



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2024; 38 (1): 53 - 61
http://www.fusabil.org

Ticari Sanitizerlerin Körpe Ispanaklardaki *Salmonella* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Antimikrobiyal Etkinliğinin Karşılaştırılması *

Tuğba AKSOY^{1, a}
Hüsnü Şahan GÜRAN^{2, b}

¹ Dicle Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Ana Bilim Dalı,
Diyarbakır, TÜRKİYE

² Dicle Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Ana Bilim Dalı,
Diyarbakır, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0003-1376-6809

^b ORCID: 0000-0002-6674-5510

Körpe ıspanaklar deneysel olarak *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 suşları ile kontamine edildi. Daha sonra kontamine ıspanak örneklerinin sanitasyonu için; kontrol (1. grup, herhangi bir sanitizer uygulanmayan grup), sodyum hipoklorit ve aktif klor içeren (2. grup), potasyum tuzlarını içeren (3. grup), yalnızca klor içeren (4. grup), bitkisel kekik yağı, ayçiçek lesitini ve laktik asit içeren (5. grup) ticari sanitizerler 1, 5 ve 10 dakika uygulandı. Körpe ıspanaklara sanitizerlerin 1, 5 ve 10 dakika uygulanmasını takiben ve 4 °C'de 24 saat muhafazası sonunda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında meydana gelen değişimlerin kontrol grubu ile sanitizer grupları arasında istatistiksel açıdan önemli olduğu bulundu ($P<0.05$). Sanitizerlerin 10 dakika uygulanmasını takiben *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında en çok azalma sırasıyla 2.75 log kob/cm² ve 2.55 log kob/cm² ile 2. grup ve 4. grupta belirlendi ($P<0.05$). Körpe ıspanakların 4 °C de 24 saat muhafaza sonrası *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında en çok azalma sırasıyla 3.22 log kob/cm² ve 3.09 log kob/cm² ile 4. grupta saptandı ($P<0.05$). Bu çalışma sonuçları, sanitizerler körpe ıspanaklarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında her ne kadar >1 log azalmaya neden olsa da bu solüsyonların hiçbirinin güvenli bir şekilde >5 log patojen sayısını azaltmada etkili olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Körpe ıspanak, sanitizer, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7

Comparison of Antimicrobial Efficacy of Commercial Sanitizers Against *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* on Baby Spinach

Baby spinach was experimentally contaminated with *Salmonella* and *E. coli* O157:H7. Then, for the sanitation of contaminated spinach samples were treated control (group 1, without any sanitizer), containing sodium hypochlorite and chlorine (group 2), containing potassium salts (group 3), containing chlorine (group 4), containing herbal thyme oil, sunflower lecithin and lactic acid (group 5) sanitizers for 1, 5, and 10 minutes. Following the treatment of the sanitizers to baby spinach, the changes in the number of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 were found statistically significant between the control group and the treatment groups ($P<0.05$). The highest reduction in the number of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 was determined the treatment of these sanitizers for 10 minutes in the 2nd and 4th groups, with 2.75 log cfu/cm² and 2.55 log cfu/cm², respectively ($P<0.05$). After storing baby spinach for 24 hours at 4 °C, the highest decrease in the number of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 was determined in the 4th group with 3.22 log cfu/cm² and 3.09 log cfu/cm², respectively ($P<0.05$). The results of this study show that although sanitizers caused >1 log reduction in the number of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 in baby spinach, none of these sanitizers was effective in providing >5 log reduction in the numbers of the pathogens.

Key Words: Baby spinach, sanitizer, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7

Giriş

Yaşam boyunca beslenme, halk sağlığını etkileyen önemli faktörlerden biri olmuştur. Toplumun daha kaliteli, sağlıklı ve uzun bir hayat sürdürebilmesinde beslenme alışkanlıkları ve besin tercihleri önemli rol oynamaktadır (1). Taze sebze ve meyveler içerdiği besin öğeleri ve ekonomik olmaları sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tüketicilere, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser riskini azaltabileceğinden, yüksek seviyelerde mikro besin ve lif içeriğine sahip taze ürün tüketimini önermektedir (2). Sıklıkla tüketilen veya tercih edilen taze ürünlerden biri olan ıspanak (*Spinacia oleracea* L.), dünya genelinde yaygın bir şekilde yetiştiriciliği yapılan, Amaranthaceae familyasının yaprağı yenilebilen en önemli kışlık sebzelerden biri olarak tanımlanmaktadır. Ispanak (*Spinacia oleracea* L.) serin mevsim sebzesidir ve tek yıllık bir bitkidir. Fırınlanmış, haşlanmış veya çeşitli yemeklerle birleştirilip tercih edilmesinin yanı sıra çiğ olarak da tüketilmektedir. Ispanağın kalorisi oldukça düşüktür ancak zengin C vitamini (askorbik asit) kaynağı olarak kabul edilmektedir. Zengin vitamin içeriği ve lif kaynağı sayesinde sürdürülebilir beslenmenin önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir. Sıcak ve kurağı sevmeyen bu bitkinin bileşiminde oksalik asitle fazla azotlu gübreleme sonucunda, sağlık açısından risk teşkil

Geliş Tarihi : 28.12.2023
Kabul Tarihi : 01.02.2024

Yazışma Adresi Correspondence

Hüsnü Şahan GÜRAN
Dicle Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Ana Bilim Dalı,
Diyarbakır – TÜRKİYE

sahanguran@yahoo.com

* Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (DÜBAP, Proje Numarası: Veteriner.23.005) tarafından desteklenmiştir.

edebilen nitrat birikimi olabilmektedir. Ayrıca hasattan sonra hızla bozulabilen bir sebze olduğundan sadece kendi sezonunda tüketilmesi önerilmektedir (3-5). Dünyada körpe ispanağın önemli üreticileri arasında başta ABD olmak üzere Çin ve Japonya gelmektedir. Özellikle son yıllarda Güney Afrika Cumhuriyeti'nde körpe ispanak üretiminin arttığı bildirilmektedir (6). Ticari öneme sahip nispeten yeni bir tarım ürünü olan körpe ispanak, sağlık üzerine etkileri bulunmakla beraber özellikle A ve C vitaminleri ile mineraller gibi biyoaktif bileşikleri yüksek seviyelerde bulundurur (7). Körpe ispanak, 5 ile 30 °C sıcaklıkları arasında iyi gelişebilmekte, hızlı olgunlaşmaktadır. Erken hasat edilen kısa bir mevsim bitkisi olan körpe ispanak yaprakları nispeten küçüktür (7.5–10 cm) ve ekimden itibaren 35 gün boyunca hasat edilebilmektedir (8).

Birçok ülkede yüksek lif kaynağı içeren taze sebze tüketiminin artması olumlu olmakla beraber böyle gıdaların genellikle minimum işleminden geçtikten sonra hazır ürün olarak tüketilmesi gıda güvenliği ve halk sağlığı bakımından mikrobiyal tehlikeler açısından araştırılması gereken konulardandır (1, 2). Bu kapsamda taze ürün güvenliğinin ve kalitesinin sağlanmasındaki endişeler, dikkatleri bu ürünlerin üzerine çekmesine neden olmaktadır (9). Yeşil yapraklı sebzeler üretim (organik gübre, sulama suyu, toprak) ve hasat sonrası uygulamalara (işleme, toplama, taşıma ve paketlenme) bağlı olarak mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır.

Yeşil yapraklı sebzelerle ilişkili mikrobiyal tehlikeler arasında sıklıkla *Salmonella*, patojenik *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) gibi patojenler yer almaktadır (10, 11). Son yıllarda yeşil yapraklı sebzelerin bu patojenler ile kontaminasyonuna bağlı salgınlar, başta ABD ve AB ülkeleri olmak üzere birçok ülke tarafından bildirilmektedir (1, 10, 12, 13). ABD'de 2018 yılı gıda kaynaklı hastalık salgınları sürveysan verilerine göre rapor edilen salgınların %10'unun taze sebzeler ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Aynı raporda yaklaşık 896 vakanın (%30) *Salmonella* ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (14). *E. coli* O157:H7 kaynaklı hastalıklar ise başta hayvansal kaynaklı gıdalar olmak üzere taze sebze ve meyve gibi kontamine ürünlerin tüketimi sonucu meydana gelmektedir (15). Her yıl, *E. coli* O157:H7'ye bağlı nedenlerden dolayı ABD'de yaklaşık 73.000 hastalık vakasının meydana geldiği ve bunların 2.168'inin hastaneye yatış ve 61'inin ölümle sonuçlandığı tahmin edilmektedir (16). Taze ürünlerle ilişkili gıda kaynaklı hastalıkların artan önemi, bilim insanlarının dikkatini hafifletici önlemlerin uygulanmasına ve bu gibi durumları önleyebilecek stratejiler geliştirilmesine yöneltmesine neden olmuştur (17). Gelişmiş ve gelişmekte olan birçok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de çiğ sebzeler yaygın olarak tüketilmektedir. Çiğ sebze ve meyvelerden kaynaklanabilecek mikrobiyal risklerin azaltılması için gerekli stratejiler arasında sanitasyon uygulamalarının önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (18). Bu kapsamda taze sebze ve meyvelerde patojen mikroorganizmaların azaltılmasına yönelik birçok araştırma yürütülmüştür (19-22). Ancak Türkiye'de farklı ticari markalara ait sanitizelerin ispanak gibi yeşil yapraklı sebzelerde *Salmonella* ve *E. coli*

O157:H7 gibi önemli patojenler üzerine ne düzeyde etkili olduğu ile ilgili literatürde yeterli araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada yeşil yapraklı sebzeler arasında yer alan körpe ispanaklarda ticari olarak satışı sunulan farklı markalara ait sanitizelerin *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 patojenleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Bu çalışma için Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı gerekmediğine dair 26.12.2023 tarih ve 2023/624659 karar no'lu belge alınmıştır.

Araştırma Materyali: Bu çalışmada körpe ispanaklar materyal olarak kullanıldı. Tüketici seviyesinde satışı sunulan taze körpe ispanaklar (baby spinach) uluslararası düzeyde faaliyet gösteren bir zincir marketin Diyarbakır ili sınırları içerisinde yer alan satış noktasından temin edildi. Körpe ispanakların orijinal ambalajı içinde, yıkama işlemi uygulanmadan ayıklama işlemine tabi tutulmuş, herhangi bir sanitizasyon ile muamele edilmemiş olmasına dikkat edildi. Deneysel aşamanın gerçekleştirileceği günler marketin sebze/meyve reyon sorumlusu ile bireysel iletişime geçilerek ürünün satış noktasına ulaşacağı tarihler belirlendi. Böylece körpe ispanakların taze olarak temin edilmesi sağlandı. Soğuk zincir altında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı laboratuvarına getirilen körpe ispanaklar 24 saat içinde deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere orijinal ambalajında buzdolabı koşullarında (+4 °C) bekletildi. Organoleptik açıdan (koku, tekstür, görünüm vb.) uygun olmayan ispanak yaprakları çalışmaya dahil edilmedi.

Körpe Ispanakların Hazırlanması: Her bir ispanak yaprağı örneği boyu 8 cm ve eni 2 cm olacak şekilde ayarlanan steril metal levhalar kullanılarak bir bisturi yardımı ile toplam 16 cm²'lik alana sahip parçalar şeklinde kesildi. Daha sonra kesilen ispanakların her bir yüzü UV-C lambası altında 15 dakika bekletildi.

Körpe Ispanakların *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 ile Kontaminasyonu: Ispanakların kontaminasyonu için Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü kültür koleksiyonunda bulunan ATCC 14028 (*Salmonella* Typhimurium), RSKK 91 (*Salmonella* Enteritidis), ATCC 43894 (*E. coli* O157:H7) ve ATCC 43895 (*E. coli* O157:H7) suşları kullanıldı.

Her patojenin 2 suşu -20 °C'den çıkarılarak bir öze yardımıyla Tryptic Soy broth (TSB) (LABM, UK) besiyerine aktarıldıktan sonra 37 °C'de 18-24 saat bekletildi. Patojen suşların aktifleşmesi için bu basamak iki kez tekrar edildikten sonra TSB içinde bulunan her patojenin 2 suşu santrifüj (4200 rpm'de 10 dk) (Nüve NF 800R, Türkiye) sonrası üstte kalan süpernatant uzaklaştırıldı. Geriye kalan pelete 9 mL %0.1'lik Pepton Water (PW) (LABM, UK) ilave edilerek yıkandı ve tekrar santrifüj (4200 rpm'de 10 dk) edildi. Üstte kalan süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra geriye kalan her bir patojen suşa ait pelete 5 mL %0.1'lik PW ilave edilerek

pipetaj ile homojenize edildi. Daha sonra homojen hale getirilen peletler bakteri yoğunluğu 10^8 kob/mL düzeyinde olacak şekilde bir tüpte birleştirilerek ispanakların kontaminasyonunda kullanıldı (23).

Her bir körpe ispanak örneği [eni 8 cm ve boyu 2 cm (16 cm^2), abaxial yüz] nokta inokulasyon yöntemine göre bir pipet yardımıyla kontamine edildi. Ispanak yüzeylerinin kontaminasyonu sonrası patojenlerin tutunmasını sağlamak amacıyla her bir ispanak örneği steril cam petrilere oda sıcaklığında laminar flow kabini içinde 2 saat bekletilerek kontaminasyon aşaması gerçekleştirildi (24).

Sanitizer Solüsyonların Hazırlanması ve Deney Gruplarının Oluşturulması: Sanitizer olarak kullanılacak solüsyonlar ulusal düzeyde satışına izin verilen tüketici tarafından kolaylıkla ulaşılabilen ve piyasada yaygın olarak bulunabilen firmalara ait ürünlerden seçildi. Gözleme dayalı yapılan ön piyasa araştırmaları sonucunda bu özellikleri karşılayan 4 farklı firmaya ait sebze/meyve sanitizer solüsyonu ispanak yapraklarının sanitasyonu için kullanıldı. Daha sonra ispanak örnekleri kontrol dahil toplam 5 gruba ayrıldı. Her tekrarda 30 ispanak örneği olacak şekilde toplam 3 tekrarda 90 körpe ispanak kullanıldı. Sanitasyon amacıyla hazırlanan tüm solüsyonların kullanılmadan önce oda sıcaklığında olmasına dikkat edildi.

1. grup (Kontrol): *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilen ancak hiçbir işlem uygulanmayan grup.

2. grup: Sodyum hipoklorit ve aktif klor içeren ticari sanitizer solüsyon. Üretici firmanın önerdiği şekilde 500 ml steril suya 25 mL yıkama sıvısı ilave edilerek hazırlandı (sırasıyla aktif madde oranları %0.024, %0.0229).

3. grup: Potasyum tuzlarını içeren ticari sanitizer solüsyon. Üretici firmanın önerdiği şekilde 500 mL steril suya 2.5 mL yıkama sıvısı ilave edilerek hazırlandı (yoğunluk < %0.8).

4. grup: Klor içeren ticari sanitizer solüsyon. Üretici firmanın önerdiği şekilde 500 mL steril suya 2.5 mL yıkama sıvısı ilave edilerek hazırlandı (Yoğunluk [g/L, 20°C]: 1.04).

5. grup: Bitkisel kekik yağı, ayçiçek lesitini ve laktik asit içeren ticari sanitizer solüsyon. Kullanıma hazır olarak satışı olan yıkama solüsyonu üretici firmanın önerdiği şekilde püskürtme işlemi uygulanan grup (oranlar sırasıyla 0.0206 mL/L, 0.0002 mL/L, 0.01250 mL/L).

Salmonella ve *E. coli* O157:H7 suşları ile kontamine edilen ispanaklar, 1. grup (kontrol grubu) ve 5. grup hariç, 2, 3 ve 4. gruplar üretici firma tarafından önerildiği şekliyle hazırlanan 500 mL'lik kaplarda bulunan sanitizer solüsyon içerisine 1, 5 ve 10 dk. daldırılıp çıkarıldıktan sonra steril poşetlere konuldu. 5. grupta ise üretici firmanın direktiflerine göre püskürtme ile 1, 5 ve 10 dk bekletildikten sonra steril poşetlere konuldu. Kontrol grubunda ise herhangi bir sanitizer

kullanılmadı. Ispanak örneklerinin 1, 5 ve 10 dk sanitasyonundan hemen sonra ve 24. saat 4°C'de muhafazası sırasında patojenlerde meydana gelen sayısal değişimler mikrobiyolojik analizler ile belirlendi.

Mikrobiyolojik Analizler: Sanitizerlerin 1, 5 ve 10 dk (0. gün) uygulanması sırasında ve bunların 4 °C'de 24 saat muhafazası sonrasında *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla her örneklem zamanında körpe ispanak örneklerinin bulunduğu steril poşetlere 20 mL steril tamponlanmış peptonlu su (BPW) (LABM, UK) ilave edildi. Ispanak ve BPW içeren her bir numune alma poşeti 2 dakika karıştırıcıda (stomacher) homojenize edildikten sonra 1/10'luk düzende seri dilüsyonlar yapıldı.

***Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 Sayısının Belirlenmesi:** *Salmonella* sayısının belirlenmesi için her dilüsyondan 0,1 ml alınarak çift seri halinde *Xylose Lysine Deoxycholate (XLD)* (LABM, UK) agar plaklarına yüzey yayma yöntemi ile ekim yapıldı ve 37 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası XLD agarda üreyen tipik koloniler (siyah veya siyah merkezli) sayılarak not edildi. Ayrıca, *Salmonella* sayısının tespit edilebilir limitlerin altına düşmesi durumuna karşı örneklerde var/yok testi uygulandı (25).

E. coli O157:H7 sayısı her dilüsyondan 0.1 mL alınarak, Cefixim Tellurite (CT) içeren Sorbitol MacConkey (CT-SMAC) (LABM, UK) agar plaklarına yüzey yayma yöntemi ile ekim yapılarak, 35 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası CT-SMAC agar besiyerinde üreyen sorbitol negatif koloniler sayılarak not edildi. Ayrıca, *E. coli* O157:H7 sayısının tespit edilebilir limitlerin altına düşmesi durumuna karşı örneklerde var/yok testi uygulandı (25).

Salmonella ve *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilen körpe ispanakların sanitasyonu sırasında sanitizer solüsyonlara geçen *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayılarının ve canlılık durumlarının tespiti amacıyla 1, 5 ve 10. dakikalarda her bir sanitasyon solüsyonundan 1 mL alındı. Daha sonra 1/10'luk düzende seri dilüsyonlar hazırlanarak yukarıda açıklandığı şekilde *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 için tespiti için mikrobiyolojik analizler gerçekleştirildi.

***Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 Sayısının (kob/cm²) Hesaplanması:** Elde edilen veriler aşağıdaki formül kullanılarak kob/cm² çevrildi.

$\log \text{ kob/cm}^2 = \log [\text{ kob/ml} \times \text{ sulandırma miktarı/toplam yüzey alan (cm}^2)]$
 $\log \text{ kob/cm}^2 = \log_{10} [\text{ kob/ml} \times 20/16]$

İstatistiksel Analiz: *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayıları $\log \text{ kob/cm}^2$ 'ye dönüştürülerek 5x4x3 (test grubu x örnekleme zamanı x tekerrür) faktöriyel deneme desenine uygun olarak varyans analizine tabi tutuldu. Ortalamalar Fisher'in en küçük kareler farkı (Fisher's LSD) testi kullanılarak ayrıştırıldı ve grup içi ve gruplar arası farklılıklar karşılaştırıldı. Bu amaçla, Statistical Analysis System (SAS) paket programı (Version 8, 1999, SAS Institutelnc., Cary, NC, ABD) kullanıldı. İstatistiksel önem derecesi $P < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

Bu çalışmada *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilen körpe ıspanaklarda sanitasyon amacıyla kullanılan 4 farklı sanitizer solüsyonun bu patojenlerin varlığı üzerine etkileri incelendi. Her bir sanitizer solüsyonun pH'sı Tablo 1'de belirtildiği şekilde tespit edildi. *Salmonella* sayısı bakımından gruplar arasında farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı (P<0.05). İspanakların sanitasyonu için 1, 5 ve 10 dk sanitize edilen örneklerin 4 °C de 24 saat (1. gün) muhafazası sonrası *Salmonella* sayısında meydana gelen değişim 1. grupta 2., 3., 4., 5. grupları arasında, 2., 3., 4. ve 5. gruplarda ise grup içi dönemler arasındaki farklılığın istatistiksel bakımdan önemli olduğu tespit edildi (P<0.05). *Salmonella* sayısında en çok azalma 3.22 log kob/cm² ile 1. gün 4. grupta 10 dakika sanitize edilen örneklerde saptandı. Bunu sırasıyla 2.75 log kob/cm² azalma ile 0. gün 2. grupta 10 dakika, 2.62 log kob/cm² ve 2.63 log kob/cm² azalma ile 1. gün 2. grupta 5 ve 10 dakika, 2.61 log kob/cm² azalma ile 1. gün 4. grupta 5 dakika uygulanan örneklerin takip ettiği belirlendi. Gruplara göre *Salmonella* sayısında meydana gelen değişimler Tablo 2'de verilmiştir.

4 °C de 24 saat muhafaza sonrası *Salmonella* sayısında en çok azalma 1, 5 ve 10 dakika yıkama sıvısında sanitize edilen örneklerde sırasıyla 2.39 log kob/cm² ve 2.62 log kob/cm² ile 2. grupta ve 3.22 log kob/cm² ile 4. grupta saptandı (P<0.05). Körpe ıspanakların 4 °C'de 24 saat muhafazası sonrası *Salmonella* sayısında en fazla düşüş 10 dk sanitizer uygulama sonrası meydana geldi. Tüm gruplarda anlamlı düşüşler gözlenirken 2. ve 4. grup sanitizelerin inhibisyon etkisinin birbirine benzer ancak diğer gruplara göre daha etkili olduğu bulundu.

E. coli O157:H7 sayısı bakımından 0. gün 1 dakika sanitize edilen 1. grup ile 2. ve 4. gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli (P<0.05). 3. ve 5. gruplar arasında ise benzer bulundu (P>0.05). 1, 5 ve 10 dakika sanitize edilen örneklerin 4 °C de 24 saat (1. gün) muhafazası sonrası *E. coli* O157:H7 sayısında meydana gelen değişimin 1. grupta 2., 3., 4., 5. grupları arasında istatistiksel açıdan önemli olduğu saptandı (P<0.05). 4 °C'de 24 saat muhafaza sonrası 1., 5. ve 10. dakikada *E. coli* O157:H7 sayısında en çok azalma sırasıyla 1.44 log kob/cm² ile 3. grupta; 1.59 log kob/cm² ve 3.09 log kob/cm² ile 4. grupta saptandı (P<0.05) (Tablo 3).

Körpe ıspanakların sanitasyonu sırasında kontamine ıspanaklardan sanitizer solüsyonlara geçen *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 patojenlerinin sayısı Tablo 4'te verilmiştir. İlk uygulandığı 1. dakikadan itibaren 4. grup sanitizer solüsyonda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığının tespit edilebilir limitler altına düştüğü belirlendi. Ancak 2, 3 ve 5. gruplarda bu patojenlerin her bir temas süresi esnasında sayısının >2 log kob/mL olarak saptandı.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan ticari sanitizer solüsyonların pH değerleri

Sanitizer Solüsyon	pH	Özellik
1.grup	Kontrol	Kontrol
2.grup	4.77	Asidik
3.grup	6.5	Nötral (inorganik tuz)
4.grup	12.06	Bazik
5.grup	7.18	Nötral

Tablo 2. Sanitizelerin uygulanması sonrası körpe ıspanaklarda *Salmonella* sayısında meydana gelen değişimler (log kob/cm², n: 3)

Zaman	Gruplar	Sanitizer ile Temas Süresi		
		1 dk	5 dk	10 dk
0. gün (uygulamadan hemen sonra)*	1	7.10±0.08 ^{Ax}	7.22±0.10 ^{Ax}	7.13±0.10 ^{Ax}
	2	6.14±0.14 ^{Cx}	5.42±0.15 ^{Dy}	4.38±0.11 ^{Ez}
	3	6.69±0.11 ^{Bx}	6.17±0.07 ^{Cy}	5.97±0.08 ^{Cy}
	4	5.91±0.16 ^{Cx}	5.46±0.18 ^{Dy}	5.25±0.13 ^{Dy}
	5	7.05±0.06 ^{Bx}	6.83±0.14 ^{Bxy}	6.57±0.12 ^{By}
1. gün (24. saat)**	1	7.70±0.07 ^{Ax}	7.64±0.09 ^{Ax}	7.56±0.19 ^{Ax}
	2	5.31±0.32 ^{Dx}	5.02±0.16 ^{Cx}	4.93±0.25 ^{CDx}
	3	6.53±0.31 ^{BCx}	5.98±0.58 ^{Bxy}	5.43±0.36 ^{Cy}
	4	5.86±0.30 ^{CDx}	5.03±0.15 ^{Cy}	4.34±0.24 ^{Dy}
	5	6.83±0.34 ^{Bx}	6.56±0.25 ^{Bx}	6.20±0.16 ^{Bx}

A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harfler ile ifade edilen sonuçlar istatistiksel açıdan önemli (P<0.05)

x,y: Aynı satırda farklı harfler ile ifade edilen sonuçlar istatistiksel açıdan önemli (P<0.05)

*Sanitizer uygulamasının 0. günü

** Sanitizer uygulamasını takiben 24. saat

1. grup: Kontrol, 2. grup: Sodyum hipoklorit+ aktif klor içeren solüsyon, 3. grup: Potasyum tuzlarını içeren solüsyon, 4. grup: Klor içeren solüsyon, 5. grup: Kekik yağı, laktik asit, lesitin içeren grup.

Tablo 3. Sanitizelerin uygulanması sonrası körpe ıspanaklarda *E. coli* O157:H7 sayısında meydana gelen değişimler (log kob/cm², n: 3)

Zaman	Gruplar	Sanitizer ile Temas Süresi		
		1 dk	5 dk	10 k
0. gün (uygulamadan hemen sonra)*	1	6.55±0.18 ^{Ax}	6.37±0.09 ^{Ax}	6.44±0.25 ^{Ax}
	2	5.60±0.20 ^{BCx}	4.88±0.11 ^{BCy}	3.89±0.24 ^{Cz}
	3	6.05±0.19 ^{ABx}	5.18±0.26 ^{BCy}	5.06±0.11 ^{By}
	4	4.93±0.17 ^{Cx}	4.79±0.19 ^{Cx}	4.20±0.19 ^{Cy}
	5	6.24±0.17 ^{Ax}	5.34±0.20 ^{By}	5.10±0.14 ^{By}
1. gün (24. saat)**	1	5.50±0.36 ^{Ax}	5.37±0.32 ^{Ax}	5.28±0.26 ^{Ax}
	2	4.36±0.33 ^{BCx}	4.09±0.29 ^{Bx}	3.96±0.24 ^{Bx}
	3	4.06±0.19 ^{Cx}	3.78±0.32 ^{Bx}	3.22±0.36 ^{BCx}
	4	4.15±0.18 ^{Cx}	3.85±0.14 ^{Bx}	2.19±0.42 ^{Cy}
	5	5.13±0.26 ^{ABx}	4.32±0.34 ^{Bxy}	3.95±0.33 ^{By}

^{A,B,C,D}: Aynı sütunda farklı harfler ile ifade edilen sonuçlar istatistiksel açıdan önemli (P<0.05)

^{x,y}: Aynı satırda farklı harfler ile ifade edilen sonuçlar istatistiksel açıdan önemli (P<0.05)

*Sanitizer uygulamasının 0. günü

** Sanitizer uygulamasını takiben 24. saat

1. grup: Kontrol, 2. grup: Sodyum hipoklorit+ aktif klor içeren solüsyon, 3. grup: Potasyum tuzlarını içeren solüsyon, 4. grup: Klor içeren solüsyon, 5. grup: Kekik yağı, laktik asit, lesitin içeren grup.

Tablo 4. Temas süresine göre sanitizer solüsyonlarda belirlenen *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısı (log kob/mL)

Grup	<i>Salmonella</i>			<i>E. coli</i> O157:H7		
	1 dk	5 dk	10 dk	1 dk	5 dk	10 dk
1	—	—	—	—	—	—
2	3.66±0.80	3.57±0.69	3.82±0.49	2.31±1.24	2.23±1.08	2.00±1.41
3	4.66±0.45	5.49±0.81	5.75±0.67	4.97±0.04	4.66±0.48	4.54±0.41
4	N	N	N	N	N	N
5	7.12±1.39	7.01±1.28	6.76±1.36	4.97±0.03	4.47±0.08	6.12±1.23

N: var/yok testinde üreme görülmedi

(—): Analiz yapılmadı

Tartışma

Taze sebze ve meyve gibi ürünlerdeki *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenler ile ilişkili kontaminasyonları azaltmaya yönelik uygulanacak sanitasyon prosedürleri bu patojenlerin çiftlikten tüketiciye ulaşıncaya kadar geçen sürede gıda zincirine girmesine imkan veren birçok adımın olmasından dolayı hem zor hem de karışık bir süreçtir. Bu patojenler ile ilişkili risk, geleneksel yüzey sanitasyon yöntemleriyle (örneğin su ve klor dioksit) azaltılabilir de mikrobiyal kontaminasyondan tamamen arınmış taze meyve ve sebzelerin gıda güvenliğini sağlamanın bir yolu da bulunmamaktadır (26, 27). Taze ürünlerin üretimi ve işlenmesinde daha verimli stratejilerin kullanılmasına ihtiyaç bulunmakla beraber ev tipi meyve ve sebze yıkama solüsyonlarının sanitizer olarak kullanımının son zamanlarda arttığı dikkatleri çekmektedir. Bu kapsamda bu çalışmada Türkiye'de ticari olarak satışına izin verilen meyve ve sebze yıkama solüsyonu olarak bilinen sanitizelerin körpe ıspanaklarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 patojenleri üzerine antimikrobiyel etkileri araştırıldı.

Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre ıspanak yapraklarının ticari sanitizeler ile 1 dakika yıkanması sonrası kontrol grubuna göre *Salmonella* sayısında en

çok azalma sırasıyla klor içeren 4. grup (1.19 log kob/cm²) ve 2. grupta (0.96 log kob/cm²) tespit edilirken, bu sanitizelerin 10 dakika uygulanmasını takiben sırasıyla en çok azalma 2.75 log kob/cm² ve 1.88 log kob/cm² ile 2. grup ve 4. grupta saptandı. Benzer şekilde ıspanak yapraklarının 1 dakika yıkanması sonrası kontrol grubuna göre *E. coli* O157:H7 sayısında en çok azalma sırasıyla klor içeren 4. grup (1.62 log kob/cm²) ve 2. grupta (0.95 log kob/cm²) tespit edilirken, bu sanitizelerin 10 dakika uygulanmasını takiben sırasıyla en çok azalma 2.55 kob/cm² ve 2.24 log kob/cm² ile 4. grup ve 2. grupta saptandı. Bu çalışmada elde edilen bulgular yıkama suyuna eklenen klorun yeşil yapraklı sebzelerde *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısını yaklaşık 2 log kob/g azalttığını gösteren önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (18, 20, 28). Kilonzo-Nthenge ve ark. (29) evde kullanılabilen klor çözeltisi (200 ppm) ile taze sebzeleri 2 dakika süreyle dekontamine ettikleri araştırmalarında, *Salmonella* sayısında ortalama 1.95-2.19 log azalma tespit ettiklerini bildirmiştir. Başka bir çalışmada Ukuku ve ark. (30) kavun yüzeyini *Salmonella* spp. ile kontamine ettikten sonra 5 dk klor (1000 ppm) çözeltisi ile yıkamıştır. Yıkama sonrası *Salmonella* sayısında yaklaşık 3 log azalma meydana geldiğini tespit etmiştir. Nei ve ark. (31) sodyum hipoklorit (100 mg/L) ve sodyum klorit (15 mg/L)

ile yıkamanın ispanak yapraklarında *E. coli* O157:H7 popülasyonunda 1.1 ile 1.8 log arasında azalmaya neden olduğu, ancak klor bazlı yıkama solüsyonları arasında antimikrobiyal etki bakımından önemli bir farkın olmadığı bildirilmiştir. Zhou ve ark. (20) nokta inokülasyon yöntemine göre *E. coli* O157:H7 ile kontamine ettikleri ispanak örneklerini oda sıcaklığında 2 dakika boyunca klor (200 mg/L) ile yıkanmasının bu patojenin sayısında 2 log kob/g azalmaya neden olduğunu belirlemiştir.

Araştırmalar ispanaklarda patojen inhibisyonu için kullanılan laktik asit uygulamalarının istenmeyen renk değişimlerine neden olabileceğini göstermektedir (32). Neal ve ark. (33) *Salmonella* ile kontamine ettikleri ispanak yapraklarını farklı kimyasal dezenfektanlar ile muamele sonrası bu patojendeki sayısal azalmaları karşılaştırdıkları araştırmalarında % 2'lik laktik asit (pH 1.5) içeren grupta 2.3 log azalma, klor bazlı bileşikler (200 mg/L serbest klor, 1.2 ve 2.1 mg/L klordioksit) içeren grupta ise 0.3 log kob/g ile 1.0 log kob/g arasında değişen düzeylerde azalmanın olduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmada ispanak yapraklarındaki *Salmonella* patojenini azaltmak için laktik asitin klor bazlı bileşiklere göre daha etkili olduğu ancak laktik asit uygulamasını takiben ispanak yapraklarında renk değişiminin meydana geldiği vurgulanmıştır (32, 33). Benzer şekilde Lin ve ark. (34), oda sıcaklığında %1.5 laktik asit uygulamasının marulda *Salmonella* Enteritidis popülasyonunda 4 log kob/g azalmaya neden olduğunu ancak bu işlemle marulda ciddi kahverengileşme meydana geldiğini saptamıştır. Ganesh ve ark. (35) *S. Typhimurium* ile kontamine edilen ispanak yapraklarına püskürtülen %2'lik laktik asidin, soğuk muhafaza sırasında yaklaşık 1.5 log kob/g azalmaya neden olduğunu saptamıştır. Bu çalışma bulgularına göre körpe ispanak yapraklarına püskürtme yöntemi ile 10 dakika laktik asit içeren (0.01250 mL/L) sanitizasyonun (5. grup) uygulanmasını takiben 4 °C de 24 saat muhafaza sonrası *Salmonella* sayısında 1.36 log kob/cm² ve *E. coli* O157:H7 sayısında ise 1.33 log kob/cm² azalmaya neden olduğu bulundu. Her ne kadar bu çalışmada elde edilen bulgular laktik asidin *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonu üzerine etkisinin sınırlı olduğunu göstermiş olsa da bu durumun sanitizasyon olarak kullanılan ticari solüsyonun bileşimindeki laktik asit oranının düşük olması ve de nötral bir pH'ya (pH:7,18) sahip olmasından kaynaklanmış olabilir. Laktik asit gibi organik asitlerin antimikrobiyal etkinlikleri asidin türüne, kalitesine, uygulama tekniğine ve maruz kalma süresine (5-15 dakika) göre değişebilmektedir (36).

Bu çalışmada kontrol grubu dışında tüm gruplarda sanitizasyon ile 10 dakika temasın körpe ispanaklarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında 1 ve 5 dakikaya göre daha fazla azalmaya neden olduğu saptandı. Bu da sanitizasyonun temas süresinin körpe ispanaklarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısının azaltılmasında etkili olabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde farklı sanitizasyon uygulamaları ile taze sebzelerde sanitizasyonun temas süresi ile patojen mikroorganizma inhibisyonu arasında doğru

bir ilişkinin olduğunu gösteren çalışmalar literatürde önceden bildirilmiştir (37).

Son yıllarda kimyasal olarak sentezlenmiş ürünlerin sağlık üzerine olan olumsuz etkileri konusundaki endişeler tüketicilerin bitkisel esansiyel yağlar gibi doğal ürünlere olan ilgisini arttırmaktadır. Kekik, karvakol ve sineol gibi uçucu esansiyel yağların bozulma yapıcı ve patojen bakterilerin çoğalması üzerine inhibe edici etkileri bulunmaktadır. Esansiyel yağların gıda maddelerinde kullanımı sonrası meydana getirdiği mikrobiyal inhibisyonun ortalama 1,93 log seviyelerinde olduğu ifade edilmektedir (27). Kekik esansiyel yağının antimikrobiyal etkisinin ortaya çıkmasında yüksek fenolik içeriğe sahip olması önemlidir. Çalışmalarda test edilen kekik yağının gıda kaynaklı bakterilerin çoğalmasını önlemek ve işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmak için gıda sistemlerinde, kekik esansiyel yağlarının veya bazı bileşenlerinin kullanılabilirliği belirtilmektedir (38). Özellikle bu uçucu yağların marul, havuç ve domates gibi sebze ve meyvelerde *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella* spp. gibi patojenler üzerine 3 log'dan fazla azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (39, 40). Tornuk ve ark. (41) *S. Typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 ile kontamine ettikleri elma ve havuçlarda 10 dakika 5 ppm kekik yağı uygulanmasının bu patojenlerde yaklaşık 1,4 log kob/g azalmaya neden olduğu belirlemiştir. Bu çalışmada kekik yağı içeren 5. grup ile muamele edilen ispanak yapraklarında, *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında azalma diğer gruplara göre çok daha sınırlı kaldığı saptandı. Bu çalışmada elde edilen bulgular daha önceden bildirilen araştırmalar ile benzerlik gösterse de önceki araştırmalarda kekik yağının herhangi bir bileşik ile kombine edilmeden direkt olarak ispanaklarda uygulanması bakımından farklılık göstermektedir.

Meyve ve sebzelerde kullanılan sanitizasyonun etkinliği birçok nedene bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Rodgers ve ark. (42) *Salmonella* sayısındaki azalmanın sanitizasyon olarak uygulanan yıkama solüsyonlarının çeşidinden etkilendiğini bildirmektedir. Benzer şekilde bu çalışmada farklı formüle edilmiş sanitizasyonlarla yıkanmış körpe ispanaklardaki *Salmonella* sayısı, 0.05 ile 3.22 log kob/cm² azalmayla 7.05 ile 4.34 log kob/cm² arasında, *E. coli* O157:H7 sayısı ise 0.31 ile 3.09 log kob/cm² azalmayla 6.55 ile 2.19 log kob/cm² arasında değiştiği saptandı. Bu bulgular ticari olarak satışa sunulan sanitizasyonun değişen oranlarda ispanaklarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 varlığını azalttığını göstermektedir.

Meyve ve sebzeler sanitasyon amacıyla sanitizasyon ile yıkandıktan sonra buzdolabı koşullarında değişen sürelerde muhafaza edilebilmektedir. Patojenlerin, ispanak yapraklarının *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7'nin nokta inokülasyon yöntemi ile kontamine edildiği bir araştırmada, 1 dakika klor uygulandıktan sonra buzdolabı koşullarında (4 °C) 14 gün muhafaza edilen ispanaklarda *Salmonella* sayısının 2.96 log kob/g'dan muhafazanın 14. gününde 0.96 log kob/g'a, *E. coli* O157:H7 sayısı ise 2.12 log kob/g'dan 0.96 log kob/g'a düştüğü bildirilmiştir (43). Benzer şekilde bu çalışma bulguları *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 ile nokta inokülasyon yöntemi ile kontamine edilen

ispanaklarda ticari sanitizelerin uygulanmasını takiben +4 °C'de 24 saat (1. gün) muhafaza edilmesinin ilk uygulandığı ana göre (0.gün) *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında daha fazla azalmaya neden olduğu saptandı.

Ispanakta gıda kaynaklı patojenlerin inaktivasyonu için fiziksel ve kimyasal farklı yöntemler kullanılmaktadır. Sanitasyon amacıyla kullanılan solüsyonlarının hafif ısı ile kombine edilmesi, ispanakta gıda kaynaklı patojenlerin inaktivasyonunda olumlu etki yarattığı belirtilmektedir (44). Neal ve ark. (32), %2 laktik asitin 55 °C'de uygulanmasının ispanak yapraklarında *Salmonella* sayısında 2.3 log kob/g ve *E. coli* O157:H7 sayısında ise 2.7 log kob/g düzeyinde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Huang ve Chen (22) ispanak örneklerinin 40 °C'de 5 dk. % 1 laktik asit ile yıkanmasının ispanaklardaki *E. coli* O157:H7 sayısında yaklaşık 2.7 log kob/g azalma tespit etmiştir. Bu çalışmada farklı tür ve konsantrasyonlarda içeriğe sahip ticari sanitizelerin patojenlere karşı etkinliği oda sıcaklığı koşullarında belirlendi.

Meyve ve sebze yıkama solüsyonları ile sanitasyon yapılmadan önce patojenler ile kontamine edilmiş sebze ve meyvelerin daha uzun süre (örneğin birkaç saat) muhafaza edilmesi, mikroorganizmaların tutunmasını arttırabilmekte ve sanitizelerin beklenen etkinliği göstermemesine neden olabilmektedir. Kontaminasyon amacıyla kullanılan mikroorganizmaların gıda örnekleri ile uzun temas süresi, bu mikroorganizmaların gıda örneklerine daha iyi bağlanmasına ve doğal olarak bağlı hücreler gibi davranması ile ilişkilendirilmektedir (45). Allende ve ark. (46) *E. coli* ile kontamine ettikten sonra 12 saat 4 °C'de beklettikleri hindiba sebzesine uyguladıkları sanitizelerin *E. coli* sayısında azaltmada sınırlı etkisinin olduğunu bunun da bu bakterinin hindiba bitkisine iyi tutunmasından dolayı kullanılan sanitizelerin etkinliğinin azalması ile ilişkisi olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada, körpe ispanaklar *Salmonella* ve *E. coli*

O157:H7 ile kontamine edilmesini takiben bu patojenlerin ispanak yüzeyine tutunması için daha önceden literatürde belirtildiği gibi iki saat oda sıcaklığında bekletildikten hemen sonra ticari sanitizet solüsyonları ile sanitasyonları gerçekleştirildi.

Bu çalışmada sanitasyon amacıyla kullanılan sanitizet solüsyonlarından geri kazanılan *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısının temas süresine göre gruplar arasında farklılık gösterdiği belirlendi. Klor içeren 4. grupta ilk kullanıldığı andan itibaren *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayılarının tespit edilebilir limitlerin altında kaldığı saptanırken geriye kalan tüm gruplarda bu patojenlerin sayısının 2 ile 6.76 log kob/ml arasında değiştiği belirlendi. Bu bulgular *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7'nin kontamine ispanaktan sanitizet solüsyonlara aktarılabilceğini, dolayısıyla bu solüsyonların kontamine olmayan temiz ispanakları kontamine edebileceği olasılığını göstermektedir (47). Kilonzo-Nthenge ve Liu (29) musluk suyu, sirke (%5.0, 1.5, 1.0), kabartma tozu, ticari yıkama ve çamaşır suyu çözeltileri dahil olmak üzere ev dezenfektanlarının, ispanak yapraklarında *Salmonella* Enterica sayısını azaltmada etkinlikleri inceledikleri araştırmalarında klorlu su ve % 5 sirke hariç tüm yıkama solüsyonlarında *Salmonella*'nın tespit edildiğini bildirmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada ticari sanitizetler körpe ispanaklarda *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 sayısında >1 log azalma sağlayabilse de bu solüsyonların hiçbirinin tek başına, güvenli bir şekilde patojenlerin sayısını azaltmada (>5 log) etkili olmadığını göstermektedir (48). Bu çalışmada kullanılan sanitizetlerden geri kazanılan *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7'nin, ispanakların işlenmesi veya tüketime hazırlanması sırasında diğer gıda veya gıda hazırlama yüzeylerine çapraz kontaminasyonlar ile bulaşabileceği, tüketiciler ve gıda çalışanları tarafından dikkate alınmalıdır.

Kaynaklar

1. Turgut N. Gıdalarda Escherichia coli O157:H7 yaygınlığının riskleri ve kontrolü. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi 2021; 5: 101-114.
2. Issa A, Ibrahim SA, Tahergorabi R. Impact of sweet potato starch-based nanocomposite films activated with thyme essential oil on the shelf-life of baby spinach leaves. Foods 2017; 6: 1-13.
3. Ozkan IA, Akbudak B, Akbudak N. Microwave drying characteristics of spinach. J Food Eng 2007; 78: 577-583.
4. Sertkaya G. Hatay ili marul ve ispanak alanlarında bazı virüslerin araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2015; 20: 7-12.
5. Macarisin D, Patel J, Bauchan G, Giron JA, Ravishankar S. Effect of spinach cultivar and bacterial adherence factors on survival of Escherichia coli O157:H7 on Spinach Leaves. J Food Prot 2013; 76: 1829-1837.
6. Mudau AR, Araya HT, Mudau FN. The quality of baby spinach as affected by developmental stage as well as postharvest storage conditions. Acta Agric Scand B Soil Plant Sci 2019; 69: 26-35.
7. Nematodzi L, Araya HT, Nkomo M, et al. Nitrogen, phosphorus and potassium effects on the physiology and response biomass yield of baby spinach (Spinacia oleracea L.). J Plant Nutr 2017; 40: 2033-2044.
8. Parwada C, Chigiya V, Ngezimana W, Chipomho J. Growth and performance of baby spinach (Spinacia oleracea L.) grown under different organic fertilizers. Int J Agron 2020; 2020: 1-6.
9. Arellano S, Zhu L, Dev Kumar G, et al. Essential oil microemulsions inactivate antibiotic-resistant bacteria on iceberg lettuce during 28-day storage at 4 °C. Molecules 2022; 27: 6699.
10. Dakwa V, Powell S, Eyles A, et al. Effect of peroxyacetic acid treatment and bruising on the bacterial community

- and shelf-life of baby spinach. *Int J Food Microbiol* 2021; 343: 1-10.
11. Guo S, Huang R, Chen H. Application of water-assisted ultraviolet light in combination of chlorine and hydrogen peroxide to inactivate Salmonella on fresh produce. *Int J Food Microbiol* 2017; 257: 101-109.
 12. Huang R, de Vries D, Chen H. Strategies to enhance fresh produce decontamination using combined treatments of ultraviolet, washing and disinfectants. *Int J Food Microbiol* 2018; 283: 37-44.
 13. Kara R, Acaröz U, Gürler Z, Soylu A, Küçükkurt O. Taze Marul Örneklerinde *Escherichia coli* O157 ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Belirlenmesi. *Eur J Sci Technol* 2019; 16: 871-873.
 14. Lippman B, Yao S, Huang R, Chen H. Evaluation of the combined treatment of ultraviolet light and peracetic acid as an alternative to chlorine washing for lettuce decontamination. *Int J Food Microbiol* 2020; 323: 1-9.
 15. Jagannathan BV, Kitchens S, Vijayakumar PP, Price S, Morgan M. Efficacy of bacteriophage cocktail to control *E. coli* O157:H7 contamination on baby spinach leaves in the presence or absence of organic load. *Microorganisms* 2021; 9: 1-11.
 16. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness and death in the united states. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 607-625.
 17. Chen Z, Jiang X. Microbiological safety of chicken litter or chicken litter-based organic fertilizers: A review. *Agriculture* 2014; 4: 1-29.
 18. Pezzuto A, Belluco S, Losasso C, et al. Effectiveness of washing procedures in reducing *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on a raw leafy green vegetable (*Eruca vesicaria*). *Front Microbiol* 2016; 7: 1-8.
 19. Luo Y, Nou X, Yang Y, et al. Determination of free chlorine concentrations needed to prevent *Escherichia coli* O157:H7 cross-contamination during fresh-cut produce wash. *J Food Prot* 2011; 74: 352-358.
 20. Zhou B, Feng H, Luo Y. Ultrasound enhanced sanitizer efficacy in reduction of *Escherichia coli* O157:H7 population on spinach leaves. *J Food Science* 2009; 74: 308-313.
 21. Nou X, Luo Y. Whole-leaf wash improves chlorine efficacy for microbial reduction and prevents pathogen cross-contamination during fresh-cut lettuce processing. *J Food Sci* 2010; 75: 283-290.
 22. Huang Y, Chen H. Effect of organic acids, hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on baby spinach. *Food Control* 2011; 22(8): 1178-1183.
 23. Ilhak OI, Guran HS. Combined antimicrobial effect of thymol and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in fish patty. *J Food Saf* 2014; 34: 211-217.
 24. Tan J, Karwe MV. Inactivation of *Enterobacter aerogenes* on the surfaces of fresh-cut purple lettuce, kale, and baby spinach leaves using plasma activated mist (PAM). *Innov Food Sci Emerg Technol* 2021;74: 102868.
 25. Choi MR, Lee SY, Park KH, et al. Effect of aerosolized malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157:H7 on spinach and lettuce. *Food Control* 2012; 24(1-2): 171-176.
 26. Olaimat AN, Holley RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. *Food Microbiol* 2012; 32: 1-19.
 27. Yoon JH, Lee SY. Review: Comparison of the effectiveness of decontaminating strategies for fresh fruits and vegetables and related limitations. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018; 58: 3189-3208.
 28. Fishburn J, Tang Y, JF Frank. Efficacy of various consumer-friendly produce washing technologies in reducing pathogens on fresh produce. *Food Prot Trend* 2012; 32: 456-466.
 29. Kilonzo-Nthenge A, Liu S. Antimicrobial efficacy of household sanitizers against artificially inoculated *Salmonella* on ready-to-eat spinach (*Spinacia oleracea*). *J Verbrauch Lebensm* 2019; 14: 105-112.
 30. Ukuku DO, Sapers GM. Effect of sanitizer treatments on *Salmonella Stanley* attached to the surface of cantaloupe and cell transfer to fresh-cut tissues during cutting practices. *J Food Prot* 2001; 64: 1286-1291.
 31. Nei D, Choi JW, Bari ML, et al. Efficacy of chlorine and acidified sodium chlorite on microbial population and quality changes of spinach leaves. *Foodborne Pathog Dis.* 2009; 6: 541-546.
 32. Chhetri VS, Janes ME, King JM, Doerrler W, Adhikari A. Effect of residual chlorine and organic acids on survival and attachment of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on spinach leaves during storage. *LWT* 2019; 105: 298-305.
 33. Neal JA, Marquez-Gonzalez M, Cabrera-Diaz E, et al. Comparison of multiple chemical sanitizers for reducing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. *Food Res Int* 2012; 45: 1123-1128.
 34. Lin CM, Moon SS, Doyle MP, McWatters KH. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. *J Food Prot.* 2002; 65: 1215-1220.
 35. Ganesh V, Hettiarachchy NS, Ravichandran M, et al. Electrostatic sprays of food-grade acids and plant extracts are more effective than conventional sprays in decontaminating *Salmonella typhimurium* on spinach. *J Food Sci* 2010; 75: M574-579.
 36. Chinchkar AV, Singh A, Singh SV, Acharya AM, Kamble MG. Potential sanitizers and disinfectants for fresh fruits and vegetables: A comprehensive review. *J Food Process Preserv* 2022; 46: e16495.
 37. Ruiz-Cruz S, Acedo-Félix E, Díaz-Cinco M, Islas-Osuna MA, González-Aguilar GA. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. *Food Control* 2007; 18: 1383-1390.
 38. Cosentino S, Tuberoso CIG, Pisano B, et al. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol* 1999; 29:130-135.
 39. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol,

- estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol* 2004; 21: 33-42.
40. Gündüz GT, Gönül SA, Karapınar M. Efficacy of sumac and oregano in the inactivation of *Salmonella Typhimurium* on tomatoes. *Int J Food Microbiol* 2010; 141(1-2): 39-44.
 41. Tornuk F, Cankurt H, Ozturk I, et al. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh cut carrots and apples. *Int J Food Microbiol* 2011; 148: 30-35.
 42. Rodgers SL, Cash JN, Siddiq M, Ryser ET. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. *J Food Prot* 2004; 67: 721-731.
 43. Yossa N, Patel J, Millner P, Lo YM. Essential oils reduce *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on spinach leaves. *J Food Prot* 2012; 75: 488-496.
 44. Gil MI, Selma MV, López-Gálvez F, Allende A. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *Int J Food Microbiol* 2009; 134: 37-45.
 45. Tirpanalan Ö, Žunabović M, Domig K, Kneifel, W. Mini review: Antimicrobial strategies in the production of fresh-cut lettuce products. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances* 2011; 1: 176-188.
 46. Allende A, Selma MV, López-Gálvez F, Villaescusa R, Gil MI. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biol Technol* 2008; 49: 155-163.
 47. Palumbo MS, Gorny JR, Gombas DE, et al. Recommendations for Handling Fresh-cut Leafy Green Salads by Consumers and Retail Foodservice Operators. *Food Prot Trends* 2007; 27: 892-898.
 48. Federal Register. "Current Good Manufacturing Practice and Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Controls for Human Food; Correction. 20 March 2013 Federal Register, The Daily Journal of the United States Government". <https://www.federalregister.gov/documents/2013/03/20/2013-06356/current-good-manufacturing-practice-and-hazard-analysis-and-risk-based-preventive-controls-for-human> / 25.12.2023.