

BAZI SEBZELERE İNOKULE EDİLEN *Salmonella typhimurium*'un LİMON SUYU ve SİRKE İLE İNAKTİVASYONU

INACTIVATION OF *Salmonella typhimurium* INOCULATED ON SOME VEGETABLES BY USING LEMON JUICE AND VINEGAR

İlkin Yücel ŞENGÜN, Mehmet KARAPINAR*

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

ÖZET: Bu çalışmada limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımlarının; roka, taze soğan ve havuç örneklerine inoküle edilen *Salmonella typhimurium* hücreleri üzerine göstermiş oldukları antimikrobiyal etki araştırılmıştır. Farklı sebzelerde yıkama sıvılarının oluşturdukları antimikrobiyal etki ve maksimum antimikrobiyal etkinin gözlemlendiği süreler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Analiz sonuçları, denemelerde kullanılan limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımlarının (1:1), sebzelere inoküle edilen *Salmonella* hücreleri üzerine antimikrobiyal etki gösterdiğini, bu etkinin kullanılan sebze tipine, inokulum dozuna ve antimikrobiyal test sıvısı içerisinde bekletme süresine bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Araştırma sonuçlarına göre roka ve havuç örneklerinde en etkili limon suyu-sirke karışımı iken taze soğan örneklerinde sirke en etkili bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Salmonella*, sebze, dezenfeksiyon, limon suyu, sirke.

ABSTRACT: In this study, lemon juice, vinegar and the mixture of lemon juice-vinegar (1:1) were tested for their effectiveness in reducing the counts of inoculated *Salmonella* cells on carrot, rocket and spring onion. The statistical analysis was carried out to demonstrate the most effective treatment and to show behavior of different antimicrobial agents on different vegetables. It has been shown that lemon juice, vinegar and the mixture of lemon juice-vinegar used in the experiment have an antimicrobial effect on *Salmonella* cells which was inoculated on vegetables. The antimicrobial effects of these products have changed depending on the type of vegetables, inoculum levels and the contact time with antimicrobial agents. On green onion samples vinegar has been found to be the most effective agent while the mixture of lemon juice-vinegar was the most effective agent for rocket and carrot samples.

Key words: *Salmonella*, vegetable, disinfection, lemon juice, vinegar.

GİRİŞ

Son yıllarda sağlıklı ve bilinçli beslenmeye daha çok önem verilmesi, dışarıda yeme alışkanlıklarının artması gibi birtakım nedenlerden dolayı taze sebze ve meyve tüketiminde meydana gelen artış, bu ürünlerden kaynaklanan gıda kaynaklı mikrobiyal hastalık vakalarının artmasına neden olmuştur (1,2,3,4). Çiğ sebzelerde, hayvansal gıdalara nazaran patojen mikroorganizmalara daha az sıklıkta rastlanmaktadır. Ancak sebzelerde kesme, doğrama, parçalama, sıkma gibi işlemler sonrası bu ürün grubu da patojen kontaminasyonuna ve üremesine daha duyarlı hale gelmektedir (5). Birçok virüs, bakteri ve protozoa, taze ürünlere bulaşarak gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklara neden olmaktadır. Meydana gelen vakaların %50 sinden fazlasında etiyolojik ajan bilinmemektedir. Ancak etiyolojisi tanımlanan birçok vakanın bakteri orijinli olduğu ve genellikle en çok karşılaşılan bakterinin de *Salmonella* türleri olduğu belirtilmiştir (3).

* E-posta: mehmetkarapinar@food.ege.edu.tr

Salmonella türleri, dışkı ve lağım suları gibi fekal materyallerde bulunmaktadır. Bu nedenle toprak ve ürünlerin bu materyallerle temas etmesi durumunda sebze ve meyvelere bulaşma gerçekleşmektedir (6). *Salmonella*'nın doğal rezervuarı hayvanlar olmasına karşın bazı serotipleri sebze ve meyvelere bulaşarak insanda enfeksiyona neden olabilmektedir. *Salmonella chester*, *Salmonella poona*, *Salmonella miami*, *Salmonella bareilly*, *Salmonella oranienburg* ve *Salmonella javiani* çiğ meyve ve sebze tüketimi sonucu oluşan vakalarda etmen olarak saptanan bazı *Salmonella* türleridir (7). Çiğ olarak tüketilen sebze ve meyveler, et ve tavuk gibi diğer gıda ürünlerine nazaran gıda kaynaklı hastalık vakalarında daha seyrek yer alırlar. Sebzelerin *Salmonella* ile bulaşma oranı İspanya'da %7,5 ve Hollanda'da %8-63 (Tamminga, Beumer ve Kampelmacher 1978) olarak verilmiştir. Ercolani (1976) tarafından yapılan bir tarama çalışmasında, İtalya'da bulunan marketlerde marul örneklerinin %68'inde ve dereotu örneklerinin % 72'sinde *Salmonella* türlerine rastlanmıştır(9). Genel olarak meyveler sebzelere göre daha asidiktirler ve bu yüzden güvenli kabul edilmektedirler. Ancak pH değerleri 7'ye yaklaşan bazı meyvelerin (kavun ve karpuz gibi) kesildikten ve iç kısımları çevre ile temas ettikten sonra bakteri gelişimi için uygun bir ortam sağladıkları belirtilmektedir (10).

Çiğ olarak tüketilen sebzelerde bulunan patojen mikroorganizmaların uzaklaştırılmaları ve inaktivasyonları ile ilgili olarak yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle klor gibi kimyasal dezenfektanlar (11,12,13). Kullanılmış ancak sirke ve limon suyu gibi günlük kullanımı yaygın, doğal ürünlerin antimikrobiyal etkileri çok az sayıda araştırmacı tarafından incelenmiştir (14,15,16).

Bu çalışmada; asetik asit ve sitrik asidin antimikrobiyal etkileri düşünüldüğünde, bünyesinde bu asitleri bulduran ve Türkiye'de sebze salatalarında asitlendirici ve lezzet verici olarak yaygın şekilde tüketilen sirke ve limon gibi ürünlerin, *Salmonella typhimurium* üzerine antimikrobiyal etkisi araştırılmış, böylece limon ve sirkenin salata sebzelerinde patojen riskinin azaltılmasında veya tamamen kaldırılmasında doğal dezenfektan olarak kullanılabilirlikleri, diğer bir ifade ile etkinlikleri değerlendirilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Bakteri kültürleri

Çalışmada kullanılan deney kültürü *Salmonella typhimurium* CCM 583 suşu, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilmiştir. *Salmonella typhimurium* CCM 583 suşu 5 °C'de Tryptone Soya Agar besiyerinde (TSA, pH:7,3, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) saklanan stok kültürün aktivasyonu için Tryptone Soya Broth besiyerine (TSB, pH: 7,3, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) transfer edilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra denemelerde kullanılmıştır.

Yıkama sıvılarının hazırlanması

Denemelerde yıkama sıvısı olarak taze sıkılmış limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı kullanılmıştır. Marketten satın alınan limonlar çeşme suyu ile yıkandıktan sonra steril bir bıçak yardımıyla ortadan kesilmiş ve elektrikli narenciye sıkacağı (Tefal, Prep'line 300) kullanılarak limon suyu elde edilmiştir. Denemelerde sirke olarak 2 litrelik pastörize üzüm sirkesi (Fersan), herhangi bir sterilizasyon işlemine tabi tutulmadan, doğrudan kullanılmıştır. Limon suyu-sirke karışımı, taze sıkılmış limon suyu ile pastörize sirkenin bire bir (1:1) oranında karıştırılmasıyla elde edilmiş ve doğrudan denemelerde kullanılmıştır. Yıkama sıvılarında asitlik değerleri, volumetrik metot kullanılarak sitrik asit (limon suyu için) veya asetik asit (sirke ve limon suyu – sirke karışımlarında) cinsinden hesaplanmış ve yüzde asit olarak ifade edilmiştir (17).

Sebzelerin hazırlanması

Laboratuvara getirilen roka örnekleri öncelikle çeşme suyu ile yıkanmıştır. Rokaların kök kısımları temiz bir bıçak kullanılarak kesilmiş, sararmış, çürümüş olan kısımlar ayıklanmıştır. Çalışma için mümkün olduğunca aynı büyüklükteki yapraklar seçilmiş ve bu yapraklar temiz bir kağıt üzerinde kurutulduktan sonra aseptik koşullar altında doğranmadan, bütün halde 10'ar gramlık porsiyonlara ayrılmış ve denemelerde kullanılmıştır.

Havuç örnekleri öncelikle çeşme suyu ile yıkandıktan sonra havuçların dış kabukları bıçak ile kazınarak uzaklaştırılmış, dış kısmı temizlenen havuçlar tekrar yıkandıktan sonra temiz bir kağıt havlu ile kurularak fazla suyu alınmıştır. Havuç örnekleri yaklaşık 2-5mm kalınlığında doğrandıktan sonra aseptik şartlar altında 10'ar gramlık porsiyonlara ayrılarak denemelerde kullanılmıştır.

Taze soğan örneklerinin kök kısımları temiz bir bıçak yardımıyla kesilmiş, dış kabuk ve yaprak uçları kesildikten sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. Taze soğan örnekleri temiz bir kağıt üzerine serilerek fazla suyu alınmış ve 2-5mm kalınlığında doğrandıktan sonra aseptik şartlar altında 10'ar gramlık porsiyonlara ayrılarak denemelerde kullanılmıştır.

Sebze örneklerinin *Salmonella typhimurium* ile inokulasyonu

Onar gramlık porsiyonlara ayrılan deney örnekleri, inokulasyon sıvısına daldırılmıştır. İnokulasyon sıvısı, 11'lik %0,1 steril peptonlu suya (%0,1 PW-Difco, pH 6,7) 24 saatlik TSB kültüründen uygun dilüsyonlar hazırlandıktan sonra, suyun mililitresinde yaklaşık 10^6 kob/ml (yüksek inokulum dozu) ve 10^2 kob/ml (düşük inokulum dozu) olacak şekilde aktararak hazırlanmıştır. İnokulasyonda, 10 gramlık örnek porsiyonları inokulasyon sıvısına daldırılmış, yaklaşık bir dakika sıvı içerisinde tutulduktan sonra steril cam kavanozlara, üzerlerindeki fazla sıvı silkelenecek şekilde aktarılmıştır. Bu işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Salmonella typhimurium hücrelerinin sebzeler üzerinde tutunmasını sağlamak amacıyla örnek kavanozları, kapakları yarı açık olacak şekilde 20 °C'lik inkübatörde 24 saat tutulmuştur. 24 saat sonunda tamamen kurumuş olan sebze örnekleri dezenfektanla muameleye hazır hale getirilmiştir.

Sebze örneklerinde *Salmonella* aranması

Ön zenginleştirme amacı ile 25g örnek 225ml Buffered Peptone Water besiyerine (BPW- Oxoid CM 509) aktarılmış ve stomacher'da (Stomacher Lab-Blender 400, Seward Medical, London, UK) 1 dakika homojenize edilmiştir. 37 °C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda zenginleştirme amacı ile, BPW besiyerinden alınan 1 ml'lik inokulum 10 ml'lik Tetrathionate Brilliant Green Broth besiyeri (TT-Oxoid CM 29) ve Selenite Cystine Broth besiyeri (SC-Oxoid CM 395) tüplerine aktarılmış, 43 °C ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İzolasyon aşamasında zenginleştirme kültür tüplerinin her birinden çizme plaka yöntemine göre Bismuth Sulphite Agar (BSA-Oxoid CM 201) ve Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD-Oxoid CM 469) besiyerlerine ekim yapılmış, petripler 37 °C'de BSA besiyeri için 24-48 saat, XLD besiyeri için 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan tipik koloniler için biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bu amaçla Triple Sugar Iron Agar (TSIA-Oxoid) ve Lysine Iron Agar (LIA-Oxoid) besiyerlerine ekim yapılmış ve 37 °C'de 18-24 saat sonunda pozitif sonuç veren izolatlar için polivalent O ve H antiserumları kullanılarak serolojik testler uygulanmıştır (18). Analize alınan örneklerden *Salmonella* izole edilmemiştir.

Farklı yıkama sıvılarının *Salmonella typhimurium* üzerine etkisinin araştırılması

İçerisinde *Salmonella typhimurium* ile inokule edilmiş sebze örneklerini bulduran kavanozlar, 20 °C'de 24 saat tutulduktan sonra farklı yıkama sıvıları ile muamele edilmiştir. Yıkama işlemi şu şekilde yapılmıştır: Kavanozlara, içerisindeki sebzelerin üzeri tamamen örtülecek şekilde (yaklaşık 50 ml) limon suyu, sirke veya limon suyu-sirke karışımı ilave edilmiş, sebzeler bu yıkama sıvıları içerisinde 0,15, 30 ve 60 dakika gibi farklı sürelerde tutulmuş ve süre sonunda yıkama solüsyonları boşaltılarak ürünler analize alınmıştır. Her bir örnek için hazırlanmış olan 10'ar gramlık porsiyonlarından iki tanesi kontrol amacıyla kullanılmıştır. Kontrol için kullanılan örneklere yıkama işlemi uygulanmamıştır. Sebze örneklerinin üçüne de aynı yıkama işlemleri uygulanmıştır.

Yıkama işlemine tabi tutulmuş örnekler ve aynı zamanda kontrol örneklerinde *Salmonella typhimurium* analizi şu şekilde yapılmıştır: Yüksek inokulum dozu ile muamele edilen örneklerin analizinde, 10 gr örnek 90 ml'lik peptonlu suya aktarılmış ve stomacher'da bir dakika homojenize edildikten sonra yayma plaka yöntemine göre uygun dilüsyonlardan 0,1 ml BSA besiyerine ekim yapılmıştır. Petripler 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu oluşan tipik kolonilere biyokimyasal ve serolojik testler uygulanarak doğrulama yapılmıştır.

Düşük inokulum dozu ile muamele edilen örneklerin analizinde ise 10 gr örnek 40 ml'lik peptonlu suya aktarılmış ve daha sonra benzer işlemlerle analiz tamamlanmıştır.

İstatistiksel yöntemler

Deneme sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi, Ege Üniversitesi Bilgisayar Uygulama ve Araştırma Merkezinde SPSS 10.0 Windows paket programı ile yapılmıştır. Çözümlenelerde faktöriyel deneme varyans analizi kullanılmış ve ardından Post Hoc yöntem olarak Duncan testi kullanılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Limon suyu (% 4,3 sitrik asit (v/v)), sirke (% 4 asetik asit (v/v)) ve limon suyu-sirke karışımlarının (% 8,5 asetik asit (v/v)), roka örneklerine inokule edilen *Salmonella typhimurium* hücreleri üzerine etkisi Çizelge 1'de verilmiştir. Limon suyu ile yıkanan roka örneklerinde *Salmonella* hücrelerinin sayısı, yüksek inokulum dozunun kullanıldığı denemelerde, 1,87 -3,52 log kob/g, düşük inokulum dozunun kullanıldığı denemelerde ise 1,23 - 4,17 log kob/g düzeyinde azalma göstermiştir. Limon suyu ile 60 dakika muamele sonrasında, düşük dozda inokule edilen roka örneklerinden *Salmonella typhimurium* izole edilememiş ve ayrıca 15, 30 ve 60 dakikalık uygulamalar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ($P>0,05$). Sirke ile 60 dakika muamele edilen roka örneklerinde düşük ve yüksek inokulum dozlarında *Salmonella typhimurium* sayısında sağlanan azalma sırasıyla 2,47 log kob/g ve 3,12 log kob/g'dir. İstatistiksel analiz sonuçları, farklı süre uygulamaları arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir ($P>0,05$). Limon suyu-sirke karışımının kullanılması ile yüksek dozda inokule edilen roka örneklerindeki *Salmonella typhimurium* sayısı, 15 ve 60 dakikalık süre uygulamaları ile tespit edilemeyecek seviyeye inmiş, ayrıca, 15,30 ve 60 dakika limon suyu-sirke karışımı ile muamele edilen örnekler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ($P>0,05$). Çalışma sonuçları, roka örnekleri üzerinde antimikrobiyal etkisi en yüksek olan yıkama sıvısının, her iki inokulum dozunda da, limon suyu-sirke karışımı olduğunu, bunun ardından sirke ve daha sonra da limon suyunun geldiğini ortaya koymuştur.

Çizelge 1. Limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı (1:1) ile farklı sürelerde muamele edilen roka örneklerinin *S. typhimurium* hücre sayısı

Süre (dakika)	Limon suyu		Sirke		Limon suyu - Sirke karışımı	
	Yüksek inokulum (log kob/g) ^c	Düşük inokulum (log kob/g)	Yüksek inokulum (log kob/g)	Düşük inokulum (log kob/g)	Yüksek inokulum (log kob/g)	Düşük inokulum (log kob/g)
Kontrol ^a	7,10 ±0,44C	4,17 ±0,72C	6,33 ±0,26B	4,23 ±1,07B	6,55 ±0,50C	5,73 ±0,32C
0 ^b	5,23 ±1,24B	2,94 ±1,17B	5,01 ±0,65A	1,73 ±1,62A	2,44 ±2,21B	2,83 ±1,55B
15	4,15 ±1,27A	1,00 ±0,94A	4,13 ±0,60A	2,13 ±0,74A	0,00±0,00A	1,02 ±1,77A
30	3,58 ±1,68A	1,42 ±1,57A	3,52 ±0,26A	1,34 ±1,44A	1,03 ±1,79A	1,49 ±1,54A
60	4,63 ±1,26A	0,00±0,00A ^d	3,84 ±0,43A	1,11 ±1,93A	0,00±0,00A	1,82 ±1,68A

^a İnokulasyon sonrası herhangi bir dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmayan örnekler.

^b Roka örnekleri limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı ile çok kısa bir süre temas ettikten hemen sonra analize alınmıştır

^c Yıkama işleminden sonra roka örneklerinin içerdiği *S. typhimurium* sayısı. Standart sapma değerleri ±SD olarak verilmiştir, aynı sütun çerisinde aynı harfle kodlanan örnekler arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur ($P>0,05$).

^d Sıfır olarak ifade edilen değer, denemede kullanılan en düşük dilüsyon olan 10^{-1} dilüsyonda (0,1 g örnekte) test organizmasitespit edilemedi anlamını taşımaktadır.

Taze soğan örneklerinin limon suyu ile 60 dakika muamelesi sonucu *Salmonella typhimurium* başlangıç sayısında yüksek ve düşük inokulumlar için sırasıyla 2,86 log kob/g ve 2,93 log kob/g azalma sağlanırken, sirke ile muamele edilen örneklerde *Salmonella typhimurium* sayısında 2,10 log kob/g ve 2,92 log kob/g azalma sağlanmıştır. Limon suyu-sirke karışımında 60 dakika bekletilen taze soğan örneklerinde ise yüksek ve düşük inokulum dozları için *Salmonella typhimurium* sayısında sırasıyla 2,31 log kob/g ve 3,24 log kob/g azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Analiz sonuçları, genel olarak taze soğan örneklerinde her üç yıkama sıvısının da süre ile artan şekilde antimikrobiyal etki gösterdiğini ve dolayısıyla süre uygulamalarının genel olarak istatistiksel farklılık yarattığını; yüksek inokulum dozunun kullanıldığı örneklerde en etkili yıkama sıvısının limon suyu-sirke karışımı olduğunu göstermiştir. Düşük inokulum dozunun kullanıldığı örneklerde ise sirkenin en etkili ajan olduğu saptanmıştır ($P>0,05$).

Çizelge 2. Limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı (1:1) ile farklı sürelerde muamele edilen taze soğan örneklerinin *S. typhimurium* hücre sayısı

Süre (dakika)	Limon suyu		Sirke		Limon suyu - Sirke karışımı	
	Yüksek inokulum (log kob/g) ^c	Düşük inokulum (log kob/g)	Yüksek inokulum (log kob/g)	Düşük inokulum (log kob/g)	Yüksek inokulum (log kob/g)	Düşük inokulum (log kob/g)
Kontrol ^a	7,22 ±0,53D	6,54 ±0,55D	6,29 ±0,36C	4,54 ±1,11C	6,11 ±0,40D	6,25 ±0,30D
0 ^b	5,79 ±0,42C	5,67 ±0,44C	5,36 ±0,20BC	3,62 ±0,75BC	5,25 ±0,26C	4,93 ±0,13C
15	5,52 ±0,35B	4,92 ±0,45B	5,10 ±0,38BC	3,57 ±1,07BC	4,72 ±0,14C	4,73 ±0,36C
30	5,32 ±0,22B	4,85 ±0,29B	4,95 ±0,63B	3,26 ±1,84B	4,09 ±0,34B	3,93 ±0,40B
60	4,36 ±0,45A	3,61 ±0,26A	4,19 ±0,39A	1,62 ±1,74A	3,80 ±0,50A	3,01 ±0,41A

^a İnokulasyon sonrası herhangi bir dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmayan örnekler.

^b Taze soğan örnekleri limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı ile çok kısa bir süre temas ettikten hemen sonra analize alınmıştır.

^c Yıkama işleminden sonra roka örneklerinin içerdiği *S. typhimurium* sayısı. Standart sapma değerleri ±SD olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde aynı harfle kodlanan örnekler arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur ($P>0,05$).

Yüksek dozda inokule edilen havuç örnekleri limon suyunda 15 ve 30 dakika bekletildiğinde, *Salmonella typhimurium* sayısında 2,68 log azalma sağlanmış, maksimum azalma ise 60 dakika sonunda gözlenmiştir (Çizelge 3). Düşük inokulum dozunun kullanıldığı denemelerde ise 15, 30 ve 60 dakika muamele sonrasında *Salmonella typhimurium* sayısında sırasıyla 2,63; 2,57 ve 2,64 log kob/g azalma sağlanmıştır. Ayrıca 15, 30 ve 60 dakikalık süre uygulamaları arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$). Yüksek ve düşük dozda inokule edilen havuç örneklerinin 0, 15, 30 ve 60 dakika sirke ile muamelesi sonucunda *Salmonella typhimurium* sayısında meydana gelen azalmalar sırasıyla, 1,57; 1,87; 2,60 ve 3,58 log kob/g ve 1,87; 2,45; 2,64 ve 3,33 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). İstatistiksel analiz sonuçları, 15 ve 30 dakika uygulamalarının arasında anlamlı bir fark olmadığını ancak 60 dakika uygulamasının diğer tüm sürelerden farklı olduğunu ortaya koymuştur. Havuç örnekleri limon suyu-sirke karışımı ile 15 dakika muamele edildiği takdirde, yüksek ve düşük inokulum dozları için *Salmonella typhimurium* sayısında sırasıyla 4,11 ve 5,00 log kob/g azalma kaydedilmiş, 30 dakika uygulamasında ise örneklerden *Salmonella typhimurium* izole edilememiştir (Çizelge 3). Genel bir değerlendirme yapıldığında, havuç örneklerinde en etkili uygulamanın, limon suyu-sirke

Çizelge 3. Limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı (1:1) ile farklı sürelerde muamele edilen havuç örneklerinin *S. typhimurium* hücre sayısı

Süre (dakika)	Limon suyu		Sirke		Limon suyu - Sirke karışımı	
	Yüksek	Düşük	Yüksek	Düşük	Yüksek	Düşük
	inokulum (log kob/g) ^c	inokulum (log kob/g)	inokulum (log kob/g) ^c	inokulum (log kob/g)	inokulum (log kob/g) ^c	inokulum (log kob/g)
Kontrol ^a	6,27 ± 0,29C	4,44 ± 0,68C	6,41 ± 0,21 D	6,42 ± 0,72D	5,73 ± 0,54 D	6,00 ± 0,69D
0 ^b	4,54 ± 0,46B	3,64 ± 1,12B	4,84 ± 0,49C	4,55 ± 0,63C	4,14 ± 1,41C	3,52 ± 0,93C
15	3,59 ± 0,72A	1,81 ± 0,73A	4,54 ± 0,86BC	3,97 ± 0,84BC	1,62 ± 2,81B	1,00 ± 1,72B
30	3,59 ± 0,38A	1,87 ± 0,66A	3,81 ± 0,88B	3,78 ± 1,12B	0,00±0.00A ^d	0,00±0.00A
60	2,32 ± 0,65A	1,80 ± 0,45A	2,83 ± 1,21A	3,09 ± 1,21A	0,00±0.00A	0,00±0.00A

^a Inokulasyon sonrası herhangi bir dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmayan örnekler.

^b Havuç örnekleri limon suyu, sirke ve limon suyu-sirke karışımı ile çok kısa bir süre temas ettikten hemen sonra analize alınmıştır

^c Yıkama işleminden sonra roka örneklerinin içerdiği *S. typhimurium* sayısı. Standart sapma değerleri \pm SD olarak verilmiştir, aynı sütun içerisinde aynı harfle kodlanan örnekler arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur ($P>0,05$).

^d Sıfır olarak ifade edilen değer, denemede kullanılan en düşük dilüsyon olan 10^{-1} dilüsyonda (0,1 g örnekte) test organizmasitespit edilemedi anlamını taşımaktadır.

karışımında 30 dakika bekletme olduğu sonucuna varılmış, limon suyunun da bunun ardından geldiği belirlenmiştir.

Literatürde, çiğ olarak tüketilen sebzelerde limon suyu ve sirkenin patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi ile ilgili olarak yapılmış sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Karapınar ve Gönül (1992), *Y. enterocolitica* ile inokule edilmiş ($8,6 \times 10^7$ ve $1,8 \times 10^7$ kob/g) maydanozların dezenfeksiyonu amacıyla % 30-% 50 sirke ve % 1- % 5'lik asetik asit çözeltilerini kullanmışlardır (14). Bu araştırmacılar maydanozların, % 2-5 asetik asit veya % 40-50 sirke konsantrasyonlarında 15 dakika bekletilmeleri durumunda *Y. enterocolitica* hücrelerinin tamamen öldüğünü, %5'lik asetik asit konsantrasyonunda 30 dakika bekletme sonucunda da mezofilik aerobik mikroorganizma sayısının tespit edilemeyecek düzeye indiğini belirtmişlerdir.

Wu vd (2000), bütün haldeki maydanoz yapraklarını, asetik asit cinsinden asitliği % 5,2 olan sirkede 5 dakika bekletmenin *S. sonnei* sayısında (başlangıç sayısı 7,07 log) 6 log azalma sağladığını, % 7,6 asetik asit içeren sirkenin ise aynı süre zarfında patojen sayısını doğrudan tespit edilemeyecek seviyeye indirdiğini (<0,6 log) belirtmiştir (19). Ayrıca aynı araştırmacılar tarafından maydanozun % 2,6'dan daha fazla asetik asit içeren sirke ile muamelesi sonucunda, üründe renk kaybı ve keskin sirke kokusu olduğu ancak maydanozların 1 dakika çeşme suyu ile yıkanması durumunda bu problemlerin engellendiği belirtilmiştir.

Yapılan bu iki çalışmada da sirke, 5 ve 15 dakika gibi kısa sürelerde, maydanoza bulaştırılmış *S. sonnei* ve *Y. enterocolitica* sayısında 6-7 log azalma sağlamış ve patojenler tespit edilemeyecek sayıya düşmüştür. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise sirkede 60 dakika bekletme sonunda roka, taze soğan ve havuca bulaştırılmış *S. typhimurium* sayısında, kullanılan sebze çeşidine göre farklılık göstermekle birlikte, ancak 2,0-4,4 log azalma sağlandığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, sirke önemli bir antimikrobiyal etkiye sahip olmasına karşın, bu etkinin ürüne ve organizma tipine bağlı olarak değiştiği görülmektedir.

Bu araştırmanın ve diğer araştırmacıların (14,19) çalışmalarının sonuçları dikkate alındığında, Türk mutfağında salatalarda asitlendirici ve lezzet verici olarak kullanılan temel iki üründen limon suyu ve sirkenin, tek başına veya birlikte kullanılmaları durumunda, bu tür gıdalardan kaynaklanabilecek *Salmonella* riskinin ortadan kaldırılması veya önemli derecede azaltılmasında etkin bir rol oynayabileceği söylenebilir. Bu doğal asitlendiricilerin ev koşullarında servis öncesinden en az 15 dakika önce salata veya benzeri gıdalara ilave edilmelerinin, gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesinde göz ardı edilemeyecek alternatif bir uygulama olabileceğini de göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Nguyen-the C and Carlin F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34: 371-401.
2. Beuchat LR. 1996. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. *Journal of Food Protection*, 59 (2): 204-216.
3. Roever CD. 1998. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food Control*, 9: 321-347.
4. Francis GA, Thomas C and O'beirne D. 1999. The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 1-22.
5. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1998. *Vegetables and Vegetable Products, Microorganisms in Foods 6*, 215 p., Blackie academic and Professional Press, London-New York-Germany-Philadelphia.
6. ICMSF (The International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1996. *Yersinia enterocolitica. Microorganisms in Foods 5*, 458p., Chapman and Hall, New York.
7. Rosario BA and Beuchat LR. 1995. Survival and growth of enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7 in cantaloupe and watermelon. *Journal of Food Protection*, 58: 105-107.
8. Tamminga SK, Beumer RR and Kampelmacher EH. 1978, The hygienic quality of vegetables grown in or imported into the Netherlands: a tentative survey, *Journal of Hygiene Camb.*, 80: 143-154.
9. Ercolani GL. 1976. Bacteriological quality assessment of fresh marketed lettuce and fennel. *Applied and Environmental Microbiology*, 31:847-852.
10. Madden JM. 1992. Microbial pathogens in fresh produce—the regulatory perspective. *Journal of Food Protection*, 55: 821-823.
11. Adams MR, Hartley AD and Cox LJ. 1989. Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiology*, 6: 69-77.
12. Burnett SL and Beuchat LR 2002. Comparison of methods for fluorescent detection of viable, dead, and total *Escherichia coli* 0157:H7 cells in suspensions and on apples using confocal scanning laser microscopy following treatment with sanitizers. *International Journal of Food Microbiology*, 74: 37-45.
13. Singh N, Singh RK, Bhunia AK and Strohshine RL. 2002. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* 0157:H7 on lettuce. *Food Microbiology*, 19: 183-193.
14. Karapınar M ve Gönül ŞA. 1992. Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. *International Journal of Food Microbiology*, 16: 261-264.
15. Vijayakumar C and Wolf-Hall C. 2002a. Minimum bacteriostatic and bactericidal concentrations of household sanitizers for *E.coli* strains in tryptic soy broth. *Food Microbiology*, 19: 383-388.
16. Vijayakumar C and Wolf-Hall C. 2002b. Evaluation of household sanitizers for reducing levels of *E.coli* on iceberg lettuce. *Journal of Food Protection*, 65: 1646-1650.
17. Anonim. 1972. Türk Standardı (TS) 1125. Meyve ve sebze mamulleri titre edilebilen asitlik tayini.
18. AOAC. 1990. Official methods of analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
19. Wu FM, Doyle MP, Beuchat LR, Wells JG, Mintz ED and Swaminathan B. 2000. Fate of *Shigella sonnei* on parsley and methods of disinfection. *Journal of Food Protection*, 63 (5): 468-572.