

J Food Health Sci

Vol. 2 Issue 1 2016

E-ISSN 2149-0473

**Journal of
Food and Health Science**



**ScientificWebJournals
(SWJ)**

Journal of Food and Health Science

E- ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

© 2015-2016 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

is published in one volume of four issues per year by

www.ScientificWebJournals.com

Contact e-mail: jfhs@scientificwebjournals.com and ozkanozden@scientificwebjournals.com

Aims and Scope

“Journal of Food and Health Science” publishes peer-reviewed articles covering all aspects of **Food and Health science** in the form of review articles, original articles, and short communications. Peer-reviewed open access journal publishes articles in **English** or **Turkish** language.

General topics for publication include, but are not limited to the following fields:

- Food Science/Technology
- Food Chemistry/Microbiology
- Food Packaging/Packaging Materials/Migration
- Food Safety/Hygiene/Quality Assurance/Control
- Hazard/Risk Detection/Analysis/Management/Manufacturing Practices
- Genetically Modified Food
- Functional Foods/Dietary Supplements/
- Nutrition and Child Development/ Nutrition in Pregnancy/ Nutrition and Age/ Nutrition and Cancer/Nutrition and Chronic Diseases /
- Food Allergen/Chemical Contaminants
- Population and Demographic transitions in Nutrition/Social Determinants of Nutrition
- Nutrient Data/Bioavailability/Trace Elements/
- Human Nutrition and Health Sciences/Epidemiology/Micronutrients
- Energy/Metabolism/Physical Activity/Exercise/Sport Nutrition
- Public Health/Diet Selection/Obesity/Food Poisoning and Outbreaks/ Therapies/
- Public Health Governance/Food Security/Nutrition Policies
- Clinical Nutrition

Chief Editor:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Co Editor in Chief:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN,

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Cover Photo:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Editorial Board:

Prof. Dr. Haluk ANIL

University of Bristol, Faculty of Medical and Veterinary Sciences, England

Prof. Dr. Ali AYDIN

University of Istanbul, Faculty of Veterinary Medicine,
Food Hygiene and Technology Department, Turkey

Prof. Dr. Bhesh BHANDARI

University of Queensland, Faculty of Science, Australia

Prof. Dr. Cem ÇETİN

Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Turkey

Prof. Dr. Gürhan ÇİFTÇİOĞLU

University of Istanbul, Faculty of Veterinary Medicine,
Food Hygiene and Technology Department, Turkey

Prof. Dr. Frerk FELDHUSEN

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Rostock, Germany

Prof. Dr. Carsten HARMS

Applied Univ. Bremerhaven, Bremerhavener Institute of Biological Information Systems, Germany

Prof. Dr. Fahrettin GÖĞÜŞ

University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ

Istanbul Technical University, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Esra İBANOĞLU

University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Turkey

Prof. Dr. Herbert W. OCKERMAN

Ohio State University, Department of Animal and Food Sciences, USA

Prof. Dr. Ayşe Emel ÖNAL,
University of Istanbul, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Public Health, Turkey

Prof. Dr. Peter RASPOR
University of Primorska, Faculty of Health Sciences, Institute for Food, Nutrition and Health, Slovenia

Prof. Dr. Hamzah Mohd. SALLEH
International Islamic University Malaysia, Department of Biotechnology Engineering
Faculty of Engineering / International Institute for Halal Research & Training (INHART), Malaysia

Prof. Dr. Zdzislaw E. SIKORSKI
Gdańsk University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Food Chemistry,
Technology, and Biotechnology, Poland

Prof. Dr. Krzysztof SURÓWKA
University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Poland

Prof. Dr. Muhittin TAYFUR
University of Başkent, Faculty of Health Sciences, Turkey

Prof. Dr. Aydın YAPAR
University of Pamukkale, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Turkey

Prof. Dr. Hasan YETİM
University of Erciyes, Department of Food Engineering, Turkey

Assoc. Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR
University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Engineering and Architecture,
Department of Food Engineering, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Joko Nugroho Wahyu KARYADI
Gadjah Mada University, Faculty of Agricultural Technology, Indonesia

Assoc. Prof. Dr. Abdullah ÖKSÜZ
University of Necmettin Erbakan, Faculty of Health Sciences, Turkey

Dr. Alaa El-Din A. BEKHIT
University of Otago, Department of Food Science, New Zealand

Dr. Rene' E SCOTT
Texas Woman's University, Nutrition and Food Science, Visiting Professor, USA

Journal of Food and Health Science

E-ISSN 2149-0473

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

© 2015-2016 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

Vol. 2 Issue 1 Page 1-56 (2016)

Contents/İçerik

KURUTMA VE HAŞLAMA İŞLEMLERİNİN *Holothuria forskali* (Delle Chiaje, 1823)'NİN BESİN BİLEŞENLERİNE ETKİSİ
(The Effects of Drying & Boiling Process On Nutritional Components of *Holothuria forskali* (Delle Chiaje, 1823))

Şengül Bilgin, Levent İzci

pp. 1-8

DOI: 10.3153/JFHS16001

ISO 22000 GIDA GÜVENLİĞİ YÖNETİM SİSTEMİ
(ISO 22000 Food Safety Management System)

Burhan Başaran

pp. 9-26

DOI: 10.3153/JFHS16002

HIGH HYDROSTATIC PRESSURE TREATMENT OF FRUIT, FRUIT PRODUCTS AND FRUIT JUICES: A REVIEW ON PHENOLIC COMPOUNDS

Müzeyyen Berkel Kaşıkçı, Neriman Bağdatlıoğlu

pp. 27-39

DOI: 10.3153/JFHS16003

OCCURRENCE OF *LISTERIA* SPECIES IN PROCESSING EQUIPMENTS, UNITS AND FROZEN FISH OF FISH PROCESSING FACTORIES

Berna Kılınc, Atife Tuba Beken

pp. 40-48

DOI: 10.3153/JFHS16004

BEHAVIOR OF *Escherichia coli* O157:H7 DURING THE RIPENING OF HERBY CHEESE MANUFACTURED FROM RAW MILK

Süleyman Alemdar, Sema Ağaoğlu

pp. 49-56

DOI: 10.3153/JFHS16005

ORIGINAL ARTICLE/ORİJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

KURUTMA VE HAŞLAMA İŞLEMLERİNİN *Holothuria forskali* (Delle Chiaje, 1823)'NİN BESİN BİLEŞENLERİNE ETKİSİ**Şengül BİLGİN, Levent İZCİ**

Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Doğu Kampüsü, Isparta /Türkiye

Received: 27.05.2015

Accepted: 14.10.2015

Published online: 20.10.2015

Corresponding author:

Şengül BİLGİN, Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Doğu Kampüsü Çünür / Isparta-Türkiye

E-mail: sengulb@gmail.com**Öz:**

Bu çalışmada Türkiye denizlerinde bulunan ve ekonomik olarak değerlendirilmeyen deniz hıyarı (*Holothuria forskali* Delle Chiaje, 1823) türünde haşlama ve kurutma işlemlerinin besin bileşenlerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma materyali İzmir Körfezi'nden temin edilmiştir. Besin analizleri sonucunda taze ve kurutulmuş örneklerin ham protein oranının sırasıyla % 11.99 ±0.185 – 60.92 ±0.124 aralığında, nem içeriğinin %86.93 ±0.140 – 10.33 ±0.040 aralığında ve ham yağ içeriklerinin oldukça düşük (% 0.256 ±0.208 – Taze) olduğu belirlenmiştir. İnorganik madde içeriği kuru örneklerde yüksek bulunmuştur. Taze, haşlanmış ve kurutulmuş örneklerin yağ asiti analizlerinde en yüksek çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) taze örneklerde bulunduğu saptanmıştır (%36.40 ±0.03). EPA (Eikosapentaenoik asit) + DHA (Dekosa hekza enoik asit) içeriğinin kurutma ve haşlama işlemlerinden önemli oranda etkilenmediği (P>0,05) tespit edilmiştir. Türkiye denizlerinde bulunan ancak ekonomik olarak değerlendirilmeyen *H.forskali* türünün protein oranı yüksek, yağ içeriğinin düşük olduğu, bu suretle beslenme açısından diyetetik bir gıda olarak değerlendirilebileceği, toplam yağ asitleri içerisinde en yüksek oranın uzun zincirli yağ asitleri (PUFA) değerine ait olduğu, dolayısıyla PUFA bakımından zengin bir tür olduğu, beslenme açısından önem arzeden temel yağ asitlerinin (EPA ve DHA) içeriklerinin yüksek olduğu ve uygulanan işleme yöntemlerinin bu bileşenleri önemli oranda etkilemediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deniz hıyarı, *Holothuria forskali*, Kurutma teknolojisi, besin bileşeni, yağ asidi

Abstract:**The Effects of Drying & Boiling Process On Nutritional Components of *Holothuria forskali* (Delle Chiaje, 1823)**

In this study, It was aimed to determine the effects of boiling and drying process to food components of *Holothuria forskali* (Della Chiaja, 1823), present in Turkish seas and not utilised economically. The material was obtained from Izmir Bay. It was determined that its crude protein content was 11.99 ±0.185 - 60.92 ±0.124 % , moisture content 86.93 ±0.140 - range of 10.33 ± 0.040 % and crude lipid content was very low fresh and dried samples. Inorganic matter content was higher in the dried sample. The level of polyunsaturated fatty acid (PUFA) was significantly higher in fresh samples than boiled and dried samples has been found in fresh samples (36.40% ± 0.03). EPA (Eicosapentaenoic acid) + DHA (Decosahexaenoic acid) were not affected significantly (P> 0.05) by the drying and boiling process. The protein content was high in *Holothuria forskali* (Della Chiaja, 1823) and having high in protein content, sea cucumber can be utilised as a protein source. It is also low in lipid content. Thus, sea cucumber can be evaluated as a dietetic food in terms of nutrition. Also it has high rate of long-chain fatty acids (PUFA) and rich in EPA and DHA. All applied processing methods were not effected the fatty acid components in significant rates in sea cucumber.

Keywords: Sea cucumber, *Holothuria forskali*, Drying, Food composition, Fatty acid

Giriş

Holothuria türleri deniz ekosistemlerinin anahtar görevini üstlenen canlılarındandır. Ekolojik olarak sedimenti karıştırma ve bu suretle besin sirkülasyonuna katılmaları yönüyle önemli canlılardır. 40'tan fazla ülkede en az 66 Holothuria türü avlanmakta ve Asya pazarlarına satılmaktadır (González-Wangüemert ve diğ., 2014). Deniz hıyarları Echinodermata filumuna dahil olan deniz canlılarıdır. Ülkemiz denizlerinde ve diğer denizlerde yaygın bir şekilde bulunan bu canlılardan gıda ve sağlık alanında yararlanılmaktadır. Türkiye'de balıkçılar olta yemi olarak kullanmaktadır (Çaklı ve diğ., 2004). Yıllardır birçok ülkede tüketilmekte olduğu bildirilen deniz hıyarlarının Uzak Doğu'da büyük pazarları mevcuttur. Son yıllarda ekonomik olarak değerlendirilen Holothuria türlerinin sayısı artış göstermiştir. Dana dili olarak bilinen *Stichopus regalis* (Cuvier, 1817) türlerinin Güney Marmara'da avlandığı bildirilmektedir. *Holothuria forskali* (Delle Chiaje, 1823) türü de ülkemizde bu amaçla avlanan Holothuria türlerinden biridir. Bu tür ülkemiz işleme tesislerinde pek değerlendirilmemiştir (Öztürk, 2011).

Türkiye'de ve diğer ülkelerde bugüne kadar bazı türlerin besin içerikleri araştırılmıştır (Chang-Lee ve diğ., 1989; Fredalina vd. (1999), Kasai, 2002; Öztürk, 2011; Haider ve diğ., 2015). Dünyada deniz hıyarlarının 1400'e yakın yaşayan üyesi olduğu 66 türün ticari olarak değerlendirildiği bildirilmiştir (Haider ve diğ., 2015). Wen ve diğ., (2010) 8 farklı holothurian türünün (*Stichopus herrmanni*, *Thelenota ananas*, *Thelenota anax*, *Holothuria fuscogilva*, *Holothuria fuscopunctata*, *Actinopyga mauritiana*, *Actinopyga caerulea* and *Bohadschia argus*) besinsel kalitesi ve kimyasal bileşenlerini araştırıp karşılaştırmışlar ve *T. Anax* ve *A. caerulea* dışında diğer türlerin yüksek oranda protein, düşük seviyede yağ içerdiği, Glisinin tüm türlerde baskın amino asit olduğu, ham protein oranlarının 126 – 216 mg/g arasında değiştiği, Araşidonik asitin tüm deniz hıyarı türlerinde en yoğun bulunan yağ asiti olduğu n-3/n-6 oranının örneklerde 0,25-0,61 oranlarında bulunduğu tespit edilmiştir.

Deniz hıyarları yüksek besin içeriğine sahip canlılar olup Doğu Asya ülkelerinde yaygın bir şekilde tüketilmektedirler. Bazı Holothuria türleri Asya ve Ortadoğu ülkelerinde egzema, artrit yara tedavisinde ve yüksek tansiyona karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Telahigue ve diğ., 2014). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada *Holothuria arenicola* türü-

nün antiülser etkisinin olduğu ve bu yüzden türden elde edilen ekstraktın insanlarda tamamlayıcı ilaç olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (Fahmy ve diğ., 2015). Dhinakaran ve Lipton (2015) *Holothuria atra*'nın organik ekstraktlarının antitümör ve antifungal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında türün ekstraktlarının etkili bir şekilde antitümör ve antifungal özelliğe sahip olduğu ve bu yönüyle ilaç geliştirmede kullanılabilmesi belirlenmiştir. Olivera-Castillo ve diğ., (2015) *Isostichopus badionotus* türü içeren dietlerin genç ratlarda hipokolesterolemik etkilerini incelemiştir.

Holothuria türlerinin farmakolojik olarak kullanılabilirliklerinin araştırıldığı bir çalışmada deniz orijinli ilaç eldesinde deniz hıyarı türlerinin önemi vurgulanmış ve bu canlılarda bulunan Saponin ve holothurin gibi maddelerin tedavi edici özelliklerinin olduğu belirtilmiştir (Guor ve diğ., 2015). Diğer bir araştırmada Holothuridea familyası üyelerinde sekonder metabolit olarak bulunan Triterpen glikozitlerinin hemolitik, sitotoksik, antifungal ve antikanser özelliklerinin olduğu ifade edilmiştir (Aminin ve diğ., 2015). Çin'de trepang olarak adlandırılan deniz hıyarları kuvvet verici ve geleneksel ilaç olarak kullanıldığı gibi yüksek oranda miktarda iz element ve protein içerdiği için sağlık açısından oldukça yararlı bir canlı olduğu bildirilmektedir (Emiroğlu ve Günay, 2008). *H. forskali*'nin cuvierian tübüleri olarak bilinen savunma sistemlerinin biyokimyasal analizleri sonucunda yüksek oranda protein (%59) içerdiği, yağ içermediği belirlenmiş, çalışmada aynı zamanda aminoasit içeriği de tespit edilmiştir (DeMoor ve diğ., 2003). Özer ve diğ., (2004) *H. scabra* besin bileşenlerine işlemenin etkisini araştırdıkları çalışmalarında farklı dönemlerde avlanan bireylerin protein, yağ, nem ve kül içeriklerini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada deniz hıyarı avcılığının çok uzun süredir ticari olarak yapıldığı, bu canlıların tropikal ve subtropikal ülkelerde geleneksel olarak insan gıdası şeklinde (çiğ, kurutulmuş, haşlanmış) değerlendirildiği, en çok Çin, Hong Kong, Singapur, Japonya ve Güney Kore'de tüketildiği belirtilmiştir. Ayrıca kurutulmuş Holothuria ürün isimlerinin ülkelere göre değiştiği Fransa'da beche-de-mer; Çin'de hai-som; Endonezya'da trepang olarak adlandırıldığı bildirilmiştir.

Deniz hıyarlarının yetiştiricilik çalışmaları farklı ülkelerde başarı ile yapılmakta olup buna ilişkin bilimsel çalışmalar da mevcuttur (Yu ve diğ., 2015). Özellikle Asya'da son yıllarda besinsel ve

ekonomik değerinden dolayı *Apostichopus japonicus* türü ekonomik açıdan önemli olup yetiştiriciliği yaygın bir şekilde yapılmaktadır (Chen, 2004; Sun ve diğ., 2004; Yuan ve diğ., 2006). *A. japonicus*'un 2011 yılı toplam üretimi 138.000 ton olduğu bildirilmiştir. Ayrıca deniz hıyarlarının 20:1 n-9, 22:1 n-9, 20:3 n-3, 20:4 n-6 ve 20:5 n-3 yağ asitlerini diyetlerinde azaldığında, sentezleme kabiliyetinde oldukları vurgulanmıştır (Yu ve diğ., 2015). Santos ve diğ., (2015) *H. forskali* türünün içerdiği bioaktif bileşikler, antitümör – antimikrobiyal ve antioksidan potansiyeli bakımından önemli olduğu, ayrıca yağ içeriğinin %4,83, EPA oranı %11,23 ve Araşidonik asit oranı %20,36 seviyesinde olması gibi nedenlerle yetiştiricilik için ideal bir tür olduğunu vurgulamışlardır. Deniz hıyarlarının yetiştiriciliği üzerine yapılan başka bir çalışmada *Isoistichopus badiotus* türünün kültür koşullarında farklı dietlerin besin bileşenlerine etkileri saptanmış ve en uygun dietin en az % 20 protein ve düşük oranda yağ içeren diet olduğu belirlenmiştir (Zacarias-soto ve diğ., 2015).

Deniz ürünlerinin besin ve yağ asiti içeriğine pişirme yöntemlerinin etkisine ilişkin yapılan çalışmalar genellikle balık kızartma ve kaynatma üzerine yapılmıştır (Ersoy ve diğ., 2006; Gökoğlu ve diğ., 2004; Gladyshev ve diğ., 2006; Sebedio ve diğ., 1993; Sioen ve diğ., 2006; Türkkan ve diğ., 2008; Weber ve diğ., 2008). Kurutma işleminin besin kalitesine etkisine yönelik çalışma oldukça azdır. Diğer taraftan farmakolojik olarak diğer ülkelerde değerlendirilen bu canlıların ülkemizde de benzer amaçlarla ekonomiye kazandırılması oldukça önemlidir. Bu türler üzerinde Türkiye’de yapılan çalışmalar artırılmalıdır. Bu nedenle yaptığımız çalışmada taze, haşlanmış ve kurutulmuş *H. forskali*' nin bazı besin bileşenleri incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışmada ortalama 12.72 ±1.41 cm boyunda, 53.73 ±13.59g ağırlığında ve 3.16 ±0.51cm çapında olan toplam 30 *H. forskali* örneği kullanılmıştır. Deniz hıyarı örnekleri Şubat - Nisan 2010 tarihlerinde dalgıç yardımıyla elle İzmir kıyılarından avlanmıştır. Örneklerin biyometrik ölçümlerinden sonra iç organları temizlenmiş, bir kısmı taze olarak ayrılmış ve diğer örnekler kaynayan suda 20dk haşlandıktan sonra soğutulmuşlardır. Haşlandıktan sonra soğuyan örneklerin yarısı analizler için farklı bir kaba konulmuş ve geriye kalan *H. forskali* örnekleri oda sıcaklığında birbirine

temas etmeksizin (24 ±2°C) kurutulmuştur. Deniz hıyarı örneklerinde nem analizi otomatik nem tayin cihazı (AND MX-50, Japonya) ile; protein miktarı protein ön yakma ünitesi (Velp UD-20, İtalya) ve tam otomatik protein distilasyon ünitesi (Velp UDK 142, İtalya) kullanılarak Kjeldahl yöntemine (Nx6,25) (AOAC, 2000) göre; yağ içeriği ve inorganik madde miktarı Lovell (1981)'e göre yapılmıştır. Araştırmada kimyasal kompozisyon analizleri 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Bligh ve Dyer metoduna (1959) göre elde edilen yağda Metil esterifikasyonu AOAC (1995)'a göre yapılmıştır. Yağ asiti analizleri GC Clarus 500 cihazı (Perkin-Elmer, USA) kullanılarak Silica kapiller SGE kolonu (30 m × 0.32 mm ID × 0.25 m BP20 0.25 UM; SGE Analytical Science Pty. Ltd., Victoria, Australia) ile gerçekleştirilmiştir. Cihazın çalışma şartları Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırası ile 220°C' ye 280°C'ye ayarlanarak fırın sıcaklığı 140°C' de 5 dakika tutulmuş ve dakikada 4°C artırılarak 200°C'ye ulaşmış ve sıcaklık 1°C/dak. artırılarak 220'ye ulaşmıştır. Numune ölçüsü 1 µL olarak tespit edilmiştir. Split oranı: 1:50 olarak belirlenmiş ve sonuçlar % değeri cinsinden yağ asitleri Standard 37-component FAME (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Munich, Germany) kullanılarak hesaplanmıştır.

H. forskali Türkiye’de gıda olarak tüketilmediği ve çok az bilindiği için duyuusal açıdan değerlendirilememiştir.

Bulgular ve Tartışma

H. forskali ile yapılan bu çalışmada türün protein, yağ, kül ve yağ içeriğinin yanı sıra yağ asiti içerikleri de belirlenmiştir (Tablo 1-2). Taze örneklerde % 11.99 olarak saptanan protein içeriği haşlanmış örneklerde % 17.25'e, kurutulmuş örneklerde % 60.92'ye ulaşmıştır. Bu istatistiksel olarak önemli (P<0,05) bulunan artışın gerçek bir artış olmadığı, kuruma sonrası su içeriğindeki azalmaya bağlı bir artış olduğu düşünülmüştür. Taze ve kurutulmuş örnekler arasında protein içeriğinde görülen bu artış kül içeriğinde de görülmüştür. Konuya ilişkin bir çalışmada haşlanmış ve kuru *H. tubulosa* örneklerinin protein değerleri tazede % 8.18, haşlanmışta %15, tam kuru örnekte % 66.45 olarak bulunmuştur (Çaklı vd., 2004). Öztürk (2011) aynı tür ile yaptığı çalışmada *H. tubulosa*'da benzer sonuçlar elde etmiştir. Yağ, kül ve nem içeriğinde de haş-

lama ve kurumaya bağlı değişimler olmuş bu değişimler genellikle önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 1). Kül içeriğinde kurutulmuş örneklerde su içeriğindeki azalmaya paralel olarak önemli bir artış, nem içeriğinde azalış tespit edilmiştir. *H. tubulosa* ile yapılan çalışmada kül içeriğinde nisbi bir artış, nem içeriğinde azalma saptanmıştır (Öztürk, 2011). Chang-lee ve diğ., (1989) deniz hıyarları ile yaptıkları çalışmada kurutma işlemi uygulama sonrası örneklerde % 2-6 nem, % 61-70 protein, % 16-24 kül, %2-3 oranında yağ tespit edilirken, taze örneklerde % 89-91 nem, %5-6 protein, % 0.3 yağ ve %3 kül tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonuçları bulgularımızla uyumludur.

Tablo 1. Taze, haşlanmış ve kurutulmuş *H. forskali*'nin kimyasal bileşimleri (%).

Table 1. The chemical components of fresh, boiled and dried *H. forskali*

<i>Holothuria forskali</i>	Taze	Haşlanmış	Kurutulmuş
Protein	11.99 ±0.185 ^c	17.25 ±0.151 ^b	60.92 ±0.124 ^a
Yağ	0.256 ±0.208 ^b	0.206 ±0.005 ^c	0.866 ±0.011 ^a
Kül	0.736 ±0.011 ^b	0.523 ±0.208 ^b	27.34 ±1.356 ^a
Nem	86.93 ±0.140 ^a	80.82 ±0.234 ^b	10.33 ±0.040 ^c

*Aynı satırda aynı harflerle belirtilen değerler arasındaki fark önemsizdir ($P > 0.05$).

Yağ asitleri analizleri sonucunda deniz hıyarının % 16.07-17.79 aralığında doymuş (Σ SFA), %21.56-23.78 (Σ MUFA) oranlarında tekli doymamış ve % 34.07-36.40 oranlarında da çoklu doymamış yağ asiti (Σ PUFA) içerdiği saptanmıştır (Tablo 2). Doymuş yağ asitlerinden Palmitik asit ve sonra sterarik asitin yüksek oranlarda bulunduğu, tekli doymamış yağ asitlerinden de Eikosenoik asitin, çoklu doymamış yağ asitlerinden de Araşidonik asitin en yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir. Taze, haşlanmış ve kurutulmuş *H.*

forskali örneklerinin toplam yağ asitleri değişimleri incelendiğinde Σ SFA değerinin taze ve kurutulmuş örnekler arasında önemsiz ($P > 0.05$), taze ve haşlanmış örnekler arasında önemli ($P < 0.05$), Σ MUFA ve Σ PUFA değerlerinin haşlanmış ve kurutulmuş örnekler arasında önemsiz ($P > 0.05$) taze ve diğer örnekler arasında önemli ($P < 0.05$) değişimler sergilediği tespit edilmiştir (Tablo 2).

Öztürk, (2011) *H. tubulosa*'da çalışma sonuçlarına benzer şekilde çoklu doymamış yağ asitlerinden Araşidonik asit en yüksek oranda bulunmuştur. Benzer bir sonuç Svetashev vd., (1991) tarafından 12 deniz hıyarı türünde yapılan çalışmada da bulunmuştur. Yu ve diğ., (2015) deniz hıyarlarından yetiştiriciliği Asya'da yaygın bir şekilde yapmakta olan *Apostichopus selenka* türünde farklı diyetlerin yağ asidi profiline etkilerini incelemişler ve tüm deneme gruplarında çoklu doymamış yağ asitlerinden Araşidonik asitin, tekli doymamış yağ asitlerinden Eikosenoik asitin en yüksek oranda bulunduğunu tespit etmişlerdir. *H. forskali* türünde de benzer bir sonuç elde edilmiştir (Tablo 2).

Haider ve diğ., (2015) *Holothuria arenicola* ve *Actinopyga mauritiana* adlı türlerle yaptıkları çalışmada PUFA değerlerini diğer yağ asitlerinden daha yüksek oranda tespit etmişlerdir. Ayrıca Eikosapentaenoik asit (EPA), Araşidonik asit (AA) ve Dekosaheksaenoik asit yağ asitlerini dominant yağ asitleri olarak vurgulamışlardır. Öztürk (2011) Araşidonik asit ve EPA açısından *H. tubulosa*'nın zengin bir tür olduğu ve değerlendirilmesi gerektiğini ifade etmiştir. Bu çalışmalara benzer şekilde *H. forskali*'nin ise AA ve EPA yağ asitlerinin daha yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir. Şahingöz, (2007) Omega-3; α linolenik asit, EPA, DHA ve omega-6 (linoleik asit, araşidonik asit) yağ asitlerinin günlük yaşantının sağlıklı sürdürülebilmesi ve vücut çalışması için önem taşıdığı bildirmiştir. Bu yönüyle *H. forskali* türünün ülkemizde de değerlendirilebileceği ortaya çıkmaktadır.

Table 2. Taze, haşlanmış ve kurutulmuş *H.forskali* örneklerinin yağ asiti içerikleri (%).**Table 2.** The fatty acid contents of fresh, boiled and dried *H.forskali*

Yağ asitleri	Taze <i>H.forskali</i>	Haşlanmış	Kurutulmuş
C _{14:0}	1.62 ±0.05 ^a	1.45 ±0.44 ^a	1.83 ±0.01 ^a
C _{14:1}	1.55 ±0.06 ^b	1.71 ±0.01 ^a	1.56 ±0.01 ^b
C _{16:0}	6.37 ±0.23 ^a	6.34 ±0.05 ^a	6.14 ±0.04 ^a
C _{16:1}	5.53 ±0.18 ^b	5.82 ±0.06 ^{ab}	5.93 ±0.01 ^a
C _{17:0}	0.22 ±0.01 ^b	0.17 ±0.00 ^c	0.24 ±0.00 ^a
C _{17:1 cis}	0.58 ±0.02 ^c	1.56 ±0.02 ^b	1.92 ±0.01 ^a
C _{18:0}	5.12 ±0.01 ^b	4.55 ±0.03 ^c	5.64 ±0.01 ^a
C _{18:1n9cis}	3.62 ±0.05 ^a	3.63 ±0.01 ^a	3.34 ±0.01 ^b
C _{18:1n7}	1.17 ±0.00 ^a	1.08 ±0.01 ^b	1.08 ±0.02 ^b
C _{18:2n6cis}	4.21 ±0.09 ^a	4.15 ±0.02 ^{ab}	3.98 ±0.01 ^b
C _{18:3n3}	0.64 ±0.07 ^a	0.69 ±0.08 ^a	0.61 ±0.01 ^a
C _{20:0}	2.02 ±0.10 ^a	1.95 ±0.01 ^a	2.13 ±0.07 ^a
C _{20:1}	7.45 ±0.09 ^b	7.87 ±0.06 ^a	7.44 ±0.00 ^b
C _{20:4n6}	16.92 ±0.21 ^a	15.47 ±0.11 ^c	16.21 ±0.03 ^b
C _{20:5n3}	10.95 ±0.20 ^a	9.54 ±0.05 ^c	9.92 ±0.04 ^b
C _{22:1n9}	1.37 ±0.13 ^b	1.71 ±0.16 ^{ab}	2.01 ±0.04 ^a
C _{23:0}	0.90 ±0.07 ^a	0.26 ±0.00 ^c	0.77 ±0.01 ^b
C _{24:0}	1.45 ±0.02 ^a	1.36 ±0.05 ^a	1.05 ±0.05 ^b
C _{24:1}	0.29 ±0.09 ^b	0.20 ±0.01 ^b	0.51 ±0.05 ^a
C _{22:6n3}	3.69 ±0.45 ^a	4.24 ±0.52 ^a	3.66 ±0.01 ^a
Σ SFA	17.69 ±0.42 ^a	16.07 ±0.46 ^b	17.79 ±0.07 ^a
Σ MUFA	21.56 ±0.38 ^b	23.57 ±0.01 ^a	23.78 ±0.02 ^a
Σ PUFA	36.40 ±0.03 ^a	34.07 ±0.52 ^b	34.37 ±0.04 ^b
EPA+DHA	14.64 ±0.25 ^a	13.77 ±0.56 ^a	13.57 ±1.05 ^a

*Aynı satırda aynı harflerle belirtilen değerler arasındaki fark önemsizdir (P>0,05).

Σ SFA: Toplam doymuş yağ asitleri, Σ MUFA: Toplam tekli doymamış yağ asitleri, Σ PUFA: Toplam çoklu doymamış yağ asitleri

Sonuç

Sonuç olarak *H. forskali* türünün besin bileşenlerinin haşlama ve kurutma işlemlerinden önemli oranda etkilenmediği, düşük yağlı diyetetik bir besin olduğu, yağ asitleri içerisinde uzun zincirli yağ asitlerinin diğerlerine göre daha yüksek olup çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) bakımından zengin bir tür olduğu, tekli doymamış yağ asitlerinden Araşidonik asit içeriğinin yüksek olduğu, esansiyel bir yağ asiti olan EPA bakımından zengin bir tür olduğu, bu yönüyle beslenme açısından önemli bir besin olabileceği tespit edilmiştir. Yapılacak stok tespit çalışmaları ile birlikte ülkemizde bu türün ekonomik olarak değerlendirilebileceği ortaya konulmuştur.

Kaynaklar

- Aminin, D.L., Menchinskaya, E.S., Pisiagin, E.A., Silchenko, A.S., Avilov, S.A., Kalinin, V.I. (2015): Anticancer Activity of Sea Cucumber Triterpene Glycosides. *Marine Drugs*, 13: 1202-1223.
- AOAC (1995): Association of Official Agricultural Chemists. Official Method of Analysis of AOAC International, 16th Edition, 1995; Supplement, March 1996, AOAC International, Gaithersburg, MD, Chapter 41, p.21. Fatty Acid in Encapsulated Fish Oils and Fish Oil Methyl and Ethyl Esters. Method No: 991.39.
- AOAC (2000). AOAC Official Method 940.25 Nitrogen (Total) In Seafood. First Action 1940, Official Methods Of Analysis of AOAC International 17th Edition.
- Bligh, E.C., Dyer, W. J. (1959): A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 913-917.
- Chang-Lee, M.V., Price, R.J., Lampila L.E. (1989): Effect of Processing on Proximate Composition and Mineral Content of Sea Cucumbers (*Parastichopus spp.*). *Journal of Food Science*, 54: 567-568.
- Chen, J.X. (2004): Present status and prospects of sea cucumber industry in China. *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management (ASCAM)*. FAO, Rome, Italy, pp. 25-38.
- Çaklı, Ş., Cadun, A., Kışla, D., Dinçer, T. (2004): Determination of Quality Characteristics of *Holothuria tubulosa*, (Gmelin, 1788) in Turkish Sea (Aegean Region) Depending on Sun Drying Process Step Used in Turkey *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13(3): 69-78.
- De Moor, S., Waite, J.H., Jangoux, M., Flam-mang, P. (2003): Characterization of the Adhesive from Cuvierian Tubules of the Sea Cucumber *Holothuria forskali* (Echinodermata, Holothuroidea). *Marine Biotechnology*, 5: 45-57
- Dhinakaran, D.I., Lipton, A.P. (2015): Antitumor and Antifungal Activities of Organic Extracts of Sea cucumber *Holothuria atra* from the Southeast Coast of India. *Journal of Ocean University of China*, 14(1): 185-189.
- Emiroğlu, D., Günay, D. (2008): Çevre ve Sağlık Dostu Deniz Hıyarı. *Su Dünyası*, 18-19.
- Ersoy, B., Yanar, Y., Küçükgülmez, A., Çelik, M. (2006): Effects of Four cooking methods on the heavy metal concentrations of sea bass filets (*Dicentrarchus labrax* Linne, 1785). *Food Chemistry*, 99(4): 748-751.
- Fahmy, S.R., Amer, M.A., Al-Killidar, M.H. (2015): Ameliorative effect of the sea cucumber *Holothuria arenicola* extract against gastric ulcer in rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 72: 16-25.
- Fredalina, B.D., Ridzwan, B.H., Zainal Abidin, A.A., Kaswandi, M.A., Zaiton, B., Zali, I., Kit-takoop, P., Mat Jais, A.M. (1999): Fatty acid compositions in local sea cucumber, *Stichomus chloronotus*, for wound healing. *General Pharmacology: The Vascular System*, 33: 337-340.
- Gökoğlu, N., Yerlikaya, P., Cengiz, E. (2004): Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, 84(1): 19-22.
- Gladyshev, M.I., Sushchik, N.N., Gubanenko, G.A., Demirchieva, S.M., Kalachova GS. (2006): Effects of way of cooking on content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of humpback salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). *Food Chemistry*, 96: 446-451.
- González-Wangüemert, M., Aydın, M., Conband, C. (2014): Assessment of sea cucumber populations from the Aegean Sea (Turkey): First

- insights to sustainable management of new fisheries. *Ocean & Coastal Management*, 92: 87-94.
- Guor, Y., Ding, Y., Xu, F., Liu, B., Kou, Z., Xiao, W., Zhu, J. (2015): Systems pharmacology-based drug discovery for marine resources: An example using sea cucumber (Holothurians). *Journal of Ethnopharmacology*, 165: 61-72.
- Haider, M.S., Sultana, R., Zehra, L., Tarar, O.M., Shirin, K., Afzal, W. (2015). A Study On Proximate Composition, Amino Acid Profile, Fatty Acid Profile And Some Mineral Contents In Two Species Of Sea Cucumber. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(1): 168-175.
- Kasai, T. (2002): Lipid Contents and Fatty Acid Composition of Total Lipid of Sea Cucumber *Stichopus japonicus* and Knowata (Salted Sea Cucumber Entrails). *Food Science and Technology Research*, 9(1): 45-48.
- Lovell, R.T. (1981): Laboratory manual for fish feed analysis and fish nutrition studies, Department of Fisheries and Allied Aquacultures International Center for Aquaculture, Auburn University, 65 pp.
- Olivera-Castillo, L., Davalos, A., Grant, G., Valadez-Gonzalez, N., Montero, J., Barrera-Perez, H.A.M., ChiChi, Y., Olvera-Novoa, M.a., Ceja-Moreno, V., Acereto-Escoffie, P., Rubio-Pina, J., Rodriguez-Canul, R. (2015) Correction: Diets Containing Sea Cucumber (*Isostichopus badiotus*) Meals Are Hypocholesterolemic in Young Rats. *Plos One* 10(4): 1-2.
- Özer, N.P., Mol, S., Varlık, C. (2004): Effect of the Handling Procedures on the Chemical Composition of Sea Cucumber. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 4: 71-74.
- Öztürk, H. (2011): İki Farklı Şekilde Kurutulan *Holothuria Tubulosa* (Gmelin, 1788)'Nin Kimyasal Bileşimindeki Değişimler. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 77s.
- Santos, R., Dias, S., Pinteus, S., Silva, J., Alves, C., Tecelao, C., Pedrosa, R., Pombo, A. (2015): Sea cucumber *Holothuria forskali*, a new resource for aquaculture? Reproductive biology and nutraceutical approach. *Aquaculture Research*, 1-17, doi: 10.1111/are.12683
- Sebedio, J., Ratnayake, W.M.N., Ackman, R.G., Prevost, J. (1993): Stability of polyunsaturated omega-3 fatty acids during deep fat frying of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Food Research International*, 26(3): 163-172.
- Sioen, I., Haak, L., Raes, K., Hermans, C., Henauw, S.D., Smet, S.D., Camp, J.V. (2006). Effects of pan-frying in margarine and olive oil on the fatty acid composition of cod and salmon. *Food Chemistry*, 98(4): 609-617.
- Sun, H.L., Liang, M.Q., Jingping, Y., Bijuan, C. (2004). Nutrient requirements and growth of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. In: Lovatelli, A., Conand, C., Purcell, S., Uthicke, S., Hamel, J., Mercier, A. (Eds.), *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management*. FAO Fisheries Technical 463, FAO, Rome, Italy, pp. 327-331.
- Svetashev, V.I., Levin, V.S., Lam C. N., Nga, D. T. (1991): Lipid and fatty acid composition of holothurians from tropical and temperate waters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 98(4): 489-494.
- Şahingöz, S.A. (2007): Omega-3 Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığına Etkisi, *Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21: 1-13.
- Telahigue, K., Hajji, T., Imen, R., Sahbi, O., El Cafi, M. (2014): Effects of Drying Methods on the Chemical Composition of the Sea Cucumber *Holothuria forskali*. *The Open Food Science Journal*, 8, 1-8.
- Türkkan, A., Cakli, S., Kilinc, B. (2008): Effects of cooking methods on the proximate composition and fatty acid composition of sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus). *Food Bioprocess*, 11: 1-4.
- Weber, J., Bochi, V.C., Riberio, C.P., Victorlo, A.M., Emanuelli, T. (2008): Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) filets. *Food Chemistry*, 106: 140-146.

- Wen, J., Hu, C., Fan, S. (2010): Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 90: 2469-2474.
- Yu, H., Gao, Q.F., Dong, S.L., Wen, B. (2015): Changes in fatty acid profiles of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) induced by terrestrial plants in diets. *Aquaculture*, 442: 119-124.
- Yuan, X., Yang, H., Zhou, Y., Mao, Y., Zhang, T., Liu, Y. (2006): The influence of diets containing dried bivalve feces and/or powdered algae on growth and energy distribution in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) (Echinodermata: Holothuroidea). *Aquaculture*, 256: 457-467.
- Zacarias-Soto, M., Olvera-Novoa, M.A. (2015): Effect of Different Diets on Body Biochemical Composition of the Four-sided Sea Cucumber, *Isostichopus badionotus*, Under Culture Conditions. *Journal of The World Aquaculture Society*, 46(1): 45-52,
- Zhong, Y., Khan, M.A., Shahidi, F. (2007): Compositional Characteristics and Antioxidant Properties of Fresh and Processed Sea Cucumber (*Cucumaria frondosa*). *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 55(4): 1188-1192.

ISO 22000 GIDA GÜVENLİĞİ YÖNETİM SİSTEMİ

Burhan BAŞARAN

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Ardeşen Meslek Yüksekokulu, Rize, Türkiye

Azerbaycan Devlet İktisat Üniversitesi, Doktora, Bakü, Azerberycan

Received: 03.07.2015

Accepted: 21.10.2015

Published online: 26.10.2015

Corresponding author:

Burhan BAŞARAN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Ardeşen Meslek Yüksekokulu, 53400, Ardeşen, Rize, Türkiye

E-mail: burhan.basaran@erdogan.edu.tr

Öz:

Ülkelerin refah düzeyindeki artış ve tüketicilerin bilinçlenmesi gıda sektöründe faaliyet gösteren işletmeleri gıda güvenliği açısından yeni arayışlara sevk etmektedir. İşletmelerin en yaygın tercih ettiği gıda güvenliği sistemi ise uluslararası geçerliliği olan ISO 22000'dir. Bu çalışmanın amacı; gıda güvenliği ile ilgili hazırlanan uluslararası standartlardan birisi olan ISO 22000'nin, gıda sektöründeki uygulamalarının daha etkin ve verimli yapılabilmesi için gereken bilgileri araştırmak ve bu alanda araştırma yapan ilgili paydaşlara sunarak yol göstermektir. Bu çalışma kapsamında ortaya konan literatür bilgilerinin ve ISO 22000 kalbi konumundaki ön gereksinim programları ve HACCP uygulamalarına ilişkin pratik bilgilerin gıda sektöründeki pek çok yiyecek ve içecek firmasına ve diğer araştırmacılara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: ISO 22000, HACCP, Ön gereksinim programı, Gıda güvenliği

Abstract:

ISO 22000 Food Safety Management System

The increase in the level of welfare of the countries and the awareness of the consumers have forced the firms in the food sector to seek for new pursuits. In this regard, ISO 22000 is the most commonly preferred food safety system. This study aims to contribute the shareholders and the researchers studying this topic by interpreting the latest studies in this field and determine the critical relationships in order to picture an effective and productive implementation of ISO22000 which is one of the international standards for food safety. The literature reviewed and other topics discussed in this study; such as prerequisite programmes which are the critical steps of ISO22000 and HACCP implementations, are thought to guide many firms in the food sector and the researchers in the field.

Keywords: ISO 22000, HACCP, Prerequisite programme, Food safety

Giriş

İnsanların, yaşamlarını sürdürmek ve sağlıklarını koruyabilmek için yeterli ve dengeli miktarda gıdaya ulaşması ve tüketmesi en doğal haklarıdır. Kaliteli beslenme, insanların fiziksel ve ruhsal gelişimini etkilemekte ve sağlıklı yaşam koşullarının ortaya çıkışını sağlamaktadır (Mısır, 2008; Erkm, 2010). Günümüzde beslenme ve sağlık kavramları beraber kullanılmaktadır. İnsan sağlığını direkt etkileyen faktörlerin başında ise gıda ürünleri gelmektedir (Mutlu, 2007).

İletişim, taşımacılık, gıda teknolojisi, sağlık uygulamaları gibi pek çok alanda baş döndürücü gelişmelerin yaşandığı bir dönemde dünya ekonomisi yeniden şekillenmekte buna bağlı olarak ürün çeşitliliği ve tüketici tercihleri her geçen gün değişim göstermektedir (Gündoğdu ve Günay, 2003; Ertürk, 2009). Tüketicilerin bilinçlenmesiyle artan gıda güvenliği hassasiyeti gıda sektörüne yön vermektedir (Gaaloul ve Ghorbel, 2011; Motarjemi ve Lelieveld, 2014).

Pek çok araştırmacı ve kurum gıda güvenliğini, gıda zinciri boyunca olabilecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerden gıdaların korunması ve gıdaların tüketici sağlığına zarar veremeyeceğinin teminat altına alınması şeklinde tanımlamıştır (TGK, 2004; Varzakas ve ark., 2010; Türker, 2013; WHO, 2015).

Tüketici alışkanlıklarındaki değişimler ve gıda güvenliği ile ilgili artan endişeler kamu ve özel sektörde yapısal değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Devlet bu konularla ilgili olarak mevzuat hazırlayıp denetim yaparken, özel sektör kuruluşları ise rekabette avantaj sağlayabilmek için gıda güvenliğine yönelik yeni yaklaşımları ve standartları sahiplenmektedir (Bilalis, 2009; Ötleş, 2015). Ayrıca her ülkenin gıda güvenliğini sağlayacak standartlarının bulunması ve bunlar arasındaki uyumsuzluk, benzer ürünleri üreten ülkelerin arasındaki ticaretin gelişmesi önünde engel oluşturmaktadır. Bu nedenle birçok ülke ve firma güvenli gıda tedarik/arzu için bir araya gelerek standartlar geliştirmiştir (Artık, 2009; Bucak, 2011). Bu standartların en önemlileri şunlardır: HACCP, ISO 22000, BRC, GlobalGAP, IFS, SQF (Zheng ve ark., 2013; Kafel, 2013).

Bu çalışmanın amacı; gıda güvenliği ile ilgili hazırlanan uluslararası standartlardan birisi olan

ISO 22000'nin, gıda sektöründeki uygulamalarının daha etkin ve verimli yapılabilmesi için gereken bilgileri araştırmak ve ilgili paydaşlara sunarak yol göstermektir.

ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi

Tarihçe

Gıda güvenliğinin uluslararası alandaki tarihsel gelişimi şu şekildedir: Birleşmiş Milletler bünyesinde 1945 yılında Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), 1948 yılında ise Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kurulmuştur. FAO ve WHO hem tüketicilerin sağlığını korumak hem de dünya ticaretinde etik uygulamaları sağlamak için Codex Alimentarius'da HACCP prensiplerini 1963 yılında yayımlamıştır. 1972-1973 yıllarında NASA (Amerikan Ulusal Havacılık ve Uzay Kurumu) astronotlar için gıda tüketiminde sıfır hata ortak projesinin yürütmüş ve bu projeye HACCP kavramı literatüre girmiştir. 1993 yılında HACCP 93/43 EEC 'Gıda Maddelerinin Hijyeni' direktifi ile yasal olarak Avrupa Birliği'ne üye ülkelerinin mevzuatında yer almış, 1996 yılında ise HACCP yaklaşımı Avrupa'da tüm gıda endüstrisinde uygulaması gereken yasal bir zorunluluk haline getirilmiştir. Danimarka 1998 yılında DS 3027/1998 HACCP standardını yayımlamıştır. Benzer tarihlerde İngiltere, Almanya, Hollanda ve Kanada gibi gelişmiş ülkelerde gıda güvenliğini sağlayan otoritelerin koordinasyonunu geliştirmek, yetki karmaşasını ortadan kaldırmak ve denetimlerin etkinliğini artırmak amacıyla gıda güvenliği faaliyetlerini tek merkezde toplama kararı almışlardır (Demiröz, 2005). Türkiye'de 18.11.1960 tarih ve 132 sayılı kanunla madde, mamül ve hizmetlerle ilgili olarak standart hazırlamaya yetkili kuruluş olan Türk Standartları Enstitüsü (Anonim, 2015e), 3 Mart 2003 tarihinde HACCP'e karşılık olarak TS 13001 Standardını yayımlamıştır. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ilk olarak 1998 yılında HACCP standardının 7 temel ilkesinden biri olan kritik kontrol noktasını Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Yönetmelik'te tanımlamıştır (Anonim, 2015f). Son olarak; Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Codex Alimentarius Commission (CAC), Food and Agriculture Organization (FAO), ISO (International Organization for Standardization) Work Group işbirliği ile ISO 22000 standardı 2005 yılında yayımlanmış ve uluslararası bir boyut kazanmıştır. 24 Nisan 2006 tarihinde TSE

Teknik Kurulu tarafından TS EN ISO 22000-Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri-Gıda Zincirindeki Tüm Kuruluşlar İçin Şartlar Standardı yayımlanmış ve TS 13001 Standardı iptal edilmiştir. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ise gıda işletmelerini HACCP ilkelerine dayalı prosedürleri uygulamaya ve sürdürmeye zorunlu kılmıştır (TS EN ISO 22000, 2005; Büyükhelvacıgil, 2009; TGK, 2011a; Yörük ve Güner, 2014).

Kimler Uygulayabilir?

Gıda, pek çok fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik riskle karşı karşıya kaldığından dolayı gıda zincirinin bütün aşamalarında yeterli ve etkin kontrollerin sağlanması, izlenmesi ve değerlendirilmesi gerekmektedir. ISO 22000; gıda zincirinde yer alan yem üreticileri ile bitkisel ve hayvansal ürünlerin birincil üreticilerini, birincil ürünleri işleyen kuruluşları, birincil ürün ile işlenmiş ürünleri satış noktalarına veya tüketiciye taşıyan ve dağıtımını yapan kuruluşları, perakende satış yapan tüm noktaları ve gıda ambalajı, ekipmanı, temizlik ürünleri ile gıda katkı ve bileşen üreten kuruluşları kapsamaktadır. Bunlara ek olarak toplu yemek hizmeti veren kuruluşlar, oteller, yiyecek ve içecek işletmeleri gibi hizmet sağlayan kuruluşlarda gıda zinciri içinde yer almaktadır (TS EN ISO 22000, 2005; Erfa, 2007; Escanciano, 2014; Ait Hou ve ark., 2015).

Sağladığı Faydalar

ISO 22000 'in işletmelere sağladığı faydalar genel olarak şunlardır (Malatyalı, 2007; Anonim, 2015a).

- Tüm gıda zincirine uygulanabiliyor olması,
- Tüketicilerin gıda güvenliği ile ilgili taleplerinin tamamının karşılanması,
- Yönetime kritik bilgiler verilmesi sonrası stratejik kararlar alınabilmesi,
- Çalışanların hijyen ve gıda güvenliği konusunda bilinçlenmesi,
- Gıda zehirlenmeleri ve ölüm risklerinin düşürülmesi,
- Resmi denetimlerde karşılaşılan sorunların en aza indirilmesi,
- Çalışma ortamının iyileşmesi,
- Pazarlamada rakiplerin önüne geçilmesi,
- Geleneksel muayene ve kontrol sistemlerinden daha etkili olması,

Diğer Yönetim Sistemleriyle Olan İlişkisi

Gıda zincirinde yer alan tüm sanayi kollarında gıda güvenliği yaklaşımını benimseyen ISO 22000'in standart yapısı ve yaklaşımının ISO 9001 ve ISO 14001 standartlarıyla benzerlik gösterdiği özellikle de ISO 9001 ile ISO 22000 arasında çok kuvvetli bir birliklilik olduğu bildirilmiştir (Dalgıç, 2006; Balzarova, 2008; Artık, 2009; Çopur, 2010). ISO 22000, ISO 9001 ve ISO 14001 gibi belgelendirilebilmekte ve bu sistemler birbirleri içerisinde entegre kurulabilmektedir (Baynal, 2014).

ISO 22000'in temel yaklaşım modeli ve başarısındaki kilit nokta HACCP'tir. Ayrıca ISO 22000'in İyi Üretim Uygulamalarını (GMP) tamamlayıcı özellikte olduğuna vurgu yapılmıştır (Arouma, 2006; Escanciano, 2014).

ISO 22000 ve ISO 9001 standardı incelendiğinde yazılması gereken zorunlu prosedürler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1 incelendiğinde, ISO 22000 ve ISO 9001 birbirine aslında ne kadar benzediği görülmektedir. ISO 22000 "Düzeltilme ve Geri Çekme Prosedürü" ile ISO 9001 ise "Uygun Olmayan Ürünün Kontrolü ve Önleyici Faaliyet Prosedürü" ile farklı olup diğer prosedürler benzer içeriktedir.

ISO 22000 Standardı Uygulama Aşamaları

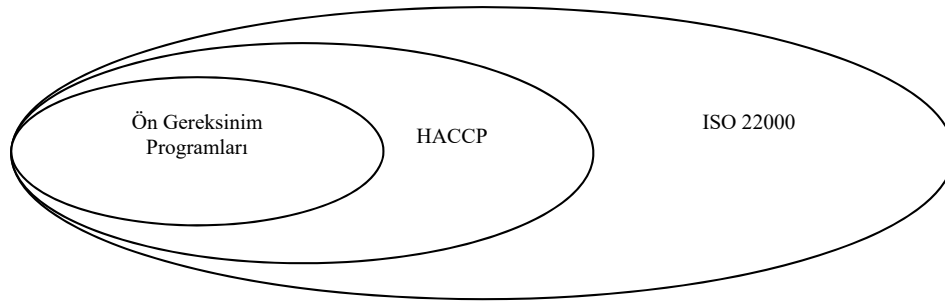
Ön Gereksinim Programlarının Oluşturulması

Gıda sektöründe faaliyet gösteren her bir işletme gıda güvenliği koşulları için ihtiyaç duyulan temel şartları ve uygulamaları yerine getirmelidir. Bu temel faaliyetler ön gereksinim programlarını oluşturmaktadır.

HACCP prensiplerinin işletmelerdeki etkinliğini arttırmak için ISO 22000'de tanımlanan ön gereksinim programlarının uygulanması oldukça önemlidir (Celaya ve ark., 2007). Ancak her bir işletme ön gereksinimleri yerine getirirken uygulayacağı yöntemi (gıda güvenliği tehlikeleri göz önünde bulundurarak) seçmekte serbesttir (Şahin ve ark., 2010). Ön gereksinim programları, HACCP ve ISO 22000 arasındaki ilişki Şekil 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. ISO 22000 ve ISO 9001 Standardına Göre Yazılması Gereken Zorunlu Prosedürler (TS EN ISO 22000, 2005; TS EN ISO 9001, 2008).**Table 1.** The Procedures Which Should be Written According to The ISO 22000 and ISO 9001 Standards (TS EN ISO 22000, 2005; TS EN ISO 9001, 2008).

ISO 22000 Prosedür	İlgili ISO 22000 Standart Maddesi	ISO 9001 Prosedür	İlgili ISO 9001 Standart Maddesi
1 Dokümanların Kontrolü Prosedürü	4.2.2 Dokümanların kontrolü	Dokümanların Kontrolü Prosedürü	4.2.3 Dokümanların kontrolü
2 Kayıtların Kontrolü Prosedürü	4.2.3 Kayıtların kontrolü	Kayıtların Kontrolü Prosedürü	4.2.4 Kayıtların kontrolü
3 Düzeltme Prosedürü	7.10.1 Düzeltme	Uygun Olmayan Ürünün Kontrolü Prosedürü	8.2.3 Uygun olmayan ürünün kontrolü
4 Düzeltici Faaliyet Prosedürü	7.10.2 Düzeltici faaliyetler	Düzeltici Faaliyet Prosedürü	8.5.2 Düzeltici faaliyet
5 Geri Çekme Prosedürü	7.10.4 Geri çekme	Önleyici Faaliyet Prosedürü	8.5.3 Önleyici faaliyet
6 İç Tetkik Prosedürü	8.4.1 İç tetkik	İç Tetkik Prosedürü	8.2.2 İç tetkik

**Şekil 1.** Ön gereksinim programları, HACCP ve ISO 22000 arasındaki ilişki (Sikora, 2007).**Figure 2.** Prerequisite Programs, The Relationship Between HACCP and ISO 22000 (Sikora, 2007).**Tablo 2.** ISO Tarafından Yayımlanan ve Halen Geliştirilen Ön Gereksinim Programı Standartları (ISO, 2015).**Table 2.** Prerequisite Program Standards Which Were Published By ISO and Currently Developed (ISO, 2015).

ISO/TS 22002-1:2009–Gıda İmalatı İçin Ön Gereksinim Programları	Yayımlandı
ISO/TS 22002-2:2013–Hazır Yemek Sektörü İçin Ön Gereksinim Programları	Yayımlandı
ISO/TS 22002-3:2011–Tarım Sektörü İçin Ön Gereksinim Programları	Yayımlandı
ISO/TS 22002-4:2013–Gıda Ambalajı İmalatı İçin Ön Gereksinim Programları	Yayımlandı
ISO/WD TS 22002-5–Taşıma ve Depolama İçin Ön Gereksinim Programları	Yayından kaldırıldı
ISO/DTS 22002-6–Yem ve Hayvansal Gıda Üretimi İçin Ön Gereksinim Programları	Geliştirme aşamasında

ISO, gıda zincirinde yer alan farklı sektörler için kuruluşlar için ön gereksinim programları hazırlamış ve yayımlamıştır. Yayımlanan ve halen geliştirilen ön gereksinim programları Tablo 2'de gösterilmiştir.

ISO 22000 standardında tanımlanan ve genel olarak kabul edilen ön gereksinim programları şunlardır: İyi Tarım Uygulamaları (Good Agricultural Practices-GAP), İyi Veteriner Uygulamaları (Good Veterinary Practices-GVP), İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practices-GMP), İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practices-GHP), İyi Laboratuvar Uygulamaları (Good Laboratory Practices-GLP), İyi Dağıtım Uygulamaları (Good Distribution Practices-GDP), İyi Ticaret Uygulamaları (Good Trading Practices-GTP) (TS EN ISO 22000, 2005; Özbek ve Fidan, 2010).

İşletmeler ön gereksinim uygulamalarını yerine getirirken aşağıdaki hususlara dikkat etmek zorundadırlar (TS EN ISO 22000,2005, TST EN 22002-1, 2011).

Binalar ve ilişkili yardımcı tesislerin yapıları, çalışma alanı ve sosyal alanların yerleşimleri ve düzeni: Kuruluş tesisi, üretmiş olduğu gıdanın güvenliği ve çalışanların sağlığı için en uygun yere inşa etmeli ve kullanılan malzemelerin sıhhi olmasına özen göstermelidir. Çalışma alanı ve sosyal alanları iş sağlığı ve güvenliği kapsamında yayımlanan kanun ve yönetmeliklere uygun olarak inşa etmelidir. Ürün güvenliği için (çapraz bulaşma, atıklar, su, aydınlatma vb.) gerekli alt ve üst yapılar bulunmalıdır. Binanın çatı katı kendinden drenajlı olmalıdır. Tesiste temizliğin yapılmasını engelleyecek kör noktalar bulunmamalı ayrıca işletmede kolay temizlenebilir ve paslanmaz malzemeler kullanılmalıdır. Zeminde su birikintisi olmamalıdır. Bina, ürün ve personelin işletmedeki akışına ayrıca hammadde ve işlenmiş ürün alanlarının fiziksel olarak ayırılmasına ve gerekli alana sahip olmalıdır. Ana bina ile diğer ek binalara girişler kontrol edilmelidir. Binanın çevresinden gelebilecek muhtemel zararlara karşı tedbirler alınmalı bu kapsamda hudunun tam anlaşılabilmesi için tesis bir duvarla çevrilmelidir. Bina çevresindeki peyzaj alanları, yollar bakımlı olmalı, durgun su bulunmamalıdır. Mikrobiyoloji laboratuvarı, dışarıdan bulaşmayı engelleyecek şekilde dizayn edilmelidir. Tüm laboratuvarlar üretime doğrudan açık olmamalıdır.

• **Su, hava, enerji ve diğer yan gereksinimlerin sağlanması:** Üretim alanlarında temizlik dahil

kullanılan suyun içilebilir nitelikte olduğu garanti altına alınmalı ve kaynağına göre ilgili mevzuata göre periyodik fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmalıdır. Kişisel hijyen ve işletme hijyeni için sıcak su devamlı bulunmalıdır. İçilemeyen nitelikte su bulunması halinde etiketlenmeli ve içilebilir su ile karışmasını engelleyecek tedbirler alınmalıdır. Ürünle temas edecek suyun taşındığı borular gerektiğinde dezenfekte edilebilir özellikte olmalıdır. Tesiste, kirli havanın uzaklaştırılacağı ve temiz hava girişinin sağlanacağı sistemler olmalıdır. Doğrudan ürüne temas eden veya bileşen olarak kullanılan havanın filtrasyonu, nemi ve mikrobiyolojik kalitesi periyodik olarak ölçülmelidir. İşletme içerisinde farklı alanlara ait hava basıncı farkları oluşturulmalı özellikle hammadde depolarından işlenmiş ürün alanlarına doğrudan hava akımı engellenmelidir. Tesiste gün ışığına yakın bir aydınlatma sistemi olmalıdır. Ayıklama vb. özel dikkat isteyen alanlardaki aydınlatma diğer alanlara göre daha iyi olmalıdır. Aydınlatma ekipmanları herhangi bir kırılmaya karşı koruma altına alınmalıdır. Kuruluş, gıda güvenliği için kesintisiz güç kaynağı bulundurmalıdır.

• **Atık ve kanalizasyon sistemi dahil destek hizmetleri:** Kuruluş, her bir atık türü için gıda güvenliğini riske atmayacak uzaklıkta depolama alanları tanımlamalıdır. Dış alandaki atıkların periyodik olarak boşaltılması ve yığılma olmaması için gerekli yöntemleri geliştirmelidir. İşletme içindeki atıklar elle teması mümkün olmayan özellikteki ağzı kapalı kaplara atılmalıdır. Atıkların işletme içinden periyodik olarak uzaklaştırılması için yöntemler geliştirilmeli ve tüm çalışanlar bilgilendirilmelidir. Tesisteki kanalizasyon hatları yeterli uzunlukta, kapaklı ve herhangi birikiminin gerçekleşmeyeceği şekilde dizayn edilmeli ve periyodik olarak temizlenmelidir.

• **Ekipman ve teçhizatların uygunluğu, bakım ve koruyucu bakım için doğru konumlandırılması ve temizlenmesi:** Kuruluş, her bir ekipman için kullanım, temizlik, bakım ve emniyet talimatlarını oluşturmalı, planları hazırlamalı, uygulamalı ve ilgili personeli eğitmelidir. Gıda ile temas eden ekipman ve teçhizat kolay temizlenebilir özellikte ve devam eden temizlik uygulamalarından etkilenmeyecek şekilde üretilmiş olmalıdır. Makinelerde gıdaya uygun yağ kullanılmalıdır. Ürün kalitesini ve güvenliğini etkileyecek tüm cihazlar için ölçme güvencesini sağlayacak koruyucu bakım ve kalibrasyon planları tanımlanmalı ve uygulanmalıdır. Tüm bakım ve kalibrasyon

planlarının tamamı net ve anlaşılır olmalıdır. Tüm ekipmanlar için ayrı ayrı kayıtlar tutulmalıdır. Bu faaliyetlerin yürütülmesi için personel iç ve dış kaynaklı eğitimlere gönderilmelidir.

Satın alınan malzemeler, yan gereksinimler, atıklar, ürün kontrollerinin yönetilmesi: Kuruluş, nihai ürün eldesi için satın aldığı hammadde, yardımcı madde ve ambalajlar için (yasal mevzuat ve işletme kuralları çerçevesinde) ürün spektleri hazırlamalı ve bu ürünleri onaylı tedarikçilerden temin etmelidir. Bu spektler ürüne özgü sıcaklık, nem vb. parametreler ile ambalaj için özel şartları içermelidir. Ayrıca satın alınan ürünlerin taşıma ve depolama koşulları ile tedarikçilerle ilgili yöntemler geliştirmelidir. Satın alınan her bir ürün işletmede kendisine özgü parametreleri içeren alanlarda depolanmalıdır. Depolama alanları temizlik uygulamaları ve haşere kontrol faaliyetlerini aksatmayacak şekilde düzenlenmelidir. Özellikle satın alınan gıdalar arasından alerjen olanlar için özel depolama ve kullanma talimatları hazırlanmalıdır. Tedarikçiler periyodik olarak denetlenmeli ve uygunsuzluk halinde yaptırımlar uygulanmalıdır. Yine aynı şekilde nihai ürünlerin güvenli bir şekilde depolanması ve taşınması için tüm tedbirler alınmalı ve bu tedbirler sürekli iyileştirilmelidir. Nihai üründe oluşabilecek potansiyel tehlikeler nedeniyle satın alınan her bir ürün kodlanmalı ve kayıt altına alınmalıdır.

- **Çapraz bulaşmanın önüne geçilmesi için önlemler:** Hammaddeden nihai ürüne kadar olan tüm süreçlerde çapraz bulaşmayı en aza indirecek doğrusal bir ürün akışı gerekmekte olup her aşama kontrol edilmelidir. Bu kapsamda işletme içi çalışan trafiği dahil, makine ve diğer tüm ekipmanlardan çapraz bulaşmayı engelleyecek yöntemler geliştirilmeli ve etkinlikleri kontrol edilmelidir. İşletmede kullanılan tüm kesici ve delici malzemeler kayıt altına alınmalı, sayı ve parça eksikliği bakımından her iş bitiminde kontrol edilmelidir. İşletmedeki tüm camlar ve cam malzemeler kayıt altına alınmalı ve periyodik olarak sağlamlıkları kontrol edilmelidir. Cam kırıklarının geniş alanlara yayılmasını engellemek amacıyla camlar şeffaf filmlerle kaplanmalıdır. Cam kırıklarıyla ilgili yapılacak uygulamalar hakkında personel eğitilmelidir. Bakım ve onarım faaliyetleri kapsamında işletmeye alınan personel gıda güvenliğinden sorumlu bir personel gözetiminde faaliyetlerini sürdürmelidir. İşletme içerisinde kalem politikası oluşturulmalıdır. İşletmeye alınan misafirlerin takı, aksesuar vb. çıkartılmalı çok gerekli değilse gözlük kullanımları sınırlandırılmalıdır. Gözlük

kullanımı zorunlu ise giriş çıkış ağırlık kayıtları alınmalı ve kontrol edilmelidir.

- **Temizlik ve sanitasyon:** Kuruluş, işletme içi ve dışında tanımlanmış olduğu her bir alan ve tüm makine-ekipman için ayrı ayrı temizlik ve sanitasyon planları hazırlamalı ve uygulamalıdır. Bu planlarda alan veya makineler için hangi kimyasalın nasıl ve ne miktarda kullanılacağı ayrıca hangi temizlik aparatıyla hangi sıklıkta gerçekleştirileceği tanımlanmalı ve ilgili personel eğitilmelidir. Temizlik ve sanitasyon için kullanılacak olan kimyasallar üretim dışında ve kapalı ortamda muhafaza edilmelidir. En az bir personel bu alandan sorumlu tutulmalı ve kapısı kilitli olmalıdır.

- **Haşere/zararlı kontrolü:** Kuruluş, işletme içinde ve dış alanda kuşlar, kemirgen ve diğer zararlılarla (böcek, sinek vb.) mücadele edecek etkin bir haşere kontrol programı yürütmelidir. Bu faaliyetler gerekli eğitimleri almış kendi personelleri tarafından veya hizmet alımı yoluyla sistemli ve periyodik olarak yürütülmelidir. Faaliyetlerde kullanılan ilaçların MSDS raporları, kemirgen istasyon planları, uygulama raporları gibi tüm faaliyetler kayıt altına alınmalıdır. Hizmet satın alınması yoluyla gerçekleştirilen haşere/zararlı kontrol uygulamaları için kuruluş, ilaçlamadan kaynaklı doğabilecek potansiyel insan ve gıda güvenliği riskleri için işletmeye sigorta yaptırmalıdır.

- **Personel hijyeni:** Gıda üretim alanına giren ve ürün güvenliğine etki eden tüm çalışanlar ve ziyaretçiler genel ve işletmeye özel olarak hazırlanan kişisel hijyen kurallarına uymaları gerekmektedir. Personel üretimde sadece iş kıyafetleriyle çalışmalı, elbise dolabı iş kıyafeti ve ayakkabısı ile dış kıyafet ve ayakkabısının karışmasını engelleyecek şekilde dizayn edilmelidir. İş kıyafeti yapılan işe uygun olmalı terleme gibi olumsuz etkileri ortaya çıkarmamalıdır. İşletmeye gelen ziyaretçilere ise firma hijyen politikaları hakkında bilgiler verilmelidir. İşletmede yeterli sayıda tuvalet, lavabo, duş bulunmalıdır. Bu alanlar doğrudan üretim ve depo alanlarına açılmamalıdır. Personel sağlığı yakından takip edilmelidir. Sağlık sorunları oluştuğunda işletme nezdinde uygulanacak müdahale prosedürler önceden belirlenmelidir.

Eğitim: Bütün çalışanlar özellikle de ürün güvenliğine etki eden personeller, kişisel hijyen uygulamaları, işletme temizlik ve sanitasyon kuralları ve mesleki konularda periyodik eğitimlere tabi tutulmalı gerekirse dış kaynaklı eğitimlere gönderilmelidir. Özellikle verilen eğitimlerin personel tarafından öğrenilip öğrenilmediği ölçülmeli gerekirse eğitimler tekrarlanmalıdır.

• **Araçlar:** Gıda imalatıyla ilgili herhangi bir malzemeyi taşıyan araçlar bakımlı, temiz ve bu-
laşmaya imkan vermeyecek şekilde olmalıdır. Ge-
rektiğinde sıcaklık ve nem kontrolünün takip ede-
bileceği özelliklere sahip olmalıdır.

Tehlike Analizlerini Gerçekleştirmenin Birincil Aşamaları

Gıda Güvenliği Ekibi

Öncelikle ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi uygulamalarında görev alacak bir gıda gü-
venliği ekibi kurulmalı ve üst yönetim gıda gü-
venliği ekibine (kaynaklar dahil) tam destek vermeli-
dir. Gıda güvenliği ekibi, gıda güvenliği yönetim sisteminin uygulamalarını ve geliştirilmesi konu-
sunda yeterli bilgi ve deneyime sahip olmalıdır. Ayrıca kuruluşun ürünleri, prosesleri, ekipman-
ları, teknolojisi yanında gıda mikrobiyolojisi ve gıda kontrolü gibi konularda da bilgi sahibi olma-
lıdır. Bu kapsamdaki tüm kayıtlar gıda güvenliği ekibinin yeterliliğini belgelemek için korunmalı-
dır. (TS EN ISO 22000, 2005; TS/ISO 22004, 2005; Özdikmenli, 2015).

Aşağıda adı geçen departmanlarda çalışan perso-
nellerin gıda güvenliği ekibinde yer alması ol-
dukça önemlidir.

- İşveren veya Vekili,
- Gıda Güvenliği Ekip Lideri,
- İşletme Müdürü,
- Satınalma Yöneticisi,
- Pazarlama Yöneticisi,
- Ar-Ge Yöneticisi,
- Müşteri İlişkileri Yöneticisi,
- Depo/lar Yöneticisi,
- Lojistik Yöneticisi,
- İnsan Kaynakları Yöneticisi,
- Kalite Yöneticisi,
- Üretim, Paketleme vb. bölümlerde çalışan bir personel.

Ürün Özellikleri

ISO 22000 standardında ürün özellikleri 7.3.3.1 Hammaddeler, ingradyentler ve ürünle temasta bulunan malzemeler ve 7.3.3.2 Son ürünün özel-
likleri olmak üzere iki aşama olarak tanımlanmış-
tır.

Birinci Aşama; İşletmenin nihai ürün üretiminde kullanacağı tüm hammaddeler, ingradyentler (katkı maddeleri vb.) ve ürünle temasta bulunan malzemelerin (ambalaj vb.) tehlike analizlerini ya-
pabilmesi ve uygunluklarını değerlendirmesi için aşağıdaki bilgileri içeren dokümanları hazırlama-
lıdır (TS EN ISO 22000, 2005; Mahmutoğlu, 2007).

- a. Biyolojik (bakteri vb.), kimyasal (temizlik malzemeleri vb.) ve fiziksel (yabancı madde vb.) özellikler ile limit değerlerini,
- b. Katkı maddeleri ve proses yardımcı malze-
meleri de kapsayacak şekilde formüle edilmiş ingradyentlerin hangi maddelerden oluştu-
ğunu (bileşimini),
- c. Orijin (nerede, hangi ülkede üretildiği ve ge-
netik bilgisi),
- d. Üretim metodu (tam otomatik, manuel vb.),
- e. Ambalajlama (plastik, karton vb.) ve dağıtım yöntemleri (lojistik bilgileri),
- f. Depolama koşulları (sıcaklık, rutubet vb.) ve raf ömrü,
- g. Kullanım veya işlemden önce hazırlama ve/veya işleme
- h. Tasarlanmış kullanımlarına uygun olarak, sa-
tın alınan malzemelerin ingradyentlerin, gıda güvenliği ile ilişkili kabul kriterleri veya şartnameleri (yönetmelik, literatür, müşteri şartları gibi referans kaynaklarda ürünler için belirlenmiş olan parametreler ve limit değ-
leri).

İkinci Aşama; İşletme, tüketime hazır hale gelen her bir ürün için tehlike analizi yapmalıdır. Bu fa-
aliyet için hazırlayacağı dokümanlar aşağıdaki bil-
gileri içermelidir (TS EN ISO 22000, 2005; Mah-
mutoğlu, 2007).

- a. Son ürünün ismi veya benzer tanımı,
- b. Bileşim (isimleri, kaynağı vb.),
- c. Gıda güvenliği ile ilgili biyolojik, kimyasal ve fiziksel özellikler ve limit değerleri,
- d. Son ürün için öngörülen raf ömrü (mevzuatta ürün için belirlenmiş raf ömrü tanımlanmışsa işletme bu süreyi aşamaz) ve depolama ko-
şulları (sıcaklık, nem vb.)
- e. Ambalajlama (ambalaj tipi ve paketleme yöntemi vb.),

- f. Etiket bilgileri (son ürünün gıda güvenliğini etkileyecek taşıma, hazırlama ve kullanım talimatları),
- g. Dağıtım metotları (nakliye aracının özellikleri vb.).

Her iki aşamanın etkinliğinin artırılabilmesi için kontrol planları hazırlanmalıdır. Birinci aşamanın sonunda hammadde, katkı maddeleri ve ambalaj malzemelerin tamamının tanımlı olduğu girdi kontrol planı, ikinci aşamanın sonunda ise piyasaya sürülecek olan tüm ürünleri içeren son ürün kontrol planı hazırlanmalıdır. Planlar ürünlerin nasıl, hangi sıklıkta, hangi yöntemle ve kim tarafından kontrol edileceğini ayrıca işletme de yapılması mümkün olmayan kontroller için dış kaynaklı laboratuvarlarla ilgili bilgileri de içermelidir. Girdi ve son ürün kontrolleri yapan personel uygunsuzluk tespiti halinde iç iletişimle kiminle irtibata geçeceği ve sonrasında ne yapacağı konusunda bilgilendirilmeli, bu konuda iç ve dış kaynaklı eğitimlere gönderilmelidir. Yasal mevzuat değişiklikleri, müşteri istekleri, işletme içinde kazanılan deneyimlere bağlı olarak bu planlar gıda güvenliği ekibi tarafından gözden geçirilmeli ve gerektiğinde revize edilmelidir.

Üretimi gerçekleştirilen ürünle ilgili olarak mevzuatın belirlemiş olduğu bir raf ömrü olmaması halinde ürünle ilgili raf ömrünü belirlemede serbestir. İşletme, öngördüğü raf ömrünü doğrulayacak çalışmaları periyodik olarak yapmalı ve ilgili kayıtları saklamalıdır.

Tasarlanmış Kullanım

Yapılan literatür taramasında bu konuyla ilgili yerli araştırmaya ulaşılamamıştır.

İşletme, hazırlanmış olduğu dokümanlarda piyasaya süreceği ürünün beklenen tasarlanmış kullanımını ve beklenilenin dışında kötü ve yanlış kullanılması hali yani makul olan tasarlanmamış kullanımı tanımlamalı ayrıca gıda güvenliği ekibi tehlike analizlerinde bu durumu göz önünde bulundurmalıdır (TS EN ISO 22000, 2005).

Nihai ürün için hazırlanan dokümanlar ürününün bileşimi, üretimi, dağıtımı, depolanması, satışı, kim tarafından hangi amaçla ve nasıl kullanılacağı gibi konularda gerçeğe uygun bilgileri içermelidir. Ürünün tüketici grubu; halkın tümü mü yoksa belirli özelliklere sahip olan tüketici grubu mu (hamileler, yaşlılar, hastalar, çocuklar vb.) olup olmadığı bu dokümanlarda açıklanmalıdır (Alli, 2004; Arıkbay, 2004).

İşletmeler ürünün beklenen tasarlanmış kullanımı hakkında tüketicileri etiketle bilgilendirmektedir. Bu amaçla etiketlerde üretim ve son kullanma tarihi, üretici firma adı, adresi, ürün bileşimi gibi bilgilerin yanı sıra ürünün yeniden işlenip işlenmeyeceği, hemen servis edilebilme özelliğinin olup olmadığı, ürün saklama koşulları, raf ömrü, ambalajı açıldıktan sonra ne kadar sürede tüketilebileceği ve tüketimiyle ortaya çıkabilecek doğal riskler hakkında bilgiler verilmektedir. Etiket üzerinde uluslararası geçerliliği olan logoların kullanımı farklı tüketici gruplarının da beklenen kullanımı gerçekleştirmesinde etkili olabilir. Özellikle alerjen ve uyarıcı maddelerin (kafein vb.) etiket üzerinde mutlaka belirtilmesi gerekmektedir. Tasarlanmış kullanımın başarısındaki en önemli faktörlerden birisi de etiket bilgilerinin tüketiciler tarafından rahatlıkla anlaşılmasını sağlayacak bir dille yazılmasıdır. Etiketteki tüm bilgiler o ülkedeki resmi dilin dışında farklı dillere de çevrilmelidir.

Ürünün tasarlanmış kullanımını dışında tüketicinin hatalı davranışları (fast food gibi toplu yemek yenilen yerlerde mayonezin döner ateşinin yanında muhafaza edilmesi, ambalajı açılmış gıdanın tavsiye edilen tüketim tarihlerine uygun tüketilmemesi, laktoz intoleransı olduğunu bilen tüketicinin direkt veya dolaylı olarak süt içeren bir gıdayı tüketmesi vb.) veya yanlış bilgileri (raf ömrü geçmiş olan bir gıdanın tüketilmesi, enerji içeceklerinin her yaş grubu tüketici tarafından tüketilebileceği vb.) nedeniyle öngörülen veya öngörülemez bazı tasarlanmamış kullanımlara bağlı olarak gıda güvenliği tehlikeleri oluşabilir. Makul olan tasarlanmamış kullanımlar nedeniyle özellikle hamileler, yaşlılar, kronik hastalık sahibi kişiler ve çocuklar gibi özel tüketici grupları üzerinde potansiyel sağlık sorunları oluşabilir. Bu nedenle etiket üzerinde tüketiciyi şüphede bırakacak işaretlemeler ve tanımlamalardan kaçınılmalıdır. Tüketicinin nihai ürünü kötü veya yanlış kullanımıyla ortaya çıkabilecek sorunların azaltılması için tüketici grubu özelliklerine uygun olarak beslenme eğitimleri verilmelidir.

Gerek tasarlanmış kullanımın ortaya çıkardığı doğal riskler gerekse makul olan tasarlanmamış kullanım neticesinde ortaya çıkan tehlikeli durumlarda işletme gerekli tedbirleri almalı ve geri çağırma dahil tüm seçenekleri planlamalıdır.

Akış Şemaları, Proses Aşamaları ve Kontrol Önlemleri

İşletme, ISO 22000'in kapsadığı ürünler veya prosesler için hammadde alımından itibaren tüm aşamaları, etkileşimleri, potansiyel tehlike oluşumlarını göstermelidir. Oluşturulan akış şemaları açık ve kesin olmalı ayrıca gıda güvenliği ekibinin anlayabileceği tüm ayrıntıları içermelidir. Proses akış şemaları tehlike analizinin sistematik olarak yürütülebilmesi için oldukça önemlidir. Proses akış şeması, her bir ürün için doğrusal olmalıdır. Karmaşık proseslerde, işlemler basit ve anlaşılabilir şekilde bölünebilmelidir. Bölünmüş proseslerin olduğu durumlarda ise bağlantı noktaları net olarak gösterilmelidir (Arıkbay, 2004; TS EN ISO 22000, 2005).

Gıda güvenliği tarafından oluşturulan taslak proses akış şemasının doğruluğu ve bütünlüğü değişik saatlerde ve birden fazla olacak şekilde yerinde doğrulanmalıdır. Doğrulama aşamasında proses akış şeması gerek görülürse değiştirilmelidir (TS EN ISO 22000, 2005; Özdikmenli, 2015).

Tehlike Analizi

Gıda güvenliğini tehdit eden tehlikelerin risk boyutları tehlike analiziyle saptanmaktadır. Bu tehlikeler altı ana başlık altında toplanabilir. Bunlar;

Mikrobiyolojik Tehlikeler (M): Gıda maddelerinin insan sağlığı açısından güvensiz hale gelmesine neden olan mikroorganizmaların yol açtığı tehlikelerdir. Hammadde, ambalaj malzemeleri, personel, ortam veya ekipman kaynaklı olabilirler.

Kimyasal tehlikeler (K): Girdilerin yapısında doğal veya yapay olarak bulunabilen maddeler ile temizlik ürünleri, pestisitler, madeni yağ gibi kimyasal orjinli diğer maddelerin ürüne bulaşması sonucu gıda güvenliği ve insan sağlığı üzerinde zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olan tehlikelerdir.

Fiziksel Tehlikeler (F): Gıda maddelerinin içerisinde bulunmaması gereken ve tüketicinin sağlığını bozabilecek tehlikelerdir. Genellikle hammaddeden, ürün işleme sırasındaki ortamdan, ekipmandan, personelden veya ziyaretçilerden kaynaklanabilirler (Taş, toprak, tahta, çivi, tel, metal, saç kılı, vb.).

Genetiği Değiştirilmiş Organizmalardan Kaynaklı Tehlikeler (GDO): Modern biyoteknolojik yöntemler kullanılarak bitki, hayvan ve mikroorganizmalara gen aktararak elde edilen organizmalardır (Aslan ve Şengelen, 2010). Tüketici sağlığı üzerinde kesinleşmiş bir zararı olup olmadığı bilinmemekle beraber (Aslan ve Şengelen, 2010)

kullanılması sınırlandırıldığından (TGK, 2010) tehlike analizlerinde ele alınmalıdır.

Alerjen Kaynaklı Tehlikeler (A): Belirli gıdaların yenilmesi ya da bu gıdalara dokunulması halinde bazı insanların bağışıklık sistemlerinin ters reaksiyonlar vermesi suretiyle insan sağlığı üzerinde oluşabilecek tehlikelerdir (Velioglu, 2008, Başaran, 2009). Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği'nde tanımlanmış olan alerjen maddeler şunlardır (TGK, 2011b):

- Gluten içeren tahıllar ve bunların ürünleri,
- Kabuklular (*Crustacea*) ve bunların ürünleri,
- Yumurta ve yumurta ürünleri,
- Balık ve balık ürünleri,
- Yerfıstığı ve yerfıstığı ürünleri,
- Soya fasülyesi ve soya fasülyesi ürünleri,
- Süt ve süt ürünleri (laktoz dahil),
- Sert kabuklu meyveler: Badem, fındık, ceviz, kaju fıstığı, pıkan cevizi, brezilya fıstığı, antep fıstığı, macadamia fıstığı, queensland fıstığı ve ürünleri,
- Kereviz ve kereviz ürünleri,
- Hardal ve hardal ürünleri,
- Susam tohumu ve susam tohumu ürünleri,
- Kükürt dioksit ve sülfidler,
- Acı bakla ve acı bakla ürünleri,
- Yumuşakçalar ve ürünleri.

Nükleer ve Radyolojik Kaza veya Tehlike Durumu (R): Sabit nükleer ve radyolojik tesislerde, saha çalışmalarında, radyoaktif maddelerin taşınmaları gibi nükleer işlemlerin yürütüldüğü aşamaların herhangi birisinde istenmeyen bir olayın gerçekleşmesi sonucu ortaya çıkan radyasyonun gıdalara bulaşmasıyla ortaya çıkan tehlikelerdir.

Tehlike ve risk analizinde altı ana başlık altında toplanan tehlikelerin tamamı prosesin tüm aşamalarında değerlendirilmekte ve şu soruların cevapları aranmaktadır (Yazıcı, 2008).

- Hangi tehlikeler hangi aşamalarda karşımıza çıkabilir,
- Bu tehlikelerin meydana gelme olasılıkları nelerdir,

- Bu tehlikeler önlemediği takdirde oluşabilecek zarar şiddeti nedir?

Bu sorulardan alınan cevaplar doğrultusunda kritik kontrol noktaları ve HACCP planı oluşturulmaktadır. Tehlikelerin sistemli olarak yönetilebilmesi için genellikle aşağıdaki formülasyon uygulanmaktadır (Yazıcı, 2008).

Tehlikenin sahip olduğu risk:

Risk = Olasılık x Şiddet olarak hesaplanmaktadır.

Olasılıklar belirlenirken tehlikenin işletmede önceden yaşanmış olup olmadığına, prosesin teknolojisi ve ürün prosesi göz önüne alınmaktadır. Değişen teknoloji, ilave kontroller tehlikenin gerçekleşebilme olasılığını azaltabilmektedir. Risk algılamasında olasılığın düşük gösterildiği bir durumda ise bu aşamada pek çok tehlikenin yaşanması halinde olasılık artırılmaktadır. Bu nedenle işletme içerisinde tehlikeler değişen koşullara

göre sürekli olarak gözden geçirilmeli ve veriler analiz edilerek tehlike risk analizi sürekli güncellenmelidir.

Şiddet ise tehlikenin gerçekleşmesi sonrasında tüketici sağlığı üzerinde oluşturacağı zarar büyüklüğüdür. Benzer tehlikelere maruz kalmış kişilerde oluşan zarar büyüklükleri, dış kaynaklı kitap, dergi vb. kaynaklarda ortaya konulan tespitler ve uzmanların görüşleri alınarak şiddet boyutu incelenmektedir.

Tehlike risk analizi hesaplamasında kullanılan olasılık ve şiddet her bir firma veya farklı prosesler için hatta aynı proseslerin uygulandığı farklı işletmelerde değişkenlik gösterebilmektedir.

Örnek bir tehlike ve risk analizi değerlendirme tablosu Tablo 3’de gösterilmiştir.

Örnek tehlike ve risk analiz formu Şekil 2’de gösterilmiştir.

Tablo 3. Tehlike ve Risk Analiz Değerlendirme Tablosu

Table 3. The Assessment Table of Hazard and Risk Analysis

Olasılık	Düşük-(1): Gerçekleşme olasılığı bulunmayanlar (hiç olmamış)
	Orta-(2): Gerçekleşme olasılığı olan, meydana geldiği bilinenler
	Yüksek-(3): Sık sık gerçekleşenler (sürekli olanlar)
Şiddet	Düşük-(1): Hafif yaralanmalar veya hastalıklar, uzun süre ve yüksek doz gerektiren hastalıklar.
	Orta-(2): Ciddi yaralanmalar veya hastalıklar, gıdanın tüketilmesi ile hemen ortaya çıkan veya uzun dönemde kendini gösterenler.
	Yüksek-(3): Hayati tehlike içeren yaralanmalar veya hastalıklar, gıdanın tüketilmesi ile hemen ortaya çıkan, uzun dönemde kendini gösteren, tedavisi zor veya imkansız olan hastalıklar. (Sakat kalmaya ve ölüme sebebiyet verebilecek hastalıklar).
Risk Puanı	Risk puanı $1 \leq \text{risk seviyesi} \leq 1 \rightarrow$ Risk Yok
	Risk puanı $1 < \text{risk seviyesi} \leq 3 \rightarrow$ Düşük Risk
	Risk puanı $3 < \text{risk seviyesi} \leq 6 \rightarrow$ Orta Risk
	Risk puanı $6 < \text{risk seviyesi} \leq 9 \rightarrow$ Yüksek Risk

Proses Basamağı	Tehlike Tipi	Tehlike Tanımı	Olasılık	Şiddet	Risk Puanı: Olasılık x Şiddet	Tüketici Sağlığı Üzerindeki Etkisi	Kontrol Önlemleri	Kontrol önlemi uygun ve yeterli mi?	Tehlike elimine edilebilir mi?	Herhangi bir artış ya da kontaminasyon var mı?	Sonraki basamakta elimine edilebilir mi?	SONUÇ		
												P G Ö	P G Ö	K K N

ÖGP: Ön Gereksinim Programı, O ÖGP: Operasyonel Ön Gereksinim Programı, KKN: Kritik Kontrol Noktası

Şekil 2. Tehlike ve Risk Analiz Formu

Figure 2. Hazard and Risk Analysis Form

Gıda güvenliği ekibi işletmedeki fiziki koşullar ile teknolojide yaşanan değişiklikler, ortaya çıkan yeni gıda güvenliği tehlikeleri, mevzuatın değişmesi, müşteri şartları gibi faktörlere bağlı olarak aynı zamanda her yıl düzenli olarak tehlike ve risk analiz çalışmalarını gözden geçirmeli ve gerekli ise revize etmelidir.

HACCP Planı'nın Oluşturulması

Kritik Kontrol Noktalarını (KKN) Tanımlanması

Tehlike risk analizi sonucunda tespit edilen her tehlike tanımlanmalı ve tehlikenin gerçekleşmesini önleyecek tedbirler alınmalıdır. Ancak bu tehlikelerden bazıları insan sağlığına zarar verecek boyutta ise söz konusu tehlikeler kritik kontrol noktası çerçevesinde ele alınmalıdır. Kritik kontrol noktaları; kontrol edilmediğinde insan sağlığına zarar vermekte, sıcaklık-süre gibi parametrelerle izlenebilmekte, bir başka yöntemle doğrulanabilmekte, dış kaynaklı dokümanlarla geçerli kılınabilmektedir (TS EN ISO 22000, 2005; TS/ISO 22004, 2005; Yazıcı, 2008).

Bir tehlikenin kritik kontrol noktası olup olmadığını anlayabilmek için kullanılacak yöntemlerden birisi de karar ağacı şeması uygulamasıdır. Karar ağacı şeması temel olarak, potansiyel tehlikenin olduğu proses basamağında uygulanan kontrol yöntemi tehlikeyi tamamen ortadan kaldırıyor veya kabul edilebilir seviyeye indiriyorsa ayrıca bu kontrol aşamasından ürünün tüketimine kadar olan proses aşamalarının hiçbirinde tehlike riskini ortadan kaldıracak bir başka kontrol aşaması yoksa söz konusu kontrol yöntemi parametreleri

kritik kontrol noktası olarak belirlemektedir (Yazıcı, 2008).

KKN'lerin tanımlanmasında tüketici sağlığı üzerinde oluşturabileceği sağlık sorunlarıyla ilgili olarak işyeri hekiminden faydalanılabilir.

KKN'ler için Kritik Limitlerin Belirlenmesi

KKN'lerin sistemli olarak yönetilebilmesi için ölçülebilir kritik limitler belirlenmelidir. Kritik limitler; son üründe gıda güvenliği tehlikesine neden olan durum için resmi otoritenin açıkladığı yasal parametreler öncelikli olmak üzere, müşteri, işletme ve literatür taraması sonrası elde edilen veriler ışığında tanımlanmalıdır (TS EN ISO 22000, 2005; TS/ISO 22004, 2005; Yazıcı, 2008).

Kritik limitlerin belirlenirken tolerans değerleri belirlenmelidir. Ancak tolerans değerleri gıda güvenliğini tehlike sokabilecek aralıklarda ve sürelerde olmamalıdır.

Kritik Kontrol Noktalarını İzleme Sistemi

Her bir KKN'nin kritik limitler kapsamında kontrol altında olup olmadığını anlayabilmek için bir izleme sistemi oluşturulmalı ve kayıtlar tutulmalıdır. KKN noktalarını izleme sıklığı, süreci kontrol etmeye imkan veren aralıkta olmalıdır. İzleme sistemi, sıklıkların yanı sıra kullanılacak materyalleri, tolerans değerlerini, sorumlulukları ve kayıt şekillerini de içermelidir (TS EN ISO 22000, 2005; TS/ISO 22004, 2005; Koçak, 2010).

KKN'lerin izlenmesi ve kayıt altına alınmasıyla ilgili olarak personelden ziyade otomatik kayıt sağlayabilecek teknolojilerin kullanılması sistemin güvenliğini artıracaktır.

İzleme Sonuçları Kritik Limitleri Aştığında Yürütülecek Faaliyetler

HACCP planında tanımlanan kritik limitlerin aşılması halinde gerçekleştirilecek olan düzeltici faaliyetler belirlenmelidir. Yürütülecek faaliyetler uygunsuzluğun nedenlerini belirlemeli, KKN'lerin yeniden kritik limitlerin altında inmesini sağlamalı ve uygunsuzluğun yeniden gerçekleşmesini önleyebilmelidir. Planlanmış düzeltme faaliyetleri ve düzeltici faaliyetlerin kim tarafından, hangi sıklıkla ve yöntemle gerçekleştirileceği ve nasıl kayıt altına alınacağı ayrıca işletme içerisindeki iletişimin nasıl gerçekleştirileceği açık bir şekilde tanımlanmalıdır (TS EN ISO 22000, 2005; TS/ISO 22004, 2005).

Özellikle KKN'de kullanılan tüm makineler veya ölçüm cihazları yerinden oynatılmamalıdır. İlgili ekipmanların bakım veya onarım faaliyetlerinden sonra kalibrasyon tekrarlanmalıdır. KKN olarak belirlenen proses basamaklarında çalışan personel periyodik olarak mesleki teknik eğitimlere tabi tutulmalıdır.

Örnek bir HACCP planı formu Şekil 3'de gösterilmiştir.

Proses Basamağı	Tehlike Tipi	Tehlike Tanımı	Kritik Limitler	Toleranslar	Kontrol Önlemi	İzleme Sistemi	Sıklık	İzleme Sorumlusu	Düzeltilme/Düzeltilici Faaliyet	Kayıt	Doğrulama

Şekil 3. HACCP Planı Formu

Figure 3. HACCP Plan Form

İzlenebilirlik Sistemi

İşletme, üretimini gerçekleştirdiği her bir ürün partisiyle ilgili olarak kullanılan hammadde, ambalaj maddeleri, prosesi ve dağıtım kayıtlarını gösterecek bir izlenebilirlik sistemi geliştirmelidir. Bu izlenebilirlik sistemi tüm tedarikçilerden sağlanan girdileri ve son ürünün dağıtım rotasını belirleyebilmelidir (TS EN ISO 22000, 2005; TS/ISO 22004, 2005). Gerekğinde nihai ürünün geri çağırılması durumunda gıda zinciri boyunca yer alan tüm paydaşlarla iletişime geçebilecek yöntemler geliştirilmelidir. Ayrıca işletme belirli bir plan dahilinde ürün izlenebilirliğini test etmeli ve kayıtlarını tutmalıdır. Ortaya çıkan uygunsuzluklar için düzeltme ve düzeltici faaliyetleri planlamalı ve sonuçlandırmalıdır.

İşletme oluşturacağı izlenebilirlik sistemini tek bir halka halinde oluşturabileceği gibi bölümlere ayırma ve ayrılan bölümleri birleştirme şeklinde de detaylı bir izlenebilirlik sistemi kurabilir. İşletme izlenebilirliği Tablo 4'de gösterildiği gibi ayırabilir.

Tablo 4. Detaylı İzlenebilirlik Sistemi**Table 4.** Detailed Traceability System

Girdi İzlenebilirliği	<ul style="list-style-type: none"> - Hammadde izlenebilirliği - Katkı maddesi izlenebilirliği - Yardımcı madde izlenebilirliği - Temizlik maddesi izlenebilirliği - Nihai ürünle direk temas eden ambalaj izlenebilirliği - Nihai ürünün taşınmasında kullanılan ikincil ambalaj izlenebilirliği
Üretim İzlenebilirliği	<ul style="list-style-type: none"> - Ana ürün izlenebilirliği - Yan ürün izlenebilirliği - Özel üretim gerektiren ürünlerin (organik vb.) izlenebilirliği - Uygun olmayan ürün değerlendirme izlenebilirliği <ul style="list-style-type: none"> * İade ürün izlenebilirliği * Yeniden işlenmiş ürünlerin izlenebilirliği * İmha ürün izlenebilirliği - Hediye ürün izlenebilirliği - Pazarlama numunesi ürün izlenebilirliği
Sevkiyat İzlenebilirliği	<ul style="list-style-type: none"> - Araç izlenebilirliği - İlk dağıtım noktası izlenebilirliği - Satış noktaları izlenebilirliği

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı izlenebilirliği, üretim, işleme ve pazarlama ile ilgili sürecin her aşamasında ve gıda zincirinde yer alan tüm kuruluşlara zorunlu kılmıştır. İzlenebilirlik sistemi mevzuatta yer almasına karşın tüketici satın aldığı gıda ürünleriyle ilgili sadece etiket üzerinde yazılı olanlar hakkında bilgi sahibi olabilmekte o ürünle ilgili izlenebilirlik bilgilerine ise ulaşamamaktadır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 31.12.2015 tarihinden itibaren siyah çay, bal, enerji içecekleri, bitkisel sıvı yağlar, takviye edici gıdalar, bebek mamaları, formülleri ve ek gıdalarda tüketici yönelimli izlenebilirlik sistemi olarak adlandırılan Ürün Doğrulama ve Takip Sistemi'ne geçme kararı almış ve ilgili uygulamayı Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliğinde tanımlamıştır (TGK, 2011b).

Potansiyel Güvenli Olmayan Ürünlerin Kontrol Altında Tutulması ve Geri Çekme

İşletmede oluşturulan gıda güvenliği sistemi doğrultusunda güvenli olmadığı ortaya çıkan veya uygunsuzluğu bilinen ancak limitlerin aşılmadığı durumlarda ürün, potansiyel güvenli olmayan ürün olarak belirlenmeli ve tüm partileri durum değerlendirilinceye kadar işletmede kontrol altında tutulmalıdır. Şayet potansiyel güvenli olmayan veya güvenli olmadığı anlaşılan ürün işletmeden çıkmışsa veya müşteri/tüketici şikayetiyle ortaya çıkan bir uygunsuzluksa işletme, tüm paydaşlara durum hakkında bilgi vermeli ve ilgili ürün partilerine gıda zincirinde buldukları yere göre geri

çekme veya geri çağırma faaliyeti gerçekleştirilmiştir. ISO 22000 standardında geri çekme teriminin geri çağırma kapsadığı belirtilmişse de her iki faaliyetin uygulanma aşamalarında bazı farklılıklar söz konusudur. Geri çekme; ürünün dağıtımının ve satışının önlenmesi amacıyla ürünün bulunabileceği taşıma araçları, depo, satış noktaları gibi gıda zincirindeki tüm aşamalardan geri istenmesi ve toplanmasıdır. Geri çağırma ise satış noktalarından ürünün geri toplatılmaması halinde ürünün tüketimini önlemek amacıyla tüketicilerden ve gıda zincirindeki tüm aşamalardan geri toplatılması faaliyetidir. İşletme her iki durumda da gerek ilgili partilerin gerekse ürünlerin tamamını geriye çekebilecek bir yöntem geliştirmelidir. Yöntem; geri çekmeyi başlatma yetkisine sahip personeli ve geri çekme faaliyetinde görev alacak diğer sorumlu personelleri içermelidir. Ayrıca gıda zinciri boyunca tüm paydaşların geri çekme faaliyetindeki rolleri de belirlenmelidir (TS EN ISO 22000, 2005).

Geri çekme veya geri çağırma faaliyeti sonrası işletmeye getirilen ürünler potansiyel uygunsuz ürün kategorisinde değerlendirilir ve işletme içerisinde denetim altında tutulur. Söz konusu ürünlerle ilgili olarak imha, güvenli hale gelinceye kadar yeniden işleme, olduğu gibi serbest bırakma veya bir başka amaçla kullanma gibi farklı kararlar alınabileceği gibi ürünler yapılan kontrollerde güvenli olduğu da ortaya çıkabilir. İşletmede denetim altında tutulan potansiyel güvenli olmayan

ürünlerle ilgili işletme kontrol ve onay mekanizmasına dayalı ayrı bir yöntem belirlemeli ve yetki paylaşımı yapmalıdır. İşletme; geri çekme faaliyetinin nedeni, kapsamı ve sonuçlarını kayıt altına almalı ve yönetimin gözden geçirme toplantılarında tartışmalıdır. Ayrıca işletme geri çekme faaliyetindeki performansını ölçmek için belirli aralıklarla tatbikatlar yaparak bu faaliyetlerdeki etkinliğini doğrulamalıdır (TS EN ISO 22000, 2005).

ISO 22000 Belgelendirme Süreci ve Yaşanan Zorluklar

ISO 22000 standart maddelerini asgari olarak yerine getiren ve uygulayan işletmenin ISO 22000 belgesini alabilmesi için belgelendirme şirketlerinden birine veya Türkiye'deki yetkili kamu kurumu olan TSE'ye (Türk Standartları Enstitüsü) başvurması gerekmektedir (Anonim 2015b, 2015c). Söz konusu belgelendirme kuruluşları için bir ön şart olmasa da, ürettikleri sertifikanın güvenilirliğini kanıtlayabilmeleri ve tercih edilebilirliğin oluşması için akreditasyon pratik anlamda bir zorunluluk olarak ortaya çıkmaktadır. Ülkelerin resmi akredite kuruluşları Uluslararası Akreditasyon Kurumu'na (IAF) bağlı olup bu kuruluşlar belirli periyotlarda belgelendirme şirketlerini denetlemektedirler. Türkiye'de bu kapsamda faaliyet gösteren kuruluş Türk Akreditasyon Kurumu'dur (TÜRKAK). Belgelendirme konusuna başvuru sonrası dokümanlarda herhangi bir eksiklik yoksa belgelendirmeye ilişkin teklifte bulunulmakta ve karşılıklı sözleşme imzalanmaktadır. Sözleşme, başlangıç belgelendirme denetimi ve iki takip denetim olmak üzere üç denetimi kapsamaktadır. Belgelendirme şirketi bir denetim planı hazırlayarak işletmeyi bilgilendirmekte ve tetkikçiler atamaktadır. Tetkikçiler gıda işletmesini ISO 22000 standart maddelerini referans alarak denetimini gerçekleştirir. Denetim de herhangi bir uygunsuzluk tespit edilmediği takdirde belgelendirme kararı alınarak başvuru yapan işletmeye belgesi verilmektedir (Başaran, 2009; Anonim, 2015d).

Yönetim sistemlerinin uygulanması her ne kadar işletmelere avantajlar sağlasa da bu sistemlerin uygulanması aşamalarında çeşitli zorluklar yaşanmaktadır (Erkan ve ark., 2008). Bu zorluklar genel olarak şunlardır (Aslan, 2006; Demirel ve Aksoy, 2010):

- Üst yönetimin sistem çalışmalarına inanmaması ve faaliyetleri desteklememesi
- Finansman ve diğer kaynakların yetersizliği

- İnsan kaynakları (eğitimsizlik, yetişmiş eleman temin edilememesi ve sık eleman değişimi)
- Zaman (faaliyetlerin genellikle aynı kişiler üzerinde yoğunlaşması ve zamanın etkin kullanılmaması)
- Maliyetlerdeki kısmi artışlar (personel ihtiyacı, kırtasiye yükü vb.)
- Teknolojik yetersizlik (gıda güvenliğinin kontrolü ve gelişimi için ihtiyaç duyulan makine, alet ekipman ve diğer imkanlar)
- Fiyat odaklı rekabet koşulları
- Kayıt dışı ekonomi ve hükümet politikaları
- Haksız belgelendirme ve denetimsizlik

Dünya, Avrupa ve Türkiye'deki Mevcut Durum

International Standards of Organization (ISO); 1947 yılında ABD'de kurulmuştur. Günümüzdeki merkezi İsviçre'nin Cenevre kentidir. 4 abone üye, 41 muhabir üye, 118 üye kuruluş olmak üzere toplam 163 üyesi bulunan ve uluslararası standartlar oluşturan bir örgüttür. Türkiye'deki üyesi Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'dir. Temel amacı; hükümetlerin, işletmelerin ihtiyaç duyduğu uluslararası standartları tanımlamak, uygulama ve denetimleri gerçekleştirmek; bu sayede, ülkeler arasındaki standart farklılıklarını ortadan kaldırmak ve ticaretin gelişmesine katkı sağlamaktır (Tekin, 2006; Anonymous, 2015). ISO her yıl Eylül ayında ülkelerin yönetim sistemi belge istatistiklerini yayımlamaktadır. 2014 Eylül ayında yayımlanan ISO 22000 istatistikleri ve artış oranlarına ilişkin bilgiler Tablo 5'de gösterilmiştir. 2007-2014 yılları arasında Dünya'da en çok ISO 22000 belgesi alan ilk 10 ülke ise Şekil 4'de gösterilmiştir.

2007-2014 yılları arasında toplam 144701 adet ISO 22000 belgesi verilmiş olup bu belgelerin yaklaşık % 55'i son üç yılda verilmiştir. 2007 yılından 2014 yılına kadar Dünya'da ISO 22000 belge sayısı sürekli artış göstermiştir. En fazla artış oranı 2007'den 2008 yılına geçişte gerçekleşmiştir.

Dünya istatistiklerinde olduğu gibi Avrupa kıtasında da ISO 22000 belge sayıları sürekli artış göstermiştir. Avrupa kıtasında toplam 56802 ISO 22000 belgesi verilmiş olup bu Dünya toplamının % 35'ini oluşturmaktadır. 2010 yılından 2011 yılına geçişte belge artış oranlarında bir düşüş olsa da sonraki yıllarda artış oranları yeniden yükselmeye başlamıştır.

Türkiye de ise aynı yıllar arasında ISO 22000 belge sayılarında azalma ve artmalar yaşanmıştır.

Türkiye’de en çok artış oranı Avrupa ve Dünya istatistiklerinde olduğu gibi 2008 yılına geçişte yaşanmıştır. Üst üste 3 yıl bir önceki yıla göre belge sayıları azalmış özellikle 2011 yılına geçişte yaklaşık % 39’luk bir azalma kaydedilmiştir. Türkiye ISO 22000 belge sayıları toplamı Avrupa toplamının yaklaşık olarak % 12.3’dür.

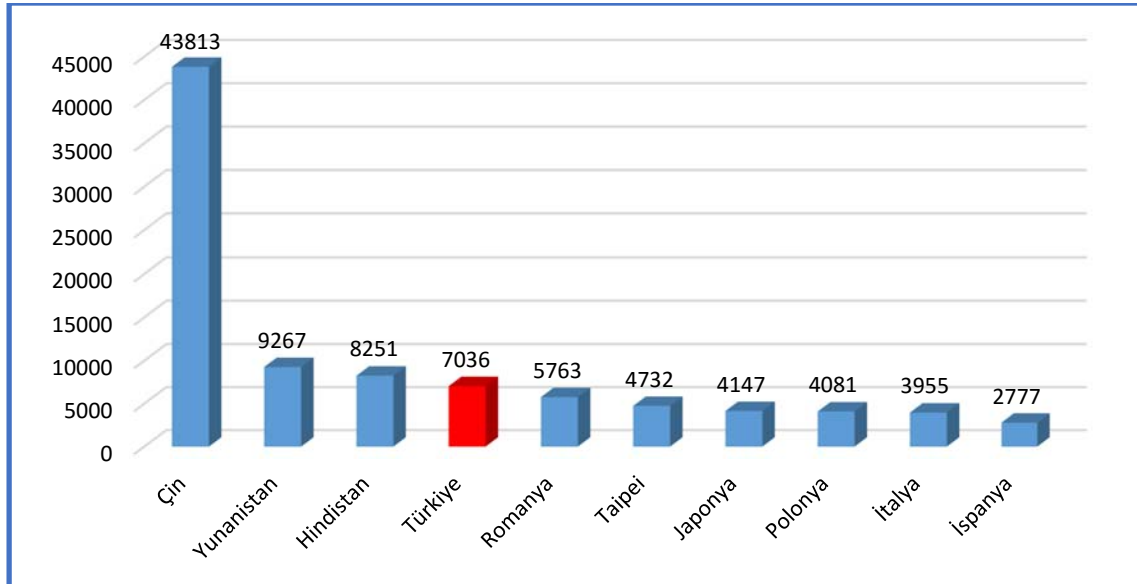
İlk 10 ülkenin sıralandığı Şekil 4’deki grafikten anlaşılacağı üzere Çin diğer 9 ülkeye kıyasla ISO

22000 belge sayısı bakımından açık bir şekilde lider ülke konumundadır. İlk 10 ülkeye bakıldığında sadece Asya ve Avrupa ülkelerinin olduğu anlaşılmaktadır. Özellikle yoğun nüfusa sahip olan Çin ve Hindistan ilk 3’te yer almışlardır. Avrupa Birliği üye ülkeler ve aday ülke olan Türkiye sıralamadaki diğer ülkelerdir. Ayrıca şekil Avrupa kıtası özelinde incelendiğinde ise ISO 22000 belgeli kuruluş sayısı bakımından Yunanistan’ın birinci, Türkiye’nin ikinci ve son olarak Romanya’nın ise üçüncü olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 5. Dünya, Avrupa ve Türkiye’de ISO 22000 Belge Sayıları ve Artış Oranları (ISO, 2014).

Table 5. The Certificate Numbers of ISO 22000 in The World, in Europe and Turkey And Its Growth Rate (ISO, 2014).

Yıl	Dünya	Artış (%)	Avrupa	Artış (%)	Türkiye	Artış (%)
2007	4122	-	2749	-	679	-
2008	8185	98.5	4865	77	1155	70
2009	13838	69	6050	24.3	1134	- 1.8
2010	18580	34.2	7083	17	1088	-4
2011	19351	4.1	7361	3.9	665	-38.8
2012	23278	20.3	8307	12.8	724	8.8
2013	26847	15.3	9733	17.1	733	1.2
2014	30500	13.6	10654	9.5	858	17



Şekil 4. 2007-2014 yılları arasında ISO 22000 belgeli kuruluş sayısı bakımından Dünya’da İlk 10 ülke (ISO, 2014).

Figure 4. The First 10 Countries in The World in Terms of ISO 22000 Certified Organization, Between The Years 2007-2014(ISO 2014).

Sonuç

Gelişen teknoloji ve ülkelerin refah düzeyindeki artış yaşam standartlarının değişmesine buna bağlı olarak daha bilinçli tüketicilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bilinçli tüketici sağlıkla beslenmeyi birlikte kullanmaya başlanmıştır. Bu nedenle günümüzde gıda güvenliği hiç olmadığı kadar önem kazanmıştır. Pazar payını korumak isteyen veya büyütme isteyen işletme üründe farklılaşmaya giderken tüketicilerin gıda güvenliği konularındaki mutlak taleplerini de karşılamaya çalışmaktadır. Bu nedenle farklı gıda güvenliği sistemlerini işletmesinde uygulamaya çalışmaktadır. Pek çok araştırmacı tüketicilerin gıda güvenliği bilgi düzeyi, satınalma davranışları üzerine etkileri gibi alanlarda akademik araştırmalar yapmaya başlamışlardır. Bu çalışmanın; Dünya'da en çok bilinen gıda güvenliği yönetim sistemlerinden birisi olan ISO 22000'i işletmesinde uygulamak isteyen işletmelere ve bu alanda akademik çalışmalar yapan araştırmacılara literatür açısından kaynak oluşturabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

Ait Hou, M., Grazia, C., Malorgio, G. (2015): Food safety standards and international supply chain organization: A case study of the Moroccan fruit and vegetable exports. *Food Control*, 55:190-199.

Alli, İ. (2004): Food quality assurance: principles and practices, CRC Press LCC USA, s.127.

Anonim, (2015a): http://www.standartkalite.com/haccp_iso22000_nedir.htm. Erişim:12 Mart 2015.

Anonim, (2015b): <https://www.tse.org.tr/tr/icerikdetay/88/74/belgelendirme-basvuru.aspx>. Erişim:12 Mayıs 2015.

Anonim, (2015c): http://www.wcs.com.tr/iso22000_belgelendirme.htm. Erişim:12 Mayıs 2015.

Anonim, (2015d): http://belgelendirme.ctr.com.tr/uploads/docs/419_sistem-belgelendirme-sureci.pdf. Erişim 13 Mayıs 2015.

Anonim, (2015e): <http://www.tse.org.tr/tr/icerikdetay/2/1/tse-nin-kurulusu.aspx>. Erişim: 31 Ağustos 2015.

Anonim, (2015f): Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Yönetmelik. Yayın Tarihi: 09.06.1998 Sayı: 23367

Anonymous, (2015): <http://www.iso.org/iso/home/about.htm> Erişim:14 Nisan 2015.

Arıkbay, C. (2004): Gıda sektöründe kalite yönetim sistemleri ve HACCP. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları, Ankara.

Artık, N. (2009): Şirketlerin gıda güvenliği sistemi uygulamalarına bakış açısı ve gelişmeler. <http://www.tgdf.org.tr/turkce/globalgidaguvnligi/nevzatartik.pdf>. Erişim:05 Mart 2015.

Arouma, I. (2006): The impact of food regulation on the food supply chain. *Food Toxicology*, 221(1): 119-127.

Aslan, E. (2006): ISO 9001:2000 kalite yönetim sisteminin Kayseri Bölgesindeki KOBİ'lerin performanslarına etkileri üzerine bir araştırma. *Haccettepe Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 24(2): 67-83.

Aslan, E., Şengelen, M. (2010). Farklı boyutlarıyla genetiği değiştirilmiş Organizmalar. Ankara Tabip Odası, Ankara. <http://static.ato.org.tr/fs/4f4f776f67cde9021d000002/gdo.pdf>. Erişim: 06 Ekim 2015.

Başaran, B. (2009): ISO 22000 gıda güvenliği yönetim sistemi baş denetçilik eğitim notları. Alberg QA Technic Uluslararası Teknik Kontrol ve Belgelendirme Şti. İzmir.

Balzarova, M.A., Castka, P. (2008): Underlying mechanisms in the maintenance of ISO 14001 environmental management system. *Journal of Cleaner Production*, 16 (18): 1949-1957.

Baynal, K. (2014): Günümüz işletmelerinde yönetim sistemleri ve entegre yönetim sisteminin gerekliliği ve rekabet açısından önemi. http://akademikpersonel.kocaeli.edu.tr/kbaynal/bildiri/kbaynal01.10.2014_13.11.27bildiri.pdf. Erişim:22 Nisan 2015.

Demiröz, B. (2005): Dünya'da ve Türkiye'de yeniden yapılanan gıda otoritesi. Sayı: 20, s. 33-37.

Bilalis, D., Stathis, I., Konstantas, A., Patsiali, S. (2009): Comparison between HACCP and ISO 22000 in Greek organic food sector.

- Journal of: Food Agriculture & Environment*, 7(2): 237-242.
- Bucak, T. (2011): İşletmelerde kalite yönetimi. İlyayayincılık, İzmir.
- Büyükhelvacıgil, T. (2009): Gıda sektöründe kalite. TSE Standard Dergisi, 561:1-5.
- Celaya, C., Zabala, S.M., Pérez, P., Medina, G., Mañas, J., Fouz, J., Alonso, R., Antón, A., Agundo, N. (2007): The HACCP system implementation in small businesses of Madrid's community. *Food Control*, 18(10): 1314-1321.
- Çopur, U.Ö., Yonak, S., Şenkoyuncu, A. (2010): Gıda güvenliği ve denetim sistemi. https://scholar.google.com.tr/scholar?q=g%C4%B1da+g%C3%BCvenli%C4%9Fi+ve+denetim+sistemi+utku&btnG=&hl=tr&as_sdt=0%2C5. Erişim:21 Nisan 2015.
- Dalgıç, C.A., Belibağlı, B.K. (2006): Gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemleri entegrasyonu: ISO 22000:2005 gıda güvenliği yönetim sistemi ve ISO 9000:2000 kalite yönetim sistemi uygulamaları. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, s.7-10.
- Demirel, T. E., & Aksoy, A. (2010): İhracatçı imalatçı sanayi işletmelerinin kalite ve sistem belgelendirme sürecinde yaşadıkları temel sorunlar: Doğu ve Güneydoğu Anadolu örneği. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları.
- Erfan, M. A. (2007): Ham ve ayçiçeği yağı üretiminde TS EN ISO 22000 gıda güvenliği yönetim sisteminin kurulması. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Erkan, N., Alakavuk, Ü.D., Tosun, Ş.Y. (2008): Gıda sanayinde kullanılan kalite güvence sistemleri. *Journal of FisheriesSciences.com*, 2(1): 88-99.
- Erkmen, O. (2010): Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi (Derleme). *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53: 220-235.
- Ertürk, E.Y. (2009): Gıda sanayinde kullanılan kalite güvence sistemlerinin tüketicilerin satınalma davranışlarına etkisi: ISO 9000, ISO 22000 (HACCP) örneği. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Escanciano, C., Santos-Vijande, M.L. (2014): Reasons and constraints to implementing an ISO 22000 food safety management system: Evidence from Spain. *Food Control*, 40: 50-57.
- Gaaloul, I., Riabi, S., Ghorbel, R.E. (2011): Implementation of ISO 22000 in cereal food industry "SMID" in Tunisia. *Food Control*, 22: 59-66.
- Gündoğdu, İ., Günay, N.G. (2003): ISO 9001:2000 kalite yönetim sisteminin toplam kalite yönetimi ve rekabet avantajı üzerine etkisi ve bir uygulama. *İktisat İşletme ve Finans*, 18(209): 93-100.
- ISO, (2014): The ISO Survey of Data. <http://www.iso.org/iso/iso-survey> Erişim: 14.10.2015.
- ISO, (2015): <http://www.iso.org/iso/home.htm>. Erişim: 31 Ağustos 2015.
- Kafel, P. (2013): Food quality products in EU countries. 7th International Quality Conference, Center for Quality, s. 273-278. <http://www.cqm.rs/2013/cd/7iqc/pdf/33.pdf>. Erişim:14 Nisan 2015.
- Koçak, N. (2010): Yiyecek içecek işletmelerinde gıda ve personel hijyeni. Detay Yayıncılık, Ankara.
- Mahmutoğlu, T. (2007): Gıda endüstrisinde "güvenli gıda" üretmek. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş., Ankara.
- Malatyalı, K. (2007): Gıda sektöründe gıda güvenliği ve kalite sistemleri neden gerekli. *TSE Standard Dergisi*, 542: 1-7.
- Mısır, B. G. (2008): HACCP, gıda güvenliği ve risk yönetim sistemi. *SUMAE Yunus Araştırma Bülteni*, 8(3): 8-10. http://yunus.gov.tr/yunus/uploads/Makale_080303.pdf Erişim:15 Mart 2015.
- Motarjemi, Y., Lelieveld, H. (2014): Fundamentals in management of food safety in the industrial setting: challenges and outlook of the 21st century. In Food Safety Management: A practical guide for the food industry. 2-23.
- Mutlu, S. (2007): Gıda güvenilirliği açısından tüketici davranışları (Adana kentsel kesimde kırmızı et tüketim örneği). Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Ötleş, S. (2015): Gıda sertifikasyon ve yeni bir yaklaşım olarak gıda güvenliği kültürü. TuttoFOOD Grow Own Your Business 3-6 May 2015 Milano.
- Özbek, F.Ş., Fidan, H. (2010): Türkiye ve Avrupa Birliği'nde gıda standartları. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 24(1): 92-99.
- Özdikmenli, S., & Zorba, D. N. N. (2015): Közlenmiş kırmızı biber (kapyra) konservesi üretiminde gıda güvenliği. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(1): 55-64.
- Sikora, T., & Nowick, P. (2007): Food safety assurance according to codex alimentarius and ISO 22000 standard. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4): 489-493.
- Şahin, I.O., Aka, A., Akpınar, B.A., Baltaş, M.E. (2010): Sofralık zeytin üretim tesislerinde gıda güvenliği yönetim sisteminin uygulanması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(1): 11-24.
- Tekin, M. (2006): Kalite güvence ve standartlar. Günay Ofset, Konya.
- TS EN ISO 22000:2005. TSE, Ankara.
- TS EN ISO 9001:2008. TSE, Ankara.
- TS/ISO 22004:2005. TSE. Ankara.
- TST EN 22002-1:2011. TSE, Ankara.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi), (2004): Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun. Kanun No: 5179. Kabul Tarihi: 27 Mayıs 2004.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi), (2010): Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik. Resmi Gazete Tarihi: 13.08.2010. Resmi Gazete Sayısı: 27671.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi), 2011a: Gıda Hijyeni Yönetmeliği. Resmi Gazete Tarihi: 17.12.2011. Resmi Gazete Sayısı: 28145.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi), (2011b). Türk Gıda Kodeksi Etiketleme Yönetmeliği. Resmi Gazete Tarihi: 29.12.2011. Resmi Gazete Sayısı: 28157.
- Türker, S. (2012): Türkiye'de gıda güvenliği ve gıda mevzuatının gelişim süreci. *Sağlık Düşüncesi ve Tıp Kültürü Dergisi*, 21: 34-37.
- World Health Organization, (2015): <http://www.who.int/trade/glossary/story027/en/>. Erişim:14 Nisan 2015.
- Varzakas, H. T., Zakynthinos, G., & Arvanitoyannis, S. I. (2010): Application of failure mode and effect analysis (FMEA) and cause and effect analysis in conjunction with ISO22000 to an almond processing plant. *Options Méditerranéennes*, 94: 289-297.
- Velioglu, D. S. (2008). Gıda alerjisi. Türkiye 10. Gıda Kongresi. Erzurum, s.1107-1110.
- Yazıcı, M. (2008): ISO 22000 sisteminin bir gıda firmasında uygulaması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul.
- Yörük, G.N., Güner, A. (2014): Gıda güvenliğinin tarihsel gelişimi. 2. Ulusal Laboratuvar Akreditasyonu ve Güvenliği Sempozyumu. İstanbul, s.102-103.
- Zheng, Y., Muth, K.M., Brophy, J. (2013): The impact of food safety third-party certifications on China's food exports to the United States. Agricultural & Applied Economics Association's Annual Meeting, Washington, s.6.

HIGH HYDROSTATIC PRESSURE TREATMENT OF FRUIT, FRUIT PRODUCTS AND FRUIT JUICES: A REVIEW ON PHENOLIC COMPOUNDS

Müzeyyen BERKEL KAŞIKCI, Neriman BAĞDATLIOĞLU

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

Received: 30.09.2015

Accepted: 13.11.2015

Published online: 19.11.2015

Corresponding author:

Müzeyyen BERKEL KAŞIKCI, Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

E-mail: muzeven.berkel@cbu.edu.tr

Abstract:

Phenolic compounds are healthy substances, therefore amount of phenolic compounds in fruits/fruit juices are important for customers. Flavonoids are the most common and widely distributed group of plant phenolics. Fruits and fruit juices are among the best sources of polyphenols in the human diet because of their high content in most fruits. Processing fruits can change their content of phenolic compounds and heat treatments usually decrease phenolic compounds in fruits. Minimising losses of these bioactive compounds during processing and storage are one of the priorities and challenge for manufacturers. High hydrostatic pressure (HHP) is a technology which can be used instead of thermal process such as pasteurization and can be combined with thermal process for sterilization. This study discusses the impact of HHP processing

conditions on the stability of phenolic compounds in fruits and their products after process, during storage and compares with thermal process. Matrix of food and processing parameters such as pressure, temperature, time are important for retaining of phenolic compounds. In general, several authors have proven that HHP treatment on different fruit products slightly modified their content of phenolic compounds. There has not been much research comparing HHP with thermal processes on effects of phenolic compounds in fruits and fruit products, and researches generally indicate that HHP is better than thermal processes on retaining phenolic compounds.

Keywords: Polyphenol, High hydrostatic pressure, Fruit, Anthocyanin, Thermal treatment

Introduction

Consumers are interested in the nutritional and health-related characteristics of fruits and vegetables. Phenolic compounds are healthy substances, so amount of phenolic compounds in fruit and vegetable products is important for customers. Over the past decade much research has been carried out on plant phytochemicals and their positive health effects. It has been demonstrated that a diet rich in fruits and vegetables containing various classes of polyphenols (phenolic acids, flavonols, catechin monomers, proanthocyanidins, flavones, flavanones, and anthocyanins) decreases the risk of premature mortality, cardiovascular disorders, advancing age-induced oxidative stress, inflammatory responses and diverse degenerative diseases (Michels et al., 2000; Torres et al. 2011; Sánchez-Moreno et al. 2009).

Flavonoids are the most common and widely distributed group of plant phenolics. Among them, flavones, flavonols, flavanols, flavanones, anthocyanins, and isoflavones are particularly common in fruits. Fruits are among the best sources of polyphenols in the human diet because of their high content in most fruits and the relatively large serving sizes (100-200 g).

High hydrostatic pressure (HHP) is a technology which subject's liquid and solid foods, with or without packaging, to pressures between 100 and 800 MPa. Process temperature during pressure treatment can be specified from below 0°C (to minimize any effects of adiabatic heat) to above 100°C. High pressure processing (HPP), is also described as high hydrostatic pressure (HHP), or ultra high pressure (UHP) processing in literature (FDA, 2015).

HHP technology can be used for various purposes such as pasteurization, extraction and osmotic dehydration. HHP technology can be combined with other thermal and non-thermal technologies such as ultrasound, pulsed electrical field (PEF), gamma-irradiation etc., which are excluded in this paper. This paper aims to provide a detailed and critical review of the latest applications of HHP on fruit and fruit juices, the effect of HHP on phenolic compounds are especially emphasized.

Thermal Processing and HHP

Thermal processing, which is the conventional method for the inactivation of plant enzymes and inhibition of microorganisms, is not suitable for soft fruits. In addition to desirable effect of

microbial and enzyme inactivation, it results in the loss of physicochemical and nutritional quality attributes of the product. The color and flavor of most fruits deteriorate during thermal processing. As a consequence, the addition of artificial color is usually necessary during thermal processing of fruits (Burrows, 2001).

The application of HHP has the potential to produce high quality fruits that display characteristics of fresh foods, are microbiologically safe and extended shelf life (Huang et al., 2013). HHP preserves nutritional value with a minimal effect on the product quality and sensory properties of fruits and vegetables, since low molecular weight food compounds, such as flavoring agents, pigments, and some vitamins are not altered, because covalent bonds are not affected by pressure (Oey et al., 2008; Bala et al., 2008; Ramirez et al., 2009). Over the last years, HHP has been investigated and several commercial products, including fruit juices, i.e mandarin, grapefruit, apple, orange, carrot juices and broccoli-apple juice mixture treated by HHP are currently available on market (Ahmed et al., 2005; Barba et al., 2011; Bull et al., 2004; McInerney et al., 2007).

The effect of HHP can vary depending on processing conditions (pressure, hold time, temperature), food form (whole, pieces, juice, puree, mousse or smoothie) and intrinsic factor of food such as pH. Grape, strawberry, apricot and apple polyphenol oxidase (PPO) seem to be more pressure sensitive than other PPO's. Apricot, strawberry and grape PPO can be inactivated by pressures exceeding 100, 400 and 600 MPa, respectively. Depending on pH, pressures of 100-700 MPa were needed for the inactivation of apple PPO. There are many studies on thermal denaturation of PPO, but less data about the pressure inactivation of PPO are available. It is known that PPO may be activated or inactivated by HHP (Lopes et al., 2010).

HHP-processed fruits and fruit products may exhibit long-term changes in flavor, nutritional properties, and color as a result of the residual activity of endogenous enzymes (Boynton et al., 2002). To reduce enzyme activity and preserve food quality during processing and storage, different methods have been successfully applied in combination with HHP, e.g. low pH conditions, refrigerated storage, high temperature treatment,

and anti-browning agents (Guerrero-Beltrán et al., 2006; Krebbers et al., 2003).

Effects of HHP on Phenolics of Fruits and Fruit Products

Processing fruits and fruit products can change their content of phenolic compounds and heat treatments can reduce phenolic compounds in fruits and fruit products. Many factors affect the stability of the anthocyanins, including temperature, pH, oxygen, enzymes, the presence of co-pigments and metallic ions, ascorbic acid, sulphur dioxide as well as sugars and their degradation products. Similarly, the behaviour of the polyphenol content is similar to that observed for the anthocyanin content in several liquids, semi-solid or solid foodstuffs (Ferrari et al., 2011). Great technological and research efforts have been made to obtain fruit juices by HHP without the quality and nutritional damage caused by heat treatments. Foods are processed in batch systems, in a pressure range of 50-1000 MPa; process temperature during pressure treatment can be from below 0 to above 100 °C, while exposure time usually ranges from seconds to 20 minute (Corbo et al., 2009).

HHP treatment at ambient temperature is reported to have minimal effect on the anthocyanins content of various fruits and vegetables. Several authors have reported that the anthocyanins of different liquid foods are stable to HHP treatment at moderate temperatures. Impact of processing conditions affects the stability of phenolic compounds in fruits and their products. Matrix of food and processing parameters are important for retaining of phenolic compounds. Combination with other mild processing methods (ultrasound, gamma-irradiation, antimicrobial peptides) can help to retain nutritional and health-related characteristics of plant-derived products by assuring the safety of the product indeed during the storage period. The optimization of the HHP process conditions (pressure, temperature and time) is important for phenolic quantification (Tokusoglu et al., 2010; Corbo et al., 2009).

Several authors have reported the increased extractability of coloured pigments in food components at extreme pressures results polyphenol content increase. The authors attribute the increase of the total phenolic content to the release of some antioxidant components such as anthocyanins, amino acids and protein with phenolic hydroxyl group after HHP treatment

from solid suspended particles following the high pressure processing. For semi-solid foods, the HHP treatment could potentially improve the total polyphenol content and prevent the degradation deriving from the application of high temperatures, as observed in traditional thermal treatments for food pasteurization/sterilization. This increase in total phenolic content (TPC) may be related to an increased extractability of some of the antioxidant components following high pressure processing. According to Le Chatelier's theory, the volume of system tends to be reduced during the pressure promoting period. In this process, the extracting solvent comes into cells to integrate with bioactive components. Besides, HHP can increase the rate of mass transfer resulting in an enhancement of solvent penetration into the cells by disrupting the cellular walls and hydrophobic bonds in the cell membrane, which may lead to a high permeability (Jun et al., 2009; Prasad et al., 2009; Cao et al., 2011).

Most of the studies showed that total phenolic compounds and some phenolic compounds (hesperetin, naringenin and anthocyanins) increased or unchanged by HHP. In general, several authors have proven that HHP on different fruit products (orange juice, lemon juice, apple juice, strawberry puree, kiwifruit puree, orange/carrot juice, apple/broccoli juice) slightly modified their content of phenolic compounds (Sánchez-Moreno et al., 2009; Cao et al., 2011; Barba et al., 2012). However, the effect of high pressure on the anthocyanin content of fruit derivatives cannot be generalized, while the composition of the product, the activity of the oxidative enzymes and the processing and operative conditions could compromise the efficiency of the HHP treatment. Enzymes such as polyphenoloxidase, peroxidase and β -glucosidase have been implicated in the degradation of phenolics and anthocyanins (Torres et al., 2011). Polyphenol oxidase (PPO) catalyses the hydroxylation of monophenols to o-diphenols and the oxidation of o-diphenols to o-quinones in the presence of molecular oxygen. The o-quinones are highly unstable and either react with high molecular weight polymers or form macromolecular complexes with amino acids and proteins (Terefe et al., 2009; Thomas-Barberan et al., 2001). Peroxidase (POD) catalyses the oxidation of phenolic compounds in the presence of hydrogen peroxides. Since the internal concentration of hydrogen peroxide in plants is low, the role of peroxidase in the in vivo degradation of

polyphenols is sometimes questioned. However, a synergistic activity of PPO and POD is possible with PPO acting as the promoter of POD since hydrogen peroxide is generated during the PPO catalysed oxidation of phenolic compounds (Thomas-Barberan et al., 2001).

Effects of HHP on Anthocyanin Content of Fruit and Fruit products

Anthocyanins were usually reported to be unstable, especially at high and abuse temperatures during processing and storage. Changes of phenolics and anthocyanins in fruits after HHP process are showed in Table 1. No significant change of anthocyanins is observed in strawberry halves after 600 MPa HHP process. Changes of phenolics and anthocyanins in fruits juices, nectars and smoothies after HHP process are showed in Table 2. HHP effectively retained anthocyanins, phenolic compounds and color of pomegranate juice for treated samples with 350 MPa and 550 MPa at room temperature (Varela-Santos et al., 2012). Alpas (2013) also observed no significant decrease in monomeric anthocyanin pigment concentrations for HHP samples, but thermal treatment (85°C/10min.) decreased significantly monomeric anthocyanin pigment concentrations in pomegranate juices. Greater retention of HHP samples is found compared to HTST (110°C/8.6s) samples in cloudy

pomegranate juice (Chen et al., 2013). In another study, 63% of pomegranate juice anthocyanins are retained after 400 MPa HHP process. At the end of 21 and 72 days' storage, 65% and 63% of anthocyanins is retained at 4°C (Ferrari et al., 2011). Anthocyanins of blueberry juice samples treated with 600 MPa at 42°C, increased significantly (Barba et al., 2011). No significant change of cyanidin-3-glucoside is observed for HHP treated blood orange juice (Torres et al., 2011). Changes of anthocyanins and total phenolics in fruit mousses and purees after HHP process showed in Table 3. No significant change in concentrations of anthocyanins is also observed for strawberry halves, strawberry and blackberry purees (Terefe et al., 2009; Patras et al., 2009b; Cao et al., 2011). Wild strawberry and strawberry mousses showed 89% retention of anthocyanins after 500 MPa/50°C/10 min. In another study, It is reported that the stability of strawberry and red raspberry anthocyanins, namely pelargonidin-3-glucoside and pelargonidin-3-rutinoside, at 800 MPa for 15 min. at moderate temperature (18-22°C) may be due to complete inactivation of polyphenoloxidase (Pozo-Insfran et al., 2006). In contrast to these findings, Terefe et al. (2013) and Talcott et al. (2003) showed significant loss of anthocyanins in strawberry puree and muscadine grape juice.

Table 1. Changes of anthocyanins and total phenolics in fruits after HHP process

	Process and Storage Conditions	Anthocyanin content		Total Phenolics	References
		After Process	Storage		
Strawberry halves	600 MPa/60°C/10min., 3 months storage at 4°C	No SN effect	27±10% decreased	No SN effect after HHP treatment. 22±13% decreased at the end of storage.	Terefe et al.,2009
Strawberry	200-800 MPa/18-22°C/15 min., storage at 4-30°C for 9 days		Greater stability at 800 MPa for P3G and P3R at storage temperature of 4°C for 9 days storage.		Zabetakis et al. 2000
Raspberry	200-800 MPa,18-22°C, 15 min., storage at 4-30°C for 9 days		Greater stability at 800 MPa for C3G and C3S at storage temperature of 4°C for 9 days storage.		Zabetakis et al. 2000
Blackcurrants	200-800 MPa /20-22,5°C/15 min., storage at 5-30°C for 7 days		Best stability for C3R at 600 MPa 5 °C, for D3R at 800 MPa 5°C for 7 days storage.		Kouniaki et al. 2004

Anthocyanin content of phenolics generally reduces during storage. While anthocyanins of

HHP-treated cloudy pomegranate, pomegranate and strawberry juices are declining during storage,

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

anthocyanins of HHP-treated blueberry juices showed no change even after 56 days' storage at 4°C (Chen et al., 2013; Zabetakis et al., 2000; Ferrari et al., 2011, Barba et al., 2011). Significantly higher loss of anthocyanins in HHP-treated cloudy strawberry juices were observed than in HHP-treated clear strawberry juices at 4°C storage, which was possibly due to higher concentrations of oxygen absorbed on pulp particles promoting the degradation of anthocyanins. Moreover, the loss of anthocyanins in both juices at 25°C were significantly higher than at 4°C and only less than 5% anthocyanins were retained in both juices after 6 months of storage at 25°C, which mainly resulted from higher storage temperatures (Cao et al., 2012). Zabetakis et al. (2000) also reported 15-20%, 50-60% and 70-80% decreases of anthocyanins in HHP-treated whole strawberry (200-800MPa/15min/18-22°C) after 7 days of storage at 4, 20 and 30°C, respectively. In addition, Ferrari et al. (2011) reported that retention of anthocyanins was %72 and %75 for wild strawberry mousses and strawberry mousses respectively after 21 days' storage, 4°C (Ferrari et al., 2011). The stability of anthocyanins can be due to a possible complete inactivation of polyphenoloxidase as reported for strawberry and red raspberry treated by HHP (Pozo-Insfran et al., 2006). Greater stability of several anthocyanins for raspberry, strawberry, blackcurrants was observed for 600-800 MPa amongst 200-800 MPa treated samples at 4-5°C, 7-9 days' storage (Suthanthangjai et al., 2005; Zabetakis et al., 2000; Kouniaki et al., 2004). With all treatments, it is clear that the extent of anthocyanins losses were lowest when fruits and fruit products were stored at 4°C. Authors mostly reported that anthocyanins are stable to HHP treatment at moderate temperatures, while anthocyanin degradation generally occurs during the storage of the processed foodstuffs. Loss of anthocyanins was probably due to oxidation as well as condensation of anthocyanin pigments with phenolic compounds. Due to the residual oxygen concentration and the activity of polyphenol oxidase and peroxidase, a decreasing trend can be seen during storage. Condensation reactions of anthocyanins with other phenolics naturally occurred in juices with storage times, phenolic acids such as ferulic and syringic acids showed complexities with anthocyanins in strawberry and raspberry juices and condensation products were unstable and further degrade to colorless compounds. The stability of anthocyanins was

also influenced by other fruit components, particularly the interaction of ascorbic acid with anthocyanins. The degradation of anthocyanins induced by ascorbic acid was hypothesized to result indirectly from hydrogen peroxide formation during oxidation of ascorbic acid, which could trigger nucleophilic attack of the C2 of anthocyanins, and finally cause its ring open into check ketone (Castañeda-Ovando et al., 2009; Rein et al., 2005).

Effects of HHP on total phenolic content (TPC) of fruits and fruit products

The effects of thermal and high hydrostatic pressure (HHP) processing on phenolics of fruits, fruit juices, nectars, purees, mousses, smoothies were assessed by several studies. Total phenolic content (TPC) of pomegranate juice increased significantly after 350 and 500 MPa/30-150 s. HHP process. TPC showed an increase in the first 3 days and started to decrease after 5 days for HHP samples. TPC of control samples was also decreased during storage at 4°C (Varela-Santos et al., 2012). In addition, significant increase of phenolics after 300-400 MPa/2.5-25 min. treatment was observed in cloudy pomegranate juice (Chen et al., 2013). Alpas (2013) also studied pomegranate juices at 200-400 MPa/5-25°C/5-10 min., no significant change was reported for HHP samples, while significant decrease of phenolics was reported for TT (85°C/10min.).

Changes of anthocyanins and total phenolics in fruit juices, nectars and smoothies after HHP process demonstrated in Table 2. Orange-juice milk beverage showed significant and nonsignificant increases for 100-400 MPa HHP treatments and thermal treatments following 90-98°C, 15-21 s. In addition, TPC of smoothie, mix of papaya, melon juices, carrot puree and skimmed milk, after 450-600 MPa HHP treatment increased (Andres et al., 2015). After process, TPC of HHP smoothies was slightly higher (≈11%) compared to TT samples (Keenan et al., 2010; Keenan et al., 2012). Likewise, orange juice milk beverage and smoothies, TPC of prickly pear beverage, apricot nectar and litchi juice increased after HHP process (Jimenez-Aguilar et al., 2015; Huang et al., 2013; Zheng et al., 2014). HHP treatments increased total and individual phenolics in apricot nectars, which were significantly lower than those in HTST-treated apricot nectars (Huang et al., 2013). While HHP increased TPC in litchi juice, a fermented fruit juice, TPC decreased by TT. During 4 weeks of storage at

4°C, TPC in heat treated litchi juice showed a tendency to slowly decrease, while a slight fluctuation is observed in TPC of HHP-treated litchi juice (Zheng et al., 2014). Barba et al. (2011) reported that TPC in HHP-treated and untreated blueberry juice showed no change after process. Likewise, TPC of mango nectar did not change after HHP

(600MPa/1min.) and HTST (110°C/8.6 s). During 56 days' storage of blueberry juices at 4°C, fluctuations in the TPC were observed for all blueberry juice samples. After 16 weeks' storage, TPC decreased by 19.11 and 27.94% in HHP-treated samples, and by 17.03 and 25.23% in HTST-treated samples at 4 and 25°C, respectively.

Table 2. Changes of anthocyanins and total phenolics in fruit juices, nectars and smoothies after HHP process

	Process and Storage Conditions	Anthocyanin content		Total Phenolics	
		After Process	Storage		
Pomegranate juice	400 MPa/25°C/5min, 21-72 days storage at 4°C	63% of anthocyanins retained	65% is retained at 21 days storage, 4°C; 63% is retained at 72 days storage, 4°C		Ferrari et al. 2011
Pomegranate juice	350-500MPa/30-150s. 35 days storage	No SN decrease in monomeric anthocyanin pigment concentrations for HHP samples, SN decrease in control samples		TPC is increased significantly between 3.38-11.99% after HHP. TPC showed an increase in the first 3 days and started to decrease after 5 days for HHP samples. The phenolic content is also decreased for control samples during storage.	Varela-Santos et al. 2012
Pomegranate juice	200-400 MPa/5-25°C/5-10min. or TT (85°C/10min)	No SN decrease in monomeric anthocyanin pigment concentrations for HHP samples, SN decrease in TT samples		No significant decrease in phenolics for HHP samples, significant decrease in TT samples	Alpas 2013
Cloudy pomegranate juice	300-400 Mpa/2.5-25 min. or HTST(110°C/8.6s), 90 days storage at 4°C	Greater retention for HHP samples	Decrease for HHP and HTST samples	SN increase for HHP samples and SN decrease for HTST samples after treatment. During storage, TPC decreased in HHP and HTST samples. There was no significant difference in the total phenols among each detected points from the thirtieth day to ninetieth day during the storage	Chen et al. 2013
Strawberry juice (cloudy and clear)	600 MPa/4 min., 6 month storage at 4-25°C		29.76% and 7.02% decrease for cloudy and clear samples respectively at 4°C. The decrease at 25°C almost doubled.	16.22% and 13.82% decrease for cloudy and clear samples respectively at the end of 6 months, 4°C. The decrease at 25°C almost doubled.	Cao et al., 2012
Muscadine grape juice	400 -550 MPa /15 min	70 % loss at 400 MPa and 46% loss at 550 MPa			Talcott et al. 2003
Blueberry juice	600 MPa/42°C/5 min. 7-56 days storage	SN increase	No change after 56 days storage	No change in TPC of treated and untreated samples after process.	Barba et al. 2011

				During 56-day storage at 4 °C fluctuations in the TPC were observed for all juices.	
Blood orange juice	400-600 MPa/15 min, storage at 4, 20°C	> %99 retention of C3G is observed	Greater stability at 500 MPa for C3G at 4°C for 10 days storage		Torres et al. 2011
Orange juice-milk beverage	100- 400 MPa for 120-540 s or TT(90-98°C/15-21 s)			SN and NSN increases for all HHP treatments except 400 Mpa, 540 s SN and NSN increases for all TT	Barba et al. 2012
Litchi juice	500Mpa/2min. or TT (95°C/1min). 4 weeks storage			NSN increase in TPC after HHP treatment, decrease after TT. The content of total phenolics in fermented heat-treated litchi juice showed a tendency to slowly decrease during 4 weeks of storage at 4°C, while a slight fluctuation in the content of total phenolics of fermented HHP-treated litchi juice during 4 weeks of storage at 4°C was observed.	Zheng et al.2014
Prickly pear beverage	400—550 MPa/0.3-16 min.			SN increase in 550MPa/t≥2min. samples	Jimenez-Aguilar et al., 2015
Apricot nectar	300-500MPa/5-20 min. or HTST(110°C/8.6s)			HHP treatments increased total and individual phenolics in apricot nectars, which were significantly lower than those in HTST-treated apricot nectars.	Huang et al. 2013
Mango nectar	600MPa/1min or HTST(110°C/8.6s) 16 weeks storage at 4 and 25°C, steam blanching was implemented prior both HHP and HTST			No SN changes IN TPC after HHP or HTST. After 16 weeks storage, TPC decreased by 19.11 and 27.94% in HHP-treated samples, and by 17.03 and 25.23% in HTST-treated samples at 4 and 25°C, respectively.	Liu et al. 2014
Fruit smoothie	450-600 MPa/20 °C/1-120 min. or TT(P ₇₀ > 10 min)			TPC of HPP smoothies (450 MPa;5 min) was slightly higher (~11%) compared to TT samples.	Keenan et al. 2010; Keenan et al.2012
Smoothie (mix of papaya, melon juices, carrot puree and skimmed milk)	450-600MPa/20°C/3 min or TT (80°C/3 min.), 45 days storage at 4°C			TPC increased after HHP treatment. TPC decreased 15%, 12%, 11% and 8% for untreated, HHP-450, HHP-600 and TT samples respectively at the end of storage period.	Andrés et al. 2015

Table 3. Changes of anthocyanins and total phenolics in fruit mousses and purees after HHP process

	Process and Storage Conditions	Anthocyanin content		Total Phenolics	
		After Process	Storage		
Wild strawberry mousses	500MPa/50°C/10min, 21-72 days storage at 4°C	89% of anthocyanins retained	72% is retained at 21 days' storage, 4°C; 63% is retained at 72 days storage, 4°C		Ferrari et al., 2011
Strawberry mousses	500MPa/50°C/10min, 21-72 days storage at 4°C	89% of anthocyanins retained	75% is retained at 21 days' storage, 4°C; 65% is retained at 72 days storage, 4°C		Ferrari et al., 2011
Apple Puree	400-600 MPa/5min/20°C or TT(75°C/10min.), 7-21 days storage			No change at 400 MPa, SN decrease at 600 MPa. Storage revealed that mild pasteurization preserved higher levels of phenolics than pressure-treated samples.	Landl et al., 2010
Strawberry and blackberry purees	400-600 MPa/15 min/10-30°C or TT (70°C/2min)	No change at HHP, SN decrease at TT for all samples		Strawberry: no change for 400-500 Mpa, SN increase for 600 MPa, SN decrease for TT Blackberry: no change for 400MPa and TT. SN increase for 500, 600MPa	Patras et al., 2009b
Strawberry puree	600 MPa/20°C/5min. or TT (88°C/2min.), 3 months storage at 4°C	SN decrease for HHP and TT samples	SN decrease for HHP and TT samples	SN decrease for HHP and TT samples after process. Slightly higher loss of TPC were observed during storage of HHP samples compared to TT samples.	Terefe et al., 2013
Strawberry pulp	400-600MPa/5-20min. or TT ((P ₇₀ ≥ 2 min.)	No SN change for all HHP samples, SN decrease at TT		SN decrease at 400MPa, No SN change at 500, 600MPa, SN increase at TT	Cao et al., 2011
Gooseberry pulp	300-500MPa/3-5min., 60 days storage			The maximum levels of TPC were observed at 500MPa/5min. at day 0. Some HHP treatments showed reduction in the TPC relate to control samples at day 60.	Vega-Gálvez et al., 2014

C3G: cyanidin-3-glucoside P3R: pelargonidin-3-rutinoside

SN: significant

HTST: high temperature short

C3S: cyanidin-3-sophoroside C3R: cyanidin-3-rutinoside

NSN: nonsignificant

TPC: total phenolic content

P3G: pelargonidin-3-glucoside D3R: delphinidin-3-rutinoside

TT: thermal treatment

HHP: high hydrostatic pressure

In table 3, changes of anthocyanins and total phenolics in fruit mousses and purees after HHP process is showed. The maximum TPC in gooseberry pulp was observed after 500 MPa/5 min. HHP amongst 300-500 MPa/3-5 min. HHP treatments. Some of HHP-treated samples had higher TPC some of them had lower TPC than control samples (Vega-Gálvez et al., 2014). Similar results were obtained for apricot nectars and apple puree (Huang et al., 2013). TPP content of apple puree was not changed during processing at 400 MPa, but was affected by the 600 MPa and also slightly by the pasteurization (Landl et al., 2010). Based on these results, it can be concluded that HHP treatment, due to changes in fruit pulp microstructure, produces changes in the distribution and aggregation of phenolic compounds. High pressure treatment can increase the rate of mass transfer in an enhancement of solvent penetration into the cells by disrupting the cellular walls and hydrophobic bonds in cell membrane, which may lead to a high permeability (Prasad et al., 2009). Thus, the increase in total phenols may be related to an increased extractability of some antioxidant components such as anthocyanins, amino acids and protein with phenolic hydroxyl group after HHP treatment (Cao et al., 2011).

TPC of strawberry purees and pulps showed different trends after HHP treatments (Patras et al., 2009b; Terefe et al., 2013; Cao et al., 2011). TPC of strawberry purees increased at 600 MPa/10-30°C/15. min., while TPC of strawberry purees showed no change for 400-500 MPa/10-30°C/15 minutes (Patras et al., 2009b). Likewise, Cao et al. (2011) reported no significant change in TPC following HHP (400-600MPa/5-25min.) In contrast, Terefe et al. (2013) observed significant decrease at 600MPa/20°C/5min. Terefe et al. (2013) attributed to homogenized strawberry puree samples with substantial tissue disruption, which allowed significant enzyme-substrate interaction during processing due to tissue decompartmentalisation. In addition, the strawberry halves, which showed no significant change in TPC after HHP, were vacuum packed limiting the availability of oxygen for oxidation (Terefe et al., 2009). These may explain the observed difference between Terefe et al. (2013) and other studies in the literature like that of Terefe et al. (2009) and Patras et al. (2009b) where the samples were vacuum packed. Patras et al. (2009b) and Terefe et al. (2013) reported that thermal treatment caused significant decrease in TPC of strawberry purees, while Cao et al. (2011)

reported significant increase in TPC of thermally treated strawberry pulps. Cao et al. (2012) reported that TPC of 600 MPa/4 min. HHP-treated cloudy and clear strawberry juices decreased 16.22% and 13.82% respectively at the end of 6 months' storage, 4°C. The decrease at 25°C almost doubled, which was due to decomposition of total phenols induced by higher temperatures during storage (Cao et al., 2012). Normally, polyphenol oxidase and peroxidase were considered to be the main enzymes responsible for the decay of phenols in processed fruits and their derived foods. However, these two enzymes could totally inactivate in blanching, and no enzymatic degradation of total phenols was present in some studies. The decrease of total phenols attributed to the oxidation degradation of phenolic compounds and the polymerization of phenolic compounds with proteins (Cao et al., 2011).

Enzymatic oxidation (polyphenol oxidase and peroxidase) and non-enzymatic autooxidation are responsible of phenolics deterioration. For several PPO enzymes, it has been reported that pressure-induced inactivation proceeds faster at lower pH however the inactivation is also influenced by the addition of salts, sugars or other things. However, it must be noted that the effect of HHP processing parameters such as pressure, temperature and time along with physicochemical properties of fruit such as total soluble solids and pH have varying effects on the enzymes responsible for anthocyanins and phenolics stability in HHP processed fruits and fruit products (Pozo-Insfran et al., 2006).

Conclusions and Future Trends

Phenolic compounds are healthy substances and food industry aims to preserve these compounds and decrease losses of these substances. HHP of fruits and vegetables has been revealed as a useful tool to extend their shelf life and quality as well as to preserve their nutritional and functional characteristics.

Impact of processing conditions and matrix of food on the stability of phenolic compounds in fruits and their products after the process and during storage are very important. It is considered that HHP results in better retention of phenolics and anthocyanins compared to thermal treatments, although some studies indicate that this may not be true in all cases. Processing conditions such as pressure, time, temperature and food-related traits

such as food matrix, pH affects retention of phenolic compounds.

HHP generally proves itself compared to heat treatment in preserving phenolic compounds, but it depends on processing conditions. Further research will be necessary for exploring new applications of HHP technologies, not only to improve the sensorial quality and stability of foods as the main objective, but also to obtain healthy products which have more amounts of bioactive substances like phenolic compounds by preserving them as much as possible during processing. Processing conditions of HHP such as pressure, temperature, time, that increases or stabilizes phenolic compounds, should be studied and determined for more fruit and fruit products. Modelling of HHP conditions for maximum phenolic increase or retainment in different fruits and fruit products would be beneficial.

References

- Ahmed, J., Ramaswamy, H.S., & Hiremath, N. (2005). The effect of high pressure treatment on rheological characteristics and colour of mango pulp. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 885-895.
- Alpas, H., (2013). Effect of high hydrostatic pressure processing (HHP) on quality properties, squeezing pressure effect and shelf life of pomegranate juice. Poster Presentation. *Current Opinion in Biotechnology*, s111.
- Andrés, V., Villanueva, M.J., & Tenorio, M.D., (2016). The effect of high-pressure processing on colour, bioactive compounds, and antioxidant activity in smoothies during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 192, 328-335.
- Bala, B., Farkas, D., & Turek, E.J., (2008). Preserving foods through high-pressure processing. *Food Technology*, 11, 32-38.
- Barba, F.J., Jager, H., Meneses, N., Esteve, M.J., & Frígola, A., Knorr, D., (2012). Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 18-24.
- Barba, F.J., Cortes, C., Esteve, M.J., & Frígola, A., (2012). Study of antioxidant capacity and quality parameters in an orange juice-milk beverage after high-pressure processing treatment. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2222-2232.
- Barba, F.J., Jager, H., Meneses, N., Esteve, M.J., Frígola, A., & Knorr, D. (2011). Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 18-24.
- Boynton, B.B., Sims, C.A., Sargent, S., Balaban, M.O., & Marshall, M.R., (2002). Quality and stability of pre-cut mangos and carambolas subjected to high-pressure processing. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*, 67(1), 409-415.
- Bull, M.K., Zerdin, K., Howe, E., Goicoechea, D., Paramanandhan, P., Stockman, R., Sellahewa, J., Szabo, E.A., Johnson, R. L., & Stewart, C.M., (2004). The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 135-149.
- Burrows, G., (2001). *Production of thermally processed and frozen fruit*. In: Arthey, D., Ashurst, P. R. (Eds.), *Fruit Processing: Nutrition, products, and quality management*, 2nd ed. Gaithersburg, Maryland: Aspen publishers, pp. 149–176.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M.L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J.A., & Galán-Vidal, C.A., (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859-871.
- Cao, X., Bi, X., Huang, W., Wu, J., Hu, X., & Liao, X., (2012). Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 181-190.
- Cao, X., Zhang, Y., Zhang, F., Wang, Y., Yi, J., & Liao, X., (2011). Effects of high hydrostatic pressure on enzymes, phenolic compounds, anthocyanins, polymeric colour and colour of strawberry pulps. *Journal of the Food Science of Food and Agriculture*. 91, 877-885.
- Chen, D., Xi, H., Guo, X., Qin, Z., Pang, X., Hu, X., Liao, X., & Wu, J., (2013). Comparative

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

- study of quality of cloudy pomegranate juice treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 85-94.
- Corbo, M.R., Bevilacqua, A., Campaniello, D., D'Amato, D., Speranza, B., & Sinigaglia, M., (2009). Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non-thermal approaches. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 223-241.
- FDA, (2014). Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies -- High Pressure Processing. U.S. Food and Drug Administration, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm101456.htm>
- Ferrari, G., Maresca, P., & Ciccarone, R., (2011). The effects of high hydrostatic pressure on the polyphenols and anthocyanins in red fruit products. *Procedia Food Science*, 1, 847-853.
- García-Viguera, C., & Bridle, P., (1999). Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. *Food Chemistry*, 64(1), 21-26.
- Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas, G. V., Moraga-Ballesteros, G., Moraga-Ballesteros, M.J., & Swanson, B.G., (2006). Effect of pH and ascorbic acid on high hydrostatic pressure-processed mango puree. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(5), 582-596.
- Huang, W., Bi, X., Zhang, X., Liao, X., Hu, X., & Jihong, W., (2013). Comparative study of enzymes, phenolics, carotenoids and color of apricot nectars treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18, 74-82.
- Jimenez-Aguilar, D.M., Escobedo-Avellaneda, Z., Martin-Belloso, O. Gutierrez-Urbe, J., Valdez-Fragoso, A., Garcia-Garcia, R., Torres, J.A., & Welti-Chanes, J., (2015). Effect of high hydrostatic pressure on the content of phytochemical compounds and antioxidant activity of prickly pears (*Opuntia ficus-indica*) beverages. *Food Engineering Reviews*, 7, 198-208.
- Jun, X., Deji, S., Shou, Z., Bingbing, L., Ye, L., & Rui, Z., (2009). Characterization of polyphenols from green tea leaves using a high hydrostatic pressure extraction. *International Journal of Pharmaceutics*, 382, 139-143.
- Keenan, D.F., Brunton, N.P., Gormley, T.R., Butler, F., Tiwari, B.K., & Patras, A. (2010). Effect of thermal and high hydrostatic pressure processing on antioxidant activity and colour of fruit smoothies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 551-556.
- Keenan, D.F., Röbble, C., Gormley, R., Butler, F., & Brunton, N.P. (2012): Effect of high hydrostatic pressure and thermal processing on the nutritional quality and enzyme activity of fruit smoothies. *LWT-Food Science and Technology*, 45: 50-57.
- Kouniaki, S., Kajda, P., & Zabetakis, I., (2004). The effect of high hydrostatic pressure on anthocyanins and ascorbic acid in blackcurrants (*Ribes nigrum*). *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 281-286.
- Krebbbers, B., Matser, A.M., Hoogerwerf, S.W., Moezelaar, R., Tomassen, M.M.M., & Vanden Berg, R.W., (2003). Combined high-pressure and thermal treatments for processing of tomato puree: evaluation of microbial inactivation and quality parameters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4(4), 377-385.
- Landl, A., Abadias, M., Sárraga, C., Viñas, I., & Picouet, P.A., (2010). Effect of high pressure processing on the quality of acidified Granny Smith apple purée product. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 557-564.
- Liu, F., Wang, Y., Li, R., Bi, X., & Liao, X., (2014). Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 35-43.
- Lopes M.L.M., Mesquita, V.L.V., & Chiaradia, A.C.N., Fernandes, A.A.R., Fernandes, P.M.B., (2010). *High hydrostatic pressure processing of tropical fruits Importance for maintenance of the natural food properties*. In: Braaten, D. (Eds.), Annals of The New York Academy of Sciences Issue: High-

- Pressure Bioscience and Biotechnology, The New York Academy of Sciences, pp. 6-15.
- McInerney, J. K., Seccafien, C. A., Stewart, C. M., & Bird, A.R., (2007). Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability in vegetables. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 543-548.
- Michels, K.V., Giovannucci, E., Joshipura, K.J., Rosner, B.A., Stampfer, M.J., Fuchs, C.S., Colditz, G.A., Speizer, F.E., & Willett, W.C., (2000). Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 92, 1740-1752.
- Oey, I., Lille, M., Van Loey, A., & Hendrickx, M., (2008). Effect of high pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 320-328.
- Patras, A., Brunton, N., Pieve, S.D., Butler, F., & Downey, G., (2009a). Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purees, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 16-22.
- Patras, A., Brunton, N.P., Pieve, S., & Butler F., (2009b). Impact of high pressure on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purees. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 308-313.
- Prasad, K.N., Yang, E., Yi, C., Zhao, M., & Jiang, Y., (2009). Effect of high pressure extraction on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of longan fruit pericarp. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2), 155-159.
- Pozo-Insfran, D.D., (2006). Emerging Technologies and Strategies to Enhance Anthocyanin Stability. Doctoral Dissertation University of Florida, 1-144.
- Ramirez, R., Saraiva, J.A., Perez Lamela, C., & Torres, J.A., (2009). Reaction kinetics analysis of chemical changes in pressure-assisted thermal processing. *Food Engineering Reviews*, 1(1), 16-30.
- Rein, M.J., Ollilainen, V., Vahermo, M., Yli-Kauhaluoma, J., & Heinonen, M., (2005). Identification of novel pyranoanthocyanins in berry juices. *European Food Research and Technology*, 220, 239-244.
- Sánchez-Moreno, C., Ancos, B., Plaza, L., Elez-Martínez, P., & Cano, M.P., (2009). Nutritional approaches and health-related properties of plant foods processed by high pressure and pulsed electric fields. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, 552-576.
- Suthanthangjai, W., Kajda, P., & Zabetakis, I., (2005). The effect of high hydrostatic pressure on the anthocyanins of raspberry (*Rubus idaeus*). *Food Chemistry*, 90, 193-197.
- Talcott, S.T., Brenes, C.H., Pires, D.M., & Pozo-Insfran, D.D., (2003). Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 957-963.
- Terefe, N.S., Matthies, K., Simons, L., & Versteeg, C., (2009). Combined high pressure-mild temperature processing for optimal retention of physical and nutritional quality of strawberries (*Fragaria×ananassa*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 297-307.
- Terefe, N. S., Kleintschek, T., Gamage, T., Fanning, K.J., Netzel, G., Versteeg, C., & Netzel, M., (2013). Comparative effects of thermal and high pressure processing on phenolic phytochemicals in different strawberry cultivars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 57-65.
- Tokusoglu, O., Alpas, H., & Bozoglu, F., (2010). High hydrostatic pressure effects on mold flora, citrinin mycotoxin, hydroxytyrosol, oleuropein phenolics and antioxidant activity of black table olives. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 250-258.
- Tomás-Barberán, F.A., & Espín, J.C., (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 853-876.

Journal abbreviation: **J Food Health Sci**

- Torres, B., Tiwari, B.K., Patras, A., Cullen, P.J., Brunton, N., & O'Donnell, C.P., (2011). Stability of anthocyanins and ascorbic acid of high pressure processed blood orange juice during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 93-97.
- Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J.E., Pérez-Won, M., Briones-Labarca, V., & Morales-Castro, J., (2012). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 13-22.
- Vega-Gálvez, A., López, J., Torres-Ossandón, M. J., Galotto, M. J., Puente-Díaz, L., Quispe-Fuentes, I., & Scala, K., (2014). High hydrostatic pressure effect on chemical composition, color, phenolic acids and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana L.*). *LWT-Food Science and Technology*, 58, 519-526.
- Zabetakis, I., Leclerc, D., & Kajda, P., (2000). The effect of high hydrostatic pressure on the strawberry anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2749-2754.
- Zheng, X., Yu, Y., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., Tang, D., & Zhang, Y., (2014). Comparing product stability of probiotic beverages using litchi juice treated by high hydrostatic pressure and heat as substrates. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 23, 61-67.

ORIGINAL ARTICLE/ORIJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

OCCURRENCE OF *LISTERIA* SPECIES IN PROCESSING EQUIPMENTS, UNITS AND FROZEN FISH OF FISH PROCESSING FACTORIES

Berna KILINÇ¹ & Atife Tuba BEKEN²¹ Ege University Faculty of Fisheries Department of Fish Processing Technology, Bornova-İzmir, Turkey² Central Fisheries Research Institute, Yomra-Trabzon, Turkey

Received: 19.10.2015

Accepted: 10.12.2015

Published online: 14.12.2015

Corresponding author:

Berna KILINÇ, Ege University Faculty of Fisheries Department of Fish Processing Technology, 35100, Bornova-İzmir, Turkey

E-mail: berna.kilinc@ege.edu.tr**Abstract:**

This study was performed to determine the presences of *Listeria* species in three fish processing factories in İzmir, Turkey. Gilt head seabream (*Sparus aurata*) has been processed in three factories and exported as frozen to other foreign countries. *Listeria* spp. especially *Listeria monocytogenes* can be a point under consideration of fish processing factories while exporting. For this purpose; A total of 300 samples were examined for *Listeria* spp in three fish processing factories to determine the contamination levels of fish processing factories with *Listeria* spp. Samples were taken from units of fish processing factories such as (boxes, processing tables, floors) and equipments (processing coats, gloves) and also processed products (frozen fish). According to the results of this study, *Listeria monocytogenes* was isolated from 21 or 7% of the samples *Listeria ivanovi* was isolated from 15 or 5% of the samples and *Listeria welshimeri/innocua* was isolated from 2 or 0.6% of the samples collected from three factories. *Listeria welshimeri/innocua* was only isolated from the processing coats (2 or 11%) in factory A. However, *Listeria monocytogenes* was isolated from boxes (1 or 6%), processing tables (2 or 11%), floor (4 or 22%), processing coats (3 or 17%), gloves (6 or 33%) and frozen fish (5 or 50%) samples taken from the factory C. Except for

frozen fish, *Listeria ivanovi* was isolated from boxes (7 or 39 %), processing tables (3 or 17%), floor (3 or 17%), processing coats (1 or 6 %) and gloves (1 or 6%) taken from the factory B. The incidence of *Listeria* species in the production line of fish processing factories points out that contamination can occur during fish processing stage. Therefore, *Listeria* spp. must be controlled during processing of fishery products. Proper cleaning and sanitation programme of fish processing factories must be applied. Samples must be taken and examined regularly from every units and equipments of fish processing factories to avoid the contamination and spread of *Listeria* spp in fish processing factories. Cleaning of fish processing equipments and fish processing units could be very important in order to avoid the occurrence of cross contamination of the fishery products. It must be taken hygienic precautions because of the contamination of *Listeria* spp. Besides HACCP plan must be applied to prevent recontamination of *Listeria* species to fishery products and it must be also applied to eradicate *Listeria* species from the fish processing factories.

Keywords: *Listeria* spp, Contamination, Fish processing factories, Fishery product

Introduction

Listeria monocytogenes has been regarded as a foodborne pathogen since the early 1980s and has been indicated as the causative agent in several foodborne outbreaks of listeriosis Dillon and Patel (1993). *L. monocytogenes* is a widespread microorganism in the environment which can be isolated from a variety of foods including fish. Fresh, frozen, undercooked, dried-salted, marinated, cold and hot smoked fish and fishery products are associated with the contamination *Listeria* spp. (Motes 1991, Farber 1991, Jemmi and Keusch 1992, Huss 1997, Beumer 1997, Poysky et al. 1997, Jorgensen and Huss 1998, Kılınc, 2001, Miettinen and Wirtanen, 2006, Porsby et al. 2008, Kovacevic et al. 2012).

Biofilm formation of *Listeria* spp. at various environmental conditions significantly impairs cell variation and certain strains are capable of dominating others in colonization of surfaces. Planktonic cells tend to proliferate faster than detached cells and even more than attached, especially at stringent conditions and low contamination levels. However, at high initial contamination levels and conditions close to optimal, such differences are less pronounced (Belessi et al. 2011). The importance of preventing pre-and postprocessing contamination of *L. monocytogenes* are also necessary. Because a significant increase of *L. monocytogenes* is measured during storage, there might be an increasing risk of infection for the consumer by storing such fish for a long time (Guyer and Jemmi 1991). Up to 75 % of retail packages of sliced smoked salmon have been shown to be contaminated by *Listeria monocytogenes* (Fletcher and Rogers 1991). Contrary to some literature data, it was concluded that *L. monocytogenes* is able to grow significantly on refrigerated vacuum-packaged cold smoked salmon within the shelf-life of the product (Hudson and Mott 1993). *L. monocytogenes* contamination in smoked seafoods which are not cooked prior to consumption, may pose a health risk to the consumer (Dillon and Patel 1993). The growth of the psychrotrophic pathogens *L. monocytogenes* during refrigerated storage on aquacultured fish fillets could increase the food hazard risk, particularly where there is a possibility of cross-contamination with ready-to-eat food products (Fernandes et al. 1998). Most processors carry out appropriate food safety practices, but some improvements are needed in order

to minimize the risk of *Listeria* contamination. It was found that the larger processors achieved better temperature control than the smaller processors. Approximately half of the visited premises needed to improve their refrigerated storage. The risk of ceiling condensation dripping onto product was a common problem, but the smaller premises were the most affected. Small food business operators require additional information on how cleaning and sanitation throughout the process can reduce contamination of the final product. Furthermore, guidance describing the best way of determining shelf life was requested by small processors (Rotariu et al., 2014). Behavior of planktonic, attached and detached *L. monocytogenes* cells in response to changes in the environmental conditions. This may be associated with cross-contamination scenarios occurring between surfaces and products in a food industry or even between products with different physicochemical parameters, and could contribute to the development of bio-traceability models. Further knowledge on such physiological changes will markedly assist in risk assessment of *L. monocytogenes*, as well as in the development of efficient HACCP plans (Belessi et al. 2011). Processors having the highest *Listeria* prevalence were also those most concerned about what microbiological testing should be carried out and how to evaluate the quality of their products. Most processors rarely exceeded (i.e. once every several years) the statutory limit set by the European Union (>100 cfu/g or presence in 25 g). The small producers did not undertake product testing for *Listeria* because of high test costs and lack of technical expertise. Hence, it was concluded that sharing expertise between producers, especially to smaller processors would be beneficial in terms of consumer protection (Rotariu et al., 2014). In recent years, consumer attention has centered on the acquisition of very fresh food. Therefore, the food industry has focused not only on meeting the safety regulations in this field, but also in keeping customers by providing safe and healthy products (Calanche et al., 2013). Microbiological assessment along the fish production chain of Norwegian pelagic fisheries sector were studied by (Svanevik et al., 2015). This study has revealed that the quality of pelagic fish can be optimised by improving the hygiene conditions at some critical points at an early phase of the production chain.

Thus, the proposed assessment scheme may provide a useful tool for the industry to optimise quality and maintain consumer safety of pelagic fishery products (Svanevik et al., 2015).

Microbial fish safety is getting a close attention from regulatory agencies and consumers. Therefore, fish farm raising rainbow trout and affiliated slaughterhouse and smoking plants were evaluated for the occurrence of *Listeria monocytogenes* in Turkey (Kisla et al., 2007).

There are many studies in the literature made about occurrence of *Listeria* spp. in food processing plants (Korsak et al., 2012; Campdepadrós, et al., 2012; Almeida et al., 2013; Strydom et al., 2013; Martin et al., 2014; Ortiz et al., 2014; Ruckeri et al., 2014; Rodriguez-Lopez et al. 2015). There are a few studies made about the presence of *L. monocytogenes* in fish processing factories in the other countries (Duarte, et al., 1999; Miettinen and Wirtanen, G 2006; Skara et al., 2011). However, in Turkey there are very limited studies made about regarding the presence of *L. monocytogenes* in hot-smoked fish processing plant (Kisla et al., 2007).

The hygienic qualities of processed fishery products have been affected from the hygienic qualities of fish processing factories. For this purpose; the aim of this study was to examine the hygienic qualities of three fish processing factories associated with *Listeria* spp.

Materials and Methods

Samples

A total of 300 samples were examined for *Listeria* spp in three fish processing factories. In each factory a total of 100 samples were examined. Each plant was visited two times while processing of gilt head seabream (*Sparus aurata*). A total of 100 samples were taken from each fish processing factory in two different processing time. Samples were collected from the same places in each factory. Samples were taken from boxes, processing tables, floors, processing coats and gloves by swabbing (5x5 cm² of area). Each site was swabbed 3 times. Frozen fish samples were also taken. All swabbed samples were put into preenrichment broth and transported to the Microbiology Laboratory of Ege University Fisheries Faculty, Fish Processing Technology Department under refrigeration in 30 minutes.

Microbiological analyses

Horizontal method (ISO 11290-1:1997) was used for determining *Listeria* spp. Brilliance™ *Listeria* Agar can be used following a variety of enrichment procedures i.e. ISO, NMKL, BAM, etc. The following is a suggested protocol using ONE Broth-*Listeria*. This method has been validated by AFNOR and been shown to give equivalent results to (ISO 11290-1:1997). One Broth *Listeria* Base (CM 1066, Oxoid, Basingstoke, Hants, England) were used for the enrichment step of the *Listeria* species method. One Broth *Listeria* Selective Supplement (SR0234E) were added as supplement. Brilliance™ *Listeria* Agar is a medium for isolation, enumeration and presumptive identification of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* from food samples. Brilliance™ *Listeria* Agar Base (CM 1080 Oxoid, Basingstoke, Hants, England) were prepared. After the sterilization period, Brilliance™ *Listeria* Differential Supplement (SR0228E) and Brilliance™ *Listeria* Selective Supplement (SR0227E) reconstituted as directed mixed well and poured into sterile petridishes.

Each 25 g of sample was put in stomacher bag and added 225 mL of One Broth *Listeria* Base (CM 1066, Oxoid, Basingstoke, Hants, England). Samples were homogenised by using stomacher (IUL, Barcelona, Spain) for 30 sec. and incubated at 30°C for 24 ±2h. Inoculum (10 µL) was spreaded on Brilliance *Listeria* Agar Base (CM 1080 Oxoid, Basingstoke, Hants, England). Plates were incubated at 37°C for 24 ±2 hours. The plates were examined for blue colonies with and without opaque white halos. When testing frozen fish samples, incubated negative plates for a further 24 ±2 hours and examined again according to method of (ISO 11290-1:1997).

All cultures were tested and identified using the API *Listeria* identification kit (BioMerieux, Basingstoke, Hants, England) which comprises a gallery of 10 microtubes containing dehydrated substrates for enzymatic or sugar fermentation tests. The API *Listeria* identification test kit (BioMerieux, Basingstoke, Hants, England) includes an amino acids peptidase substrate (DIM reaction) which is hydrolysed by all *Listeria* species with the exception of *Listeria monocytogenes*. Kits were used in accordance with the manufacturers' instructions. (McLauchlin, 1997).

Statistical Analysis

The Fisher's Exact Test was used to determine the statistical differences between the three fish processing factories. Statistically significant differences according to the existence of *Listeria* spp. in the three fish processing factories between units, equipments and frozen fish samples were indicated as ($p < 0.05$ and $p < 0.10$), no significant differences were indicated as ($p > 0.10$).

Results and Discussion

A total of 300 samples were examined and 38 different isolates of *Listeria* species were identified in three fish processing factories. The species isolated from three fish processing factories were different. In factory A, *Listeria welshimeri/innocua* was isolated only from 2 samples taken from processing coat. However, the other samples taken from the factory A was not found positive for *Listeria* species (Table 1).

Listeria ivanovi was only detected in factory B. From the samples examined about *Listeria* species, *Listeria ivanovi* which detected from 15 of the 38 (39,5%) in factory B. Except for frozen fish, *Listeria ivanovi* was isolated from boxes (7 or

39%), processing tables (3 or 17%), floor (3 or 17%), processing coats (1 or 6%) and gloves (1 or 6%) taken from the factory B (Table 2).

The species most often isolated was *Listeria monocytogenes*, which accounted for 21 of the 38 (55.3%) isolates. *Listeria monocytogenes* was isolated all the samples taken from the factory C. *Listeria monocytogenes* was isolated from boxes (1 or 6%), processing tables (2 or 11%), floor (4 or 22%), processing coats (3 or 17%), gloves (6 or 33%) and frozen fish (5 or 50%) samples taken from the factory C (Table 3).

The existence of *Listeria* spp. in the fish processing factories between units, equipments and frozen fish were determined by using Fisher's Exact test. According to the results of this statistical test, there was significant difference between factory B and factory C at $\alpha = 0.05$ level for boxes (p -value = 0.041) and frozen fish (p -value = 0.033). This statistical difference was obtained at $\alpha = 0.10$ level for gloves (p -value = 0.088). According to the results of this statistical analysis, it was not be obtained any statistical significant difference between Factory B and C for processing tables and floors (p -value = 1.000) and for processing coats (p -value = 0.603).

Table 1. Incidence of *Listeria* species in fish processing equipments, units and frozen fish of factory A

Samples taken from fish processing areas	The number of examined samples	The incidence number of <i>Listeria</i> spp	<i>Listeria</i> spp
Boxes	18	--	--
Processing tables	18	--	--
Floor	18	--	--
Processing coats	18	2 (11%)	<i>Listeria welshimeri/innocua</i>
Gloves	18	--	--
Frozen fish	10	--	--

Table 2. Incidence of *Listeria* species in fish processing equipments, units and frozen fish of factory B

Samples taken from fish processing areas	The number of examined samples	The incidence number of <i>Listeria</i> spp	<i>Listeria</i> spp
Boxes	18	7 (39 %)	<i>Listeria ivanovi</i>
Processing tables	18	3 (17%)	<i>Listeria ivanovi</i>
Floor	18	3 (17%)	<i>Listeria ivanovi</i>
Processing coats	18	1 (6 %)	<i>Listeria ivanovi</i>
Gloves	18	1 (6 %)	<i>Listeria ivanovi</i>
Frozen fish	10	--	--

Table 3. Incidence of *Listeria* species in fish processing equipments, units and frozen fish of factory C

Samples taken from fish processing areas	The number of examined samples	The incidence number of <i>Listeria</i> spp	<i>Listeria</i> spp
Boxes	18	1 (6%)	<i>Listeria monocytogenes</i>
Processing tables	18	2 (11%)	<i>Listeria monocytogenes</i>
Floor	18	4 (22%)	<i>Listeria monocytogenes</i>
Processing coats	18	3 (17%)	<i>Listeria monocytogenes</i>
Gloves	18	6 (33%)	<i>Listeria monocytogenes</i>
Frozen fish	10	5 (50%)	<i>Listeria monocytogenes</i>

Similarly, Dhanashree, Ottab, Karunasagar, Gobel and Karunasagar (2003). were found *L. innocua* in 30,8% and *L. monocytogenes* in 1,3% of fresh raw fish samples. Other species of *Listeria* were not isolated in this study. *L. monocytogenes* was isolated from 4,2% of raw clams and 2,9% of raw flat fish. It is interesting to note that among all food samples studied, highest incidence of *L. innocua* was observed in seafood. *L. monocytogenes* was also isolated only from seafood. This suggests that the risk of acquiring listeriosis is higher through seafood in India. Samples that were positive for *L. monocytogenes* were raw seafood which could be cooked before consumption. Nevertheless, presence of this organism in raw seafood poses a health risk in kitchen where raw and cooked seafood may be stored and handled. Encinas, Sanz, Garcia-Lopez. and Otero, (1999) reported that counts of *Listeria* spp. were determined during the manufacture and drying of 21 lots of five chorizos (fermented spanish sausage) varieties produced by three different manufacturers. Manufacturing procedure and smoking significantly affected presumptive *Listeria* counts. Thirteen strains recovered from F1 (factory 1) batches were identified as: *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* and *Listeria welshimeri*. *Listeria* strains from F2 (factory 2) were assigned to *L. innocua* and *L. welshimeri*.

Miettinen and Wirtanen, (2006) focused on the ecology of *Listeria monocytogenes* in a fish farm by following the changes in its occurrence in different types of samples for a three-year period. Weather conditions were found to have a strong influence on the probability of finding *Listeria* spp. in a fish farm environment. The number of samples contaminated with *Listeria* spp. was typically bigger after rainy periods. Brook and river waters as well as other runoff waters seemed to be the main contamination source at the farm studied. The farmed fish originally found to carry *L. mon-*

ocytogenes become gradually *Listeria* free. In another study, *L. monocytogenes* is introduced into meat processing plants through raw meat. To overcome such contamination, suppliers of raw material should adhere to specific microbiological control measures. In addition, more attention should be focused on the appropriateness and compliance with procedures of cleaning and disinfection. (Thévenot et al. 2006). Other investigators from New Zealand assessed the contamination pattern of *L. monocytogenes* in Greenshell mussel processing plants. It clearly demonstrated that factories harbor different populations of *L. monocytogenes*, but also that some of these may occur in more than one plant. (Cruz and Fletcher 2011). *Listeria* spp. are also found in smoked fish and smoked plants. Rorvik et al. (1997) reported that forty smoked salmon processing plants were examined for the occurrence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in the smoked salmon and the drains. *L. monocytogenes* was detected in smoked salmon from 13 (33%) and in the drains samples from 25 (63%) of the plants. Other *Listeria* spp. were found in smoked salmon samples from 16 (40%) and in the drains of 30 (75%) of the plants. Multivariate analyses of data on hygiene, management, production facilities of the plants and bacteriological results showed that job rotation was the strongest expressed risk factor for isolation of *L. monocytogenes* from the smoked salmon. Well-maintained facilities and use of vats for salting of the fillets, showed a preventive effect. *L. monocytogenes* in the drains was found to be a sensitive predictor for the presence of *L. monocytogenes* in the smoked salmon. In general, detection of other *Listeria* spp. in the smoked salmon or the drains could not be demonstrated to have any association with detection of *L. monocytogenes*. Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in a traditional hot-smoked rainbow trout processing plant in Turkey were studied by (Kisla et al., 2007). In this study; samples including raw fish, swabbings of equipment or other surfaces, as

well as processing water, salt, fish feed and fish samples taken after various stages of processing were collected from thirty different locations in the plant. For the detection of *L. monocytogenes*, both conventional and *Listeria* Rapid Test (LRT) were used. *L. monocytogenes* was detected in thirty out of sixty samples (50%) by LRT, while it was detected in thirty-four out of sixty samples (57%) by conventional method. No *L. monocytogenes* was detected from raw fish, smoked fish (before handling) and processing water, but it was detected in all environmental samples including swabbings of equipment or other surfaces and smoked fish samples after filleting.

Gudbjornsdottir et al. (2004) detected *L. monocytogenes* in meat processing plants varied from 0% to 15,1%, in poultry plants from 20,6% to 24,1% and in seafood plants from 5,9% to 22,1%. In raw products the average incidence was 15,6% for meat, 22,2% for poultry and 39,0% for seafood products. The heating steps during the production of RTE (ready- to- eat) products eliminated *Listeria*. On average, 2,3% of RTE meat and 4,8% of RTE seafood products were recontaminated with *L. monocytogenes*. In the seafood sector almost all *Listeria* positive samples also included *L. monocytogenes* (91,1% of the positive samples), whereas in the meat and poultry sectors other *Listeria* species (mainly *L. innocua*) dominated. In most plants, the implemented cleaning procedures were insufficient to eliminate *Listeria*.

The prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products of markets in Northern Spain was studied by Garrido et al. (2009), they were being analyzed 783 samples of deli meat products, smoked fish and pâté. RTE smoked fish was the most frequently contaminated food category (25% positive), with high occurrence in some brands (60% of lots positive). Significant differences in prevalence were found in in-store-packaged deli meat products (8,5%) with respect to manufacturer vacuum-packaged presentation (2,7%). These results reflect the need to improve hygiene and disinfection programs by addressing more accurate cleaning practices and continuous education of food workers. The occurrence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in retail RTE meat and fish products in Vancouver, British Columbia (B.C.) was investigated by Kovacevic et al., (2012). In this study conventional methods were used to recover *Listeria* spp. from deli meat (n =40) and fish (n= 40) samples collected from 17 stores. *Listeria* spp. were recovered only from

fish samples (20%); 5% harboured *Listeria innocua*, 5% had *L. monocytogenes* and 10% contained *Listeria welshimeri*. Liu and Su (2006) indicated that food processing gloves were typically used to prevent cross-contamination during food preparation. However, gloves could be contaminated with microorganisms and become a source of contamination. This study investigated the survival of *Listeria monocytogenes* on gloves and determined the efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) water for reducing *L. monocytogenes* contamination on seafood processing gloves.

Keeratipibul and Techaruwichit (2012) reported that the surfaces from which *Listeria* spp. were most frequently recovered were the liquid N₂ chiller exhaust pipe, the metal detector conveyor belt and the freezer drain. Therefore, the cleaning and sanitizing procedures were revised and strictly implemented to reduce and eliminate the real sources of *Listeria* contamination in the cooked frozen chicken meat process. The other investigators reported that *Listeria monocytogenes* was able to remain in specific places, particularly floor, in the factory, despite the sanitization treatments performed, although it was not detected on food contact surfaces. The identification of these *L. monocytogenes* survival points could be of value for improving their control as part of HACCP program. Both sanitizing protocols managed to reduce the LM load but not to eradicate this microorganism completely (Campdepadrós et al. 2012).

L. monocytogenes contamination of the hot-smoked rainbow trout in the plant seemed to have originated from the processing environment. There was a postprocess contamination in the plant during the period of study because all the samples after smoking were contaminated with *L. monocytogenes*. Moreover, detection of *L. monocytogenes* from cleaned and sanitised equipments indicated that insufficient cleaning and sanitising procedures ignoring the possibility of biofilm were applied in the plant. It is therefore important to take hygienic precautions at different steps of the process to prevent colonization and spread of *L. monocytogenes* in processing plants. Application of a control system as HACCP will help to assure the microbiological safety and quality of the finished product (Kisla et al., 2007).

In the present study, *Listeria welshimeri/innocua* was isolated only from two samples taken from processing coats in factory A. In this factory the main contamination source was determined on processing coats. Gloves were contaminated with

Listeria spp in two factories. *Listeria ivanovi* was isolated from gloves (1 or 6%) taken from the factory B and *Listeria monocytogenes* was isolated from gloves (6 or 33%) taken from the factory C. Likewise, in the other study Liu and Su (2006) reported that gloves could be contaminated with microorganisms and become a source of contamination.

In our study, *Listeria ivanovi* was detected from all the samples taken from factory B except for frozen fish. *Listeria monocytogenes* was isolated from boxes (1 or 6%), processing tables (2 or 11%), floor (4 or 22%), processing coats (3 or 17%), gloves (6 or 33%) and frozen fish (5 or 50%) samples taken from the factory C. The presence of *L. ivanovi* in processing equipments in factory B and the presence of *L. monocytogenes* in all the samples taken from the factory C indicated that the need for frequently monitoring at the fish processing factories. Cleaning of fish processing equipments and fish processing units could be very important in order to avoid the occurrence of cross contamination of the fishery products.

Conclusion

In the present study, a total of 300 samples were examined from the three fish processing factories. 12.7% of samples were positive for *Listeria* species. *L. welshimeri/innocua* was found in 0.7% of the samples, *L. ivanovi* was detected in 5% of the samples, *L. monocytogenes* was isolated from 7 % of samples. In factory A, surface samples from workers' gloves, processing tables, boxes, floor, and frozen fish were negative for *Listeria*. On the other hand, all the samples taken from factory B (except for frozen fish samples) and in factory C were found to be positive for *Listeria* spp. The incidence of *Listeria* species in the production line of fish processing factories points out that contamination can occur during fish processing stage. Therefore, *Listeria* spp. must be controlled during processing of fishery products. Proper cleaning and sanitation programme of fish processing factories must be applied. Samples must be taken and examined regularly from every units and equipments of fish processing factories to avoid the contamination and spread of *Listeria* spp in fish processing factories. Cleaning of fish processing equipments and fish processing units could be very important in order to avoid the occurrence of cross contamination of the fishery products. It must be taken hygienic precautions because of the contamination of *Listeria* spp. Besides HACCP plan must be applied to prevent recontamination

of *Listeria* species to fishery products and also it must be applied to eradicate *Listeria* species from the fish processing factories.

Acknowledgements

This work was supported by Ege University Science and Technology Center (EBILTEM). Project number (2010/BİL/028). This paper was presented as oral presentation at The 1. International Conference on Sea and Coastal Development in the Frame of Sustainability (MACODESU 2015). September 18-20, Trabzon, Turkey.

References

- Almeida, G., Magalhaes, R., Carneiro, L., Santos, I., Silva, J., Ferraira, V., Hogg, T., & Teixeira, P., (2013). Foci of contamination *Listeria monocytogenes* in different cheese processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 303-309.
- Belessi, C.A., Gounadaki, A.S., Schwartzman, S., Jordan, K., & Skandamis, P.N., (2011). Evaluation of growth/no growth interface of *Listeria monocytogenes* growing on stainless steel surfaces, detached from biofilms or in suspension, in response to pH and NaCl. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 53-60.
- Beumer, R., (1997). *Listeria monocytogenes* detection and behaviour in food and in the environment. Thesis work. University of Wageningen. ISBN 90-5485-6327.
- Calanche, J., Samayoa, S., Alonso, V. & Provincial, L., Roncales, P., Beltran, J.A., (2013). Assessing the effectiveness of a cold chain for fresh fish salmon (*Salmo salar*) and sardine (*sardina pilchardus*) in a food processing plant. *Food Control*, 33, 126-135.
- Campdepadrós, M, Stchigel, A.M., Romeu, M., Quilez, J., & Solà, R., (2012). Effectiveness of two sanitation procedures for decreasing the microbial contamination levels (including *Listeria monocytogenes*) on food contact and non-food contact surfaces in a dessert-processing factory. *Food Control*, 23, 26-31.
- Cruz, C.D., & Fletcher, G.C., (2011): Prevalence and biofilm-forming ability of *Listeria monocytogenes* in New Zealand mussel (*Perna canaliculus*) processing plants. *Food Microbiology*, 28: 1387-1393.
- Dhanashree, B., Otab, S.K., Karunasagar, I., Goebel, W., & Karunasagar I., (2003). Incidence

- of *Listeria* spp. in clinical and food samples in Mangalore, India. *Food Microbiology*, 6, 447-453.
- Dillon, R., & Patel, T., (1993). Effect of cold smoking and storage temperatures on *L. monocytogenes* in inoculated cold fillets (*Gadus morhus*). *Food Research International*, 26, 97-101.
- Duarte, G., Vaz-Velho, M., Capell, C., & Gibbs, P., (1999). Efficiency of four secondary enrichment protocols in differentiation and isolation of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* from smoked fish processing chains. *International Journal of Food Microbiology*, 52, 163-168.
- Encinas, J.P., Sanz, J.J., Garcia-Lopez, M.L., & Otero, A., (1999). Behaviour of *Listeria* spp. in naturally contaminated chorizo (Spanish fermented sausage). *International Journal of Food Microbiology*, 46, 167-171.
- Fernandes, C.F., Flick, G.J., & Thomas, T.B., (1998). Growth of Inoculated Psychrotrophic Pathogens on Refrigerated Fillets of Aquacultured Rainbow Trout and Channel Catfish. *Journal of Food Protection*, 61, 313-317.
- Farber, J.M., (1991). *Listeria monocytogenes* in Fish Products. *Journal of Food Protection*, 54, 922-924.
- Garrido, V., Vitas, A.I., & García-Jalón, I., (2009). Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain. *Food Control*, 45, 986-991.
- Gudbjornsdottir, B., Suihko, M.L., Gustavsson, P., Thorkelsson, G., Salo, S., Sjoberg, A.M., Niclasen, O., & Bredholt, S., (2004). The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology*, 21, 217-225.
- Guyer, S., & Jemmi, T., (1991). Behavior of *Listeria monocytogenes* during Fabrication and Storage of Experimentally Contaminated Smoked Salmon. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 1523-1527.
- Hudson, J. A., & Mott J., (1993). Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* on cold-smoked salmon under refrigeration and mild temperature abuse. *Food Microbiology*, 10, 61-68.
- Huss, H.H., (1997). Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. *Food Control*, 8, 91-98.
- ISO, (1997). 11290-1:1997 Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* Part 1: Detection Method.
- Jemmi, T., & Keusch, A., (1992). Behavior of *L. monocytogenes* during processing and storage of experimentally contaminated hot smoked trout. *International Journal of Food Microbiology*, 15, 339-346.
- Jorgensen, L.V., & Huss, H.H., (1998). Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 127-131.
- Keeratipibul, S., & Techaruwichit, P., (2012). Tracking sources of *Listeria* contamination in a cooked chicken meat factory by PCR-RAPD-based DNA fingerprinting. *Food Control*, 27, 64-72.
- Kılınc, B., (2001). Su Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18, 565-574.
- Kisla, D., Üzgün, Y., & Demirhisar, M.A., (2007). Incidence and sources of *Listeria monocytogenes* in a traditional hot-smoked rainbow trout processing plant in Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1376-1381.
- Korsak, D., Borek, A., Daniluk, S., Grabowska, A., & Pappelbaum, K., (2012). Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and food processing environment in Poland. *International Journal of Food Microbiology*, 158, 203-208.
- Kovacevic, J., Mesak, L.R., & Allen, K.J., (2012). Occurrence and characterization of *Listeria* spp. in ready-to-eat retail foods from Vancouver, British Columbia. *Food Microbiology*, 30, 372-378.
- Liu, C., & Su, Y.C., (2006). Efficiency of electrolyzed oxidizing water on reducing *Listeria monocytogenes* contamination on seafood processing gloves. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 149-154.
- Martin, B., Perich, A., Gomez, D., Yanguela, J., Rodriguez, A., Garriga, M., & Aymerich, T., (2014). Diversity and distribution of *Listeria monocytogenes* in meat processing plants. *Food Microbiology*, 44, 119-127.

- Miettinen, H., & Wirtanen, G., (2006). Ecology of *Listeria spp.* in a fish farm and molecular typing of *Listeria monocytogenes* from fish farming and processing companies. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 138–146.
- McLauchlin, J., (1997). The identification of *Listeria* species. *International Journal of Food Microbiology*, 38, 77-81.
- Motes, M.L., Jr., (1991). Incidence of *Listeria spp.* in shrimp, oysters and estuarine waters. *Journal of Food Protection*, 54, 170-173.
- Midelet-Bourdin, G., Copin S., Leleu G., & Malle, P., (2010). Determination of *Listeria monocytogenes* growth potential on new fresh salmon preparations. *Food Control*, 21, 1415-1418.
- Ortiz, S., Lopez, V., & Martinez-Suarez, J.V., (2014). Control of *Listeria monocytogenes* contamination in an Iberian pork processing plant and selection of benzalkonium chloride-resistant strains. *Food Microbiology*, 39, 81-88.
- Porsby, C.H., Vogel, B.F., Mohr, M., & Gram, L., (2008). Influence of processing steps in cold-smoked salmon production on survival and growth of persistent and presumed non-persistent *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 122, 287-295.
- Poysky, F.T., Paranjpye, R.N., Peterson, M.E., Pelroy, G. A., Guttman, A.E., & Eklund, M. W., (1997). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on hot-smoked salmon by the interaction of heat and smoke or liquid smoke. *Journal of Food Protection*, 60, 649-654.
- Rodriguez-Lopez, P., Saa-Ibusquiza, P., Mosquera-Fernandez, M., & Lopez-Cabo, M., (2015). *Listeria monocytogenes* –carrying consortia in food industry. Composition, subtyping and numerical characterization of mono species biofilm dynamics on stainless steel. *International Journal of Food Microbiology*, 206, 84-95.
- Rorvik, L.M., Skjerve, E., Knudsen, B.R., & Yndestad, M., (1997). Risk factors for contamination of smoked salmon with *Listeria monocytogenes* during processing. *International Journal of Food Microbiology*, 37, 215-219.
- Rotariu, O., Thomas, D.J.I., Goodburn, K.E., Hutchison, M.L., & Strachan, N.J.C., (2014). Smoked salmon industry practices and their association with *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 35, 284-292.
- Ruckerl, I., Muhterem-Uyar, M., Muri-Klinger, S., Wagner, K.H., Wagner, M., & Stessl, B., (2014). *Listeria monocytogenes* in a cheese processing facility: Learning from contamination scenarios over three years of sampling. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 98-105.
- Sakara, T., Cappuyns, A.M., Derlinden, E.V., Rosnes, J.T., Valdramidis, V.P., & Impe, J.F.V., (2011). Quantifying the combined effect of salt and temperature on the growth of *Listeria* strains isolated from salmon and salmon processing environments. *Procedia Food Science*, 1, 1001-1006.
- Strydom, A., Bester, I.M., Cameron, M., Charles, M.A.P., Franz, R., & Withuhn, C., (2013). Subtyping of *Listeria monocytogenes* isolated from South African avacoda processing facility using PCR-RFLP and PFGE. *Food Control*, 31, 274-279.
- Svanevik, C.S., Roiha, I.S., Levsen, A., & Lunestad, B.T., (2015). Microbiological assessment along the fish production chain of the Norwegian pelagic fisheries sector. Results from a spot sampling programme. *Food Microbiology*, 51, 144-153.
- Thévenot, D., Delignette-Muller, M.L., Christeans, S., Leroy, S., Kodjo, A., & Vernozzy-Rozand, C., (2006). Serological and molecular ecology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from 13 French pork meat salting-curing plants and their products. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 153-161.

ORIGINAL ARTICLE/ORIJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

BEHAVIOR OF *Escherichia coli* O157:H7 DURING THE RIPENING OF HERBY CHEESE MANUFACTURED FROM RAW MILK

Süleyman ALEMDAR & Sema AĞAOĞLU

Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Sivas, Turkey

Received: 08.12.2015

Accepted: 24.12.2015

Published online: 28.12.2015

Corresponding author:

Süleyman ALEMDAR, Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 58140 Sivas, TurkeyE-mail: salemdar@cumhuriyet.edu.tr**Abstract:**

This study was conducted to determine the survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the ripening period of herby cheese made traditionally from raw cow milk. The cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at the level of 3 log and 5 log cfu/mL, and then both manufactured herby cheeses were divided into two groups equally. The herby cheeses were stored by using two different methods for ripening, either embedding into the soil or putting into brine, and analyzed on day 1, 7, 15, 30, 60 and 90 of ripening. At the end of the storage period, *E. coli* O157:H7 could not be detected in embedded herby cheese at both levels of the inoculation; whereas the number of the bacterium was just decreased to 2.30 and 4.48 log MPN/g in brined herby cheese for each inoculation levels respectively. Additionally, micrococci/staphylococci count, acidity and salt values in all cheese groups were higher compared than the initial level; total mesophilic bacteria, lactic acid bacteria, enterobacteriaceae count and a_w value were lower than the initial level. While pH value was higher in embedded cheese than initial level, it was lower in brined cheese. In conclusion, *E. coli* O157:H7 could survive at least 60 days in embedded herby cheese and till the last days of the ripening in brined herby cheese. This point should be taken into account for the potential risk to public health.

Keywords: *E. coli* O157:H7, Herby cheese, Traditional, Growth, Survival

JOURNAL OF FOOD AND HEALTH SCIENCE**E-ISSN: 2149-0473**

2(1): 49-56 (2016) doi: 10.3153/JFHS16005

© 2015-2016 ScientificWebJournals (SWJ)

Introduction

Escherichia coli O157:H7 is a major foodborne infectious pathogen that causes hemorrhagic colitis (HC), hemolytic uremic syndrome (HUS), thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), and can lead to death (Doyle and Cliver, 1990). Many outbreaks and sporadic cases of foodborne illness caused by *E. coli* O157:H7 have been reported since the first one was recognized in 1982. In recent years, the incidence of the disease associated with this organism has steadily increased worldwide. *E. coli* O157:H7 is currently the most frequently isolated serotype in North America, and outbreaks have occurred with the highest incidences in Scotland, Canada, Japan, and the United States (Griffin and Tauxe, 1998; Parry and Palmer, 2000).

E. coli O157:H7 can survive at low temperatures as well as under acidic conditions, and the infectious dose is relatively small (Coia, 1998; Park et al., 1999). Due to the direct and indirect link to bovine products in outbreaks, dairy cattle have been implicated as the primary reservoir of this organism. The principal foods linked to transmission of the organism have been ground beef and raw milk (Doyle and Cliver, 1990). Cheese contamination with *E. coli* O157:H7 may result from inadequate pasteurization of raw milk or postpasteurization contamination. Currently, traditional cheese manufactured from unpasteurized milk has been consumed in many parts of the world. Many outbreaks of foodborne diseases due to cheese have been reported since 1983 (IFST, 1998). The isolation of *E. coli* O157:H7 was reported in 1-6.6 % of various native cheeses in Turkey (Aksu et al., 1999; Aslantaş and Yıldız, 2002).

Studies on cheese made from *E. coli* O157:H7 inoculated milk indicated that the pathogen could survive or even grow in different types of cheese, depending on the conditions during the manufacture and ripening of cheese. Survival of *E. coli* O157:H7 was determined during the manufacture and storage of Camembert and Feta cheeses at 2 °C for 65 and 75 days, respectively (Ramsaran et al., 1998). Reitsma and Henning (1996) found that the pathogen survived during the manufacture and curing of Cheddar cheese for 158 days. In another study, Özer et al. (2004) reported that the counts of *E. coli* O157:H7 decreased to zero in scalded Urfa cheese after 30 days, whereas this organism survived up to 90 days in unscalded Urfa cheese. Additionally, some investigators demonstrated

that *E. coli* O157:H7 was capable of survival in Turkish white brined cheese (Küplülü et al., 1999) and smear-ripened cheese (Maher et al., 2001) for at least 90 days.

Herby cheese, called “Otlu peynir” in Turkish, is mainly produced in eastern and southeastern parts of Turkey. Traditionally herby cheese is manufactured from raw sheep’s and cow’s milk, and some herbs are added to the curd. After this procedure, the fresh cheese is ripened at storage for 3 months. In industry, production of herby cheese has modified the process and the only difference between the industrial production and the traditional one is the use of pasteurized milk instead of raw milk (Tunçtürk and Coşkun, 2002; Sağdıç et al., 2003).

There are many studies regarding the microbiological, chemical and sensorial properties of herby cheese. But, the behavior of *E. coli* O157:H7 in herby cheese is not known. Therefore, the purpose of the work was to evaluate the potential growth and survival of *E. coli* O157:H7 during the different ripening and storage of herby cheese.

Materials and Methods

Samples

For cheesemaking, 160 liters of raw cow milk obtained from Dönerdere Agricultural Development Cooperation (DÖN-KOOP, Van, Turkey) was used. *Escherichia coli* O157:H7 KUEN 1461 strain, obtained from Culture Collections of Industrial Microbiology and Biotechnology Association (KÜKEM, İstanbul, Turkey) was used to inoculate raw milk for the experimental herby cheese production. Commercial liquid rennet (Mayasan®, İstanbul, Turkey) with clotting activity of 1/16000 was used in the study. The herb locally known as Sirmo (*Allium* spp.) and available in brine at retail outlets was used for the cheese production.

Preparing Inoculum

E. coli O157:H7 strain was transferred into Tryptic Soy (CASO) Agar (TSA, Merck, Darmstadt, Germany) and incubated at 37 °C for 24 h. Then the tubes that contain 10 mL of Brain Heart Infusion Broth (Oxoid, Hampshire, UK) were inoculated by taking one colony from the strain and the tubes were incubated at 37°C for 24 h. Following the centrifuge process, the supernatant was removed and then 10 mL of sterile saline was added to the pellet. The sediment was mixed in vortex until it was homogenized, and the remaining su-

pernatant was removed by a subsequent centrifugation. After diluting the pellet with 10 mL of sterile saline, the initial solution was acquired. Decimal dilutions were prepared with the acquired solution. The turbidity levels of dilutions were measured with a spectrophotometer (Minufuge RF Heraeus Sepatech, Berlin, Germany) at 578 nm wavelength. At the same time, the dilutions were inoculated into TSA and the number of microorganisms and the turbidity levels measured in spectrophotometer were compared. The required amount to contaminate the milk at the level of log 3 and log 5 cfu/mL was obtained from the acquired dilutions.

Cheesemaking

Depending on the inoculation levels of *E. coli* O157:H7 and the cheese preservation methods, 4 types of cheese were produced. Cheese milk was contaminated with *E. coli* O157:H7 at log 3 cfu/mL in GC (cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 3 cfu/mL and ripened in embedded type) and SC (cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 3 cfu/mL and ripened in brined type) groups and at log 5 cfu/mL in GD (cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 5 cfu/mL and ripened in embedded type) and SD (cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 5 cfu/mL and ripened in brined type) groups. The cheese milk was subjected to heat treatment up to approximately 35°C and contaminated with some certain amount of *E. coli* O157:H7 depending on the cheese type. Rennet added milk was allowed to ferment at 30°C for 90 min. After allowing enough time for coagulation, the cheese curd was cut into pieces of 1 x 1 x 1 cm by using special knives. Following this process, the herbs were added at the rate of 2 % of the milk weight and mixed with the coagulum appropriately. Subsequently, the coagulum was transferred into the containers with a cheese cloth lined on the top and drained. Then, the cheese whey was drained off by applying pressure on curd for 2 h. After applying pressure, the curd was cut into blocks with a knife each measuring 7 x 7 x 3 cm. The blocks were coated with rock salt at the rate of 3 % of the weight, covered with a cloth and left to settle for 24 h in ambient temperature. After this stage, each cheese groups were divided into two parts for ripening; half intended for the embedding and the rest for the brine. In the group that would be embedded in soil, the cheese blocks were placed into 1 liter of glass jars firmly and the air gaps were filled

with small pieces of cheeses. The jars were closed with the lids on which there were pre-opened holes and embedded into the soil in an inverted position and left for ripening at 9-18°C for 90 days. In the brined group, the cheese blocks were placed into plastic cans with the capacity of 5 liters, then fresh brine of 16 % was added and the lids were closed tightly. Brine water was replaced with fresh brine approximately after 12 hours and the cheese was allowed to ripen at 4°C for 90 days.

Preparation of Samples for Analysis

Each of the cheese samples was weighed out 10 g, transferred into stomacher bags and homogenized for 2 min. by adding 90 mL peptone-saline solution in a stomacher (Laboratory Blender Stomacher 400, Seward, London, UK). Further decimal dilutions were prepared from 1/10 diluted homogenates by means of this method. The duplicate samples were inoculated to the related medium and mean values were counted (Harrigan, 1998).

Microbiological Analysis

Total mesophilic bacteria were counted on Plate Count Agar (Oxoid, Hampshire, UK) incubated at 32°C for 48 h. Lactic acid bacteria were grown on M17 Agar (Oxoid, Hampshire, UK) at 35°C for 48 h. Enterobacteriaceae counts were determined on Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid, Hampshire, UK) at 30°C for 3 days. Micrococci/staphylococci were counted on Baird-Parker Agar (Oxoid, Hampshire, UK) at 37°C for 24-48 h (Pichhardt, 1993). The numbers of *E. coli* O157:H7 were estimated by using the Most Probable Number (MPN) method (ISO, 1984; Farmer and Davis, 1985; Ansay and Kapsar, 1997).

Physico-chemical Analysis

The pH levels of all cheese samples were measured by pH meter (Model 890; Nel Instruments Inc., Ankara, Turkey) (Metin and Öztürk, 2002), and the water activities (a_w) were measured using a water activity meter (Lufft a_w , Wert-Messer, Germany) (Fontana, 2002). The salt amount and titratable acidity values were also determined by Kurt et al. (1993).

Results and Discussion

The number of *E. coli* O157:H7 was determined as 3.81 log MPN/g in GC and SC groups, and 5.15 log MPN/g in GD and SD groups at the beginning of ripening period. But, it was found to maintain a regular decline in both embedded and brined

herby cheeses during the ripening period. In embedded herby cheese, the highest decline in *E. coli* O157:H7 level was observed on the 7th day of ripening. While the amount of *E. coli* O157:H7 was found as 1.48 (GC) and 1.40 log MPN/g (GD) on day 60, it was dropped below the detectable limit on day 90. However, the decline progressed slower in brined herby cheese. The number of *E. coli* O157:H7 was detected as 2.40 (SC) and 4.54 (SD) log MPN/g on day 60, and 2.30 (SC) and 4.48 log MPN/g (SD) on day 90 of ripening in brined herby cheese. All the microbiological and chemical changes throughout 90 day-storage are given in Table 1. Furthermore, survival and growth of *E. coli* O157:H7 during ripening of the cheese is shown Figure 1.

Herby cheese has been widely produced and consumed in eastern and southeastern regions of Turkey for a long time. It is famous cheese in these regions, and its popularity is continuously increasing in the rest of Turkey. The major part of herby cheese production is made traditionally at family level or in small cheese plants by using raw milk (Coşkun and Tunçtürk, 1998). In many countries, unpasteurized milk was used for cheese making for centuries and is still being used especially in small farms producing unique type of cheese (Marek et al., 2004).

Pathogenic bacteria such as *Salmonella*, *L. monocytogenes* and enteropathogenic *E. coli* have been categorized as high risk organisms to the cheese industry (Zottola and Smith, 1991). Moreover, outbreaks of foodborne illnesses due to different cheeses from several countries have also been reported (IFST, 1998).

Previous studies indicated that *E. coli* O157:H7 may survive during manufacture and ripening of cheese. Generally, the number of the microorganism drop continuously during storage (Reitsma and Henning, 1996; Ramsaran et al., 1998; Küplülü et al., 1999; Maher et al., 2001; Özer et al., 2004).

In the present study, *E. coli* O157:H7 survived up to 60 days in embedded herby cheese, however, it was found to be eliminated completely at both inoculation levels at the end of the ripening period.

In the brined herby cheeses, the counts of *E. coli* O157:H7 decreased continuously during ripening period, and this organism survived up to 90 days at both inoculation levels. The population of *E. coli* O157:H7 were determined lower than the 1st day at the 60th day in GC and GD groups of embedded herby cheeses with 2.33 and 3.75 unit (log MPN/g), respectively. The decrease was slower in brined herby cheese. When compared to 1st day, at the 60th day of the ripening period, *E. coli* O157:H7 declined 1.41 and 0.61 unit (log MPN/g) in SC and SD groups of brined herby cheese, respectively. At day 90, the counts of *E. coli* O157:H7 decreased 1.51 and 0.67 unit (log MPN/g) in SC and SD groups in brined herby cheese, respectively.

Many factors, such as competitive flora, starter culture, heat, pH value, salt, a_w value, inoculation level, cheese production method and storage conditions effect the growth of *E. coli* O157:H7 in cheese (Reitsma and Henning, 1996; Ramsaran et al., 1998; Glass et al., 1998; Küplülü et al., 1999; Maher et al., 2001; Spano et al., 2003; Özer et al., 2004).

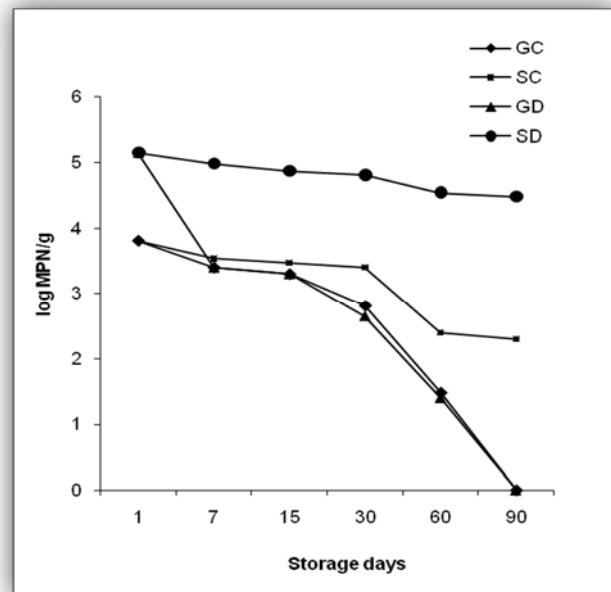


Figure 1. Survival and growth of *E. coli* O157:H7 during ripening of herby cheese

Table 1. The results of microbiological and chemical analysis in herby cheese

Parameters	Cheese type	Storage days					
		1	7	15	30	60	90
<i>E. coli</i> O157:H7 (log MPN/g)	GC	3.81	3.40	3.30	2.81	1.48	ND
	SC	3.81	3.54	3.48	3.40	2.40	2.30
	GD	5.15	3.40	3.30	2.65	1.40	ND
	SD	5.15	4.98	4.87	4.81	4.54	4.48
Total mesophilic bacteria (log cfu/g)	GC	9.38	9.25	7.90	8.58	8.41	8.41
	SC	9.45	9.34	7.90	9.04	8.84	8.78
	GD	9.78	9.08	8.78	8.50	8.56	8.50
	SD	9.45	9.00	9.20	9.11	9.04	8.90
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	GC	9.45	9.15	8.45	8.70	8.34	8.60
	SC	9.60	9.00	8.60	8.81	8.15	9.08
	GD	9.64	9.00	9.00	8.48	8.45	8.62
	SD	9.34	9.20	8.78	9.15	8.88	8.87
Micrococci/ Staphylococci (log cfu/g)	GC	5.90	6.32	6.99	7.18	7.50	7.87
	SC	4.30	5.30	5.60	6.93	7.41	7.98
	GD	6.56	6.00	6.15	7.20	7.75	7.86
	SD	5.08	5.28	6.00	7.34	7.71	7.95
Enterobacteriaceae (log cfu/g)	GC	6.78	6.90	5.60	3.70	2.30	ND
	SC	7.56	7.08	5.30	6.50	4.78	6.62
	GD	7.41	6.60	6.20	3.78	2.30	ND
	SD	7.08	7.20	7.08	7.00	4.15	6.66
Titratable acidity (L.A. %)	GC	0.54	0.87	0.89	0.92	1.74	1.80
	SC	0.54	0.68	0.74	0.98	1.40	1.60
	GD	0.51	0.70	0.86	0.96	1.61	1.75
	SD	0.68	0.80	0.84	1.14	1.60	1.70
pH	GC	4.57	4.90	4.92	4.94	4.96	5.51
	SC	4.57	4.40	4.21	4.20	4.16	4.51
	GD	4.91	4.96	4.87	4.85	4.90	5.73
	SD	4.91	4.70	4.60	4.51	4.43	4.62
Salt (%)	GC	2.60	2.92	3.20	3.80	4.09	4.68
	SC	7.25	7.80	8.77	9.00	9.21	9.36
	GD	3.50	3.86	4.12	4.30	4.45	4.56
	SD	7.61	8.00	8.19	8.49	8.75	9.59
a_w	GC	0.97	0.96	0.95	0.94	0.92	0.90
	SC	0.96	0.95	0.94	0.93	0.92	0.91
	GD	0.97	0.96	0.94	0.93	0.91	0.90
	SD	0.96	0.95	0.94	0.92	0.91	0.90

GC: Cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 3 cfu/mL and ripened in embedded type

SC: Cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 3 cfu/mL and ripened in brined type

GD: Cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 5 cfu/mL and ripened in embedded type

SD: Cheese milk was inoculated with *E. coli* O157:H7 at level of log 5 cfu/mL and ripened in brined type

ND: Not detected, L.A.: Lactic acidity, a_w : Water activity

In this study, total mesophilic bacteria, lactic acid bacteria and micrococcus/staphylococcus counts usually had high levels and they shaped the dominant flora (Table 1). The counts of Enterobacteriaceae showed an irregular progression ripening period. While the count decreased to zero in embedded herby cheese after 90 days, it survived at the end of storage in brined herby cheese.

Yetişmeyen (1997) reported that coliforms had been completely inhibited in herby cheese for 60 days. Similarly, Coşkun (1998) found that the counts of coliform continuously declined during ripening in herby cheese samples.

Generally, the low pH is mainly caused by the lactic acid produced via lactic acid bacteria and other acids. But, pH values in this study were raised at

the end of storage. This could be due to degradation of neutral form of coagulation contents or the increase of contents that have alkaline features. Likewise, Schlessner et al. (1992) stated that various metabolic degradation products had an effect on pH value. It was reported that mostly the lactic acid produced by lactic acid bacteria, hydrogen peroxide and antibiotic like substances had significant inhibitory effects on pathogenic bacteria (Fernandes and Shahani, 1989).

Another significant factor in growth and development of pathogenic bacteria is salt level. It has a bactericidal and bacteriostatic effect on these bacteria (IDF, 1980). In this study, the salt amount showed a regular increase during the ripening period, it reached up to 4.56-4.68 % level in embedded herby cheese, and 9.36-9.59 % in brined herby cheese at the end of ripening. Also, a_w level had a regular decline during the ripening period which was as low as 0.90-0.91 at the end of ripening.

Inactivation of *E. coli* O157:H7 is mainly due to salt, acidity and storage temperature and time in cheese making. Also, there is a synergistic effect among them (Guraya et al., 1998). Survival of *E. coli* O157:H7 has shown significant change in different cheese varieties (Reitsma and Henning, 1996; Hudson et al., 1997; Ramsaran et al., 1998; Saad et al., 2001; Maher et al., 2001).

In this study, *E. coli* O157:H7 counts demonstrated a regular decline in both embedded and brined cheese, however its followed by different patterns of progression. The antibacterial effects of the herbs used in cheese manufacturing had been reported by some researchers (Coşkun, 1998; Ağaoğlu et al., 2005) These differences in the progression of these bacteria in two cheese types might be caused from different storage conditions. Conner and Kortrola (1995) reported that the *E. coli* O157:H7 stored at low temperature survived longer than those of the stored at high temperature. Besides, increased salt amount might have inhibited the acidity in brined cheese. *E. coli* O157:H7 trend in brined herby cheese is similar to those reported by many researchers (Maher et al., 2001; Saad et al., 2001; Özer et al., 2004).

Conclusions

According to the results obtained in this study, *E. coli* O157:H7 survived at least 60 days in embedded herby cheese, but at the end of ripening period it was eliminated completely in both inoculation levels. However, in brined herby cheese, it survived until the end of ripening period. There is a

potential health hazard for the public that consume cheese as fresh or before the ripening period is completed. Therefore, more attention should be paid to the microbiological quality of raw milk, cowhouse hygiene, udder health protection, education of the staff for general health practice and unbroken cold chain. Additionally, taking safety measures such as using pasteurized milk for cheesemaking, preventing the contamination after pasteurization and applying HACCP principles in cheese factories would be beneficial for consumer health.

Acknowledgments

This study is a part of PhD thesis, which was supported by the Scientific Research Project Directory of the University of Yüzüncü Yıl (Project No. 2002VF021). We would like to thank them for their support.

References

- Ağaoğlu, S., Dostbil, N., & Alemdar, S., (2005). The antibacterial efficiency of some herbs used in Herby cheese. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16, 39-41.
- Aksu, H., Arun, O.O., Aydın, A., & Uğur, M., (1999). *Escherichia coli* O157:H7' nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 30, 77-81.
- Ansary, S.E., & Kapsar, C.W., (1997). Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, 25, 131-134.
- Aslantaş, O., & Yıldız, P., (2002). Kars yöresinde hayvansal kaynaklı gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 18, 107-111.
- Coia, J.E., (1998). Clinical, microbiological and epidemiological aspect of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 20, 1-9.
- Conner, D.E., & Kortrola, J.S., (1995). Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 under acidic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 382-385.
- Coşkun, H., (1998). Microbiological and biochemical changes in herby cheese during ripening. *Nahrung*, 5, 309-313.

- Coşkun, H., & Tunçtürk, Y., (1998). *Van otlu peyniri*. In: Demirci, M., (Ed), Geleneksel Süt Ürünleri. Ankara: MPN Yayınları, pp. 20-32.
- Doyle, M.P., & Cliver, D.O., (1990). *Escherichia coli*. In: Cliver, D.O. (Ed), Foodborne Diseases, Chapter13. California: Academic Press, pp. 209-215.
- Farmer, J.J., & Davis, B.R., (1985). H7 antiserum sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 620-625.
- Fernandes, C.F., & Shahani, K.M., (1989). Modulation of antibiosis by lactobacilli and other lactic cultures and fermented foods. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 7, 337-352.
- Fontana, A.J., (2002). *Measurement of water activity*. In: Fundamentals of Water Activity, IFT Continuing Education Committee, June 14-15, Anaheim, CA, USA.
- Glass, K.A., Kaufman, K.M., & Johnson, E.A., (1998). Survival of bacterial pathogens in pasteurized process cheese slices stored at 30°C. *Journal of Food Protection*, 61, 290-294.
- Griffin, P.M., & Tauxe, R.V., (1998). *Epidemiology of Shiga toxin-producing Escherichia coli in humans in the United States*. In: Kaper, J.B., O'Brien, A.D. (Eds), *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-producing *E. coli* Strains. Washington: ASM Press, pp. 15-22.
- Guraya, R., Frank, J.F., & Hassan, A.N., (1998). Effectiveness of salt, pH and diacetyl as inhibitors for *E. coli* O157:H7 in dairy foods stored at refrigeration temperature. *Journal of Food Protection*, 61, 1098-1102.
- Harrigan, W.F., (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. London: Academic Press.
- Hudson, L.M., Chen, J., Hill, R., & Griffiths, M.W., (1997). Bioluminescence: A rapid indicator of *Escherichia coli* O157:H7 in selected yogurt and cheese varieties. *Journal of Food Protection*, 60, 891-897.
- IDF, (1980). *Behaviour of pathogens in cheese*. International Dairy Federation, IDF Document 122, Bruxelles.
- IFST, (1998). *Food safety and cheese*. Institute of Food Science and Technology, London.
- ISO, (1984). *General guidance for enumeration of presumptive Escherichia coli-Most probable number technique*. International Organization for Standardization, ISO 7251, Geneva.
- Kurt, A., Çakmak, S., & Çağlar, A., (1993). *Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi*. Erzurum: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:18.
- Küplülü, Ö., Kasımoğlu, A., & Akgün, S., (1999). Türk salamura beyaz peynirinin yapımı ve olgunlaşması sırasında *E. coli* O157:H7'nin canlı kalabilme yeteneğinin araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 46, 337-346.
- Maher, M.M., Jordan, K.N., Upton, M.E., & Joffey, A., (2001). Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of a smear-ripened cheese produced from raw milk. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 201-207.
- Marek, P., Mohan Nair, M.K., Hoagland, T., & Venkitanarayanan, K., (2004). Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* O157:H7 in pasteurized and unpasteurized Cheddar cheese whey. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 1-7.
- Metin, M., & Öztürk, G.F., (2002). *Süt ve Mamulleri Analiz Yöntemleri*. İzmir: Ege Meslek Yüksekokulu Basımevi.
- Özer, H.B., Uraz, G., Beyzi-Yılmaz, E.B., & Atasoy, A.F., (2004). The effects of brine concentration and scalding on survival of some pathogens in Urfa cheese: A traditional white-brined Turkish cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 39, 727-735.
- Park, S., Worobo, R., & Durst, R., (1999). *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A literature review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39, 481-502.
- Parry, S.M., & Palmer, S.R., (2000). The public health significance of VTEC O157. *Journal*

- of Applied Microbiology* (Sym. Suppl.), 88, 1S-9S.
- Pichhardt, K., (1993). *Lebensmittelmikrobiologie*. Berlin: Springer-Verlag.
- Ramsaran, H., Chen, J., Brunke, B., Hill, A., & Griffiths, M.W., (1998). Survival of bioluminescent *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in soft cheeses. *Journal of Dairy Science*, 81, 1810-1817.
- Reitsma, C. D., & Henning, D.R., (1996). Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of Cheddar cheese. *Journal of Food Protection*, 59, 460-464.
- Saad, S.M.I., Vanzin, C., Oliveira, M.N., & Franco, B.D.G., (2001). Influence of lactic acid bacteria on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated Minas cheese during storage at 8.5°C. *Journal of Food Protection*, 64, 1151-1155.
- Sağdıç, O., Şimşek, B., & Küçüköner, E., (2003). Microbiological and physicochemical characteristics of Van herby cheese, a traditional Turkish dairy product. *Milchwissenschaft*, 58, 382-385.
- Schlesser, J.E., Schmidt, S.J., & Speckman, R., (1992). Characterization of chemical and physical changes in Camembert cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 75, 1753-1760.
- Spano, G., Goffredo, E., Beneduce, L., Tarantino, D., Dupuy, A., & Massa, S., (2003). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of Mozzarella cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 36, 73-76.
- Tunçtürk, Y., & Coşkun, H., (2002). The effects of production and ripening methods on some properties of the herby cheese Otlu peynir. *Milchwissenschaft*, 57, 638-640.
- Yetişmeyen, A., (1997). A study on the development the technology and the quality characteristics of cheese with herb. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 21, 237-245.
- Zottola, E.A., & Smith, L.B., (1991). Pathogens in cheese. *Food Microbiology*, 8, 171-182.