

PİNOSYLVİN KULLANIMININ FARKLI SICAKLIKLARDA DEPOLANAN TUZLANMIŞ GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARI'NDA (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) *Listeria monocytogenes*'İN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Buket Buşra Gözü*, Heli Komulainen, Paula Hyvönen, Atte von Wright

Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Mersin

University of Eastern Finland, Department of Biosciences, Kuopio-FINLAND

Özet:

Bu araştırma, farklı sıcaklıklarda depolanan, tuzlanmış gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) *Listeria monocytogenes*'in oluşumunu önlemek suretiyle su ürünlerinin kalitesini korumayı amaçlamaktadır. Çalışma kapsamında hem fungusit hem de bakterisit olarak bilinen ve *L. monocytogenes*'in gelişimini engelleyen pinosylvin (3,5-dihidroxy-trans-stilbene) ana madde olarak kullanılmıştır. Doğu Finlandiya Üniversitesi'nde gerçekleştirilen çalışmada; +3 ve +8 °C'de 21 gün; +20 °C'de 9 gün depolanan örnekler yapay olarak aşıl原因an *L. monocytogenes*'in gelişimi izlenmiştir. Örneklerin üzerine yüzeysel olarak 140 µg/ml pinosylvin aşıl原因mıştır. *L. monocytogenes*'in aranması ve sayımında TS EN ISO 11290-2 metodu kullanılmıştır. Çalışma süresince herhangi bir aşıl原因ma yapılmayan kontrol gruplarında *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. +3 ve +8°C'de depolanan *L. monocytogenes* aşıl原因mış örneklerde, *L. monocytogenes*'in hızlı bir gelişim gösterdiği; Pinosylvin aşıl原因mış örneklerde ise *L. monocytogenes* sayısının hemen aşıl原因an seviyede kaldığı belirlenmiştir. +20°C'de ise Pinosylvin aşıl原因mış örneklerde *L. monocytogenes* sayısının sürekli artış gösterdiği ve sadece *Listeria* aşıl原因an örneklerin seviyesine ulaştığı gözlenmiştir. Araştırma bulguları, örneklerde *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerinde pinosylvinin engelleyici etkisi olduğunu göstermiştir. Pinosylvinin bakteriyel gelişimi önleyici etkisi tespit edilmiş, ancak bakterileri öldürücü etkisine rastlanılmamıştır. Sonuç olarak; pinosylvinin özel koşullar altında su ürünlerinin kalitesinin korunması amacıyla kullanılabilir bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, *Listeria monocytogenes*, Pinosylvin

* Correspondence to:

Buket Buşra GÖZÜ, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 33169 Mersin-TÜRKİYE

Tel: (+90 324) 341 28 15-2158 Fax: (+90 324) 233 67 44

E-mail: buketgozu@yahoo.com

Abstract: The impact of pinosylvin on the development of *Listeria monocytogenes* in the salted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) stored at different temperatures

The present research aims to preserve the quality of seafoods by preventing the occurrence of *Listeria monocytogenes* in the salted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) stored at different temperatures. Pinosylvin (3,5- dihydroxy-trans- stilbene) which is known as both a fungicide and a bactericide and inhibits the growth of *L. monocytogenes* was used as a main substance within the scope of the study. The research was performed at the University of Eastern Finland. The development of artificially inoculated *L. monocytogenes* in samples stored for 21 days at +3, +8°C, and 9 days at +20°C was monitored. Pinosylvin was applied superficially on the samples, and the concentrations was 140 µg/ml. The method of TS EN ISO 11290-2 was used for the detection and enumeration of *L. monocytogenes*. *L. monocytogenes* was not detected in the uninoculated controls during the follow up period. There was rapid development of *L. monocytogenes* in Listeria inoculated samples stored at +3 and +8 °C, while the *L. monocytogenes* counts were almost remained at the inoculum level in pinosylvin treated samples. At 20°C, *L. monocytogenes* in pinosylvin treated samples was resumed growing and reached the level of Listeria inoculated samples. The research findings demonstrated the inhibitory effect of pinosylvin on the development of *L. monocytogenes* in the samples. The effect was bacteriostatic (preventing the bacterial growth) but not bacteriocidal. In conclusion, under special circumstances, pinosylvin has the potential to be used for the purpose of preserving the quality of seafood.

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Listeria monocytogenes*, Pinosylvin

Giriş

İnsan nüfusuna paralel olarak artan gıda ihtiyacının karşılanması için gerçekleştirilen çalışmaların gıda endüstrisinde sebep olduğu hızlı gelişmeler; tüketiciye daha kaliteli, güvenli ve sağlıklı gıdalar sunulmasını sağlamıştır. Su ürünleri, besleyici değerinin yüksek olması, kolay sindirilebilmesi ve diyetik özelliği olması açısından tüketiciler tarafından yoğun bir şekilde talep gören gıdaların başında gelmektedir. Artan ilgi ile birlikte sektörde çalışan ve su ürünlerini tüketen insanlar, zoonoz hastalıklar başta olmak üzere halk sağlığını ciddi bir şekilde tehdit eden sorunlar ile karşılaşmaya başlamışlardır (Türk ve Yabanlı, 2006).

Listeria monocytogenes, 1929'dan beri insanlarda patojen, 1981'den beri ise gıda kaynaklı patojen olarak tanımlanan bir bakteridir. *L. monocytogenes* insanlarda listeriosis adı verilen gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır. Çeşitli çiğ tüketilen sebzeler, süt ve süt ürünleri ile et ürünleri *L. monocytogenes*'in görüldüğü gıdalar arasında yer almaktadır (Tosun ve Alakovuk, 2006).

L. monocytogenes, küçük 0.5 µm çapında, 1-2 µm uzunluğunda, gram (+), aerobik ve fakültatif anaerobik, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, kısa zincirli kokobasil veya bazen filamentöz şekilli bir bakteridir. Optimal gelişim

sıcaklığı 30-37 °C arasında değişmekte olup; -0.4-1 °C'den 45-50 °C'ye kadar ki sıcaklıklarda gelişim gösterebilmektedir. *L. monocytogenes* yüksek tuz konsantrasyonlarında hatta oksijenli ya da oksijensiz dondurucu sıcaklıklarda bile çoğalabilmektedir (Miettinen, 2006; Türk, 2009).

L. monocytogenes'in neden olduğu gıda kaynaklı Listeriosis vakalarının %30'unun ölümlerle sonuçlanması gıda kaynaklı hastalık etkenleri arasında bakterinin önemini arttırmaktadır. Listeriosis merkezi sinir sistemini etkilemekte, menenjit ve septisemilere neden olmaktadır (Türk, 2009).

Türkiye'de Türk Gıda Kodeksi tarafından 17. 03. 2001 tarihli 24345 sayılı Resmî Gazete' de yayınlanan Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne göre et ve et ürünlerinin 25 gramında *L. monocytogenes* bulunmaması gerekmektedir. Farklı kriterlerin bulunması veya bazı ülkelerde *L. monocytogenes* için bir kriter bulunmaması bu mikroorganizmanın halk sağlığı açısından tehlikesinin yeterince anlaşılmasına neden olmaktadır (Anonim, 2000).

L. monocytogenes, taze, dondurulmuş, du-manlanmış ve kurutulmuş tuzlanmış su ürünlerinden izole edilmiş olup; çoğunlukla uzun raf ömrüne sahip dondurulmuş ürünlerde ve az piş-

miş; ya da hiç pişmemiş gıdalarda bulunmaktadır. Yetersiz pişmiş, işleme esnasında kontamine olmuş kabuklular ve soğuk dumanlanmış balıklar *L. monocytogenes*'in görüldüğü gıdalar arasında yer almaktadır (Bremer ve ark., 2003).

Gravad olarak adlandırılan şeker ve tuz ile muamele edilmiş balık ürünleri özellikle Kuzey Avrupa ülkelerinde geleneksel olarak çok popüler olan ürünlerdir. Bu ürünler ısıtılmaksızın tüketilen, %3-6 tuz içeriği ve pH>5 ile karakterize edilen tüketime hazır ürünlerdir. Finlandiya'da salmon (*Salmo salar*), beyaz balık (*Coregenus lavaretus*) ve gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) gravad yapımında yaygın olarak kullanılan türlerdir (Lyhs ve ark., 2001).

Tham ve ark. (2000) tarafından gravad gökkuşuğu alabalığında *L. monocytogenes*' in gelişim oranının %21-27 olduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar bu ürünlerin son tüketim tarihinin genellikle üretim tarihinden itibaren 3-6 hafta olduğunu, bazen ürün soğuk bir ortamda olsa bile, başlangıçta düşük seviyelerde olan *L. monocytogenes* seviyesinin tüketim gününe kadar yüksek seviyelere ulaşabileceğini belirtmişlerdir.

Pinosylvin (3,5- dihidroxy-trans-stilbene) doğal bir ürün olan propoliste bulunan kimyasal maddelerden biridir. Propolis bal arıları tarafından ağaçların kozalak ve kabuklarından, bitkilerin tomurcuk ve filizlerinden toplanan çeşitli yağlar, polenler, özel reçine ve mumsu maddelerin karışımından oluşan; çok kuvvetli antiviral, antibakteriyel, antifungal etkiye sahip yapışkan bir maddedir. Propolisin yoğun olarak toplandığı bitki çeşitleri bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Bal arıları için; *Pinus spp* (Çam) reçineleri, *Betula spp* (Hus), *Populus spp* (Kavak ve türleri), *Aesculus hippocastanum* (At kestanesi), *Salix spp* (Söğüt), *Alnus spp* (Kızıl Ağaç), *Abies spp* (Kökmar), *Prunus spp* (Erik), *Ulmus spp* (Kara Ağaç), *Quercus spp* (Meşe), *Froxinus excelsior* (Dişbudak) bitki türleri önemli propolis kaynaklarını oluşturmaktadır (Kumova ve ark., 2002; Tekeli, 2007).

Välilmaa ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmalarında *Pinus* türlerinden elde edilen bütün ağaç budağı ekstraktlarının gram pozitif patojenik bakteriler olan; *Bacillus cereus* ve *Listeria monocytogenes* üzerinde güçlü bir kısıtlayıcı etki gösterdiğini, *Staphylococcus aureus*'a karşı ölçümlü bir engelleme gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Pinosylvin (3,5- dihidroxy-trans-stilbene) çam ağaçlarından toplanan propoliste bulunan doğal

bir stilbene olup fungusit, bakterisit etki gösteren antibiyotik özelliğinin yanı sıra antioksidan özelliği de bulunan ve *L. monocytogenes*'in gelişimini önemli ölçüde engelleyen bir maddedir (Park ve ark., 2004). Pinosylvin henüz gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmamaktadır. Gıda endüstrisinde gıda katkı maddesi olarak kullanımının araştırılması oldukça yeni bir konu olup, güvenli bir şekilde gıdalara uygulanabilmesi için toksik etkileri ile ilgili geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda pinosylvinin antimikrobiyal özelliklerinden dolayı paketleme endüstrisinde kullanılabilmesi belirtilmesine karşın; suda düşük çözünürlüğe sahip olması, farklı ajanlar aracılığı ile okside olabilmesi ve oksijensiz ortamda gerçekleşen reaksiyonlara eğilimi, gıda paketleme filmlerinde aktif olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Bu olumsuzlukların önlenmesi ve pinosylvinin gıda paketleme endüstrisinde kullanılabilmesi için farklı tipteki moleküller, örneğin siklodekstrinler, ile kompleksler oluşturması sağlanarak kullanıma uygun hale getirilmesi gerekmektedir (Lopez-Nicolas ve ark., 2009).

Su ürünlerinin kalitesinin korunması odaklı bu araştırma, farklı sıcaklıklarda depolanan, tuzlanmış gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) görülebilen *L. monocytogenes*'in gelişiminin engellenmesini amaçlamaktadır. Araştırma kapsamında ana madde olarak, pinosylvin (3,5- dihidroxy- trans-stilbene) maddesi kullanılmıştır.

Materyal ve Metot

Finlandiya'daki Doğu Finlandiya Üniversitesi'nde gerçekleştirilen çalışmada ham materyal olarak Appetit Kala adlı su ürünleri işleme fabrikasından temin edilen yaklaşık 2.5 kg tuzlanmış gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) kullanılmıştır. Denemede hazırlanan örnekler *L. monocytogenes* kültürü ile pinosylvin ilave edilmiş; ardından örnekler farklı sıcaklıklarda depolanmışlardır.

Listeria monocytogenes Kültürünün Hazırlanması:

Listeria kültürünün hazırlanması için Doğu Finlandiya Üniversitesi Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvar'ında gökkuşuğu alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) izole edilmiş olan ve 1.2×10^8 kob/ml *L. monocytogenes* içeren stok kültürden 1 loop alınarak, içerisinde 10 ml

Tryptone Soy Broth (LAB 205 kodlu Lab M marka) bulunan falcon tüpüne eklenmiş, tüp vorteks de karıştırılmış ve 37°C’ de 16 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Daha sonra bu kültürden; 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} lük Listeria dilüsyonları oluşturulmuştur. 10^{-3} lük Listeria dilüsyonundan 6 ml alınıp, 6 ml %0.9 luk NaCl solüsyonuna eklenerek, örneklere aşılana-cak olan ve 1000 kob/g *L. monocytogenes* içeren Listeria kültürü hazırlanmıştır.

Pinosylvin’in Hazırlanması:

Yapılan ön denemeler sonucunda örneklere ilave edilecek pinosylvin konsantrasyonu 140 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonun hazırlanabilmesi için, 0.98 mg pinosylvin (3,5-dihydroxy-trans-stilbene) 14.07 ml etanolde çö-zülmüştür. Hazırlanan pinosylvin bir otomatik pipet yardımıyla 50 g örneğin tüm yüzeyini kap-layacak şekilde yüzeysel olarak uygulanmıştır.

Örneklerin Hazırlanması:

Bütün halde laboratuvara getirilen tuzlanmış gökkuşağı alabalığı, 50 gramlık parçalar halinde vakum poşetlerine konulmuştur. Çalışma için 3 farklı örnek grubu oluşturulmuştur. 1. grup ör-nekler kontrol grubu olup, bu gruptaki örneklere herhangi bir aşılama yapılmamıştır. 2. grup Listeria aşılama grubu olup, bu örneklerin yüzeyine 0.83 ml Listeria (yaklaşık olarak 1000 kob/g Listeria) kültürü aşılama yapılmıştır. 3. grubu oluşturan Pinosylvin + Listeria aşılama ör-neklerin yüzeyine; önce 1 ml pinosylvin ardından 0.83 ml Listeria kültürü aşılama yapılmıştır. Ardından vakum poşetlerindeki örnekler vakumlandıktan sonra; +3 ve +8 °C’de 21 gün; + 20 °C’de 9 gün depolanmışlardır.

Örneklerin Mikrobiyolojik Analizi:

Çalışma, her örnek grubu için 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Mikrobiyolojik ekim günlerinde vakumlanmış örneklerden, 10’ar g 3 farklı stomacher poşetine tartılmış, örneklerin üzerine 90 ml %0.1’lik peptonlu su ilave edilerek 30 saniye, Seward marka stomacherde homojenize edilip, hasar görmüş hücrelerin aktivite kazan-maları için, 1 saat oda sıcaklığında (20 °C) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardın-dan mikrobiyolojik analizler için seri dilüsyonlar hazırlanıp Palcam (HAL010 kodlu Lab M marka) ve Harlequin agar (LAB148-A kodlu Lab M marka) besi yerlerine standart sürme yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37 °C’

de 48 saat inkübatörde tutulduktan sonra *L. monocytogenes* kolonileri sayılmıştır. *L. monocytogenes*’in aranması ve sayımında TS EN ISO 11290-2 metodu kullanılmıştır (Anonymous, 1996).

İstatistiki Analizler:

Her grupta, depolama süresinin *L. monocytogenes* sayım sonuçları üzerine etkisi, analiz verilerinin varyans analizi için yeterli ol-maması nedeniyle, günlere göre *L. monocytogenes* sayısındaki farklılık Freidman testi ve Wilcoxon sing rank testleri ile incelen-miştir. Analizler Medcalc 10.4.4 programı kulla-nılarak yapılmış ve $P \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada, depolama süresince herhangi bir aşılama yapılmayan kontrol grubu örneklerde her üç sıcaklıkta da *L. monocytogenes* gelişimi gö-rülmemiştir.

Deneme başlangıcında Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama her iki gruba da 1000 kob/g Listeria içeren kültür aşılama ve örnekler aşı-lama işleminden 4 saat sonra 0. gün *L. monocytogenes* sayılarının belirlenmesi için ana-lize alınmıştır. Analiz sonucunda Pinosylvin + Listeria örneklerindeki *L. monocytogenes* sayısı, Listeria aşılama grubu olan gruptan bir logaritmik devre daha düşük bulunmuş, bu farklılığın ne-deni; örneklere yüzeysel olarak aşılama yapılmayan *L. monocytogenes*’in tüm örnek yüzeyine eşit olarak uygulanamamasından kaynaklandığı şeklinde dü-şünülmüştür.

+3 °C’de depolanan Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama örnek gruplarında yapılan ista-tistiksel analiz sonucunda, her iki grupta da farklı depolama sürelerinde elde edilen *L. monocytogenes* sayım sonuçları arasında önemli farklılık ($P \geq 0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Ay-rica her analiz günü için Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama örnek grupları arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda da önemli farklılık ($P \geq 0.05$) bulunmamıştır (Tablo 1).

+3 °C’de depolanan Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama örnek gruplarında, *L. monocytogenes* sayısında fazla bir değişimin ol-madığı ve her iki grupta da *L. monocytogenes* se-viyesinin başlangıçta aşılama seviyesine yakın bir değerde kaldığı gözlenmiştir.

Tablo 1. +3 °C’de Depolanan Örneklerde *L. monocytogenes* (log kob/g ± Standart sapma)’ in Gelişimi**Table 1.** The Growth of *L. monocytogenes* (log cfu/g ± Standard deviation) In Samples Stored at +3 °C

| Depolama Günleri | ÖRNEK GRUPLARI | | P |
|---------------------|------------------|---------------------|-------|
| | Listeria Kontrol | Pinosylvin+Listeria | |
| 0. Gün | 3.83 ± 0.14 | 2.83 ± 0.07 | 0.109 |
| 7. Gün | 3.76 ± 0.13 | 2.96 ± 0.21 | 0.109 |
| 14. Gün | 3.90 ± 0.42 | 2.88 ± 1.30 | 0.285 |
| 21. Gün | 3.63 ± 0.15 | 3.02 ± 0.10 | 0.109 |
| P | 0.532 | 0.615 | |

* $P \leq 0.05$

+8 °C’de depolanan örnek gruplarında günler ile *L. monocytogenes* sayım sonuçları arasında istatistiki analizler yapıldığında Pinosylvin + Listeria aşılınmış grupta istatikselsel bir farklılık olmadığı ($P \geq 0.05$) tespit edilmiştir. Buna karşılık Listeria aşılınmış grupta, günler ile *L. monocytogenes* sayım sonuçları arasında istatistikselsel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($P \leq 0.05$) belirlenmiştir (Tablo 2).

Çalışma süresince +8 °C’de depolanan Listeria aşılınmış örneklerde, *L. monocytogenes*’in hızlı bir gelişim gösterdiği; Pinosylvin + Listeria aşılınmış örneklerde ise *L. monocytogenes*’in gelişiminde önemli bir değişiklik olmadığı ve *L. monocytogenes* sayısının hemen hemen aşılınan seviyede kaldığı tespit edilmiştir.

Listeria aşılınan örnek grubunda depolamanın 7. ve 14. günlerinde *L. monocytogenes* gelişiminin hızlı olduğu; 14. günden sonra durağan faza geçmeye başladığı gözlenmiştir.

+3 ve +8 °C’de depolanan örneklerde; Listeria aşılınan grupta, Pinosylvin + Listeria aşılınan grup karşılaştırıldığında aralarında istatistikselsel bir farklılık olmamasına ($P \geq 0.05$) rağmen *L. monocytogenes* gelişiminin her iki sıcaklıkta da Listeria aşılınan grupta daha fazla olduğu belirlenmiştir.

+20 °C’de depolanan kontrol grubu örneklerinde, +3 ve +8 °C’de depolanan örneklere benzer

şekilde depolama sürecinde *L. monocytogenes* gelişimi gözlenmemiştir. +20 °C’de depolanan Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılınmış gruplarda ise, günler ile *L. monocytogenes* sayım sonuçları arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki olduğu ($P \leq 0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 3).

Çalışmada +20 °C’de Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılınmış örneklerde, test edilen diğer sıcaklıklardan (+3 ve +8 °C) farklı olarak, başlangıçta sırası ile 3.83 ± 0.14 ve 2.83 ± 0.07 log kob/g olan *L. monocytogenes* sayısının 6 günlük depolama süresi sonunda, Listeria aşılınmış örneklerde 8.58 ± 0.02 log kob/g ve Pinosylvin + Listeria aşılınmış örneklerde ise 7.46 ± 0.41 log kob/g’a ulaştığı gözlenmiştir.

Listeria aşılınmış örneklerde, *L. monocytogenes*’in ilk 3 gündeki gelişiminin yavaş olduğu, daha sonraki günlerde ise daha hızlı bir artış olduğu tespit edilmiştir.

6. günde her iki örnek grubunda *L. monocytogenes*’in gelişiminin hızlı bir artış gösterdiği ve bu artışın Listeria aşılınmış örneklerde daha fazla olduğu belirlenmiştir.

9. günde ise, her iki örnek grubunda *L. monocytogenes* gelişiminde azalış olduğu ve bu azalışın Pinosylvin + Listeria aşılınmış örneklerde daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Tablo 2. +8 °C’de Depolanan Örneklerde *L. monocytogenes* (log kob/g ± Standart sapma)’in Gelişimi**Table 2.** The Growth of *L. monocytogenes* (log cfu/g ± Standard deviation) In Samples Stored at +8 °C

| Depolama Günleri | ÖRNEK GRUPLARI | | P |
|---------------------|------------------|---------------------|-------|
| | Listeria Kontrol | Pinosylvin+Listeria | |
| 0. Gün | 3.83 ±0.14 | 2.83 ±0.07 | 0.109 |
| 7. Gün | 4.97 ±0.53 | 2.61 ±0.38 | 0.109 |
| 14. Gün | 5.86 ±0.11 | 2.72 ±0.12 | 0.109 |
| 21. Gün | 6.09 ±0.27 | 2.87 ±0.06 | 0.109 |
| P | 0.029* | 0.241 | |

* P ≤ 0.05

Tablo 3. +20 °C’de Depolanan Örneklerde *L. monocytogenes* (log kob/g ± Standart sapma)’in Gelişimi**Table 3.** The Growth of *L. monocytogenes* (log cfu/g ± Standard deviation) In Samples Stored at +20 °C

| Depolama Günleri | ÖRNEK GRUPLARI | | P |
|---------------------|------------------|---------------------|-------|
| | Listeria Kontrol | Pinosylvin+Listeria | |
| 0. Gün | 3.83 ±0.14 | 2.83 ±0.07 | 0.109 |
| 3. Gün | 4.05 ±0.31 | 4.07 ±0.34 | 0.109 |
| 6. Gün | 8.58 ±0.02 | 7.46 ±0.41 | 0.109 |
| 9. Gün | 8.21 ±0.25 | 6.27 ±0.81 | 1.000 |
| P | 0.042* | 0.029* | |

* P ≤ 0.05

Çalışma süresince herhangi bir aşılama yapılmayan kontrol gruplarında *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. +3 °C’de Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama örneklerde *L. monocytogenes* sayısı aşılama seviyede sabit kalırken, +8 °C’de depolanan *L. monocytogenes* aşılama örneklerde, *L. monocytogenes*’in hızlı bir gelişim gösterdiği; Pinosylvin + Listeria aşılama örneklerde ise *L. monocytogenes* sayısının hemen hemen aşılama seviyede kaldığı belirlenmiştir. +20 °C’de ise Pinosylvin + Listeria aşılama örneklerde *L. monocytogenes* sayısının sürekli artış gösterdiği ve depolamanın 3. gününde sadece *L. monocytogenes* aşılama örneklerin seviyesine ulaştığı gözlenmiştir.

Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama örnekler gruplarına deneme başlangıcında, aynı *L. monocytogenes* çalışma süspansiyonundan eşit miktarda eklenmiş olmasına karşın Pinosylvin + Listeria aşılama gruplarda başlangıç *L. monocytogenes* sayısı daha düşük bulunmuştur. Pinosylvin + Listeria aşılama gruplarda *L.*

monocytogenes başlangıç düzeyinin Listeria aşılama gruptan düşük olması deneme hatası olarak değerlendirilmekte birlikte, üç tekerrürlü olarak yürütülen bu çalışmada Pinosylvin + Listeria aşılama örneklerdeki başlangıç düzeyindeki çok düşük (0.07) standart sapma değeri pinosylvin ilavesinin başlangıçta *L. monocytogenes* gelişimini kısmen de olsa etkilediğini düşündürmüştür. Dolayısıyla, +3 ve +8 °C’lerdeki Listeria ve Pinosylvin + Listeria aşılama örnek grupları birbirleri karşılaştırıldıklarında, her iki depolama sıcaklığında da Pinosylvin + Listeria aşılama örnek grubundaki gelişimin; Listeria aşılama örnek grubundan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, antibakteriyel etkisi çeşitli çalışmalarla gösterilmiş pinosylvinin, vakumla paketlenen gravad gökkuşuğu alabalıklarında kullanımının +8 °C’deki depolama sıcaklığında *L. Monocytogenes*’in gelişimini durdurduğu gözlenmiştir. +20 °C’deki sonuçlar incelendiğinde ise; *L. monocytogenes* gelişiminin çok yüksek seviyede olduğu ve pinosylvinin bu sıcaklıkta *L.*

monocytogenes üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Araştırma bulguları, örneklerde *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerinde pinosylvinin engelleyici etkisi olduğunu göstermiştir. Pinosylvinin bakteriyel gelişimi önleyici etkisi tespit edilmiş olup bakterileri öldürücü etkisi gözlenmemiştir. Bu çerçevede; pinosylvin uygulamasının soğukta depolanmış su ürünlerinin kalitesinin korunması amacıyla kullanılabilir bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

Gravad ve soğuk tütsülenmiş gökkuşuğu alabalıklarında *L. monocytogenes* ile ilgili yapılmış olan çalışmalar, bu ürünlerin *L. monocytogenes* gelişimi açısından riskli ürünler olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak bu ürünlerde üretimden tüketim zamanına kadar *L. monocytogenes* gelişiminin yüksek seviyelere ulaşma riskinden kaçınılmasının son derece önemli olduğu belirtilmiştir (Tham ve ark., 2000).

Sonuç

Vakumla paketlenen gravad balık, başlangıçta çok düşük bir miktarda *L. monocytogenes* ile kontamine olmuş ise, ürünün tüketim gününe kadar ürünlerdeki bakteri sayısı çok daha yüksek seviyelere ulaşabilmektedir. Bunun yanı sıra tüketicilerin bazı zamanlar tüketime hazır gıdaları son tüketim tarihinden daha uzun bir süre buzdolabı koşullarında saklaması da *L. monocytogenes*'in gelişimine neden olmaktadır (Peiris ve ark., 2009). Çok düşük seviyelerde pinosylvin kullanımını buzdolabı koşullarında *L. monocytogenes* sayısının yükselmesini sınırlayacağı gibi, tüketici kaynaklı tüketim hatalarının az da olsa önüne geçilmesini sağlayacaktır.

Kaynaklar

- Anonim, (2000). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Resmi Gazete No. 24345, Tarih: 17.03.2001.
- Anonim, (1996). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 2: Enumeration method.
- Bremer, P.J., Fletcher, G.C., Osborne, C., (2003). *Listeria monocytogenes* In Seafood, Technical Report, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited A Crown Research Institute, 13 pp.

Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B.C., Ceyran, G., (2002). Önemli bir arı ürünü: Propolis, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 10-23.

Lopez-Nicolas J.M., Rodriguez-Bonilla, P., Garcia-Carmona, F., (2009). Complexation of pinosylvin, an analogue of resveratrol with high antifungal and antimicrobial activity, by different types of cyclodextrins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**: 10175-10180. [doi:10.1021/jf902519d](https://doi.org/10.1021/jf902519d)

Lyhs, U., Lahtinen, J., Fredriksson-Ahomaa, M., Hyytia-Trees, E., Elfing, K., Korkeala, H., (2001). Microbiological quality and shelf-life of vacuum-packaged 'gravad' rainbow trout stored at 3 and 8°C, *International Journal of Food Microbiology*, **70**: 221-230. [doi:10.1016/S0168-1605\(01\)00548-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00548-7)

Miettinen, H., (2006). *Listeria monocytogenes* in fish farming and processing, *Academic Dissertation*, Supervising Professor Korkeala Hannu, University of Helsinki Department of Food and Environmental Hygiene Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland.

Park, E.J., Min, H.Y., Ahn, Y.H., Bae, C.M., Pyee, J.H., Lee, S.K., (2004). Synthesis and inhibitory effects of pinosylvin derivatives on prostaglandin E2 production in lipopolysaccharide-induced Mouse macrophage cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14**: 5895-5898. [doi:10.1016/j.bmcl.2004.09.022](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.09.022)

Peiris, I.P., Lopez-Valladares, G., Parihar, V. S., Helmersson, S., Barbuddhe, S., Tham, W., Danielsson-Tham, M.L., (2009). Gravad (Gravlax) and cold-smoked salmon, still a potential source of listeriosis, *Inc. Journal of Foodservice*, **20**: 15-20. [doi:10.1111/j.1748-0159.2008.00118.x](https://doi.org/10.1111/j.1748-0159.2008.00118.x)

Tekeli, A. (2007). Etlik civciv rasyonlarında doğal büyüme uyarıcı olarak bitkisel ekstraktların ve propolisin kullanım olanakları, *Doktora tezi*, Danışman Kutlu, H.R., Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Tham, W., Ericsson, H., Loncarevic S., Unnerstad H., Danielsson-Tham, M.-L., (2000). Lessons from an outbreak of listeriosis related to vacuum-packed gravad and cold-smoked fish, *International Journal*

- of *Food Microbiology*, **62**: 173-175.
[doi:10.1016/S0168-1605\(00\)00332-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00332-9)
- Tosun, Y., Alakovuk, D.Ü., (2007). Su ürünlerinde risk faktörü: *Listeria monocytogenes* tehlikesi, *Dünya Gıda Dergisi*, **4**: 78-82.
- Türk, N., Yabanlı, M. (2006). Balık, balıkçılık ürünleri ve insan sağlığı. I. *Türkiye Zoonotik Hastalıkları Sempozyumu*, 151-161, Ankara.
- Türk, N., (2009). Balık ve balıkçılık ürünleri zoonozlar, http://www.vhs-izmir.org/vhs_vph/makaleler/zoonozlar/balik_ve_balikcilik_urunlerinde_zoonozlar.ppt (Erişim Tarihi: 26.03.2009).
- Välimala, A. L., Honkalampi-Hämäläinen, U., Pietarinen, S. Willför, S., Holmbom B., von Wright, A., (2007). Antimicrobial and cytotoxic knotwood extracts and related pure compounds and their effects on food-associated microorganisms, *International Journal of Food Microbiology*, **115**: 235-243. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.031](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.031)