesini etkilemeden mikroorganizmaları inaktive etmekte hem de süte uygulanan pastörizasyon süresini ve sıcaklığını düşürmektedir. Buna ilaveten; depolama boyunca mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimleri sınırlandırmakta ve sütün raf ömrü boyunca süt proteinin stabil kalmasını sağlamaktadır (Junior ve ark., 2013).

Pastair adında İsveç bir şirket tarafından geleneksel pastörizasyon işlemiyle devam eden ön ozonasyon uygulaması geliştirilmiştir. Soğuk pastörizasyon olarak adlandırılan bu teknikte ozon gazı kullanılarak; besinsel bileşenlerine zarar vermeden mikrobiyal açıdan güvenli peynirler üretilmesi amaçlanmıştır. Bu işlem mevcut ürüne kısa bir süre ozon enjeksiyonu ve ardından yine çok kısa bir süre ürünün 60 °C'ye ısıtılması ile gerçekleşmektedir. Bu kısa süreli işlem; son ürünün duyuşal ve besinsel olarak minimal kayıpla korunmasını sağlamaktadır (Bhattacharya, 2014).

2.5.5.3. Süt işletmelerinde biyofilm oluşumuna karşı ozon kullanımı

Süt işleme tesislerinde ekipman temizliğindeki ilk adım olan ılık suyla durulama işlemi; süt kalıntılarını uzaklaştırma amacıyla yapılmaktadır. Guzel-Seydim (2000), bununla ilgili olarak; 40 °C ılık su ile 10 °C ozonlu soğuk suyun paslanmaz çelik yüzeylerden süt kalıntılarını uzaklaştırma konusundaki etkinliğini incelemiştir. Elektron mikroskopundaki sonuçlara göre ozonlu suyun ılık suya kıyasla daha etkin olduğu saptanmıştır. Ozonlu su, süt kalıntılarının % 84'ünü uzaklaştırırken; ılık su % 51'ini uzaklaştırmıştır. Fukuzaki (2006) ve Jurado-Alameda ve ark. (2014) ısıyla denatüre olmuş peyniraltı suyu proteinlerinin paslanmaz çelik yüzeylerden ozon

aracılığıyla arındırılması durumunu incelemiştir. Çalışma sonunda peyniraltı suyu proteinlerinin, sıvı veya gaz ozonlama ile uzaklaştırılmasının kolaylaştığı gözlenmiştir.

Greene ve ark. (1993); 0.5 ppm ozon bulunan deiyonize suyun 10 dakika uygulanması sonrasında paslanmaz çelik yüzeylerde saptanan psikrotrofik bakterilerin (*Pseudomonas fluorescens* ve *Alcaligenes faecalis*) miktarını azaltmada oldukça yeterli olduğunu belirtmişlerdir. *P. fluorescens* ve *A. faecalis*'in oluşturduğu biyofilmlere karşı ozonlu suyun etkisi, 2 dakika ve 100 ppm miktarında uygulanan ticari klorinli koruyuculara kıyasla çok daha verimli olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Ozonlu su uygulamasının ılık su ve klorinin yerine yalnızca süt işleme ekipman yüzeylerinin fazla kalıntı bulundurmadığı zamanlarda kullanılması önerilmektedir (Varga ve Sziget, 2016). Greene ve ark. (1999), 7 gün boyunca ozonlu su uygulaması sonucunda test edilen tüm materyallerde (örneğin; alüminyum, bakır, paslanmaz çelik ve karbon çelik) belirli miktarlarda ağırlık kaybının gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bu sebepten ozonlama uygulamasının dikkatli bir şekilde gerçekleştirilmesi sonucuna ulaşılmaktadır.

2.5.5.4. Süt işletmelerindeki atık suyun ozonlama işlemi

Süt işleme tesislerinde su kullanımının önemi oldukça büyüktür. Temizleme, dezenfeksiyon, ısıtma, soğutma, taşıma gibi bir çok aşamada suya ihtiyaç duyulduğundan toplam harcanan su miktarı oldukça fazladır. Bu aynı zamanda organik madde bakımından oldukça yoğun olan su kütlelerinin ortaya çıkması anlamına da gelmektedir (Assalin ve ark. 2004; László ve ark., 2007; Pascual ve ark., 2007; Rad ve Lewis 2014; Packyam ve ark., 2015).

Ozonun atık su arıtma sistemlerinin aşamalarından olan ön arıtma ile biyolojik arıtma arasında uygulanması sonucu, atık sulardaki kimyasal yükün (COD) düşürülmesinde önemli sonuçlar gözlenmiştir. Bu sonuçlar organik yükün düşmesinden ötürü, arıtma tesisi çıkış suyu kalitesinin artışında büyük önem arz etmektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalar ozonun, süt işleme tesislerinden açığa çıkan atık sudaki mevcut organik madde konsantrasyonunu düşürmede kullanılabilecek bir metot olduğunu keşfetmiştir (László ve ark., 2007, 2009). Ozonun topaklaştırma etkisi sebebiyle ozonlama işlemi, nanofiltrasyon boyunca COD'un düşmesini sağlamıştır.

Ozon oksidasyon kapasitesi en yüksek ve en güçlü dezenfektan olması sebebiyle yüksek oksidasyon potansiyeli mikroorganizmalar üzerinde tam etki göstermektedir. Bu etki mikroorganizma hücre zarını delerek kendini göstermektedir. Ayrıca ozon

uygulaması, su sistemlerinde suda iyon halinde bulunan demir ve manganın elimine edilmesi için en uygun çözümdür. Özellikle kimyasal atıklar başta olmak üzere birçok organik madde, fenolikler, pestisitler, deterjanlar, aromatik bileşikler, protein ve aminoasitlerin de ozonlama ile oksidasyon gerçekleşmektedir. Ozonlama sonucu bu maddeler çökelti oluşturarak ortamdaki uzaklaştırılırlar.

Atık sularındaki istenmeyen tat ve kokuların kaynağı olan sudaki mevcut organik veya sentetik organik maddeler de ozon tüm bu maddeleri okside ettiğinden su kalitesinde ciddi artışlar sağlamaktadır (Anonim, 2017d).

2.5.6. Ozonun gıda gruplarına uygulanışı

2.5.6.1. Peynir

Peynir olgunlaşma odaları küf gelişimi için oldukça uygun bir atmosfere sahiptir. Bu sebepten olgunlaşma odasının küf sporları ile kontaminasyonu gerçekleştiği takdirde, henüz paketlenmemiş peynirler yüksek ihtimalle küflü peynirler haline geleceklerdir. Havada bulunan küflerin inaktive edilmesinde ozonlama işlemi oldukça etkili bir metot olmaktadır (Cullen ve Norton 2012).

Rossiiskii, Poshekhonskii, Kostroma ve Swiss tip peynirler; % 85-90 bağıl nem ve 2-4 °C'de ozon bulunan bir atmosferde depolanmıştır. Araştırmacılar 2-3 günde en az 4 saat 5-7 mg/litre şartlarında uygulanan ozonlama işleminin peynirler üzerinde küf gelişimini engellediğini saptamışlardır. Ayrıca paketlenmiş olanların 4 ay boyunca peynirin kimyasal ve duyuşal özelliklerinin etkilenmeksizin depolanabildiğini keşfetmişlerdir (Gabriel'yants' ve ark., 1980).

Horvath ve ark. (1985); peynirlerin olgunlaşma süresi boyunca uygulanan düşük konsantrasyondaki ozonun (0.02mg/litre), peynirin raf ömrünü 11 hafta kadar uzattığını belirtmişlerdir. Segat ve ark. (2014), Mozerella peyniri üretimi esnasında bozulmaya yol açan bakterilerin farklı miktarlarda ozona maruz bırakılmaları sonucunda elde edilen sonuçları değerlendirmişlerdir. *Pseudomonas spp.* ile gerçekleştirilen bu çalışmada son ürünün mikrobiyal kalitesinin arttırılarak raf ömrünün uzatıldığı belirlenmiştir.

2.5.6.2. Süt tozu

Genellikle süt tozlarından ve üretim çevrelerinden izole edilen (Kandhai ve ark. 2004; Torlak ve Sert 2013). *Enterobacter sakazakii*'nin özellikle kurutulmuş yağsız süttten yok edilmesinde ozonlama işleminin kullanılmasının oldukça etkili olduğu

bulunmuştur (Torlak ve Sert 2013). Araştırmacılar yağsız ve tam yağlı süt tozlarına ozon gazı uygulamışlar ve işlem sonunda *Cronobacter* sayılarında düşüş gözlemlemişlerdir. Düşüş miktarlarındaki farklılık yağ içeriğinden ileri gelmektedir.

Uzun ve ark. (2012) peyniraltı suyu proteinlerine sıvı ve gaz ozon uygulamışlardır. Alınan sonuçlara göre ozonlama işlemi köpük oluşturma kapasitesini ve köpük stabilitesini önemli ölçüde arttırmıştır. Bunun yanında peyniraltı suyu proteinlerinin çözünürlüğünü ve emülsiyon stabilitesini düşürmüştür.

2.5.6.3. Et endüstrisi

Et işletmelerinde ozon kullanımı; çalışma alanlarının, işletme zemininin ve ekipmanlarının periyodik olarak dezenfeksiyonunda son zamanlarda oldukça yaygınlaşmaktadır. Ayrıca kesim hattında karkasların duşlanma aşamasında, et ve et ürünlerinin ambalajlanmasında ve depolanmasında da ozon kullanılmaktadır (Stivarius ve ark., 2002).

Gorman ve ark. (1995); sığır göğüs yağına sprey ile uygulanan hidrojen peroksit (50g/litre) solüsyonunun ve ozonlu suyun (5g/litre); trisodyum fosfat, asetik asit ve ticari koruyucu solüsyonları ile karşılaştırıldığında bakteriyel kontaminasyonu düşürmede çok daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Pelletier (2008)'in yaptığı bir çalışmada ozonun farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkileri de klor ile kıyaslanmış, nitekim ozonun *E.coli*'yi klor ve klor türevlerine kıyasla 125 kat daha hızlı öldürebildiği belirlenmiştir.

Ozon; kümes hayvanları karkasları, kuluçkalar, folluklar ve kontamine yumurtaların dezenfeksiyonunda da kullanılmıştır. Kuluçka makinelerinin folluklarından izole edilen *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Bacillus* türlerinin kültürleri ve kültür koleksiyonundan elde edilen *E. coli*, *P. fluorescens*, ve *Salmonella typhimurium*, *Proteus* türleri ve *A. fumigatus* kültürlerinin yayma yöntemi ile petri kutularına ekimi gerçekleştirilmiştir. Bu petri kutuları ozon gazına maruz bırakılmıştır (Whistler ve Sheldon, 1989). Bu denemelerde kullanılan % 1.5-1.65 (w/w) konsantrasyondaki ozonun bakteriyel popülasyon üzerinde 4-7 logaritmik artış, küflerde ise 4 logaritmik azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Ozon uygulamalarının et ve et ürünlerinde dezavantajları da mevcuttur. Bunlardan en önemlisi; ürünlerde yağ oksidasyonuna neden olabilmesidir. Yapılan bir çalışmada, ozonlu hava, ozonlu su ve ozonlu buhar uygulamalarına maruz bırakılan sığır etlerindeki metmyoglobin ve lipid oksidasyonu oluşumu üzerine incelemeler yapılmış,

ozonlu havanın lipid oksidasyonunda önemli ölçüde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Ancak bunun dışında, diğer ozon uygulamalarının, metmyoglobin oluşumu ve lipid oksidasyonu üzerinde önemli bir etki yaratmadığı saptanmıştır (Okayama ve ark., 2002).

2.5.6.4. Meyve ve sebzeler ile ürünleri

Yapılan çalışmalar ozon uygulamasının meyve ve sebzelerin raf ömrünü uzattığını ortaya koymaktadır. Bazarova (1982); depolanmış elmalara ozon gazı uygulamış ve süre sonunda ağırlık kaybını ve bozulma emarelerini azalttığı gözlemlenmiştir. 0,1-0,3 ppm ozon gazı bulunan ortamda 12 gün bekletilen böğürtlenlerde de herhangi bir bozulma belirtisi saptanmamıştır (Barth ve ark.,1995). Yine başka bir çalışmada 20 dakika ozon uygulanmış (8 mg/litre) üzümelerde; bakteri, mantar ve maya miktarlarında önemli ölçüde düşüş gözlemlenmiştir. Tüm bu veriler ozonun, depolanan meyvelerin tazeliğinin korunmasına katkıda bulunduğu sonucunu doğrulamaktadır.

İnsanların ihtiyaç duyduğu C vitaminin önemli kaynaklarından olan meyve sularının vitamin içeriklerinin ozon ile azaldığı, çilek ve böğürtlen gibi antosiyanın içeren meyve sularında uygulandığında da ozonun bu renk maddelerinin azalmasına neden olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte pek çok dirençli mikroorganizma popülasyonunda da (*E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*) kayda değer azalmalara neden olduğu belirtilmiştir (Cullen ve ark., 2010; Tiwari ve ark., 2008; Tiwari ve ark., 2009).

Baranovskaya ve ark. (1979) patates, soğan ve şeker pancarı depolanmasında ozon kullanımını araştırmışlardır. Uygulanan ozon konsantrasyonu (3 mg/litre) ile örneklerin bakteri ve küf sayısında büyük miktarda düşüş gözlemlenmiştir. Bunun yanında kimyasal kompozisyon ve duyu kalitede değişim olmamıştır. Marquenie ve ark. (2002) marul yapraklarında ozonlanmış su ile yıkama işleminin ozon ve klor birlikte kullanıldığında toplam mezofilik popülasyon üzerinde 1.6-2.1 logaritmik birimlik azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. Bunun yanında askorbik asit (C vitamini) ve fenolik bileşenlerin miktarlarında ise kısmen azalmaya sebep olduğunu belirtmişlerdir.

2.5.6.5. Tahıl ürünleri

Ozon uygulamasının etkisi buğday, arpa ve pirinç gibi tahıllarda da araştırılmıştır. Allen ve ark. (2003); sıcaklığı ve su aktivitesini arttırarak etkinliğine katkıda

buldukları ozon gazını arpaya uygulamışlardır. Süre sonunda ozonun, arpada mantar sporları miktarında önemli ölçüde düşüş yarattığını belirtmişlerdir. Aynı sonuçlar ozon, buğdayı korumak amacıyla depolamada fungusit olarak kullanıldığı zaman da ortaya çıkmıştır (Wu ve ark., 2006).

Shah ve ark. (2011), işlenmiş pirinçte *B. cereus* yükünün azaltılmasında ozonun işlevini incelemişlerdir. 1.5 logaritmik birimden daha fazla düşüş gerçekleştiğini saptayan araştırmacılar, bu veriler eşliğinde ozonun pirinç depolama işleminde önemli bir etki yarattığı sonucuna ulaşmışlardır.

Farklı tipteki unlara ozon uygulamasının un rengi üzerinde ozonun ağartıcı rol oynadığı, böylelikle daha beyaz un elde edilmesine yardımcı olduğu saptanmıştır. Ayrıca uygulama sonunda hamur reolojisi özellikleri üzerinde olumlu etkilerin meydana geldiğini belirleyen Demir ve ark. (2011), düşük randımanlı unlarda daha fazla olmak üzere ekmek hacminin arttığını bulmuşlardır. Ozon uygulaması ile daha hacimli, ince tekstürlü ve daha beyaz renkte iç özelliklerine sahip ekmekler elde edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan koyun sütleri Konya’da faaliyet gösteren Enka Süt işletmesinden temin edilmiştir. Sabah sağımından hemen sonra işletmeye getirilen sütler ön işlemlerden (filtrasyon, klarifikasyon) sonra en kısa sürede laboratuara aktarılmıştır.

3.2. Yöntem

Ozon uygulaması

Ozon gazı Tablo 3.1’de gösterilen şartlarda 4-6 °C ve 22-25 °C’ye soğutulmuş süt örneklerinden Şekil 3.1’de gösterilen akış şemasına göre uygulanmıştır. Birinci grupta; koyun sütü çiğ olarak işlenmiştir. İkinci uygulama farklı sürelerde (0-60 dk) ozonlanarak ısıl işleme tabi tutulan (65 °C 30 dakika) koyun sütleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

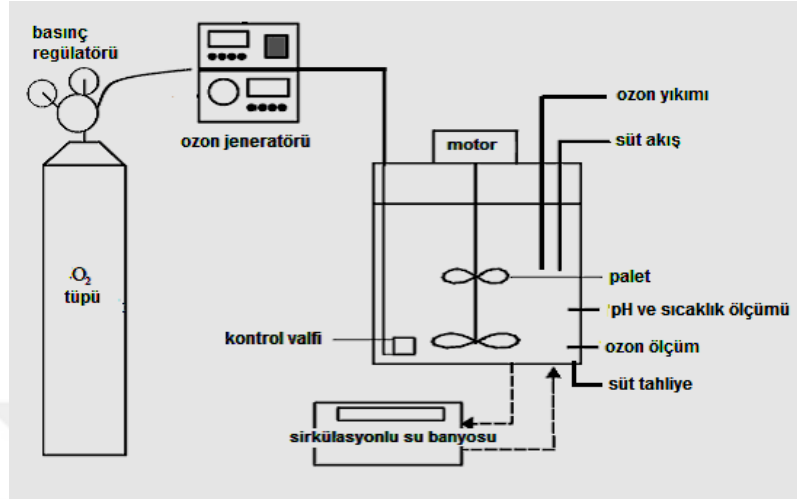
Tablo 3.1: Süt örneklerinin işleme şartları

Uygulama	Ozon (dk)	Isıl işlem
Ozonlama	0	-
	1	-
	5	-
	10	-
	30	-
	45	-
	60	-
Ozonlama + ısıtma işlemi	0	65 °C / 30 dk
	1	65 °C / 30 dk
	5	65 °C / 30 dk
	10	65 °C / 30 dk
	30	65 °C / 30 dk
	45	65 °C / 30 dk
	60	65 °C / 30 dk

- Çiğ koyun sütü
- Filtrasyon, klarifikasyon
- Ozonlama ve ısıtma işlem uygulaması

Şekil 3.2’de gösterilen sıcaklık kontrollü ve soğutmalı sirkülasyonlu su banyosuna bağlı proses kabında gerçekleştirilmiştir. Proses kabı, 10 lt sütü alabilecek şekilde vida kapaklı paslanmaz çelikten çift cidarlı olarak firma atölyesinde üretilmiştir. İşlem sırasında sıcaklık proses kabına monteli bir temokupl ile izlenmiştir. Proses kabında işlem sonu ürün tahliye ve yeni ürün giriş vanaları bulunmaktadır. Ozon gazı 4-6 °C ve 22-25 °C sıcaklığa soğutulmuş sütlere uygulanmıştır. Planlanan ozon konsantrasyonuna ulaşıncaya kadar sütler proses kabından tahliye edilip ozon gazı yıkımı için 4-6 saat soğukta muhafaza edilmiştir. Üretim öncesi sütlere ozon konsantrasyonu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Isıl işlem uygulanacak gruplarda ozon uygulamasını takiben sütler 65 °C / 30 dk ısıtılmıştır.

Şekil 3.2. Ozon gazı uygulama sistemi



Örneklerin alınması ve analize hazırlanması

Örnekler steril kaplara, aseptik koşullarda alınmış ve mikrobiyolojik ekimleri yapıldıktan sonra fiziksel ve kimyasal analizlere geçilmiştir. İşletmeye gelen sütlerden, pıhtı kesiminden baskı işleminin tamamlanmasına kadar geçen süre içinde elde edilen peyniraltı sularından homojen bir şekilde 100'er ml'lik iki şişeye örnek alınmış ve TSE (1971)'e göre analize hazırlanmıştır.

Süt örneklerinde uygulanan analizler

Süt örneklerinde, toplam kuru madde (gravimetrik yöntemle), yağ (Gerber yöntemiyle), asitlik (% laktik asit cinsinden), pH (WTW 7310) (Anonymous, 1981) ve toplam azot (IDF, 1993) analizleri yapılmıştır. Protein miktarı % azot miktarınının 6.38 faktörü ile çarpılmasıyla bulunmuştur. Renk analizleri (ΔE değeri) CR400 renk ölçüm cihazı (Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak yapılmıştır (Pinho ve ark., 2004). Viskozite Brookfield viskozimetre ile, uniformluk değeri Malvern MasterSizer 3000 cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Somatik hücre sayısı Foss süt analiz cihazı ile belirlenmiştir. Hidrojen peroksit kalıntısı peroksit test çubukları kullanılarak tespit

edilmiştir. Tablo 1’de gösterilen işleme şartlarına bağlı olarak süt örneklerinde Tablo 2’de belirtilen besiyerleri ve inkübasyon şartlarına göre mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Sütlerde işleme şartlarına bağlı olarak aflatoksin M1 miktarındaki değişimler aşağıda verilen prosedüre göre Enka Süt firmasında yapılmıştır.

Mikrotiter pleyt okuyucuda Aflatoksin M1 prosedürleri

Örneklerin hazırlanması

Süt

- Süt örnekleri yağını almak için santrifüj edilmiştir. (3500 g / 10 dk / 10 °C)
- Santrifüjden sonra, üstteki krema tabakası pastör pipeti ile çekilerek alınmıştır.
- Ayrılmış süt (yağsız supernatant) testte direkt olarak kullanılmıştır (her kuyucuğa 100 µl).

Test Prosedürü

- Standartlar ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter kuyucuğu pleyte yerleştirilmiş, standart ve örnek pozisyonları bir kenara not edilmiştir.
- Standart solüsyonlarından ya da hazırlanmış örnekten 100 µl alınıp kuyucuklara ilave edilerek oda ısısında 60 dk. inkübe edilmiştir.
- Kuyucuklardaki su dışarı boşaltılmıştır. Kuyucuklar 250 µl destile su ile doldurulmuş ve 2. basamaktaki gibi boşaltılmıştır. Yıkama prosedürü 1 kez daha tekrarlanılmıştır.
- 100 µl dilüe edilmiş enzim konjugat ilave edilerek oda ısısında karanlıkta 60 dk. inkübe edilmiştir.
- Yıkama işlemlerini 3 kez tekrarlanmıştır.
- Her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edilerek iyice karıştırılmış ve 30 dk. oda ısısında ve karanlıkta inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu koyularak iyice karıştırılmış ve absorbansı 450 nm’de hava blenkine karşı ölçülmüştür.

Mikrobiyolojik analiz yöntemleri

Ozon uygulamasının sütte ve peynirde mikrobiyolojik açıdan etkisini görebilmek için üretimde kullanılan süt ve peynir örneklerine mikrobiyolojik analiz uygulanmıştır. Süt steril pepton çözeltisi ile uygun dilüsyonlara seyreltilerek ekimler yapılmıştır. Peyniri örneklerinden steril bir bıçak yardımıyla yaklaşık 100 g alınarak

steril blendır haznesi içerisinde karıştırılmıştır. Mikrobiyolojik analizler için, karıştırılan bu numuneden steril stomacher poşetlerine 10 g aseptik şartlar altında tartılarak 90 ml dilüsyon sıvısı (% 2 trisodyumsitrat) ile homojenizatörde (Interscience Stomacher) 2 dakika homojenize edilmiştir. Ondalık dilüsyonlar pepton çözeltisi (% 0.1) ile hazırlanmış ve plaklara çift seri ekim yapılmıştır. Peynirlerin mikrobiyolojik analizinde kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları Tablo 2’de verilmiştir. İnkübasyondan sonra plaklarda 10-300 arası koloniler sayılmış ve sayım sonuçları, ilgili dilüsyon faktörü hesaplanarak koloni oluşturun birimin logaritması (log kob/g) alınarak gösterilmiştir (Psoni ve ark., 2003).

Tablo 3.2. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve inkübasyon şartları

Mikroorganizma	Besiyeri	İnkübasyon şartları	
		Sıcaklık (°C)	Süre
Toplam aerobik mezofilik	Skim milk plate count agar	32	72 saat
Maya-küf sayısı*	Yeast glucose chloromophenical agar	25	5 gün
Koliform bakteriler*	Violet Red Bile agar	37	24 saat
Staphylococcus*	Baird Parker agar	37	48 saat
<i>Enterococcus</i> spp. †	Kanamycinesculin azide agar	37	48 saat

*Mucchetti ve ark. 2008, Dolci ve ark. 2007

4. ARAşTIRMA BULGULARI VE TARTIşMA

4.1. Koyun Sütlerinin Aflatoksin, Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Seviyesi ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları ve Tartışma

Bu alışmada 4-6 °C’ye soğutulmuş koyun sütlerine artan sürelerde ozon uygulanması sonucu; süt içerisindeki aflatoksin, H₂O₂ (hidrojen peroksit) seviyesi ve mikrobiyolojik analiz verileri değişimi izelge 4.1’de verilmiştir. Yalnızca ozon uygulama süresi arttıkkça Koliform, Enterobacter, TMAB (Toplam mezofilik aerobik bakteri), Staphylococcus ve maya-küf sayılarında azalma gözlenmiştir. 60 dakika ozon uygulaması sonucunda Koliform sayısı 6.28 log kob/g’dan 3.95 log kob/g’ a; Enterobacter sayısı 6.18 log kob/g’dan 4 log kob/g’a; TMAB sayısı 6.23 log kob/g’dan

5.04 log kob/g'a; Staphylococcus sayısı 5.12 log kob/g'dan 3.30 log kob/g'a ve maya-küf sayısı da 4.97 log kob/g'dan 4 log kob/g'a düşmüştür. Her bir mikroorganizma grubunun düşüş yüzdeleri hesaplandığında; Koliform sayısının düşüş yüzdesinin % 37, Enterobacter sayısının % 35.2, TMAB sayısının % 19, Staphylococcus sayısının % 35.5, maya-küf sayısının ise % 19.5 olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.2'de ise 22-25 °C'ye soğutulmuş koyun sütlerinin ortalama aflatoksin, hidrojen peroksit (H₂O₂) seviyesi ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarından elde edilen veriler yer almaktadır. Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 arasındaki tek fark sütün soğutulduğu sıcaklık derecesidir. Bu çizelge incelendiğinde beş adet mikroorganizma grubunun değişimleri incelendiğinde ozonlama süresinin artışına bağlı olarak tüm grupların sayısının düşüş gösterdiği gözlenmektedir. Bu açıdan her iki çizelge de sonuç itibarıyla benzerlik göstermektedir.

Her iki sıcaklığın mikroorganizma gruplarına olan etkisi, düşme oranları ile kıyaslanmıştır. Sırasıyla 4-6 °C ile 22-25 °C sıcaklıklara soğutulan süt örneklerinin düşüş yüzdeleri ile ilgili şu sonuçlara ulaşılmıştır. Koliform grubu bakterilerin düşüş yüzdesinin % 37'den % 23.7'ye; Enterobacter grubunun düşüş yüzdesinin % 35.2'den % 25.9'a; toplam mezofilik aerobik bakterilerin düşüş yüzdesinin %19'dan %13,9'a, Staphylococcus grubunun ise % 35.5'den % 20.9'a düştüğü gözlenmiştir. Yalnızca maya-küf sayısının düşüş yüzdesi % 19.5'den % 35'e çıkmıştır. Sonuç olarak sadece maya-küf sayısının düşüş yüzdesinin 22-25 °C'ye soğutulmuş süt örneklerinde, 4-6 °C'deki örneklere kıyasla ozonlama işlemi karşısında daha fazla düştüğü görülmüştür. Diğer dört mikroorganizma grubunda ise 4-6 °C'deki süt örneklerindeki düşüş; 22-25 °C'ye soğutulmuş süt örneklerine kıyasla daha fazla olmuştur.

Ozonlama işlemine ek olarak uygulanan her iki ısıl işlem uygulaması sonucunda da süre artışıyla birlikte Koliform, Enterobacter, TMAB ve maya-küf tespiti yapılamamıştır. Staphylococcus sayısı ise 4-6 °C'ye soğutulmuş ve ardından ozonlama-ısı işlem uygulanmış süt örneklerinde 10.dakikadan itibaren tespit edilememişken; 22-25 °C'ye soğutulmuş örneklerde ozonlama-ısı işlem uygulamasının 60. dakikasına kadar düşüş gerçekleşmiştir. Uygulamanın 0. dakikasında 4 log kob/g iken; 60. dakikasında 3 log kob/g sayılmıştır.

Benzer şekilde Staphylococcus türleri ile yapılan başka bir çalışmada uygulanan ozonosyon işleminin süresi arttıkça mikroorganizma miktarında da ters yönde bir etki belirlenmiştir (Cavalcante ve ark, 2013). Bu çalışmada farklı olarak ozon; yüzey aktif

madde olan polisorbata 80 ile kombinlenerek uygulanmıştır. Çalışma sonucunda bakteri popülasyonunda büyük bir düşüş gözlemlenmiştir.

Başka bir çalışmada; *S.aureus* enjekte edilmiş ve 8-12 °C'ye soğutulmuş süt örnekleri 2 farklı ozon konsantrasyonuna 5 farklı süre (5, 10, 15, 20 ve 25 dakika) uygulanmıştır. İşlem sonunda veriler incelendiğinde, kullanılan farklı ozon konsantrasyonlarının elde edilen değerler arasında önemli bir farklılık yaratmadığı gözlemlenmiştir. Yani ozon konsantrasyonundaki ve uygulama süresindeki artış, işlemin etkinliğini artırmamıştır (Couto ve ark., 2016). Bu çalışma bu anlamda çalışmayı desteklememektedir.

Başka bir çalışmada ise çeşitli mikroorganizma gruplarının artan ozonlama süresi karşısında etkinliği incelenmiştir. İşlemin 15.dakikasının sonunda 6 adet mikroorganizma grubunun sonuçlarına bakıldığında Enterobacter toplam mezofilik aerobik bakteri, psikrotrofik bakteri, küf ve maya ve Staphylococcus türlerinde sırasıyla 0.96; 0.60; 0.13; 0.48 ve 1.02 logaritmik düşüş belirlenmiştir (Cavalcante ve ark., 2013). Elde edilen bu veriler ise mevcut çalışmayı desteklemektedir.

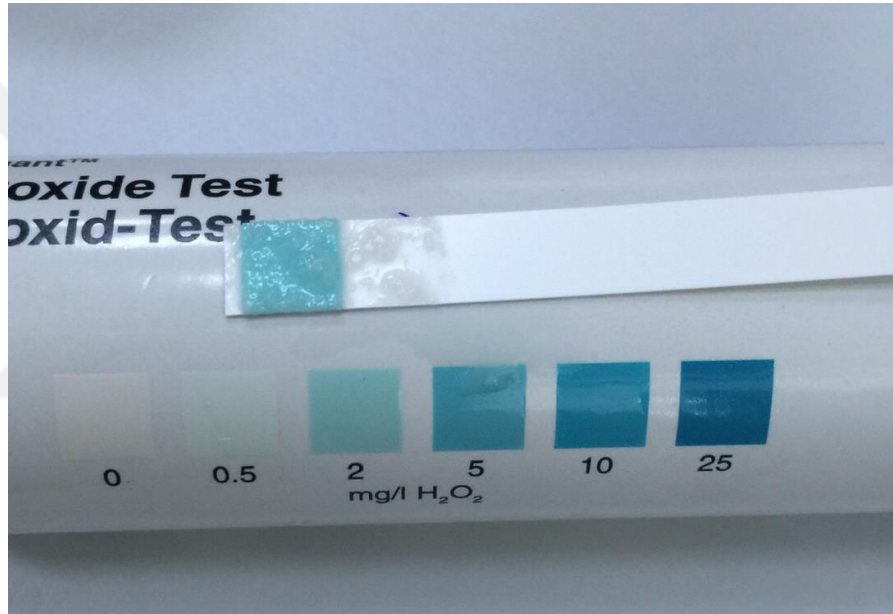
Bu çalışmada süt örneklerine ozon ve ozon-ısı işlem uygulaması; artan süreye bağlı olarak aflatoxin miktarını genel anlamda azaltmıştır. 4-6 °C'ye soğutulmuş süt örneklerinde ozonlama işleminin 1. ve 5. dakikalarında başlangıç miktarına göre düşüş göstermiştir. 10.dakikadan itibaren ise 5 ppt altına düşmüştür. Ozonlamaya ısı işlem dahil edilmesiyle birlikte başlangıç miktarı 5.84 ppt olan aflatoxin, 5. dakikada 5.39'a düşmüş ve 10. dakikadan itibaren 5 ppt altına düşmüştür. 22-25 °C'ye soğutulan koyun sütlerindeki durumu incelendiğinde; aflatoxin miktarının 1.dakikada 7.10 ppt'den 6.30 ppt'ye düştüğü sonrasında ise 60. dakikaya kadar 5 ppt altında ölçüldüğü görülmektedir. Ozonlama-ısı işlem uygulamasında ise benzer şekilde 5. dakikada 519 ppt'ye düşen aflatoxin miktarı yine bu dakikadan itibaren 60. dakikaya kadar olan her zaman diliminde 5 ppt altında ölçülmüştür.

Benzer şekilde sonuçlanan başka bir çalışma Eskandari ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilmiştir. Aflatoxin M1 eklenmiş süt örnekleri; 0, 0.5, 1, 2, 5 ve 10 dakika boyunca 80 mg/dk ozona maruz bırakılmıştır. 5 dakika sonunda AFM1 miktarının % 50'si yok edilmiştir. Ozon uygulama süresi arttıkça, AFM1 miktarındaki düşüşün arttığı gözlemlenmiştir.

Şekil 4.1'de 10 dakika süre ile ozon uygulanmış çiğ sütte, işlem sonunda kalıntı oluşturan H₂O₂ miktarı peroksit testinde gösterilmiştir. Çizelge 4.1'de sıcaklık değişimi karşısında H₂O₂ miktarı değişimi incelendiğinde; 4-6 °C sıcaklıkta ozonlama

uygulamasının 1. dakikasının ardından peroksit kalıntı miktarı ölçülemezken 5. dakikada 0.5 ppm ölçülmüş; sonrasında artarak devam etmiş ve 45. ve 60. dakikalarda 25 ppm'i görmüştür. Ozonlama işlemine ısıl işlem dahil edildiğinde ise son iki zaman dilimine kadar herhangi bir miktarda peroksit kalıntısı tespit edilemezken, 45. ve 60. dakikalarda 0.5 ppm peroksit ölçümü yapılmıştır. 22-25 °C sıcaklıktaki koyun sütü örneklerinde ise Çizelge 4.1'e kıyasla ozonlama işleminin 5. dakikasında farklılık göstermiştir. 4-6 °C'deki süt örneklerinde bu dakikada ölçülen peroksit miktarı 2 ppm iken; Çizelge 4.2'de bu miktar 5 ppm ölçülmüştür.

Şekil 4.1. Çiğ süt-10 dk ozon kalıntı H₂O₂ ölçüm sonucu



Çizelge 4.1. 4-6 °C'ye soğutulmuş koyun sütlerinin ortalama aflatoksin, hidrojen peroksit (H₂O₂) seviyesi ve mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

Uygulama	Ozon (dk)	Aflatoksin (ppt)	H ₂ O ₂ (ppm)	Koliform	Enterobacter	TMAB*	Staphylococcus	Maya-Küf
Ozonlama	0	6.65	-	6.28	6.18	6.23	5.12	4.97
	1	5.57	-	5.45	5.66	6.23	5.03	4.90
	5	5.21	0.5	5.32	5.57	5.92	4.85	4.82
	10	<5	2	5.25	5.47	5.65	4.71	4.73
	30	<5	10	4.82	4.85	5.45	4.49	4.30
	45	<5	25	4.23	4.30	5.40	4.08	4.26
	60	<5	25	3.95	4.00	5.04	3.30	4.00
	Ozonlama + Isıl İşlem	0	5.84	-	-	-	-	3.30
1		5.49	-	-	-	-	3.30	-
5		5.39	-	-	-	-	3.00	-
10		<5	-	-	-	-	3.00	-
30		<5	-	-	-	-	-	-
45		<5	0.5	-	-	-	-	-
60		<5	0.5	-	-	-	-	-

* TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri

Çizelge 4.2. 22-25 °C'ye soğutulmuş koyun sütlerinin ortalama aflatoksin, hidrojen peroksit (H₂O₂) seviyesi ve mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

Uygulama	Ozon	Aflatoksin (ppt)	H ₂ O ₂ (ppm)	Koliform	Enterobacter	TMAB*	Staphylococcus	Maya-küf
	0	7.10	-	6.10	6.13	6.08	4.78	4.00
	1	6.30	-	5.40	5.60	5.51	4.78	4.00
	5	<5	0.5	4.75	4.95	5.48	4.68	2.85
Ozonlama	10	<5	5	4.71	4.92	5.51	4.60	2.74
	30	<5	10	4.66	4.78	5.34	4.32	2.48
	45	<5	25	4.65	4.60	5.26	4.26	2.60
	60	<5	25	4.65	4.54	5.23	3.78	-
	0	6.32	-	-	-	2.00	4.00	-
	1	5.44	-	-	-	-	3.95	-
Ozonlama	5	5.19	-	-	-	-	3.90	-
+	10	<5	-	-	-	-	3.78	-
Isıl İşlem	30	<5	0.5	-	-	-	3.78	-
	45	<5	0.5	-	-	-	3.48	-
	60	<5	25	-	-	-	3.00	-

* TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri

4.2. Koyun Sütlerinin % Laktik Asit (% LA) Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma

Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin % Laktik Asit değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3'de, Koyun sütlerinin % LA, pH, SHS, ΔE , viskozite ve uniformity değerlerine ait Tukey testi sonuçları Çizelge 4.4'da, ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin % LA, pH, SHS, ΔE , viskozite ve uniformity değerlerindeki değişim Çizelge 4.5'de, koyun sütlerinin % LA değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi ise Şekil 4.2'de verilmiştir.

Varyans analizi tablosu incelendiğinde; süt sıcaklığı-ısıl işlem, süt sıcaklığı-ozonlama, ısıl işlem-ozonlama ve bu üç uygulamanın korelasyonu istatistiki olarak önemli sonuçlar ortaya koyduğu görülmüştür.

Tukey testine göre; % Laktik asit değerinin süt sıcaklıklarına göre değişimine bakıldığında 4-6 °C'deki verinin 22-25 °C'deki veriye göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ozonlama işlemi süresinin artışı karşısında % Laktik asitin ilk üç zaman dilimindeki verilerinin arasında herhangi bir fark olmadığı tespit edilmiştir. 10.dakikadan itibaren süreye bağlı olarak artış göstermesi ozonlama işleminin laktik asit değerine olumlu etki ettiği sonucuna ulaştırmıştır. Ozonlama işleminin 60.dakikasında bu değer en yüksek seviyesine ulaştığı görülmüştür. (0,205). Koyun sütü örneklerine yalnızca ozonlama işlemi uygulanması karşısında elde edilen değer; ozonlamaya 65°C'lik ısıl işlemin dahil edilmesiyle birlikte artış göstermiştir. Elde edilen değer, % Laktik asit verilerinin incelendiği sütunda en yüksek değer (0,179) olmuştur.

Şekil 4.2'de ozonlama işlemi karşısında % Laktik asit değerinin değişimi grafiksel olarak verilmiştir. İlk üç zaman diliminin sabit kalan verilerinin ardından 60.dakikaya kadar olan veriler doğrusal bir grafik oluşturmuştur.

Çizelge 4.3. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin % LA değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Süt sıcaklık (A)	1	0.000	11.66 *
Isıl işlem (B)	1	0.000	16.69 *
Ozon dk (C)	6	0.002	455.90 *
A x B	1	0.000	76.96 *
A x C	6	0.000	7.71 *
B x C	6	0.000	22.82 *
A x B x C	6	0.000	15.43 *
Hata	28	0.000	

* p<0.05 , ** p<0.01, ns:istatistiki açıdan önemsiz.

Çizelge 4.4. Koyun sütlerinin % LA, pH, SHS, ΔE, viskozite ve uniformity değerlerine ait Tukey testi sonuçları*

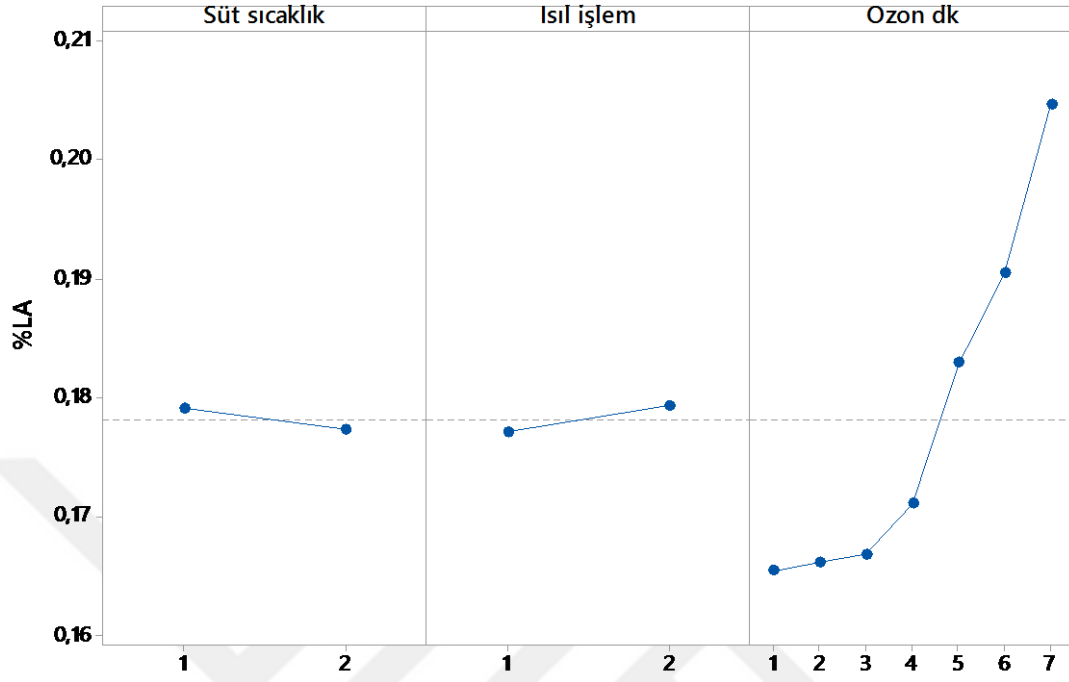
Faktör	N	%LA	pH	SHS	ΔE	Viskozite	Uniformity
Süt sıcaklık							
4-6 °C	28	0.179 ^a	6.67 ^{ns}	1386083 ^b	20.86 ^b	1.36 ^b	0.392 ^{ns}
22-25 °C	28	0.177 ^b	6.67	1891540 ^a	21.58 ^a	1.62 ^a	0.378
Isıl işlem							
Ozonlama	28	0.177 ^b	6.70 ^a	2090504 ^a	22.01 ^a	1.49 ^{ns}	0.384 ^{ns}
Ozonlama+ıslıl işlem	28	0.179 ^a	6.64 ^b	1187120 ^b	20.44 ^b	1.49	0.386
Ozon dk							
0	8	0.165 ^e	6.74 ^a	827189 ^g	20.66 ^f	1.44 ^e	0.364 ^{ns}
1	8	0.166 ^e	6.75 ^a	1036508 ^f	20.85 ^e	1.45 ^e	0.362
5	8	0.167 ^e	6.75 ^a	1241418 ^e	21.02 ^d	1.47 ^d	0.367
10	8	0.171 ^d	6.74 ^a	1699596 ^d	21.15 ^d	1.46 ^d	0.379
30	8	0.183 ^c	6.63 ^b	1827483 ^c	21.35 ^c	1.50 ^c	0.427
45	8	0.190 ^b	6.60 ^c	2173475 ^b	21.64 ^b	1.53 ^b	0.397
60	8	0.205 ^a	6.49 ^d	2666013 ^a	21.90 ^a	1.57 ^a	0.400

* Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır.

Çizelge 4.5. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin % LA, pH, SHS, ΔE, viskozite ve uniformity değerlerindeki değişim

Süt sıcaklık	İşlem	Ozon Dk	% LA	pH	SHS	ΔE	Viskozite	Uniformity
4-6 °C	Ozonlama	0	0.166±0.001	6.78±0.00	694650±1626	20.89±0.04	1.26±0.01	0.363±0.002
		1	0.168±0.001	6.79±0.01	1190822±19371	21.65±0.12	1.28±0.01	0.360±0.000
		5	0.169±0.002	6.79±0.01	1673625±18208	21.97±0.11	1.28±0.01	0.366±0.002
		10	0.168±0.001	6.78±0.00	1776910±16390	22.25±0.07	1.28±0.02	0.373±0.004
		30	0.181±0.001	6.69±0.01	1816327±25169	23.09±0.01	1.32±0.01	0.385±0.001
		45	0.185±0.003	6.65±0.00	2467728±45993	23.29±0.29	1.38±0.01	0.407±0.007
		60	0.194±0.006	6.56±0.02	2706887±30387	23.89±0.04	1.46±0.02	0.406±0.002
	Ozonlama + Isıl İşlem	0	0.166±0.001	6.71±0.01	569975±5975	20.36±0.08	1.40±0.01	0.378±0.003
		1	0.168±0.001	6.70±0.00	727562±9457	20.27±0.10	1.38±0.01	0.383±0.004
		5	0.166±0.001	6.69±0.01	760437±4331	20.13±0.10	1.40±0.01	0.389±0.002
		10	0.181±0.001	6.69±0.01	1103112±24377	19.91±0.16	1.37±0.02	0.412±0.004
		30	0.187±0.003	6.59±0.01	1288862±16069	18.52±0.10	1.42±0.01	0.416±0.001
		45	0.200±0.003	6.52±0.01	1260825±2227	18.14±0.08	1.43±0.01	0.424±0.006
		60	0.210±0.003	6.46±0.01	1367450±21283	17.73±0.12	1.44±0.01	0.425±0.001
22-25 °C	Ozonlama	0	0.167±0.000	6.76±0.01	1100103±7216	20.36±0.05	1.61±0.00	0.355±0.004
		1	0.168±0.001	6.77±0.01	1156025±8874	20.58±0.02	1.63±0.00	0.351±0.001
		5	0.167±0.001	6.78±0.01	1263685±6272	20.89±0.04	1.65±0.01	0.355±0.001
		10	0.168±0.001	6.76±0.01	2629105±1562	21.07±0.04	1.65±0.01	0.363±0.002
		30	0.185±0.001	6.65±0.01	2749627±4246	22.00±0.04	1.67±0.01	0.532±0.237
		45	0.197±0.002	6.59±0.01	3327200±43557	23.05±0.01	1.68±0.01	0.381±0.001
		60	0.200±0.003	6.51±0.01	4714367±8297	23.19±0.01	1.72±0.01	0.383±0.001
	Ozonlama + Isıl İşlem	0	0.163±0.001	6.71±0.01	944030±8442	21.06±0.04	1.50±0.01	0.361±0.001
		1	0.162±0.000	6.74±0.01	1071625±5055	20.89±0.04	1.50±0.01	0.356±0.003
		5	0.166±0.001	6.75±0.01	1267925±52997	21.09±0.01	1.57±0.01	0.357±0.001
		10	0.168±0.001	6.71±0.02	1289260±4582	21.38±0.02	1.52±0.01	0.369±0.001
		30	0.179±0.001	6.61±0.01	1455115±42589	21.82±0.04	1.61±0.00	0.373±0.001
		45	0.180±0.000	6.65±0.00	1638150±20011	22.06±0.00	1.64±0.01	0.375±0.006
		60	0.215±0.001	6.40±0.02	1875350±1626	22.8±0.064	1.68±0.01	0.383±0.003

Şekil 4.2. Koyun sütlerinin % LA değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıtma işlemi ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi



4.3. Koyun Sütlerinin pH Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma

Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin pH değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.6'da, koyun sütlerinin pH değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıtma işlemi ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi ise Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Varyans analiz tablosuna göre; süt sıcaklığı-ısıtma işlemi, süt sıcaklığı-ozonlama, ısıtma işlemi- ozonlama ve bu üç uygulamanın korelasyonu istatistiksel olarak önemli sonuçlar ortaya koymuştur.

Süt örneklerine uygulanan her iki sıcaklıkta da pH değeri sabit kalmıştır. 4-6 °C'de yapılan ölçüm önem arz etmemektedir. 22-25 °C'de ise pH 6.67 olarak ölçülmüştür. Yalnızca ozonlama işlemi sonrası ölçülen pH ile ozonlama-ısıtma işlemi uygulaması ardından ölçülen pH değeri arasında 0.06 birimlik bir fark gözlemlenmiştir. İlk ölçülen pH 6.70 iken; ısıtma işleminin dahil edilmesiyle pH 6.64 olarak ölçülmüştür. Ozonlama işleminin 0, 1, 5 ve 10. dakikalarında 6.74-6.75 aralığında değişmeden kalan pH değeri, işlem süresi artışı gösterdikçe, son üç zaman diliminde pH 6.63, 6.60 ve 6.49 seviyelerini görmüştür. Dolayısıyla ozonlama işleminin en düşük pH'sı 60.dakikada elde edilmiştir. Uygulama süresinin artışıyla birlikte süt asitliğinin bir miktar arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Ölçümler sonucu nötre en yakın pH, ozonlama işleminin ilk dört zaman diliminde elde edilmiştir.

Şekil 4.3'de pH değerlerindeki değişime uygulanan işlemlerin etkinliği incelendiğinde süt sıcaklığının (4-6 °C ve 22-25 °C) pH'ya olan etkisi sabit bir grafik çizmiştir. Yalnızca ozonlama ile ozonlama-ısıtma işlemi etkisi ise sayısal anlamda ters orantı grafiği oluşturmuştur. Ozonlama işlemi ise ilk olarak sabite yakın, daha sonra yine sayısal olarak ters orantı grafiği sergilemektedir.

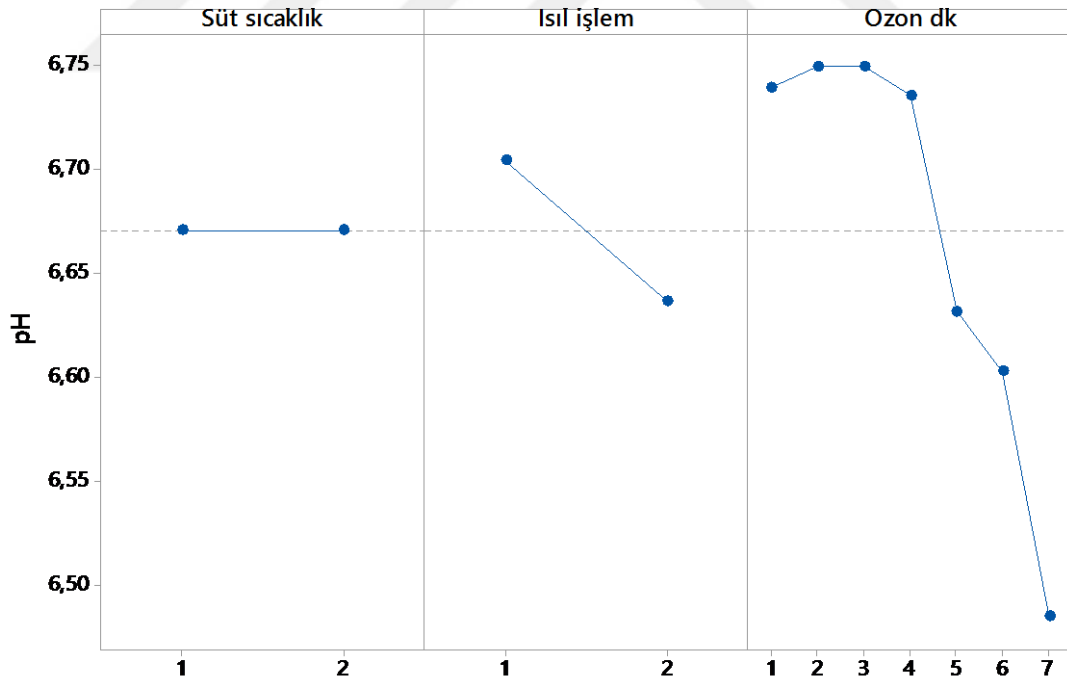
Konuyla ilgili olarak yapılan farklı bir çalışmada, süt örnekleri; 0, 0.5, 1, 2, 5 ve 10 dakika boyunca 80 mg/dk ozona maruz bırakılmıştır. Ozon işlemi sonunda sütün pH değerinde herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir (Mohammadi ve ark., 2017). Bu anlamda sonuçlar birbirini desteklemektedir.

Çizelge 4.6. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin pH değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Süt sıcaklık (A)	1	0.000	0.00 ^{ns}
Isıl işlem (B)	1	0.063	441.80 [*]
Ozon dk (C)	6	0.082	575.28 [*]
A x B	1	0.014	96.80 [*]
A x C	6	0.002	11.55 [*]
B x C	6	0.001	5.99 [*]
A x B x C	6	0.002	12.74 [*]
Hata	28	0.000	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns: istatistikî açıdan önemsiz.

Şekil 4.3. Koyun sütlerinin pH değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi



4.4. Koyun Sütlerinin Somatik Hücre Sayısına (SHS) Ait Sonuçlar ve Tartışma

Çizelge 4.7’de ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin somatik hücre sayısına ait varyans analizi sonuçları, Şekil 4.4’de ise koyun sütlerinin somatik hücre sayısındaki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi yer almaktadır. Varyans analiz tablosuna göre; süt sıcaklığı-ısıl işlem, süt sıcaklığı-ozonlama, ısıl işlem- ozonlama ve bu üç uygulamanın korelasyonu istatistiki olarak önemli sonuçlar ortaya koymuştur.

Ozonlama işleminin uygulama süreleri karşısında elde edilen veriler incelendiğinde somatik hücre sayısının süreyle doğru orantılı şekilde arttığı; dolayısıyla da Şekil 4.4’de çizelgenin ozonlama bölümünde doğrusal bir grafik ortaya çıktığı görülmektedir. Yedi adet zaman diliminin hiçbirinde istatistiksel olarak önemsiz şeklinde ifade edilebilecek bir sonuçla karşılaşılmamıştır. Uygulamanın 60. dakikasında koyun sütü örnekleri içerisinde yer alan canlı hücre sayısı maksimum seviyesine ulaşmıştır. Miktersal olarak en büyük artış 45. dakika ile 60. dakika arasında yaşanmıştır. Bu iki süre arasındaki fark 492538 olmuştur. Tukey testinin somatik hücre sayısı sütununa bakıldığında görülen en yüksek değer, ozonlama işleminin 60.dakikası sonucunda elde edilen değerdir.

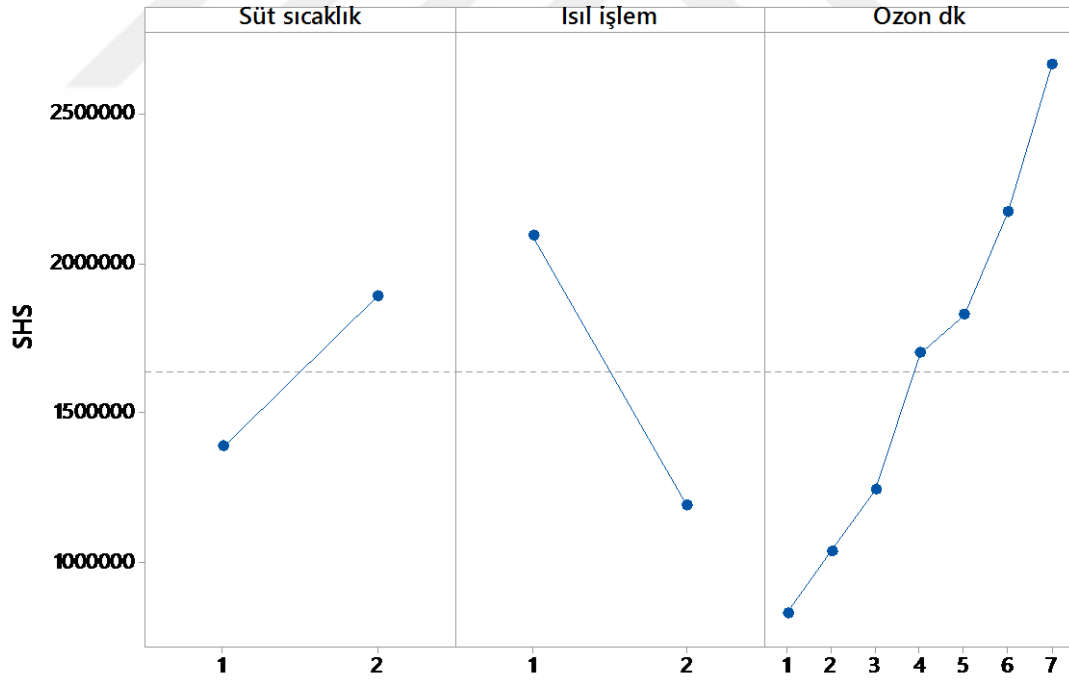
Süt örneklerinin bulunduğu iki farklı sıcaklığın somatik hücre sayısında değişiklik arz ettiği görülmektedir. 4-6 °C’de miktar 1386083 iken; 22-25 °C’de ise 1891540 ölçülerek artış yattığı görülmektedir. İki sıcaklık dereceleri arasındaki somatik hücre sayısı farkı 505457’ dir. Süt örneklerinin mevcut sıcaklıklarında meydana gelen bu değişim karşısında, ozonlama ve ozonlama-ısıl işlem uygulamaları etkileri incelendiğinde bir düşüş meydana geldiği gözlenmektedir. Ozonlama işlemine 65 °C’lik ısıl işlem eklendiğinde somatik hücre sayısının düştüğü sonucuna ulaşılmıştır. Yüzdesel olarak bu düşüş % 43.2’dir.

Çizelge 4.7. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin somatik hücre sayısına (SHS) ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Süt sıcaklık (A)	1	3.58E+12	7471.15 *
Isıl işlem (B)	1	1.14E+13	23865.18 *
Ozon dk (C)	6	3.41E+12	7128.91 *
A x B	1	3.30E+11	689.63 *
A x C	6	3.09E+11	644.59 *
B x C	6	9.65E+11	2014.70 *
A x B x C	6	3.20E+11	668.24 *
Hata	28	478749787.45	

* p<0.05 , ** p<0.01, ns:istatistiki açıdan önemsiz.

Şekil 4.4. Koyun sütlerinin somatik hücre sayısındaki (SHS) değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi



4.5. Koyun Sütlerinin Delta E (ΔE) değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma

Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin delta E (ΔE) değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.8’de, koyun sütlerinin delta E değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıtma işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi ise Şekil 5’de gösterilmektedir. Varyans analiz tablosuna göre; süt sıcaklığı-ısıtma işlem, süt sıcaklığı-ozonlama, ısıtma işlem-ozonlama ve bu üç uygulamanın korelasyonu istatistiksel olarak önemli sonuçlar ortaya koymuştur. Süt örneklerine uygulanan ozonlama işlemi sonuçları incelendiğinde; işlem süresi artışıyla birlikte renk kriterlerinin herhangi bir sapma göstermeksizin, artış gösterdiği görülmektedir. Tukey testi incelendiğinde, ozonlamanın 0. dakikası ile 60. dakikası verileri 20.66 ile 21.90 arasında değişkenlik göstermiştir. Uygulamanın en yüksek değeri olan 21.90; 60. dakikada elde edilmiştir. Süreler karşısında elde edilen değerler istatistiksel olarak farklı sonuçlar ortaya koyarken, 5. ve 10. dakika verilerinin istatistiksel olarak fark yaratmadığı görülmüştür. Yine Tukey testine göre, ozonlama ile ozonlama-ısıtma işlem uygulamaları sonuçları incelendiğinde; ısıtma işleminin ozonlamaya dahil edilmesiyle birlikte değerin düştüğü gözlenmektedir. Yalnızca ozonlama işlemi sonrası renk kriteri değeri 22.01 iken, ısıtma işlem ile birlikte elde edilen değer 20.44 olarak bulunmuştur. Süt örneklerinin sıcaklıkları ele alındığında sıcaklığın yükselmesiyle birlikte renk kriteri değeri 21.58’e yükselmiştir. 4-6 °C sıcaklıkta bulunan koyun sütü örneklerinin renk kriteri değeri; % 3.4 artış göstererek 22-25 °C’deki değerine ulaşmıştır.

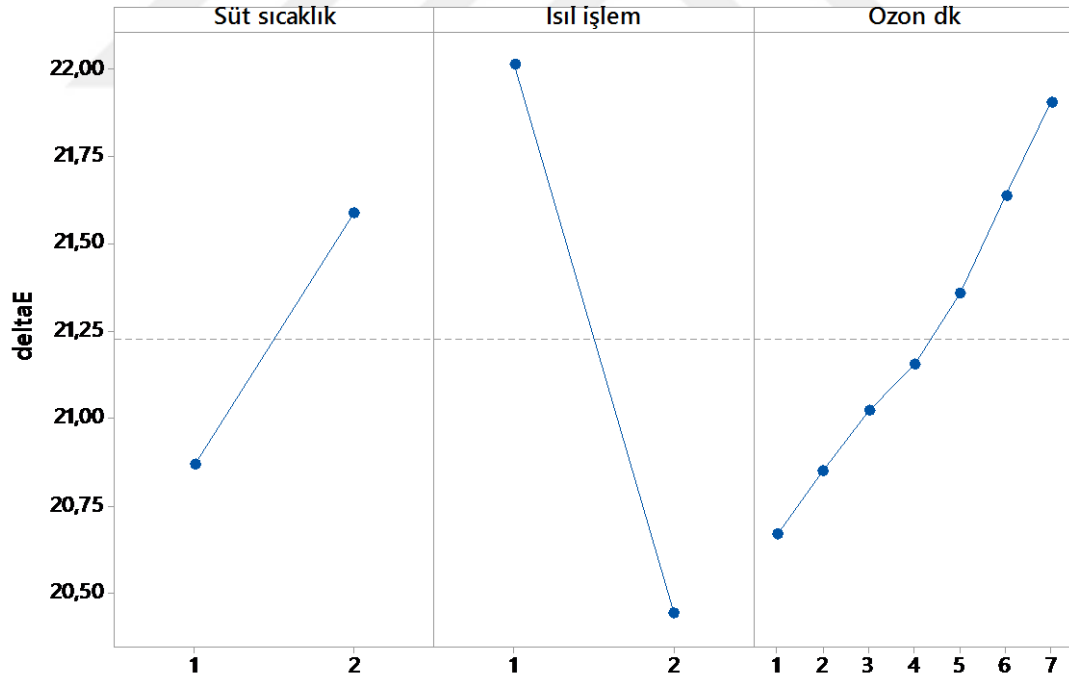
Eskandari ve ark., (2017)’nin ozonlama işleminin sütteki mikrobiyal yükü olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; süt örnekleri artan sürelerde ozonlama işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlem basamaklarında renk değerleri ölçümü de yapılmıştır. Çalışma sonunda ozonlama işleminin uygulandığı süre uzadıkça süütün L^* değeri önemli ölçüde artarken b^* değerinin düşüş gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.8. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin delta E (ΔE) değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Süt sıcaklık (A)	1	7.308	862.49*
Isıl işlem (B)	1	34.556	4078.23*
Ozon dk (C)	6	1.526	180.10*
A x B	1	34.305	4048.62*
A x C	6	1.923	227.00*
B x C	6	3.496	412.63*
A x B x C	6	1.388	163.83*
Hata	28	0.008	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns: istatistiki açıdan önemsiz.

Şekil 4.5. Koyun sütlerinin delta E (ΔE) değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi



4.6. Koyun Sütlerinin Viskozite Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma

Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin viskozite değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Varyans analiz tablosuna göre; süt sıcaklığı-ısıl işlem, süt sıcaklığı-ozonlama, ısıl işlem-ozonlama ve bu üç uygulamanın korelasyonu istatistiki olarak önemli sonuçlar ortaya koymuştur. Koyun sütlerinin viskozite değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi ise Şekil 6'da yer almaktadır.

Tukey testine göre; örneklerin sıcaklığı 4-6 °C'den 22-25 °C'ye çıkarıldığında 1,36 cp olan viskozite değeri 1,62 cp'e yükselmiştir. Ozonlama ile birlikte ısıl işlem uygulaması ile tek başına ozonlama işlemi karşısında viskozitede değişim meydana gelmemiştir. Elde edilen değer her ikisinde de 1,49 cp olmuştur. Ozonlamanın 0. ve 1. dakika verileri ile 5. ve 10.dakika verileri kendi aralarında istatistiksel fark yaratmazken; 30, 45 ve 60.dakika verilerinde artış gözlenmiştir. 1.57 cp ile 60. dakika verisi, ozonlama uygulamasının en yüksek değeri olmuştur. Artış gözlenen dakikaların artış oranları incelendiğinde; 10-30. dakika arası artış % 2.7, 30-45. dakika arası artış % 4 ve 45-60. dakika arası artış ise % 2.6 miktarında olmuştur.

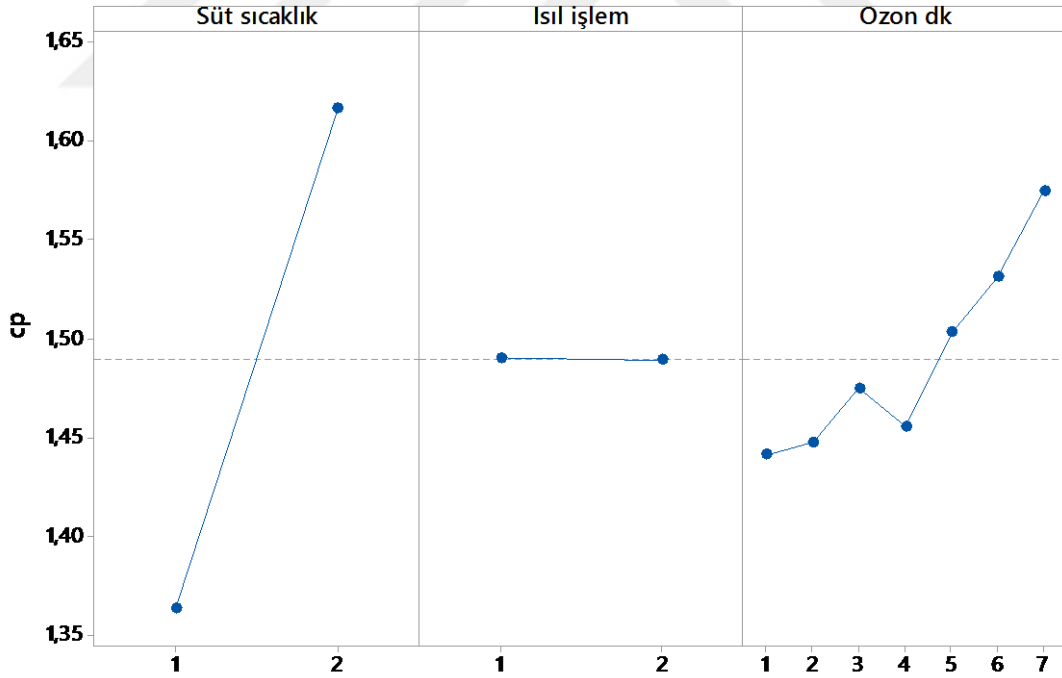
Elde edilen verilerin grafiksel boyutunun yer aldığı Şekil 4.6'ya göre; iki sıcaklık normu doğrusal bir grafik çizerken, ısıl işlemin ozonlamaya dahil edilmesi sabit bir şekil ortaya koymuştur. Ozonlama ise verilerin değişiminin tek yönde olmaması sebebiyle inişli çıkışlı bir şekil oluşturmuştur.

Çizelge 4.9. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin viskozite (mPas) değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Süt sıcaklık (A)	1	0.894	7688.85*
Isıl işlem (B)	1	0.000	0.09 ^{ns}
Ozon dk (C)	6	0.019	167.34*
A x B	1	0.098	846.61*
A x C	6	0.001	6.03*
B x C	6	0.001	7.59*
A x B x C	6	0.003	28.16*
Hata	28	0.000	

* p<0.05 , ** p<0.01, ns:istatistiki açıdan önemsiz.

Şekil 4.6. Koyun sütlerinin viskozite (mPas) değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi



4.7. Koyun Sütlerinin Uniformluk Değerlerine Ait Sonuçlar ve Tartışma

Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin uniformluk değerlerine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Varyans analiz tablosuna göre; süt sıcaklığı-ısıtıl işlem, süt sıcaklığı-ozonlama, ısıtıl işlem-ozonlama ve bu üç uygulamanın korelasyonu istatistiki olarak önemli sonuçlar ortaya koymamıştır.

Koyun sütlerinin uniformluk değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıtıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi ise Şekil 7'de gösterilmiştir. Tukey testi verileri ile birlikte incelendiğinde düşük sıcaklıkta bulunan koyun sütü örneklerinin uniformluk değerinin önem arz etmediği, 22-25 °C sıcaklıkta ise değer 0.378 olduğu görülmektedir. Yalnızca ozonlama işleminin uygulanması sonrasında elde edilen değer de istatistiki açıdan önemsiz olduğu bulunmuştur. Fakat ısıtıl işlemle birlikte uygulandığında, ozonlamanın etkisi 0,386 miktarında olmuştur. Süt içindeki bileşenlerin dağılımında, ozonlama işlemi, ısıtıl işlem gibi uygulamalar karşısında meydana gelen etkinin sonuçlarının yer aldığı şekil incelendiğinde; ozonlama işlemi bölümünde doğrusal bir grafiğin ortaya çıkmadığı görülmektedir.

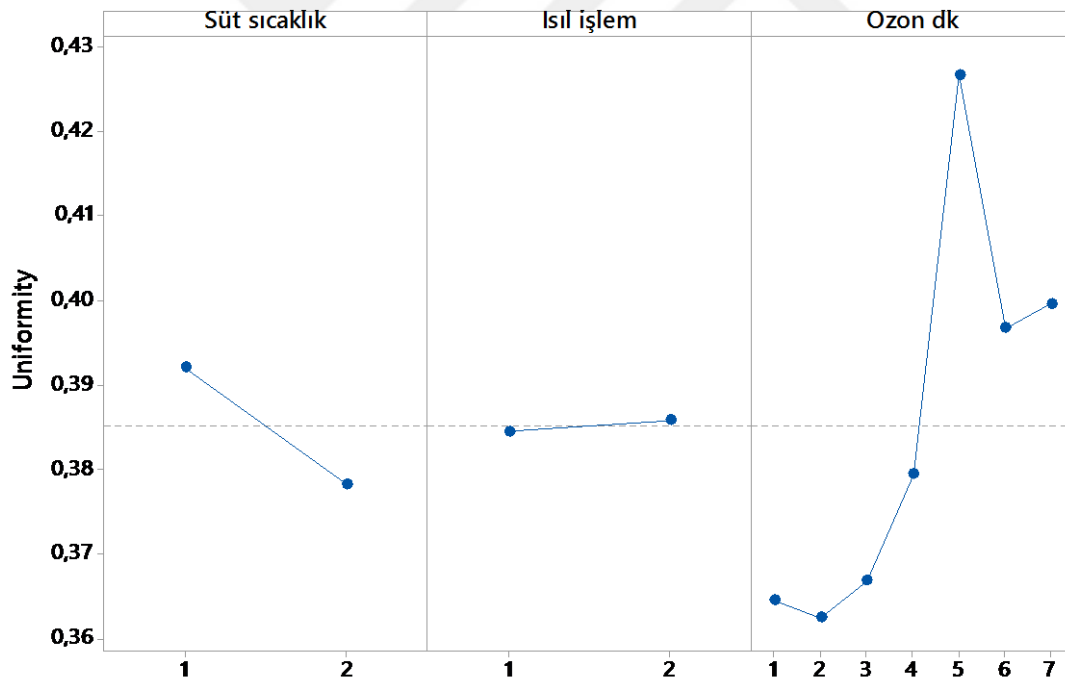
Uygulama süreleri karşısında verilerin değişimi teker teker ele alındığında, yine ozonlama işleminin 0.dakikasından elde edilen verinin istatistiksel olarak önemsiz kaldığı, süre artışıyla birlikte diğer verilerin istatistiki açıdan önem arz ettiği görülmektedir. Önemli olan bu değerler 0.362 ile 0.427 arasında değişkenlik göstermiştir. Ozonlamanın 30.dakikasına kadar değer artışı meydana gelmişken, 45. dakikada düşüş meydana gelmiştir. 60.dakikada yeniden yükselse de 30. dakika verisi olan 0.427'nin altında kalarak 0.400 verisi ölçülmüştür. Ozon uygulamasının 10., 30. ve 45. dakika verilerinin yüzdesel değişimi incelendiğinde; 10. dakika ile 30. dakika arasında % 12.6 artış görülürken; 30. dakika ile 45. dakika arasında % 7 düşüş gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. Ozon gazı uygulanmış koyun sütlerinin uniformluk değerlerine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Süt sıcaklık (A)	1	0.003	1.33 ^{ns}
Isıl işlem (B)	1	0.000	0.01 ^{ns}
Ozon dk (C)	6	0.005	2.24 ^{ns}
A x B	1	0.007	3.49 ^{ns}
A x C	6	0.002	0.92 ^{ns}
B x C	6	0.002	0.86 ^{ns}
A x B x C	6	0.002	1.04 ^{ns}
Hata	28	0.002	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ns: istatistikî açıdan önemsiz.

Şekil 4.7. Koyun sütlerinin uniformluk değerlerindeki değişime süt sıcaklığı, ısıl işlem ve ozon gazı uygulama süresinin etkisi



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu projede ozon gazı uygulanmış koyun sütü örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Süt örneklerinde ozonlama ve ısıtma işlemi uygulaması sonrası mikrobiyolojik analizler ile peroksit, laktik asit, somatik hücre sayısı, viskozite gibi kriterlerin analizi takip edilmiştir.

Çalışmada 4-6 °C'ye ve 22-25 °C'ye soğutulmuş koyun sütlerinin ortalama aflatoksin, hidrojen peroksit seviyesi ve mikrobiyolojik analiz sonuçları incelenmiştir. Her iki süt sıcaklığında yalnızca ozonlama işlemi karşısında aflatoksin, Staphylococcus, Koliform, Toplam mezofilik aerobik bakteri, maya-küf, Enterobacter sayısında önemli düşüşler gözlenmiştir. 4-6 °C'ye soğutulmuş sütlerin ozonlanması ile ilgili yapılan analizler sonucunda aflatoksin miktarı 6.65 ppt'den 5 ppt altına; Staphylococcus sayısı 5.12 log kob/g'dan 3.30 log kob/g'a; Koliform 6.28 log kob/g'dan 3.95 log kob/g'a; TMAB 6.23 log kob/g'dan 5.04 log kob/g'a; maya-küf 4.97 log kob/g'dan 4 log kob/g'a; Enterobacter 6.18 log kob/g'dan 4 log kob/g'a düşmüştür. Yine bu sıcaklıktaki süt örneklerine ozon-ısıtma işlemi uygulaması sonucunda aflatoksin miktarının yine 5 ppt altına düştüğü gözlenirken; mikroorganizma grupları tespit edilememiştir. Yalnızca Staphylococcus sayısında işlem süresinin 10. dakikasına kadar düşüş gözlenmiş, sonrasında diğer gruplarda olduğu gibi tespiti yapılamamıştır.

22-25 °C'ye soğutulmuş koyun sütlerine ozonlama ile birlikte uygulanan 65 °C'lik ısıtma işlemi sonrasında ise aflatoksin miktarı 6.32 ppt'den 5 ppt altına düşmüştür; mikroorganizma grupları arasında da yalnızca Staphylococcus tespiti yapılabilmektedir. Isıtma işleminin 0. dakikasında 4 log kob/g iken, 60. dakikasında 3 log kob/g'a düşmüştür. Hidrojen peroksit ise uygulamanın 30. ve 60. dakikasında tespit edilebilmiş, 60. dakikada 25 ppm miktarında kalıntı oluşturduğu belirlenmiştir.

Tukey testinde incelenen laktik asit verilerine bakıldığında; sayısal anlamda artış olduğu gözlenmektedir. Başlangıçta 0.165 olarak ölçülen laktik asit 60. dakikada 0.205 olarak ölçülmüştür. Koyun sütü örneklerinin pH'sı ise en asidik olarak 6.49 şeklinde; ozonlamanın 60. dakikasında ölçülmüştür. Ozonlamaya dahil edilen ısıtma işlemiyle birlikte ise 6.70 olan pH 6.64 olarak tespit edilmiştir. Somatik hücre sayısının uygulamalar karşısında etkinliği incelendiğinde önemli değişimler gözlenmektedir. Ozonlama işleminin başlangıç ile bitiş sayıları arasında artış açısından büyük bir fark gözlemlenmektedir. Canlı hücre sayısındaki bu artış; süt içerisindeki hücrelerin ozon tarafından parçalanmış olabileceği sonucunu ortaya

koymaktadır. Parçalanma sonucunda canlı hücrelerin çapı küçüleceğinden; süt işleme esnasında uygulanan seperasyonun etkinliğinin artacağı sonucuna ulaşılabilmektedir.

Yine Tukey testinde ΔE verileri incelendiğinde; yalnızca ozonlama işlemi sonrasında 60. dakikaya kadar renk kriterlerinin artış gösterdiği görülmektedir. Isıl işlemin etkisi ise renk kriterlerinin azalması yönünde olmuştur. Koyun sütü örneklerinin viskozitesinde ise; soğutulan sıcaklık dereceleri arasında farklılık yaratmıştır. 22-25°C'deki süt örnekleri viskozitesinde diğer sıcaklık derecesine göre artış gözlenirken; ozonlama işlemi karşısında süre artışına bağlı olarak azar azar da olsa artış meydana geldiği gözlenmiştir. Uniformity verilerine bakıldığında ozonlama işlemi süresinin artışına bağlı olarak elde edilen verilerin artış gösterdiği görülmüştür. Bu artıştan yola çıkılarak süt bileşenlerinin dağılımının artışıyla sütün homojenliğinin arttığı ve sütün daha tekdüze bir yapı kazandığı sonucuna ulaşılabilmektedir.

5.1. Öneriler

Elde edilen tüm bu verilerin sonucunda ozonlama işleminin mikroorganizma sayıları ve aflatoksin miktarı üzerinde etkili bir düşüşle sonuçlandığı; bu sebepten ötürü de ozonlamanın koruma yöntemi olarak süt nakliyesinde ön işlem gibi uygulanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca daha homojen bir süt yapısı nedeniyle sütün filtre edilme etkinliğini ozonlama işleminin artıracığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akan, E., Yerlikaya, O. ve Kınık Ö., 2014, Süt çeşitlerinin besin değerleri ve işleme teknolojilerine uygunluğu, *Süt Dünyası Dergisi*, 9, 48.
- Allen, B., Wu, J. and Doan, H., 2003, *Journal Environmental Science and Health*, 38 (5), 617-630.
- Altun, B., Besler, T. ve Ünal, S., 2002, Ankara’da satılan sütlerin değerlendirilmesi, *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 11 (2), 45-55. 21.
- Al-Wabel, N. A., 2008, Mineral contents of milk of cattle, camels, goats, and sheep in the central region of Saudi Arabia, *Asian Journal of Biochemistry*, 3, 373-5.
- Anonim, 2017a, Ozonun özellikleri, <http://www.airozon.com/ozon-o3/ozonun-ozellikleri.htm> (Erişim tarihi: 20.09.2017)
- Anonim, 2017b, Ozonun beyaz et sanayinde kullanımı, <http://www.fulyaturantas.com/Bilimsel/ozonbeyazet.doc> (Erişim tarihi: 20.09.2017).
- Anonim, 2017c, Ozone-Systems. Ozone benefits for dairy farmers, <http://www.puricare.co.za/UserFiles/Ozone%20Benefits%20for%20Dairy%20Farmers.pdf>. (Erişim tarihi: 21.09.2017).
- Anonim, 2017d, Ozon Sistemleri. Genel olarak endüstride ozon uygulamaları, <http://www.arokem.com/dezenfeksiyon-sistemleri/> (Erişim tarihi: 10.09.2017)
- Anonymous, 1981, Çiğ Süt Standardı. TS 1018. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Anık, A., 2007, İklimlendirme Sistemlerinde Ozon Kullanımının İncelenmesi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 102 s, Ankara.
- Arıcı, M., 2006, Gıda muhafazasında yüksek hidrostatik basıncın mikroorganizmalar üzerine etkisi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(1), 41-49.
- Assalin, M. R., Almeida E. S., Rosa, M. A., Moraes, S. G. and Duran, N., 2004, Application of ozonation process in industrial wastewaters: textile, Kraft E1 and whey effluents. *Environmental Technology*, 25, 867-872.
- Balthazar, C. F., Conte Júnior, C. A., Moraes, J., Costa, M. P., Raices, R. S. L., Franco, R. M., Cruz, A. G. and Silva, A. C. O., 2016, Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin, *Journal of Dairy Science*, 4160-4168.
- Balthazar, C. F., Pimentel, T. C., Ferrão, L. L., Almada, C. N., Santillo, A., Albenzio, M., Mollakhalili N., Mortazavian, A. M., Nascimento, J. S., Silva, M. C., Freitas, M. Q., Sant’Ana, A. S., Granato, D. and Cruz, A. G., 2017, Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (2), 247-262.
- Baranovskaya, V. A., Zapol’skii, O. B., Ovrutskaya, I. Y., Obodovskaya, N. N., Pschenichnaya, E. E. and Yushkevich, O. I., 1979, Use of ozone gas sterilization during storage of potatoes and vegetables. *Konservn. Ovoshchesus. Promst’*, 4, 10-12.
- Barłowska, J., Szwajkowska, M., Litwińczuk, Z. and Król J., 2011, Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 (6), 291-302.
- Barth, M. M., Zhou, C., Mercier, M., and Payne, F. A., 1995, Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries, *Journal of Food Science*, 60, 1286-1287.
- Bayraktaroğlu, G., Obuz, E., 2006, Ultrasound Yönteminin İlkeleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Bazarova, V. I., 1982, Use of ozone in storage of apples. *Food Science and Technology*, 14, 11, J1653.
- Besler, H., Ünal, S., 2006, Ankara’da Satılan Sokak Sütlerinin Bazı Vitaminler Açısından değerlendirilmesi ve Ev Koşullarında Uygulanan Kaynatmanın Süreye Bağlı Olarak Vitaminlere Olan Etkisi. IV Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi.

- Bhattacharya, S., 2014, *Conventional and Advanced Food Processing Technologies*, John Wiley & Sons, Ltd, Birleşmiş Milletler, s. 636.
- Boci, V., 2004, Ozone as Janus: This Controversial Gas can be Either Toxic or Medically Useful. *Mediators Inflammation*, 13 (1), 3-11.
- Bornaz, S., Sahli, A. L. I., Attalah, A., Attia, H., 2009, Physicochemical characteristics and rennet in properties of camels' milk: a comparison with goats', ewes' and cows' milks, *International Journal Dairy Technology*, 62(4), 505-13.
- Castro, A. J., Swanson, B. G., Barbosa-Cánovas, G. V., Zhang, Q. H., 2001, Pulsed electric field modification of milk alkaline phosphatase activity. In G.V.Barbosa-Cánovas, Q.H. Zhang (Eds.), *Pulsed electric fields in food processing. Fundamental aspects and applications*. Technomic Publishing Company Inc. Lancaster, PA.s.65-82.
- Cavalcante, M. A., ve ark.,2013, Improvement of the raw milk microbiological quality by ozone treatment. *International Food Research Journal*, 20 (4), 2017-2021.
- Chawla, R., Patil, G. and Singh, A., 2011, High hydrostatic pressure technology in dairy processing. *Journal of Food Science and Technology*, 48(3), 260-268.
- Coimbra, J. S. R. and Teixeira J. A., 2010, *Engineering Aspects of Milk and Dairy Products*, CRC Press.
- Cameron, M., McMaster, L. D. and Britz, T. J., 2009, Impact of ultrasound on dairy spoilage microbes and milk components, *Dairy Science Technology*, 83-98.
- Chandan, R. C., Attaie, R and Shahani, K. M., 1992, Nutritional aspects of goat milk and its products. In: *Proceedings of the V International Conference on Goats*, 2. cilt: 2.kısım, Yeni Delhi, Hindistan. 399-420.
- Cullen, P. J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P., O'Donnell, C. P., 2010, Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science and Engineering*, 32, 166-179.
- Corrêa, A. P. F., Daroit, D. J., Velho, R.V. and Brandelli, A., 2011, Hydrolytic potential of a psychrotrophic *Pseudomonas* isolated from refrigerated raw milk, *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4), 1479-1484.t
- Couto, E. P., Alencar, E. R., Gonçalves, V. S. P., Santos, A. J. P., Ribeiro, J. L. and Ferreira, M. A., 2016, Effect of ozonation on the *Staphylococcus aureus* inoculated in milk. *Semina: Ciências Agrárias*, 37 (4).
- Cullen, P. J and Norton, T., 2012, Ozone sanitisation in the food industry. In *Ozone in Food Processing*, s.163–176. O'Donnell C, Tiwari B K, Cullen P.J. ve Rice R. G., eds. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Çağlaroğlu, Ç., 2011, Farklı Seviyelerde Ozon Kullanımının Erzurum İli İçme Suyunun Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 62s, Erzurum
- Çatal, H. ve İbanoğlu, Ş., 2010, Gıdaların ozonlanması, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 47-55.
- Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. 14.02.2000-23964 nolu Resmi Gazete. 2000/6 Nolu Tebliğ.
- Çubuk, A. 1997, Ankara Piyasasında Tüketime Sunulan Süt ve Yoğurtların, Protein, Yağ, Kurumadde, Asitlik ve Kül Derecelerinin Saptanması. Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Demir, M. K, Elgün, A ve Elgün M. S., 2011, Farklı tip unlara ozon uygulamasının un, hamur ve ekmek kalitesi üzerine etkisi, *Gıda*, 36, 209-216.
- Devlieghere, F., Vermeiren, L. and Debevere, J., 2004, New preservation technologies: Possibilities and limitations, *International Dairy Journal*, 14, 273-285.
- Dolci, P., Alessandria, V., Rantsiou, K., Rolle, L., Zeppa, G. and Cocolin, L., 2007, Microbial Dynamics of Castelmagno PDO, a Traditional Italian Cheese, With a Focus on Lactic Acid Bacteria Ecology, *International Journal of Food Microbiology*, 122, 302-311.
- Drgalić, I. and Tratnik L., 2004, Application and effects of microfiltration in the dairy industry, *Journal for Dairy Production and Processing Improvement*, 54 (3).

- Ekici, L., Sağdıç, O. ve Kesmen, Z., 2006, Gıda endüstrisinde alternatif bir dezenfektan: Ozon. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 47-57.
- Engin, B., Güneşer, O., ve Karagül-Yüceer, Y., 2009, Ultraviyole ışınlarının sütün mikrobiyel özellikleri üzerine etkisi, *Gıda*, 34 (5), 303-308.
- Erkmen, O., 2010, Gıda Mikrobiyolojisi. Efil Yayınevi, 1. Basım. Yayın No: 42: 337-340.
- Felows, P., 2000, Processing using electric fields, high hydrostatic pressure, light or ultrasound. Food Processing Technology Principle and Practice. CRC Pres, Boca Raton Boston NY Washington, DC.
- Foglietta, F., Serpe, L., Canaparo, R., Vivenza, N., Riccio, G., Imbalzano, E., Gasco, P. and Zara, G. P. 2014, Modulation of butyrate anticancer activity by solid lipid nanoparticle delivery: an in vitro investigation on human breast cancer and leukemia cell lines, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 17, 231-47.
- Franck, A., 2002, Technological functionality of inulin and oligofructose, *The British Journal of Nutrition*, 87, S287-91.
- Fukuzaki, S., 2006, The use of gaseous ozone as a cleaning agent on stainless steel surfaces fouled with bovine protein, *Ozone: Science and Engineering*, 28, 303-308.
- Gabriel'yants' M. A., Teplova, L. N., Karpova, T. I., Kozlova, R. A., and Makarova, G. F., 1980, Storage of hard rennet cheeses in cold stores with ozonization of air, *Kholodil'naya Tekhnika*, 5, 35-37.
- Gaucheron, F., 2005, The minerals of milk, *Reproduction Nutrition Development*, 45, 473-83.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., Omar, N. B., 2007, Bacteriocin-based strategies for food biopreservation, *International Journal of Food Microbiology*, 120, 51-70.
- Gorman, B. M., Sofos, J. N., Morgan, J. B., Schmidt, G. R. and Smith, G. C., 1995, Evaluation of hand-trimming, various sanitizing agents, and hot water spray-washing as decontamination interventions for beef brisket adipose tissue, *Journal of Food Protection*, 58, 899-907.
- Greene, A. K., Few, B. K. and Serafini, J. C., 1993, A comparison of ozonation and chlorination for the disinfection of stainless steel surfaces, *Journal of Dairy Science*, 76, 3617-3620.
- Greene, A. K., Smith, G. W. and Knight, C. S., 1999, Ozone in dairy chilling water systems: effect on metal materials, *International Journal of Dairy Technology*, 52, 126-128.
- Gueguen, L. and Pointillart, A., 2000, The bioavailability of dietary calcium, *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 119S-136S.
- Guo, H. Y., Pang, K., Zhang, X. Y., Zhao, L., Chen, S. W., Dong, M. L. and Ren, F. Z., 2007, Composition, physicochemical properties, nitrogen fraction distribution and amino acid profile of donkey milk, *Journal Dairy Science*, 90(4), 1635-43.
- Guzel-Seydim, Z. B., Wyffels, J. T., Greene, A. K. and Bodine, A. B., 2000, Removal of dairy soil from heated stainless steel surfaces: use of ozonated water as a pre-rinse, *Journal of Dairy Science*, 83, 1887-1891.
- Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K. and Seydim, A. C., 2004, Use of ozone in the food industry, *LWT - Food Science and Technology*, 37, 453-460.
- Haenlein, G. F. W., 2001, The nutritional value of sheep milk, *International Journal Animal Science*, 16, 253-268.
- Hanamant, P.S. and Bansilal, G. M., 2010, Studies on proteolytic and lipolytic psychrotrophic pseudomonas species in milk and fermented milk products, *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 4(2), 761-766.
- Heacox, D., 2013, Use and generation of ozone as a disinfectant of dairy animal tissues, dairy equipment, and infrastructure. Patent No: US 8609120B2.
- Hickey, C. D., Sheehan, J. J., Wilkinson, M. G., Auty, M. A. E., 2015, Growth and location of bacterial colonies within dairy foods using microscopy techniques: a review, *Food Microbiology*, 99, 1-8.

- Hinrichs, J., Rademacher, B. and Kessler, H. G., 1996, Food processing of milk products with ultrahigh pressure. Heat treatments and alternative methods: International Dairy Federation (IDF) Symposium. s. 185-201. 6-8 September.
- Horvath, M., Bilitzky, L. and Huttner J., 1985, Fields of utilization of ozone, 257-316.
- Hunt, N.K., Mariñas B.J., 1997. Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone. *Water Research*, 31:1355-1362
- International Dairy Federation, 1993. Milk. Determination of Nitrogen Content (FIL-IDF Standard 20B). Brussels: IDF.
- Jaksch, D., Margesin, R., Mikoviny, T., Skalny, J. D., Hargunten, E., Schinner, F., Mason, N. J., Mark, T. D., 2004, The effect of ozone treatment on the microbial contamination of pork meat measured by detecting the emissions using PTR-MS and by enumeration of microorganisms, *International Journal of Mass Spectrometry*, 239, 209-214.
- Jurado-Alameda, E., Altmajer-Vaz, D., Garcia-Roman, M. and Jimenez-Perez, J. L., 2014, Study of heat-denatured whey protein removal from stainless steel surfaces in clean-in-place systems, *International Dairy Journal*, 38, 195-198.
- Jurado-Alameda, E., Garcia-Roman, M., Altmajer-Vaz, D. and Jimenez-Perez, J. S., 2012, Assessment of the use of ozone for cleaning fatty soils in the food industry, *Journal of Food Engineering*, 110, 44-52.
- Jooyandeh, H. and Aberoumand, A., 2010, Physico-chemical, nutritional, heat treatment effects and dairy products aspects of goat and sheep milks, *World Applied Science Journal*, 11, 1316-22.
- Kalyani Nair, K., Kharb, S. and Thompkinson, D. K., 2010, Inulin dietary fiber with functional and health attributes: a review, *Food Reviews International*, 26, 189-203.
- Kaminarides, S., Stamou, P. and Massouras, T., 2007, Comparison of the characteristics of set type yogurt made from ovine milk of different fat content, *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1019-1028
- Kandhai, M. C., Reij, M. W., Gorris, L. G. M., Guillaume-Gentil, O. and van Schothorst, M., 2004, Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households, *Lancet*, 363 39-40.
- Karaca, H., 2006, Meyve ve Sebze İşlemede Ozon Uygulamaları. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora semineri, 28 s, Ankara.
- Karaca, H., Velioglu, Y. S., 2007, Ozone applications in fruit and vegetable processing, *Food Reviews International*, 23, 91-106.
- Karimi, R., Azizi, M. H., Ghasemlou, M. and Vaziri, M., 2015, Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review, *Carbohydrate Polymers*, 119, 85-100.
- Kavas, N. ve Kavas G., 2012, Süt endüstrisinde aflatoksinler, *Dünya Gıda Dergisi*.
- Kehagias, C., Csapo, J., Konteles, S., Kolokitha, E., Koulouris, S. and Csapó-Kiss, Z., 2008, Support of growth and formation of D-amino acids by *Bifidobacterium longum* in cows', ewes', goats' milk and modified whey powder products, *International Dairy Journal*, 18, 396-402.
- Khadre, M. A., Yousef A. E. and Kim, J. G., 2001, Microbiological aspects of ozone applications in food: a review, *Journal of Food Science*, 66, 1242-1252.
- Khaskheli, M, Arain, M. A., Chaudhry, S., Soomro, A. H. and Quereshi, T. A., 2005, Physico-chemical quality of camel milk, *Journal of Agricultural and Social Science*, 1, 164-6.
- Kim J.G., Yousef A.E., Dave S. 1999. Application of Ozone for Enhancing the Microbiological Safety and Quality of Foods: A Review. *Journal of Food Protection*, 62: 1071-1087
- Köseoğlu, V. 2007. Model Sistemlerde Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Patojenler Üzerine Antibakteriyal Etkilerinin İncelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kutlubay Z., Engin B., Serdaroğlu S., Tüzün Y. 2010. Dermatolojide Ozon Tedavisi, *Dermatoz*, 1(4): 209-216.

- László Z., Kertész S., Mlinkovics E. and Hodúr C., 2007. Dairy waste water treatment by combining ozonation and nanofiltration. *Separation Science and Technology*, 42 1627–1637.
- László Z., Kertész S., Beszédés S., Hovorka-Horváth Z., Szabó G. ve Hodúr C., 2009. Effect of preozonation on the filterability of model dairy waste water in nanofiltration. *Science Direct.Desalination* 240 170–177.
- Liepa M., Zagorska J., Galoburda R., 2016, High pressure processing as novel technology in dairy industry: a review, *Research for Rural Development*, 1.cilt.
- Mahapatra A.K., Muthukumarappan K., Julson J.L., 2005. Applications of ozone, bacteriocins and irradiation in food processing: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 447–461.
- Matak K.E., 2004. Effects of UV irradiation on the reduction of bacterial pathogens and chemical indicators of milk. *Food Science and Technology*. PhD dissertation. Virjinya. Polytechnic Institute and State University, Blackburg, Virjinya.
- Matak K.E., Sumner S.S., Duncan S.E., Hovingh E, Worobo R.W., Hackney C.R., Pierson M.D., 2007. [Effects of ultraviolet irradiation on chemical and sensory properties of goat milk](#), *Journal of Dairy Science*, 3178–3186
- Michalac S., Alvarez V., Ji T., Zhang Q.H. 2003. Inactivation of selected microorganisms and properties of pulsed electric field processed milk. *Journal of Food Processing Preservation*, (27):137- 151.
- Meira S.M.M., Daroit D.J., Helfer V.E., Correa A.P.F., Segalin J., Carro S., Brandelli A. 2012. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Research International* 48:322–9
- Metin, M. Süt Teknolojisi. Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. 4. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 2001, s: 1-21. 19.
- Moatsou G., Samolada M., Katsabeki A., Anifantakis E. 2004. Casein fraction of ovine milk from indigenous Grek breeds. *Le Lait*, 84(3): 285–296.
- Marquenie D., Lammetyn J., Geeraerd A.H., Soontjens C., Van Impre J.F., Nicolai B.M., Michels C.W. 2002. Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. *International Journal of Food Microbiology*. 74: 27–35.
- Meyer D., Bayarri S., Tarrega A., Costell E. 2011. Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocoll* 25:1881–90.
- Mohammadi H., Mazloomi S. M., Eskandari M.,H., Aminlari M. ve Niakousari M., 2017. The effect of ozone on aflatoxin M1, oxidative stability, carotenoid content and the microbial count of milk, *Ozone: Science & Engineering*, DOI: 10.1080/01919512.2017.1329647
- Molik E., Bonczar G., Misztal T., Żebrowska A. ve Zięba D., 2012., The effect of the photoperiod and exogenous melatonin on the protein content in sheep milk, *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 12.bölüm.
- Moraes, P. M., Viçosa, G. N., Yamazi, A. K., Ortolani, M. B. T. ve Nero, L. A. 2009. Foodborne pathogens and microbiological characteristics of raw milk soft cheese produced and on retail sale in Brazil. *Foodborne Pathogens and Disease* 6(2): 245-249.
- Mucchetti, G., Remagni, C.M., Ghiglietti, R., Locci, F., Barzaghi, S., Francolino, S., Perrone, A., Rubiloni, A., Campo, P., Gatti, M., Carminati, D., 2008. Influence of Cheese-Making Technology on Composition and Microbiological Characteristics of Vastedda Cheese. *Food Control*, 19, 119-125.
- O'Donnell C., Tiwari B. K., Cullen P. J. ve Rice R. G., 2012. Status and trends of ozone in food processing. *In Ozone in Food Processing*, s.1–6.
- Ogata A., Nagahata H., 2000. Intramammary Application of Ozone Therapy to Acute Clinical Mastitis in Dairy Cows, *Journal of Veterinary Medical Science*. 62(7): 681-686.
- Okayama T., Iwanaga S., Mitsui Y., Isayama T., Houzouji T., Muguruma M. 2002. Effect of ozone treatment on metmyoglobin formation and lipid oxidation on beef, 48th International Congress of Meat Science and Technology, Roma, 1.cilt.
- Oliveira, C. J. B., Lopes Júnior, W.D., Queiroga, R. C. R. E., Givisiez, P. E. N., Azevedo, P. S., Pereira, W. E. and Gebreyes, W. A. 2011. Risk factors associated with selected indicators of milk quality in semiarid northeastern Brazil. *Journal of Dairy Science* 94(6): 3166-3175.

- Ordoñez, J. A., Sanz, B., Hernandez, P. E. and Lopez-Lorenzo, P., 1984. A note on the effect of combined ultrasonic and heat treatments on the survival of thermotolerant streptococci. *Journal of Applied Bacteriology*, 56:175-177
- Özcan A. Ö., Aran N., 2003. Laktik asit bakterilerinin gıda muhafazasında koruyucu kültür olarak kullanımları. *Gıda Teknolojisi*: 60–64.
- Özcan T., Kurtuldu O., 2011. Sütün Raf Ömrünün Uzatılmasında Alternatif Yöntemler, *Uludağ Üni. Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 25, Say. 1, 119-129 (Journal of Agricultural Faculty of Uludağ University).
- Özkütük N., 2005. Mikrodalga ve ultraviyole ile dezenfeksiyon uygulamaları, kullanım alanları genel özellikleri. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi Bildiriler Kitabı, Samsun, s. 338-343.
- Packyam G.S., Kavitha S., Kumar S. A., Kaliappan S., Yeom I. T. ve Banu J. R., 2015. Effect of sonically induced deflocculation on the efficiency of ozone mediated partial sludge disintegration for improved production of biogas. *Ultrasonics Sonochemistry* 26, 241–248.
- Papadimitriou C.G., Vafopoulou-Mastrojiannaki A., Silva S.V., Gomes A.M., Malcata F.X., Alichanidis E. 2007. Identification of peptides in traditional and probiotic sheep milk yoghurt with angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. *Food Chemistry* 105:647–56.
- Pascual A., Llorca I. ve Canut A., 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science and Technology* 18 S29–S35.
- Park Y.W., Juárez M., Ramos M., Haenlein G.F.W., 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk, *The official journal of the international goat association*, 68.cilt, 1-2. baskı, s. 88–113.
- Patil S. ve Bourke P., 2012. Ozone processing of fluid foods. *In Novel Thermal and Non Thermal Technologies for Fluid Foods*, s. 225–261.
- Pedras M. M., Pinho, C. R. G., Tribst, A. A. L., Franchi, M. A. ve Cristianini, M. 2012. The effect of high pressure homogenization on microorganisms in milk. *International Food Research Journal* 19(1): 1-5.
- Pelletier N. 2008. Environmental performance in the US broiler poultry sector: Life cycle energy use and greenhouse gas, ozone depleting, acidifying and eutrophying emissions. *Agricultural Systems* 98: 67–73.
- Pinho, O., Mendes E., Alves, M.M., Ferreira, I.M.P.L.V.O., (2004). Chemical, Physica and Sensorial Characteristics of “Terrincho” Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison, *Journal of Dairy Science*, 87, 249-257.
- Piyasena P., Mohareb E., McKellar R.C., 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, (87):207– 216.
- Politis I., Theodorou G., 2016. Angiotensin I-converting (ACE)-inhibitory and antiinflammatory properties of commercially available Greek yoghurt made from bovine or ovine milk: a comparative study. *Int Dairy J* 58: 46–9
- Prat R., Nofre C. ve Cier A., 1968. Effects de l’hypochlorite de sodium, de l’ozone et des radiations ionisantes sur les constituants pyrimidiques d’*Escherichia coli*. *Ann. Inst. Pasteur Paris* 114:595–607.
- Psoni, L., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., 2003. Microbiological Characteristics of Batzos, A Traditional Grek Cheese From Raw Goat’s Milk, *Food Microbiology*, 20, 575-582.
- Qin B, Pothakamury U, Vega H, Martin O, Barbosa-Cánovas GV, Swanson B. 1995. Food pasteurization using high intensity pulsed electric fields. *Food Technology*, 49(12): 55-60
- Rad S. J. ve Lewis M. J. 2014. Water utilisation, energy utilisation and waste water management in the dairy industry: a review. *International Journal of Dairy Technology* 67 1–20.
- Rasmussen N., Andersen J.H., Jespersen H., Mouritsen O.G., Ditzel H.J., 2010. Effect of free fatty acids and lysolipids on cellular uptake of doxorubicin in human breast cancer cell lines. *Anticancer Drugs* 21:674–7
- Recio I., Fuente M. A., Juárez M., Ramos M., 2009. Bioactive Components in Sheep Milk. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*, s.83 – 104.

- Restaino, L.; Framptom, E. W.; Hemphill, J. B.; Palnikar, P., 1995 Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 61, n. 9, s. 3471-3475.
- Revilla I., Escuredo O., Palacios C., 2017. Fatty acids and fat-soluble vitamins in ewe's milk predicted by near infrared reflectance spectroscopy. Determination of seasonality. *Food chemistry*, s. 468-477
- Rasmussen N, Andersen JH, Jespersen H, Mouritsen OG, Ditzel HJ. 2010. Effect of free fatty acids and lysolipids on cellular uptake of doxorubicin in human breast cancer cell lines. *Anticancer Drugs* 21:674-7.
- Rice R. G., Robson C. M., Miller G. W., Hill A. G., 1981. Uses of Ozone in Drinking Water Treatment. *Journal of the American Water Works Association*, 73 (1): 44-57.
- Saboya, L., Maubois, J.L, 2000. Current developments of microfiltration in dairy industry. *Le Lait* 80 (2000) 541-553.
- Sampedro F., Rodrigo F., 2015. Pulsed electric fields processing of milk and dairy products, *Emerging Dairy Processing Technologies*, pp.115-148
- Scott, D. B. M. 1975. The effect of ozone on nucleic acids and their derivatives, p. 226-240. In W. J. Blogoslawski and R. G. Rice (ed.), *Aquatic applications of ozone*. International Ozone Institute, Syracuse, N.Y.
- Segat A, Biasutti M, Iacumin L, Comi G, Baruzzi F, Carboni C and Innocente N (2014a) Use of ozone in production chain of high moisture Mozzarella cheese. *LWT - Food Science and Technology* 55 513-520.
- Sepulveda D, Góngora-Nieto M, Guerrero-Beltrán J, Barbosa-Cánovas G.V. 2003. Extension of milk shelf-life by a hurdle combination of pulsed electric fields and a mild thermal treatment. Institute of Food Technologists, Annual Meeting, Book of Abstracts, s. 92C-6.
- Sevilgen Ö. 2009. Ozon, Klor ve Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Pazıda Klorofil Miktarı Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 75s, Ankara.
- Shah NNAK, Rahman RA, Chuan LT, 2011, *Journal of food process engineering*, Vol 34, Issue 6, p.2220-2232
- Sheelamary, M.; Muthukumar, M., 2011. Effectiveness of ozone in inactivating *Listeria monocytogenes* from milk samples. *World Journal Young Researchers*, Coimbatore, v. 1, n. 3, p. 40-44.
- Stivarius M.R, Pohlman F.W, Mc Elyea Ks Apple J.K. 2002. Microbial, instrumental color and odor characteristics of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. *Meat Science*, 60 : 299
- Tamime A.Y., Wszolek M, Božanić R., Özer B. Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Res.* 2011;101:2-16
- Temiz H., Tarakçı Z., Aykut U., 2008, Süt ve Ürünlerinde Mikroorganizmaları Azaltmada Alternatif Yöntemler, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum
- Tiwari B.K, Muthukumarappan K, O'Donnell C.P, Cullen P.J. 2008. Modelling colour degradation of Orange Juice by Ozone Treatment Using Response Surface Methodology. *J. Food Eng.*, 88: 553-560.
- Tiwari B.K, O' Donnell C.P, Brunton N.P, Cullen P.J. 2009. Degradation kinetics of tomato juice quality parameters by ozonation', *Int. J. Food Sci. Technol.*, 44: 1199-1205.
- Torlak E and Sert D (2013) Inactivation of Cronobacter by gaseous ozone in milk powders with different fat contents. *International Dairy Journal* 32 121-125.
- TSE, 1971. TS 1018 Çiğ Süt Standartı, Pp:9.
- Uzun H, Ibanoglu E, Catal H and Ibanoglu S (2012) Effects of ozone on functional properties of proteins. *Food Chemistry* 134 647-654.
- Uzun S. 2011. Su Kalitesinin İyileştirilmesinde Ozon Kullanımı ve Kimyasal Etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68 (2): 105-113.
- Varga L., Szigeti J., 2016. Use of ozone in the dairy industry: A review. *International Journal of Dairy Technology* 69(2):157-168

- Yetişmeyen A., Yıldız F., 24-26 Mayıs 2006. Süt Endüstrisinde Mikrofiltrasyonun Kullanımı, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Yıldız D. 2011. Ozon Uygulanan Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Balıklarının +4±2 °C’de Depolanması Sırasında Kalitesinde Meydana Gelen Değişimler ve Raf Ömrünün Tespiti. Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 78s, Muğla.
- Yuan G.F, Chen X.E, Li D. 2014. Conjugated linolenic acids and their bioactivities: a review. *Food Funct* 25:1360–8.
- Walstra P, et al. Chapter 2: Milk Components; 71-91, Chapter 6: Heat Treatment; 189-244. 20. *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes*. 1999, New York.
- Whistler, P. E., and B. W. Sheldon. 1989. Biocidal activity of ozone versus formaldehyde against poultry pathogens inoculated in a prototype setter. *Poult. Sci.* 68:1068–1073.
- Wijesinha-Bettoni R, Burlingame B. 2013. Milk and dairy product composition. In: Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D, editors. Milk and dairy products in human nutrition. Rome, Italy: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Wu J., Doan H. and Cuenca M.A; 2006, *Journal of chemical technology and biotechnology* 81(7),p. 1288-1293.
- Zicarelli L. 2004. Buffalo milk: its properties, dairy yield and mozzarella production. *Vet. Res. Commun.* 28: 127–35.

ÖZGEÇMİŞ

ÖĞRENCİNİN KİMLİĞİ			
Adı ve Soyadı	Unvanı	Görevi	Doğum Yeri ve Yılı
ECE ÇAKIR	Gıda Teknolojisi Öğretmeni	Öğretmen	Mut/1990
Öğrenci Numarası	148203011001		
Çalıştığı Kurum	Ortahisar İlçe Milli Eğitim Müdürlüğü-TRABZON		
Yazışma Adresi	Söğütlü Mah. Evren Cad. Emine Hanım Apt. Kat:5 Daire:18 Akçaabat/TRABZON		
Öğrenim Gördüğü Kurum	Yıl	Uzmanlık Alanı	
Lisans:	2008-2012	Gıda Mühendisliği	
Yüksek Lisans:	2014-	Gıda Mühendisliği	
Doktora:			