

**Buzdolabı Sıcaklığında Saklanan *Listeria monocytogenes*
İnoküle Edilmiş Etlere Gıda Kalitelendirici Organik
Asitlerin Etkisi**

**Effects of Food Grade Organic Acids on Inoculated
Listeria Monocytogenes in Meat Stored at Refrigeration
Temperature**

Neslihan GÜNDOĞAN¹, Sumru ÇITAK, Elif YILDIZ

¹Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, e-mail:gundogan@gazi.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada tavuk göğüs eti, tavuk ciğeri, dana kuşbaşı ve dana kıyma örnekleri sıcak suyla dekontamine edilmiş ve Listeria monocytogenes inokülasyonu yapılmıştır. Örneklere spreyleme ve daldırma yoluyla % 2 laktik asit ve % 1,5 asetik asit + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonları uygulanmış, asit muamelesinin etlerdeki L. monocytogenes sayısı üzerine etkisi saptanmıştır. İnoküle edilen L. monocytogenes' in asit kombinasyonuna tek başına asit uygulamasından daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Tavuk göğüs eti, tavuk ciğeri ve dana etinin asitlerle spreyleneceği etlere inoküle edilen L. monocytogenes sayısında sırasıyla 2,73-2,93 log kob/g, 1,83-2,58 log kob/g, 3,80-3,73 log kob/g azalmaya yol açmıştır. Yine aynı örneklerin ve dana kıymasının asitlere daldırılması ile etlerdeki L. monocytogenes sayısında sırasıyla 2,54-2,78 log kob/g, 1,26-2,03 log kob/g, 3,92-3,91 log kob/g, 3,81-3,81 log kob/g azalma meydana gelmiştir. Asit muamelesi görmüş etlerin raf ömrü 4 ile 7 gün uzamıştır. Etlere spreyleneceği veya daldırılarak tek asit veya asit kombinasyonu uygulanmasının etlerin mikrobiyal kalitesini artırmada ve etlerin raf ömrünü uzatmada kullanışlı ve etkili bir yöntem olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Asetik asit, laktik asit, propiyonik asit, et, *Listeria monocytogenes*

ABSTRACT

In this research, chicken breast meat, chicken liver, calf chunks and calf minced meat samples were decontaminated with hot water treatment and inoculated with Listeria monocytogenes.

Samples were spray washed and dipped with 2 % lactic acid and 1,5 % acetic acid + 1,5 % propionic acid combinations. Inoculated *L. monocytogenes* was found to be highly sensitive to acid combination treatment as compared to lactic acid alone. *L. monocytogenes* count of the spray washed chicken breast meat, chicken liver and beef samples was reduced by about 2,73-2,93 log cfu/g, 1,83-2,58 log cfu/g, 3,80-3,73 log cfu/g, respectively. *L. monocytogenes* count of the dipped chicken breast meat, chicken liver, calf chunks and calf minced meat samples was reduced by 2,54-2,78 log cfu/g, 1,26-2,03 log cfu/g, 3,92-3,91 log cfu/g, 3,81-3,81 log cfu/g respectively. Shelf-life of acid and acid combinations treated samples was increased 4 and 7 days. Meat spray washing or dipping with acid alone or acid combination were found to be suitable for extension of shelf- life and improvement in the sensory and microbiological quality of meat.

Keywords: Acetic acid, lactic acid, propionic acid, meat, *Listeria monocytogenes*

SUMMARY

Listeria species are ubiquitous bacteria widely distributed in the natural environment. The ubiquitous character of the bacteria inevitably results in contamination of numerous food products. *Listeria monocytogenes* is a concern to the meat industry because the organism can grow at refrigerated temperatures, over a wide pH range, at low water activity, at high salt concentrations, persist for long periods of time in food processing environment. These characteristics make this species difficult to control in food. In recent years, to increase food safety, new approaches such as using organic acids to control pathogenic microorganisms have been developed. The US Department of Agriculture (USDA), Food Safety and Inspection Service (FSIS) have approved the use of some organic acids and of hot water as antimicrobial treatments for meat products. Lactic acid, propionic acid and acetic acid have low toxicity to humans and they are listed in GRAS (generally recognised as safe) in the multiple purpose food substances catalogue. The effect of organic acids may depend on two factors: (1) the effect of pH, (2) the degree of dissociation of the acid. In addition, it is known that the antibacterial effect of organic acids varies depending on the concentration of the acid, temperature of solution, method and time of application. Studies have shown increased antilisterial efficacy when organic acid salts are used in combinations.

GİRİŞ

Et ve et ürünlerinin mikrobiyal olarak bozulması mevcut bakteri türlerine ve toplam bakteri sayısına bağlıdır. Mikroorganizmalar ette çoğalıp metabolizma ürünleri bırakarak kokuşma, asitleşme, acılaşıma, gaz oluşumu ve değişik renk alma gibi fizikokimyasal bozulmalara neden olmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998). Bu konuda çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda çeşitli et ve et ürünlerinin patojen mikroorganizmalar ve bunların içinde *Listeria monocytogenes* ile kontamine olabildiği ve bu etlerin önemli bir halk sağlığı tehlikesi oluşturabileceği bildirilmektedir (Selby ve diğ., 1996).

L. monocytogenes listeriozis adı verilen enfeksiyonun etkenidir. Listeriozis başta insanlar olmak üzere 47 'den fazla memeli hayvan türlerinde görülen zoonoz bir hastalıktır. *L. monocytogenes* ilk kez 1926 yılında izole edilmesine karşın günümüzde de önemini koruyan gıda kaynaklı patojen bir bakteridir. Toprakta, sularında, yeşil bitki ve sebzelerde, hayvan yemlerinde, yem maddelerinde, her türlü atık ve lağım sularında, mezbaha sularında, et ve et ürünlerinde, süt ve süt ürünlerinde, dondurulmuş veya paketlenmiş tavuk etinde ve çeşitli ürünlerde bulunmaktadır. Son yıllarda insanlarda görülen Listeriozis olgularının büyük bir kısmının hayvansal orijinli gıdalardan kaynaklandığının anlaşılması sonucu araştırmaların bu yönde artırılması gereğini gündeme getirmiştir. Türkiye'de de hayvansal ürünlerin üretimi, işleme, taşıma ve pazarlaması aşamalarındaki sanitasyon koşulları dikkate alındığında, yapılan işlemlerin yeterli olmadığı görülmektedir. Özellikle et ürünlerinin hazırlanmaları sırasında kullanılan satır, bıçak ve tezgahların hijyenik durumu ile etin çekilmesi, karıştırılması sırasında makine ve eller ile patojen mikroorganizmaların bulaşma tehlikesi vardır (Hernando ve diğ., 2009). Bunlara ilaveten, et ürünlerinin *L. monocytogenes* ile kontaminasyonunda, buzdolabı koşullarında canlı kalabilmesi, (kurutma gibi bazı teknolojik işlemlerle gelişiminin baskılanmasına rağmen), ve bu ürünlerin üretimi, işleme, paketlenme, taşıma, muhafaza ve servis aşamalarında işletme ve personel hijyenine özen gösterilmemesi, organizmanın halk sağlığı açısından taşıdığı riski daha da artırmaktadır (Hernando ve diğ., 2009). Günümüzde karkasların dekontaminasyonu

için büyük çoğunlukla organik asitler kullanılmaktadır. Organik asitlerin doğal olması, spesifik etkilerinin yüksek oluşu ve zararsız olmaları, onların dekontaminant olarak kullanılmalarının en önemli nedenleri olarak bilinmektedir. Organik asitlerin mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal eylemleri, pH 'nın düşmesine, asitlerin ayrışmasının derecesine ve spesifik asit moleküllerine ilişkin etkilere bağlanmaktadır (Özdemir ve diğ., 2006). Bazı organik asitlerin şişme yaparak, son ürün karkası ağartarak veya koyulaştırarak görünümü değiştirdikleri bildirilmiştir (Izat ve diğ., 1990; Werbrouck ve diğ., 2009). Bununla birlikte düşük toksisite, tat ve çözünürlükten dolayı gıda maddelerinde dekontaminant olarak en yaygın kısa zincirli organik asitler kullanılmaktadır (Werbrouck ve diğ., 2009).

Sahip oldukları fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle çeşitli gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan ve o gıdalara olumlu özellikler kazandıran asetik, sitrik, laktik, propiyonik, askorbik ve sorbik asit gibi organik asitler, gıdalarda antimikrobiyal olarak da geniş çapta kullanılmaktadır. Et ürünlerinin korunmasında etkili kimyasal yöntemlerin geliştirilmesi günümüzde büyük önem taşımaktadır. Laktik ve asetik asit gibi organik asitlerin bakterisidal aktiviteye sahip oldukları ve genellikle güvenilir olarak bilindikleri (GRAS) için karkas yüzeyindeki mikrobiyal yükü azaltmadaki etkinlikleri araştırılmış, bu özellikleri nedeniyle sığır, koyun ve kanatlı karkaslarında kullanılmışlardır (Özdemir ve diğ., 2006; Gonçalves ve diğ., 2005).

Bu çalışmada; spreyleme ve daldırma yöntemiyle uygulanan laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit kombinasyonunun tavuk göğüs eti, tavuk ciğeri, dana kıyma ve dana etine inoküle edilen *Listeria monocytogenes* inhibisyonu üzerindeki etkisi saptanmaya çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada Ankara' da bulunan değişik marketlerden temin edilmiş etler çalışılmıştır. Her et çeşidinden 5' şer tane olmak üzere toplam 20 et çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan et çeşitleri; tavuk göğüs eti, dana kuşbaşı, dana kıyma ve tavuk ciğeridir. Temin edilen bu etler aynı gün laboratuvara getirilerek hemen çalışılmıştır. Gıdalarda

koruyucu olarak kullanılan organik asitlerden laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit kombinasyonunun *L. monocytogenes* üzerine inhibisyon etkisini gözlemlemek amacıyla her bir et örneğine *L. monocytogenes* suşu inoküle edilmiştir (Refik Saydam Hıfzısıha Enstitüsü Kültür Koleksiyonu Suş No: Almanya 474). Her bir et örneği 50' şer gramlık 7 parça halinde çalışılmıştır. 7 parça etten bir tanesi et kontrolü olarak saklanmıştır. Diğer et parçaları 90 °C sıcak su ile dekontamine edilmiştir. Dekontamine edilen etlerden biri sıcak su kontrolü olarak saklanmıştır. Dekontaminasyon işleminden sonra etlere *L. monocytogenes* inokülasyonu yapılmıştır. İnokülasyon yapılan etlerden biri inokülasyon kontrolü olarak saklanırken geri kalan 4 etten 2' si spreyleme geri kalan 2' si daldırma yöntemiyle asit uygulamasına tabi tutulmuştur. Dana kıyma örneği spreyleme ile asit uygulanması işlemine uygun olmadığından sadece daldırma ile asit uygulanması işlemi yapılmıştır.

Etlerin Sıcak Su İle Dekontaminasyonu

Etlerden biri ilk et kontrolü olarak saklanırken diğerleri 90 °C sıcak su ile dekontamine edilmiştir. Etler sıcak suya 2 dakika daldırılarak dekontamine edilmiştir (Gonçalves ve diğ.,2005). Dekontaminasyon sonrası etlerden biri sıcak su kontrolü olarak saklanmıştır.

Listeria monocytogenes' in Etlere İnokülasyonu

İnoküle edilecek *L. monocytogenes* suşu Refik Saydam Hıfzısıha Kültür Koleksiyonu' ndan temin edilmiştir (Almanya 474 (3a) 1986). Suş Brain Heart Infusion sıvı besiyerinde aktif hale getirilmiştir. İnokülasyon işlemi için *L. monocytogenes* konsantrasyonu 10⁸ adet/ml bakteriye eş 0,5 Mc Farland' a ayarlanmıştır. İnokülasyon işlemi, 0,5 Mc Farland' a ayarlanmış bakteri süspansiyonundan 1 ml alınarak et üzerine akıtılıp steril eküvyon çubukları ile bakteri tüm et yüzeyine yayılarak yapılmıştır (Dubal ve diğ., 2004). İnokülasyon yapılan etlerden biri inokülasyon kontrolü olarak saklanmıştır.

Gıda Kalitelendirici Asitlerin Hazırlanması

Çalışmada gıda kalitelendirici organik asitlerden laktik asit, asetik asit ve propionik asit kullanılmıştır. % 90' lık olarak temin edilen laktik asit çalışmada kullanılmak için steril

distile su kullanılarak % 2'lik konsantrasyonda hazırlanmıştır. % 100' lük konsantrasyonda temin edilen asetik asit ve propionik asit ise çalışma için steril distile su kullanılarak % 1,5' luk konsantrasyonda hazırlanmıştır. Spreyleme ile asit uygulanması işleminde etlerden birine 4 dakika % 2' lik laktik asit, diğeri ise 4 dakika % 1,5 asetik + % 1,5 propionik asit kombinasyonu spreyleneştir (Dubal ve ark., 2004). Daldırma ile asit uygulanmasında ise etlerden biri 2 dakika % 2' lik laktik aside daldırılırken diğeri ise 2 dakika % 1,5 asetik + % 1,5 propionik asit kombinasyonuna daldırılmıştır. Daha sonra etler 20 dk oda sıcaklığında kurutulduktan sonra steril kaplara konulup sıcaklığı sabitlenmiş (4 °C) buzdolabına kaldırılmıştır. Kontrol olarak ayrılmış etlerde steril kaplar içinde buzdolabına kaldırılmıştır. Dana kıyma örneği spreyleme ile asit uygulanması işlemine uygun olmadığından sadece daldırma ile asit uygulanması işlemi yapılmıştır.

Etlerden Günlük L. monocytogenes Analizi ve Sayımı

Etlerin günlük analizleri yapılmıştır. Her gün 5 g et steril koşullarda tartılıp blender ile parçalanarak 45 ml peptonlu su içinde homojenize edilmiştir. Daha sonra bu süspansiyondan 1 ml alınarak 9 ml peptonlu su içeren tüpe aktarılmıştır. Bu tüpten 0,1 ml alınarak Listeria Selective Agar Base (OXOID CM856) plaklarına yayma yöntemiyle ekilmiştir. Ekim yapılmış plaklar 30 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda spesifik koloniler sayılmış ve bu koloniler biyokimyasal testler ve şeker fermentasyon testleri kullanılarak kontrol edilmiştir. Bu işlem 10 gün tekrarlanmıştır. 10⁻² lik dilüsyondan sayılan kolonilerin 5gr etteki sayısı hesaplanmış ve koloni sayısı logaritmaya çevrilmiştir. Tavuk ciğeri analizi etler koktuğu için 7. günde bırakılmıştır.

İstatiksel analizler

Her 5 denemeden elde edilen *L. monocytogenes* sayıları logaritmik değerlere çevrilmiş ve ortalama log adet/gr değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler "Student t" testi kullanılarak istatiksel olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

4 farklı et çeşidine inoküle edilmiş *Listeria monocytogenes* suşu üzerine organik asit çözeltilerinin etkisini belirlemek amacıyla 10 gün süresince etlerin analizleri yapılmış, bu süreçte *L. monocytogenes* sayıları belirlenirken diğer taraftan etin bazı duyuşsal özellikleri de takip edilmiştir.

Organik Asitlerin Listeria monocytogenes Üzerine Etkisi

Organik asit çözeltilerine daldırılmış ve organik asit çözeltileriyle spreyleneş dana kuşbaşı etlerinin +4 °C' de depolanması sırasındaki *L. monocytogenes* sayıları Tablo 1'de görölmektedir. % 2 laktik asit çözeltisi ve % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltisine daldırma ve aynı çözeltiler ile spreyleme işleminin inokülasyon kontrolü ile kıyaslandığında *L. monocytogenes* sayılarının azalması üzerinde önemli etkisi olduğu bulunmuştur. Organik asit çözeltilerinin spreyleneşerek uygulanmasının ise daldırma yöntemi ile uygulamasından daha etkili olduğu gözlenmiştir.

1 gün sonra yapılan dana eti analiz sonucuna göre inokülasyon kontrolündeki canlı *L. monocytogenes* sayısı 4,16 log kob/g bulunurken % 2 laktik asit çözeltisiyle spreylemenin bu sayıyı 1,26 log kob/g'a aynı asite daldırma işleminin ise bu sayıyı 2,09 log kob/g'a düşürdüğu gözlenmiştir. 3. gün ise % 2 laktik asit spreyleme ve aynı konsantrasyondaki laktik asite daldırma işleminin bakteriyi tamamen elimine ettiği gözlenmiştir. % 2 laktik asitle spreyleme işleminin bakteri sayısını % 92,23 azaltırken, % 2 laktik asite daldırma işleminin bakteri sayısını % 90,53 azaltmıştır.

1 gün sonra yapılan dana eti analiz sonucuna göre inokülasyon kontrolündeki canlı *L. monocytogenes* sayısı 4,16 log kob/g bulunurken % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreylemenin bu sayıyı 1,89 log kob/g' a , aynı asite daldırma işleminin ise bu sayıyı 2,15 log kob/gr' a düşürdüğu gözlenmiştir. 2. gün ise % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreyleme ve aynı asite daldırma işleminin bakteriyi tamamen elimine ettiği gözlenmiştir. % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreyleme bakteri sayısını % 95,63 azaltırken, % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırma bakteri sayısını % 94,90

azaltmıştır. 5 paralel çalışılan dana eti analiz sonuçlarına göre depolama sürecinin son günlerinde inokülasyon kontrolünde canlı *L. monocytogenes* sayısında artış gözlenirken organik asit uygulamaları ile inokülasyon kontrolüne göre canlı bakteri sayısının neredeyse tamamen azaldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda analizler sonucunda % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltisinin canlı bakteri sayısı üzerine daha etkili olduğu bulunmuştur. Aynı çözeltiyle spreyleme işlemi daldırma işleminden daha etkili bulunmuştur. Organik asitleri uygulama yöntemleri kıyaslandığında ise spreyleme işlemi daha etkili bulunmuştur.

Tablo 1. İnokülasyon yapılmış, asit muamelesi görmüş dana kuşbaşı örneklerinde *Listeria monocytogenes* sayısının günlere göre ortalama logaritmik değişimi (log₁₀ kob/ g).

Örnekler	1- Et kontrol	2- Sıcak su kontrol	3- İnokülasyon kontrol	4- 2 % laktik asit spreyleme	5- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik asit spreyleme	6- 2 % laktik aside daldırma	7- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik aside daldırma
Günler							
1. gün	-*	-	4,16±0,02	1,26±0,52	1,89±0,52	2,09±0,51	2,15±0,54
2. gün	-	-	4,23±0,02	1,99±0,52		1,89±0,51	-
3. gün	-	-	4,19±0,02	-	-	-	-
4. gün	-	-	4,16±0,02	-	-	-	-
5. gün	-	-	4,12±0,02	-	-	-	-
6. gün	-	-	4,16±0,02	-	-	-	-
7. gün	-	-	4,15±0,02	-	-	-	-
8. gün	-	-	4,16±0,02	-	-	-	-
9. gün	-	-	3,92±0,02	-	-	-	-
10. gün	-	-	4,03±0,02	-	-	-	-
İnokülasyon kontrolüne kıyasla ortalama <i>L. monocytogenes</i> azalması (%)				% 92,23	% 95,63	% 90,53	% 94,90

(*) Bakteri üremesi gözlenmemiştir.

Organik asit çözeltileriyle spreyleneş ve organik asit çözeltilerine daldırılmış tavuk göğüş etinin +4 °C 'de depolanması sırasında toplam canlı *L. monocytogenes* sayıları Tablo 2' de görölmektedir. 1. gün yapılan analiz sonuçlarına göre; inokülasyon kontrolündeki *L. monocytogenes* sayısı 4,53 log kob/g bulunurken % 2 laktik asit çözeltisiyle spreyleme bu sayıyı 2,01 log kob/g' a aynı asit çözeltisine daldırma ise bu sayıyı 2,82 log kob/g'a düşürmüştür. 10. gün inokülasyon kontrolünde bakteri sayısı 5,32 log kob/g bulunurken, % 2 laktik asit spreyleme işleminin görmüş tavuk göğüş etinde 1,95 log kob/gr ve aynı konsantrasyondaki laktik asite daldırma işleminin uygulanmış tavuk göğüş etinde 2,61 log kob/g bulunmuştur. % 2 laktik asitle spreyleme işleminin bakteri sayısını % 54,05 azaltırken, % 2 laktik asite daldırma işleminin bakteri sayısını % 50,29 azaltmıştır.

1 gün sonra yapılan dana eti analiz sonucuna göre inokülasyon kontrolündeki canlı *L. monocytogenes* sayısı 4,53 log kob/g bulunurken % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreylemenin bu sayıyı 1,93 log kob/g' a , aynı asite daldırma işleminin ise bu sayıyı 2,75 log kob/g' a düşürdüğü gözlenmiştir. 8. gün ise % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreyleme işleminin bakteriyi tamamen elimine ettiğı gözlenmiştir. 10. gün inokülasyon kontrolündeki bakteri sayısı 5,32 bulunurken % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırma işleminin görmüş tavuk göğüş etinde bakteri sayısı 2,84 bulunmuştur. % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreyleme bakteri sayısını % 77,82 azaltırken, % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırma bakteri sayısını % 55,04 azaltmıştır.

5 paralel çalışılan tavuk göğüş eti analizlerine baktığımızda organik asit çözeltilerinin uygulanma yöntemlerinden spreyleme işleminin daldırma işlemine göre önemli ölçüde daha etkili olduğı bulunmuştur. Organik asit çözeltilerinden % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu % 2 laktik asit çözeltisine göre daha etkili bulunmuştur.

Tablo 2. İnokülasyon yapılmış, asit muamelesi görmüş tavuk göğüs eti örneklerinde *Listeria monocytogenes* sayısının günlere göre ortalama logaritmik değişimi (log 10 kob/ g).

Örnekler	1- Et kontrol	2- Sıcak su kontrol	3- İnokülasyon kontrol	4- 2 % laktik asit spreyleme	5- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik asit spreyleme	6- 2 % laktik aside daldırma	7- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik aside daldırma
Günler							
1. gün	-	-	4,53±0,08	2,01±0,04	1,93	2,82	2,75
2. gün	-	-	4,69±0,08	1,32±0,04	1,95±0,31	2,05±0,03	2,74±0,04
3. gün	-	-	4,85±0,08	1,89±0,04	1,80±0,31	2,80±0,03	2,74±0,04
4. gün	-	-	5,04±0,08	1,32±0,04	1,20±0,31	2,07±0,03	2,58±0,04
5. gün	-	-	5,10±0,08	2,07±0,04	1,95±0,31	2,61±0,03	2,06±0,04
6. gün	-	-	5,19±0,08	1,92±0,04	1,26±0,31	2,77±0,03	1,99±0,04
7. gün	-	-	5,26±0,08	2,63±0,04	1,20±0,31	2,80±0,03	1,92±0,04
8. gün	-	-	5,35±0,08	2,09±0,04	-	2,05±0,03	2,05±0,04
9. gün	-	-	5,23±0,08	2,86±0,04	-	2,58±0,03	1,99±0,04
10. gün	-	-	5,32±0,08	1,95±0,04	-	2,61±0,03	1,89±0,04
İnokülasyon kontrolüne kıyasla ortalama <i>L. monocytogenes</i> azalması (%)				% 54,05	% 77,82	% 50,29	% 55,04

(*) Bakteri üremesi gözlenmemiştir.

Organik asit çözeltilerine daldırılmış dana kıymasının +4 °C' de depolanması sırasında toplam canlı *L. monocytogenes* sayıları Tablo 3' de görülmektedir. 1. gün yapılan analiz sonuçlarına göre; inokülasyon kontrolünde 3,81 log kob/gr bakteri bulunurken % 2 laktik asit çözeltilisine daldırma uygulamasından sonra bakterilerin tamamen elimine olduğu gözlenmiştir. % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltilisine daldırılmış dana kıyma örneğinde de 1. gün tüm bakterilerin elimine olduğu gözlenmiştir. % 2 laktik aside daldırma ve % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırma bakteri sayısını % 100 azaltmıştır. 5 tekrarlı çalışılan dana kıyma analizlerine

baktığımızda organik asit çözeltilerinden her ikisinin de *L. monocytogenes* inhibisyonunda etkili olduğu bulunmuştur.

Tablo 3. İnokülasyon yapılmış, asit muamelesi görmüş dana kıyma örneklerinde *Listeria monocytogenes* sayısının günlere göre ortalama logaritmik değişimi (\log_{10} kob/ g)

Örnekler Günler	1- Et kontrol	2- Sıcak su kontrol	3- İnokülasyon kontrol	4- 2 % laktik aside daldırma	5- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik aside daldırma
1. gün	-	-	3,81±0,05	-	-
2. gün	-	-	3,68±0,05	-	-
3. gün	-	-	3,89±0,05	-	-
4. gün	-	-	3,74±0,05	-	-
5. gün	-	-	3,87±0,05	-	-
6. gün	-	-	3,92±0,05	-	-
7. gün	-	-	4,15±0,05	-	-
8. gün	-	-	4,14±0,05	-	-
9. gün	-	-	4,06±0,05	-	-
10. gün	-	-	4,00±0,05	-	-
İnokülasyon kontrolüne kıyasla ortalama <i>L. monocytogenes</i> azalması(%)				% 100	% 100

(*) Bakteri üremesi gözlenmemiştir.

Organik asit çözeltileriyle spreylenecek ve organik asit çözeltilerine daldırılmış tavuk ciğerinin +4 °C' de depolanması sırasında toplam canlı *L. monocytogenes* sayıları Tablo 4' de görülmektedir. 1. gün yapılan analiz sonuçlarına göre; inokülasyon kontrolündeki *L. monocytogenes* sayısı 4,36 log kob/g bulunurken % 2 laktik asit çözeltisiyle spreyleme bu sayıyı 2,11 log kob/g' a aynı asit çözeltisine daldırma ise bu sayıyı 3,13 log kob/g' a düşürmüştür. 10. gün inokülasyon kontrolünde bakteri sayısı 4,90 log kob/g

bulunurken, % 2 laktik asit spreyleme işlemi görmüş tavuk ciğerinde 3,30 log kob/g ve aynı konsantrasyondaki laktik asite daldırma işlemi uygulanmış tavuk ciğerinde 3,78 log kob/g bulunmuştur. % 2 laktik asitle spreyleme işlemi bakteri sayısını % 38,93 azaltırken, % 2 laktik asite daldırma işlemi bakteri sayısını % 26,80 azaltmıştır.

1 gün sonra yapılan dana eti analiz sonucuna göre inokülasyon kontrolündeki canlı *L. monocytogenes* sayısı 4,36 log kob/g bulunurken % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreylemenin bu sayıyı 3,36 log kob/g'a , aynı asite daldırma işleminin ise bu sayıyı 3,61 log kob/g' a düşürdüğü gözlenmiştir. 4. gün ise % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreyleme işleminin bakteriyi tamamen elimine ettiği gözlenmiştir. 10. gün inokülasyon kontrolündeki bakteri sayısı 4,90 bulunurken % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırma işlemi görmüş tavuk göğüs etinde bakteri sayısı 1,95 bulunmuştur. % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreyleme bakteri sayısını % 76,17 azaltırken, % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırma bakteri sayısını % 43,19 azaltmıştır.

5 paralel çalışılan tavuk ciğeri analizlerine baktığımızda organik asit çözeltilerinin uygulanma yöntemlerinden spreyleme işleminin daldırma işlemine göre önemli ölçüde daha etkili olduğu bulunmuştur. Organik asit çözeltilerinden % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltisi % 2 laktik asit çözeltisine göre daha etkili bulunmuştur.

Tablo 4. İnokülasyon yapılmış, asit muamelesi görmüş tavuk ciğeri örneklerinde *Listeria monocytogenes* sayısının günlere göre ortalama logaritmik değişimi (log₁₀ kob/ g).

	1- Et kontrol	2- Sıcak su kontrol	3- İnokülasyon kontrol	4- 2 % laktik asit spreyleme	5- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik asit spreyleme	6- 2 % laktik aside daldırma	7- 1,5 % asetik + 1,5 % propiyonik aside daldırma
Örnekler							
Günler							
1. gün	-	-	4,36	2,11	3,36	3,13	3,61
2. gün	-	-	4,55	2,67	3,20	2,93	3,51
3. gün	-	-	4,46	3,00	1,32	3,49	2,80
4. gün	-	-	4,89	3,00	-	3,54	2,17
5. gün	-	-	4,96	3,00	-	3,51	2,63
6. gün	-	-	4,81	3,06	-	3,75	2,05
7. gün	-	-	4,90	3,30	-	3,78	1,95
İnokülasyon kontrolüne kıyasla ortalama <i>L. monocytogenes</i> azalması (%)				% 38,93	% 76,17	% 26,80	% 43,19

(*) Bakteri üremesi gözlenmemiştir.

Tüm et çeşitlerine genel olarak bakıldığında +4 °C' de depolama süresince organik asit uygulamalarının önemli patojenlerden biri olan *L. monocytogenes* canlı hücre sayısını azalttığı bulunmuştur. Çalışmada % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltisi uygulamasının % 2 laktik asit çözeltisi uygulamasına göre daha başarılı olduğu bulunmuştur. Organik asit çözeltilerinin uygulanmasına bakıldığında ise spreyleme işleminin daldırma işleminden daha etkili bir uygulama metodu olduğu bulunmuştur.

İstatiksel Sonuç

SPSS programında student t testiyle yapılan istatistiksel analiz sonucunda organik asitlerin etlere inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısında anlamlı bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur (p<0,05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmalar etin kesimi ve işlenmesi sırasında ete, insan sağlığına etki eden, önemli proteinlerin büyük bölümünün kaybına yol açan, hızlı bozulmaya yol açan, farklı patojenik ve bozulma etmeni mikroorganizmaların bulaşabileceğini göstermektedir. Bu nedenle etin ilk mikrobiyal yükünün azaltılması, etin raf ömrünün uzatılmasında çok önemlidir. Hayvanın karkas yüzeyindeki bakteri miktarını azaltmak için gıda kalitelendirici asitler ve tuzlar, klorlu su, sıcak suyla, soğuk suyla yıkama gibi birçok uygulama tek başına veya kombinasyonlar halinde kullanılmaktadır (Dubal ve diğ., 2004).

Araştırmamızda organik asitlerin bu önemlerinden dolayı % 2 laktik asit ve % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltileriyle spreyleneş ve bu çözeltilere daldırılmış etlerdeki *L. monocytogenes* sayıları tespit edilmiştir. Çalışmamızda % 2 laktik asit ve % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltileriyle spreyleneş dana etindeki canlı *L. monocytogenes* sayısında sırasıyla 3,80 ve 3,73 log kob/g bir azalma bulunmuştur. Aynı şekilde bu asitlere daldırma yoluyla da yine sırasıyla 3,92 ve 3,91 log kob/g azalma bulunmuştur. Diğer etlerde yani tavuk ciğeri, tavuk göğüs etinde ise % 2 laktik asit ve % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltileriyle spreyleneş sırasıyla; 1,83 ve 3,58; 2,73 ve 3,93; log cfu/g azalmaya neden olmuştur. Bu asitlerle spreyleneş dana kıyma örneğinde ise bakteri tamamen yok edilmiştir. Tavuk göğüs eti ve tavuk ciğerinin % 2 laktik asit ve % 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit çözeltilerine daldırılması ise sarasıyla; 2,54 ve 2,78; 1,26 ve 2,03 log kob/ g azalmayla sonuçlanmıştır.

Muamelesiz dana kıyma ve dana eti 3. gün bozulurken, asitlerle muamele edilen dana kıyma ve dana eti çalışmanın 10. günü bile bozulmamıştır. Muamelesiz tavuk göğüs eti 4. gün bozulurken, asitlerle muamele edilmiş tavuk göğüs eti 10. gün de bozulmamıştır. Muamelesiz tavuk ciğeri 3. gün bozulurken asitlerle muamele edilen etler 7. gün bozulmuştur. Tavuk ciğeri buzdolabı sıcaklığında depolamaya daha elverişsiz bulunmuştur. Çalışmamızda asit muamelesi yapılan etlerin raf ömrünün 5 ile 7 gün arttığı bulunmuştur. Buzdolabında muhafaza edilen etlerin raf ömrüne organik asitlerin

etkisini, asitlerin spreyleme ve daldırma gibi farklı yöntemlerle uygulanmasının değiştirmedığı gözlenmiştir.

İşlem görmemiş örneklerle oranla laktik asit ve asetik asit, propiyonik asit kombinasyonu ile muamele edilmiş keçi/koyun etinin +4 °C' de raf ömrünün 5 ve 8 gün uzadığını bildirilmiştir (Dubal ve diğ., 2004). Diğer bir çalışma sonucuna göre laktik asitle ön muamele edilmiş ızgaralık karkasların raf ömrünün +4' de düşük sıcaklıkta 6-7 gün arttığını bildirilmiştir (Sawaya ve diğ., 1995).

% 2 'lik Laktik Asitle Spreylemenin Etkisi

Laktik asitle spreylemenin dana eti, tavuk göğüs eti ve tavuk ciğerinde sırasıyla buzdolabı sıcaklığında 10 günlük depolama süresinde inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısında 3,80; 2,73; 1,83 log kob/ g azalmaya neden olduğu bulunmuştur.

% 2 'lik Laktik Asite Daldırmanın Etkisi

Laktik aside daldırmanın dana eti, tavuk göğüs eti, dana kıyma ve tavuk ciğerinde buzdolabı sıcaklığında 10 günlük depolama süresinde inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısında sırasıyla 3,92; 2,54; 3,92; 1,26 log kob/ g azalmaya neden olduğu bulunmuştur.

Yapılan literatür araştırmalarında spreyleme ve daldırma yöntemlerinin bir arada kullanıldığı ve karşılaştırıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Her iki yöntemde çalıştığımız araştırma sonuçlarımıza göre etlerin organik asitlerle spreylemesinin azda olsa *L. monocytogenes* inhibisyonunda daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeninin basınçla püskürtmenin asidin et yüzeyine daha iyi nüfuz etmesini sağlaması olduğu düşünülmektedir.

Yapılan bir araştırmada sodyum laktat, sodyum asetat ve L- laktik asitin *L. monocytogenes* inoküle edilmiş tavuk göğüs etinin ilk popülasyonunda azalmaya neden olduğu bulunmuştur (Gonçalves ve diğ., 2005). Diğer bir çalışmada araştırmacılar ızgaralık karkasları çeşme suyu ve % 0,1; % 0,3 ve % 0,6' lık laktik asit solüsyonlarında 10 °C 'de 10 dakika ön soğutmaya tabi tutarak, muamele görmüş karkasları

mikrobiyolojik testlere tabi tutmuşlardır. Laktik asitle muamele edilen karkaslardaki ve soğutma sularındaki aerob mezofil toplam mikroorganizma ve *Enterobacteriaceae* sayılarının kontrollerle karşılaştırıldığı zaman önemli derecede düşük olduğunu tespit etmişlerdir (Bostan ve diğ., 1994). Yüzülmüş sığır başlarının et yüzeylerine % 1 laktik asit püskürtmenin, 4, 15 ve 20 °C 'de depolama sırasında yaşayan toplam bakteri sayısında önemli bir azalmayla sonuçlandığını ve sığır başlarının raf ömürlerinin 4 °C' de 3 gün uzadığını tespit edilmiştir (Hampikyan ve diğ., 2006). Başka bir araştırmada % 1 ve % 2 laktik asitle muamele edilen karkaslarının raf ömrünün uzadığı tespit edilmiştir (Sommers ve diğ., 2001).

% 1,5 Asetik + % 1,5 Propiyonik Asit Kombinasyonu ile Spreyleme

% 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonu ile spreylemenin dana eti, tavuk göğüs eti ve tavuk ciğerinde buzdolabı sıcaklığında 10 günlük depolama süresinde inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısında sırasıyla 3,73; 2,93; 2,58 log kob/g azalmaya neden olduğu bulunmuştur.

% 1,5 Asetik + % 1,5 Propiyonik Asit Kombinasyonuna Daldırma

% 1,5 asetik + % 1,5 propiyonik asit kombinasyonuna daldırmanın dana eti, tavuk göğüs etinde, dana kıyma ve tavuk ciğerinde buzdolabı sıcaklığında 10 günlük depolama süresinde inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısında sırasıyla 3,91; 2,78; 3,92; 2,03 log kob/g azalmaya neden olduğu bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda 10 saniye için formik asit ve asetik asit (1:1) ile muamele edilen etlerde *E. coli* sayısında önemli bir azalma tespit edilmediği halde, *S. faecalis*, *Pseudomonas*, *Yersinia* ve *Salmonella* için ortalama bakteri sayısında % 65' lik azalma olduğu bildirmiştir (Stopforth ve diğ., 2003). Çalışmamızda da *L. monocytogenes* inhibisyonunda asit kombinasyonunun, tek başına laktik asit uygulamasından daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak süt ve süt ürünleri listeriozisinin major kaynağı olmasına rağmen çiğ et ve ürünleri de *L. monocytogenes* ile kontamine olabilmektedir. Bu bakterinin endüstrisindeki öneminin giderek artması, kontamine olduğu gıdaların en büyük risk

grubunda tanımlanması nedeniyledir. Bu nedenle *L. monocytogenes*'in çeşitli et ürünlerinde inhibe edilmesine ya da sayılarının azaltılmasına yönelik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Bu çalışmalardan biri de güvenli organik asitlerin tek ya da kombinasyonları kullanılması ya da sıcak su dekontaminasyonudur. Araştırma sonuçlarımız çalışmamızda kullandığımız asit kombinasyonlarının kayda değer bir şekilde *L. monocytogenes* sayısında azalmaya yol açtığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Bostan, K., Özgen, Ö., Uğur, M., (1994). Asetik asit solüsyonlarına daldırmanın broiler karkasların mikrobiyolojik kalitesine etkisi. (1994). Yutav Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı Bildiriler Kitapçığı, 393-402.
- Dubal, Z.B., Paturkar, A.M., Waskar, V.S., Zende, R.J., Latha, C., Rawool, D.B., Kadam, M.M, (2004). Effects of food grade organic acids on inoculated *S. aureus*, *L.monocytogenes*, *E.coli* and *S.typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. *Meat Sci.*, 66, 817-821.
- Gonçalves, A.C., Almeida, R.C.C., Alves, M.A.O., Almeida, P.F. (2005). Quantitative investigation on the effects of chemical treatments in reducing *Listeria monocytogenes* populations on chicken breast meat. *Food Cont.* 16, 617-622.
- Hampikyan, H., Uğur, M., (2006). The effect of nisin on *L. monocytogenes* in Turkish fermented sausages (sucuks). *Meat Sci.*, 76, 327-332
- Hernando-Alonso, A., Callja-Alonso, C., Capita, R., (2009). Comparative analysis of acid resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* strains before and after exposure to poultry decontaminants. Role of the glutamate decarboxylase (GAD) system. *Food Microbiol.*, 26, 905-909
- Izat, A.L., Colberg, M., Thomas, R.A., Adams, M.H. and Driggers, C. D, (1990). Effects of lactic acid in processing water on the incidence of *Salmonella* on broilers. *J. Food Quality.*, 13, 295-306.
- Özdemir, H., Yıldırım, Y., Küplülü, Ö., Koluman, A., Göncüoğlu, M., İnat, G. (2006). Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on beef. *Food Cont.*, 17, 209-303

- Sawaya, W.N., Elnawawy, A.S., Al-Zendki, S., Al-Otaibi, J., Al-O, H., Al-Amiri, H, (1995). Storage stability of chickens as affected by MAP and lactic acid treatment”, J Food Sci., 60(3), 611-614.
- Selby, T. L., Berzins, A., Gerrard, D.E., Corvalan, C.M., Grant, A. L., Linton R.H., (2006). Microbial heat resistance of *Listeria monocytogenes* and the impact on ready-to-eat meat quality after post-package pasteurization. Met Sci., 74, 425-434
- Sommers, C. H., Fan, X., Handel, A.P., Sokorai, K.B, (2001). Effect of citric acid on the radiation resistance of *Listeria monocytogenes* and frankfurter quality factors. Meat Sci.,63, 407-415
- Stopforth, J.D., Samelis,J., Sofos, J.N., Kendall, P.A., Smith, G.C., (2003). Influence of organic acid concentration on survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 in beef carcass wash water and on model equipment surfaces. Food Microbiol., 20, 651-660
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F, (1998). Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir
- Werbrouck, H., Vermeulen, A., Coillie, E. V., Messens, W., Herman, L., Devlieghere, F., Uyttendaele, M., (2009). Influence of acid stress on survival, expression of virulence genes and invasion capacity into Coco-2 cells of *Listeria monocytogenes* strains of different origins. Int. J. Food Microbiol., 134, 140-146